

**TESINA PARA OPTAR POR EL TITULO DE
ESPECIALISTA**

**Estudio de los procesos de
producción de radiofarmacos del
[¹¹C] - [¹¹C]Colina y [¹¹C]Metionina
en TRACERlab FX_C PRO en las
instalaciones de la Fundación Centro
de Diagnóstico Nuclear**

**ESPECIALIZACIÓN EN RADIOQUÍMICA Y APLICACIONES
NUCLEARES**

Alumno: Franklin Niño Duarte

Director: Lic. Adrián Durán



UNSAM
UNIVERSIDAD
NACIONAL DE
SAN MARTÍN



Dan Beninson
Instituto de Tecnología Nuclear

Instituto de Tecnología Nuclear Dan Beninson
UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN MARTÍN
Enero de 2013

Índice general

Resumen	4
1. Etapas de preparación de los fármacos del ^{11}C - ^{11}CColina y ^{11}CMetionina	5
1.1. Producción de ^{11}C CO ₂	6
1.2. TRACERlab FX _C PRO limpieza, acondicionamiento y carga para la síntesis	8
1.3. Producción del ^{11}C CH ₄	12
1.4. Producción del ^{11}C CH ₃ I	13
1.5. Síntesis de la ^{11}C Colina y ^{11}C metionina	15
2. Control de calidad	17
2.1. Controles Físico-Químicos	17
2.1.1. Apariencia	18
2.1.2. pH	18
2.1.3. Pureza e identidad radionucleídica	19
2.1.4. Determinación de solventes	20
2.2. Controles Químicos	21
2.2.1. Pureza e identidad radioquímica	21
2.3. Controles Biológicos	22
2.3.1. Endotoxinas bacterianas	22
2.3.2. Ensayo de esterilidad	23
2.3.3. Integridad en membrana filtrante	23
3. Comparación de estudios con uso de radiofármacos del ^{11}C y ^{18}F-FDG	25
3.1. ^{11}C colina y ^{18}F -FDG	25
3.2. ^{11}C metionina y ^{18}F -FDG	32
4. Análisis y Conclusiones	40
4.1. Análisis	40
4.2. Conclusiones	41
A. Síntesis de radiofármacos del ^{11}C - ^{11}Ccolina y ^{11}Cmetionina	43
A.1. Radiofármacos Oncológicos	44
A.1.1. Métodos de síntesis	46

B. Descripción del equipo TRACERlab FX_C PRO	50
B.1. Descripciones Técnicas	50
B.1.1. Modulo de síntesis	50
B.1.2. Unidad de control	51
B.1.3. Calentador	52
B.1.4. Ordenador e impresora	53
B.1.5. Detector UV	53
B.1.6. Bomba HPLC que incluye dos botellas de efluentes	53
Bibliografía	54
Nomenclatura	55

Índice de cuadros

1.1. Características físicas del [¹¹ C]	6
2.1. Requerimientos de pH	19
2.2. Requerimientos de pureza radionucleídica	20
2.3. Requerimientos solventes residuales	21
2.4. Requerimientos de identidad radioquímica	22
2.5. Requerimientos de endotoxina bacteriana	23
2.6. Requerimientos para la membrana	24
A.1. Métodos de síntesis para la [¹¹ C]colina	47
A.2. Métodos de síntesis para la [¹¹ C]metionina	49
B.1. Especificaciones técnicas del modulo de síntesis	50
B.2. Especificaciones técnicas de la unidad de control	52
B.3. Especificaciones técnicas del sistema de control de temperatura	52
B.4. Especificaciones del reactor y sistema de calefacción	52
B.5. Especificaciones de la bomba de vacío	53
B.6. Especificaciones del detector UV	53

Índice de figuras

1.1.	A. Vista posterior Transferencia del $[^{11}\text{C}]\text{CO}_2$ B. Vista Frontal Trampa y horno para el $[^{11}\text{C}]\text{CO}_2$	8
1.2.	A. Equipo TRACERlab FX_C PRO - B. Esquema del equipo	9
1.3.	A. Esquema del Tracerlab FX_C PRO B. Frascos 4, 5 y 6 C. Colector final	10
1.4.	A. Paso de H_2 y He - B. Paso de H_2	11
1.5.	A. frascos del 4 al 6 - B. columnas C-18 (roja) y Waters (Azul) - C. DEWAR	12
1.6.	A. Tanque de decaimiento ; B. Columna de NaOH	13
1.7.	A. Salida del CH_4 purificado - B. Recipiente de carga del I - C. Horno de reacción - D. Parte externa del Loop y columna de retención del CH_3I	14
1.8.	Esquema de Loop	14
1.9.	Transferencia del producto final, frasco esteril y filtro millipore	15
2.1.	Tiras para calculo de pH	18
2.2.	Equipo para espectrometría gamma	20
2.3.	Equipo GC para cromatografía en fase gaseosa	21
2.4.	Equipo HPLC	22
3.1.	Comparaciones de captación entre ^{11}C -colina y ^{18}F -FDG en recidiva de próstata	28
3.2.	Comparación de captación en ganglios	29
3.3.	Comparación ^{11}C -colina y ^{18}F -FDG en metástasis óseas	29
3.4.	Detección de recurrencias y valor de antígeno prostático	30
3.5.	Captaciones de la $[^{11}\text{C}]$ metionina y ^{18}F -FDG en glioblastoma y astrocitoma.	35
3.6.	Captaciones de la $[^{11}\text{C}]$ metionina y ^{18}F -FDG en glioma recurrente y gliosarcoma.	36
A.1.	Estructuras químicas de algunos radiofármacos del $[^{11}\text{C}]$	44
A.2.	Síntesis de la $[^{11}\text{C}]$ colina	46
A.3.	Síntesis de la $[^{11}\text{C}]$ metionina	48

Índice de algoritmos

2.1. Algoritmo para el calculo de la concentración de etanol	20
--	----

Resumen

En la actualidad la creciente demanda de estudios para diagnóstico de tejidos tumorales mediante el uso de métodos rápidos y no invasivos como el PET; así como también la investigación médica al interior de los centros hospitalarios, requieren de la elaboración de radiofarmacos con alta especificidad, fácilmente reproducibles y trazables, con una química sencilla y acompañada de sistemas que permitan una síntesis rápida que simplifique la rutina de producción de los mismos al interior del centro médico.

Así la Fundación Centro de Diagnóstico Nuclear FCDN cuenta con un equipo TRACERlab FX_C PRO de GE Medical Systems al interior del departamento de radiofarmacia, que le da versatilidad al mismo para el desarrollo de procesos de síntesis y marcación de fármacos del [¹¹C] - [¹¹C]Colina y [¹¹C]Metionina.

En este trabajo se desarrolla una descripción y análisis de los procesos que se llevan a cabo en el departamento de radiofarmacia de la FCDN para el desarrollo de radiofarmacos del [¹¹C] - [¹¹C]colina y [¹¹C]metionina, métodos y materiales usados en el desarrollo, controles de calidad y aplicaciones de los mismos.

1. Etapas de preparación de los fármacos del $[^{11}\text{C}]$ - $[^{11}\text{C}]$ Colina y $[^{11}\text{C}]$ Metionina

La alta demanda de estudios en PET para detección de tumores requiere la preparación de radiofármacos con alta especificidad, es decir, una adecuada energía de emisión, absorción por el órgano de interés y periodo de semidesintegración razonable para el desarrollo del estudio y la excreción del mismo por el organismo.

Hoy en día, rápidos escáners PET-CT ofrecen un rendimiento superior para estudios de pacientes en comparación con un PET autónomo. Por tanto, es posible estudiar varios pacientes con una única ejecución de un trazador marcado de $[^{11}\text{C}]$. Sin embargo, debido a limitaciones de espacio y presupuestarias, la mayoría de los centros de PET capaces de producir trazadores de $[^{11}\text{C}]$ no se pueden permitir más de una celda caliente y cuentan con un único módulo de síntesis para estos compuestos. Por último, más centros están equipados con dos o más escáneres PET y la posibilidad de realizar más estudios con trazadores de $[^{11}\text{C}]$ siempre está condicionada por la capacidad del laboratorio caliente para producir varios marcadores en un solo día de trabajo.

Los procedimientos de síntesis comprenden habitualmente la captura del agente de metilación a baja temperatura en una solución del precursor seguido de la reacción a alta temperatura. La purificación del compuesto deseado a partir de los subproductos y precursores que no ha reaccionado se lleva a cabo usualmente por técnica semipreparativa-HPLC. Nuevos procedimientos de síntesis se han desarrollado y optimizado, pero los dispositivos de síntesis siguen siendo una complejidad. Sin embargo, Pascali et al. describe un cambio significativo en la forma de preparación de $[^{11}\text{C}]$ metionina, demostró la posibilidad de obtener $[^{11}\text{C}]$ metionina y $[^{11}\text{C}]$ colina (Pascali et al, 1999;. 2000)¹ con alto rendimiento y pureza utilizando cartuchos SPE para los pasos tanto de síntesis como purificación. El procedimiento general se llevó a cabo a temperatura ambiente y se evita la purificación por HPLC. Como consecuencia de ello, estos métodos proporcionan una reducción significativa en el tiempo de síntesis y la complejidad del sistema utilizado[1].

¹Pascali, C., Bogni, A., Iwata, R., Decise, D., Crippa, F., Bombardieri, E., 1999. High efficiency preparation of L-[S-methyl- ^{11}C]methionine by on-column $[^{11}\text{C}]$ methylation on C18 Sep-Pak. *J. Labell. Compd. Radiopharm.* 42, 715-724. Pascali, C., Bogni, A., Iwata, R., Mara, C., Bombardieri, E., 2000. $[^{11}\text{C}]$ Methylation on a C18 Sep-Pak cartridge: a convenient way to produce $[N\text{-methyl-}^{11}\text{C}]$ choline. *J. Labell. Compd. Radiopharm.* 43, 195-203.

1.1 Producción de $[^{11}\text{C}]\text{CO}_2$

La $[^{11}\text{C}]\text{colina}$ es un radiofarmaco para PET muy efectivo en estudios de cáncer de próstata y tumores de cerebro y $[^{11}\text{C}]\text{metionina}$ es un trazador de aminoácidos para el diagnóstico de tumores de cerebro[2].

La FCDN cuenta con un ciclotron de pie de hospital y su departamento de radiofarmacia se encuentra equipado con un equipo TRACERlab FX_C PRO (Apéndice B) con lo cual dispone de las herramientas necesarias para desarrollar trazadores marcados de $[^{11}\text{C}]$, específicamente $[^{11}\text{C}]\text{colina}$ y $[^{11}\text{C}]\text{metionina}$.

1.1. Producción de $[^{11}\text{C}]\text{CO}_2$

La síntesis de radiofarmacos requiere inicialmente de un producto activo elaborado, que en este caso es el $[^{11}\text{C}]$, las características de éste se presentan en la tabla 1.1[3].

Símbolo	Período de semidentegración	Modo de decaimiento	Energía máxima de positrones
$^{11}_6\text{C}$	20,370 min	99,750 % β^+ - 0,250 % ϵ	960,5 keV

Cuadro 1.1.: Características físicas del $[^{11}\text{C}]$

Así pues la producción se hace con el ciclotron SIMENS RDS 111 ubicado al interior de la FCDN.

Para inducir la reacción nuclear se usa un blanco de Al que contiene en su interior N_2 de alta pureza mezclado con O_2 de alta pureza al 2,5 %, en el proceso de irradiación se siguen ciertos protocolos con el fin de optimizar la producción del $[^{11}\text{C}]\text{CO}_2$, estos son:

Preinicialización

Se verifica que todos los parámetros del equipo se encuentren dentro de los límites correctos o en posiciones adecuadas, por ejemplo que los caudales de gas y agua se encuentren encendidos y en límites aceptables, el alto vacío y la temperatura del agua en parada, ya que con esta se refrigeran las bombas difusoras de alto vacío; se toma el caudal y la temperatura del agua de entrada y salida, allí el agua ingresa a 12°C refrigera las bombas y sale a 28°C aproximadamente, los valores del vacío en la preinicialización están por el orden de 10^{-8}Torr . Toda la preinicialización se hace siguiendo un protocolo, los datos de esta etapa se llenan en planilla por cada día de uso del equipo. Este protocolo tiene como fin evitar daños en el ciclotron, ya que de encontrarse alguna anomalía en los parámetros de verificación, no se podría encender el equipo hasta realizar un mantenimiento que corrija los parámetros que presenten problemas.

Luego de verificar el protocolo se pone en marcha el equipo, para lo cual se debe estabilizar, entonces se comienza con la etapa de inicialización.

Inicialización

La inicialización consiste en el encendido del equipo y la corrección de los parámetros numéricos de acuerdo a valores estipulados; este paso lleva de treinta a cuarenta minutos aproximadamente. Los parámetros que se verifican antes de iniciar la irradiación son:

1. Radiofrecuencia RF: Se ajusta la RF para armonizar las diferencias de potencial en las D's y obtener la aceleración continua de los iones.
2. Encendido de la fuente de iones: fuente tipo PIG, dicha fuente esta constituida por un ánodo cilíndrico y dos cátodos de tungsteno, todo el sistema se encuentra al interior de una cámara rodeada por un solenoide que produce un campo magnético axial de 20T. Se hace pasar H_2 según requerimientos a un caudal que puede variar entre $(6 - 7.5)\text{cm}^3/\text{min}$; y se genera una diferencia de potencial entre ánodo y cátodo de 14kV. Con el H_2 en estas condiciones se genera plasma en el interior entre el ánodo y los cátodos, el campo eléctrico creado por un electrodo extractor exterior permite la salida de los iones de la fuente.
3. Verificación de vacío: Se realiza verificación de alto vacío y de bajo vacío mediante termocuplas, esto con el fin de evitar que los iones acelerados colisionen con átomos de gases residuales presentes en el interior del sistema de aceleración. Al encender la fuente de iones el alto vacío presenta cambios pasando del orden de 10^{-8}Torr a 10^{-6}Torr , esto por que el H_2 debe pasar por la fuente para generar los iones.
4. Temperaturas de funcionamiento: La refrigeración del equipo se da por el caudal de agua, éste refrigera las bombas difusoras, el magnet, la fuente de iones y la radio frecuencia RF, por esta razón la temperatura cambia pasando a una entrada de 12°C y una salida de 20°C , esto se debe a que ahora el agua refrigera todo el equipo para su funcionamiento en condiciones optimas.

Limpieza

Después de la media hora del proceso de inicialización se arranca la limpieza del blanco (carga y descarga), haciendo pasar una corriente de He con el fin de limpiar residuos de producciones anteriores, específicamente el $[^{12}\text{C}]\text{CO}_2$ ya que éste tiene una alta afinidad por el acero inoxidable y se adsorbe al interior de las tuberías, lo que baja la actividad específica, ya que la cantidad de éste $[^{12}\text{C}]\text{CO}_2$ puede llegar a ser mucho mayor que la de $[^{11}\text{C}]\text{CO}_2$.

Luego de cumplir con todos los pasos anteriores se procede a cargar el N₂ de alta pureza mezclado con O₂ de alta pureza al 2,5 %, esta mezcla se presuriza a 150psi con una corriente de Ar. El equipo automáticamente hace una prueba de fuga para evaluar perdidas, esto es de alta importancia ya que por ser un blanco gaseoso maneja altas presiones y de generarse una mínima fuga podría volar el blanco con lo que estallarían las ventanas, obligando a detener el sistema y generando la suspensión de la producción para realizar las respectivas reparaciones.

Con todos los parámetros anteriores controlados se inicia la irradiación, para lo cual se empieza a subir paulatinamente la corriente del equipo, hasta alcanzar una corriente optima de 35μA. La irradiación se da por un lapso de 40 minutos (aproximadamente dos veces el periodo de semidesintegración del [¹¹C]).

El bombardeo se hace por un haz de protones de 11MeV, dando como resultado el [¹¹C] que se obtiene en forma de [¹¹C]CO₂ a partir de la reacción nuclear $^{14}\text{N}(p, \alpha)^{11}\text{C}$.

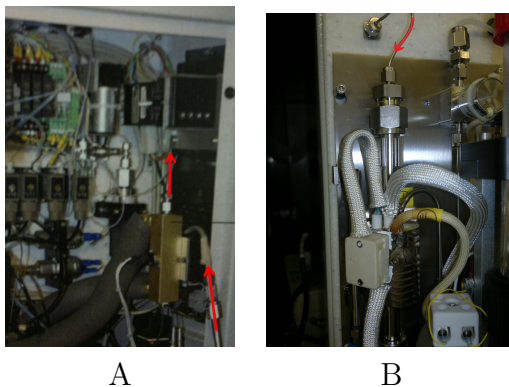
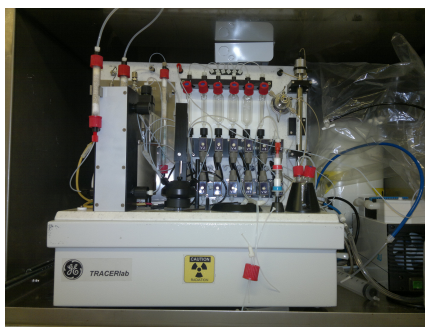


Figura 1.1.: A. Vista posterior Transferencia del [¹¹C]CO₂ B. Vista Frontal Trampa y horno para el [¹¹C]CO₂

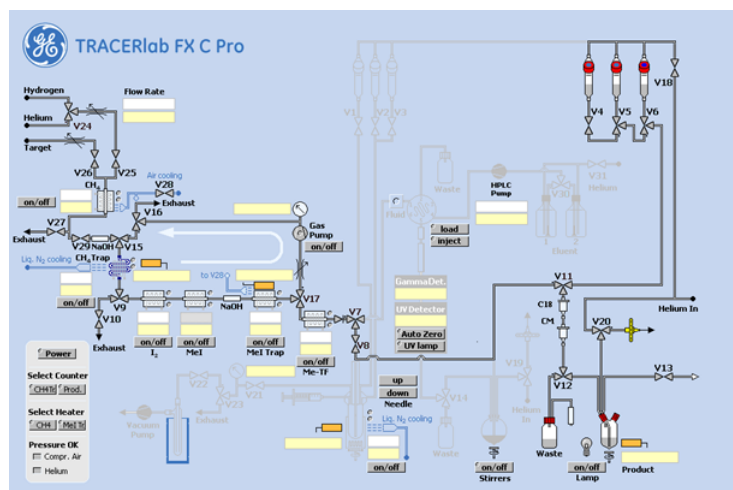
Luego el [¹¹C]CO₂ es transferido (Fig 1.1 A) hacia una unidad de soporte o columna de Ni (Fig 1.1 B), dentro de una corriente de He hacia el modulo de proceso TRACERlab FX_C PRO al laboratorio de radiofarmacia para iniciar los procesos de síntesis.

1.2. TRACERlab FX_C PRO limpieza, acondicionamiento y carga para la síntesis

Como se menciona anteriormente el [¹¹C]CO₂ se transfiere mediante una corriente de He hacia el equipo TRACERlab FX_C PRO (Fig 1.2 A) en el laboratorio de radiofarmacia. De manera similar al ciclotron, en el área de radiofarmacia el grupo encargado revisa y prepara el equipo realizando una limpieza o un acondicionamiento según lo requiera, todo esto previo a la llegada del [¹¹C]CO₂ y antes de la síntesis.



A



B

Figura 1.2.: A. Equipo TRACERlab FX_C PRO - B. Esquema del equipo

Verificaciones de rutina

Se verifica que cada uno de los elementos que componen el equipo se encuentre en el estado que corresponde, garantizando de esta forma el funcionamiento óptimo del equipo. Previo a la realización de la síntesis se deben verificar las líneas de los productos y gases, los colectores, la botella de residuos, la conexión al programa.

Después de verificar que todos los componentes del equipo funcionan correctamente se inicia la limpieza o acondicionamiento según sea el caso.

Limpieza

El equipo TRACERlab FX_C PRO usado para la preparación de fármacos del [¹¹C], es considerado un equipo para desarrollo al interior de las instalaciones de la FCDN, es decir, este equipo es usado para enseñanza y experimentación, razón por la cual a la fecha no se usa la totalidad del mismo, por lo que no se mencionaran algunas partes en el proceso de limpieza y síntesis.

Para realizar la limpieza del equipo se carga en los frascos 4, 5 y 6 (Fig 1.3 B) y en el colector (Fig 1.3 C) las siguientes soluciones en las cantidades indicadas.

1. Frasco 4: 5ml de etanol absoluto
2. Frasco 5: 4ml de agua estéril
3. Frasco 6: 3ml de agua estéril
4. Colector: 5ml de etanol al 70 %

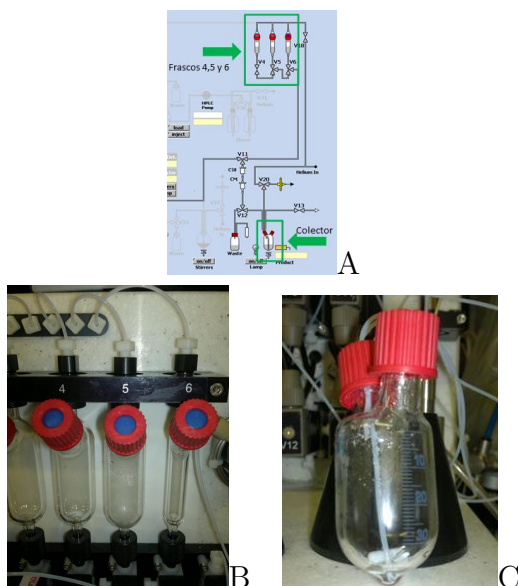


Figura 1.3.: A. Esquema del Tracerlab FX_C PRO B. Frascos 4, 5 y 6 C. Colector final

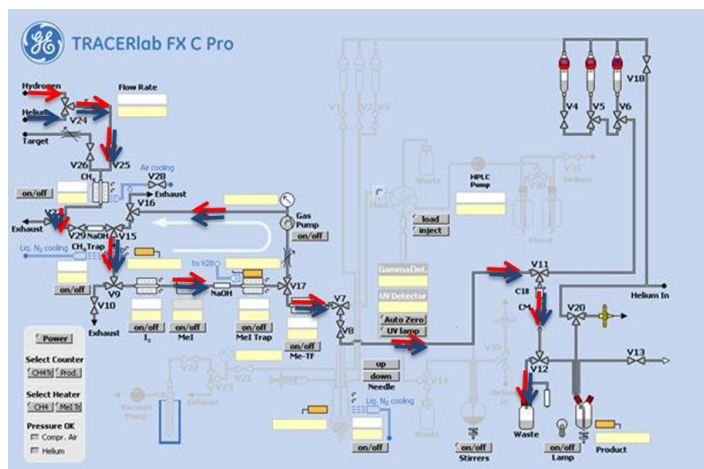
El equipo cuenta con un programa por computador, desde el cual mediante un menú desplegable se selecciona la opción LIMPIEZA y luego se da la orden INICIAR LIMPIEZA, todo esto después de colocar las respectivas soluciones en los diferentes frascos.

La limpieza dura entre 20 y 30 minutos y una vez iniciada termina automáticamente.

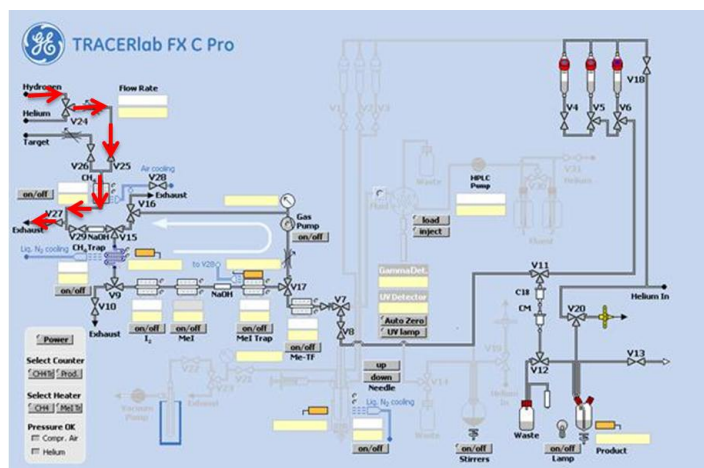
Acondicionamiento

Antes de iniciar una síntesis es obligatorio realizar un acondicionamiento del equipo, para esto el programa de control cuenta con una opción en el menú desplegable (**ACONDICIONAMIENTO CO₂**). En este caso el equipo realiza un calentamiento de los distintos “hornos” y se hace un primer paso de gases H₂ y He a través del sistema para llevar consigo los residuos de las síntesis anteriores (Fig 1.4 A); después se hace pasar únicamente H₂ por la trampa de CH₄, ya que este paso previo

mejora el rendimiento a la hora de realizar la síntesis (Fig 1.4 B). No se requiere de reactivos para el desarrollo de esta etapa.



A



B

Figura 1.4.: A. Paso de H₂ y He - B. Paso de H₂

Carga del equipo para la síntesis

Luego de realizar estos pasos de limpieza y acondicionamiento previos a la recepción del [¹¹C]CO₂ se inicia la carga de los solventes, columnas, químicos y precursores necesarios para la realización de la síntesis.

Iniciamos el proceso como se indica a continuación

1. Frasco 4 se cargan 5 ml de etanol
2. Frasco 5 se cargan 4 ml de agua estéril
3. Frasco 6 se cargan 3 ml de solución fisiológica

4. Columna C-18 “A base de sílice con fuerte hidrofobicidad, se utiliza para adsorber analitos de hidrofobicidad débil a partir de soluciones acuosas; sus aplicaciones típicas incluyen fármacos y metabolitos en suero, plasma u orina, compuestos orgánicos traza en muestras ambientales de agua, ácidos orgánicos en bebidas; presenta un comportamiento similar a las columnas de fase inversa de HPLC²” (Fig 1.5 B) se carga dependiendo del producto final, ya que esta contiene el precursor, así para la $[^{11}\text{C}]$ colina se carga con 60 μl de DMEA 2-Dimetiletanolamina $\text{C}_4\text{H}_{11}\text{NO}$ y para la $[^{11}\text{C}]$ metionina se carga con 210 μl de L-homocisteina-tiolactona.
5. Columna de purificación Sep Pak Waters (Fig 1.5 B) se activa previamente haciendo pasar por goteo lento 4ml de agua estéril (se usa únicamente en la síntesis de $[^{11}\text{C}]$ colina).
6. El Dewar que sirve como trampa para el CH_4 se llena hasta las tres cuartas partes de su capacidad con N_2 líquido.

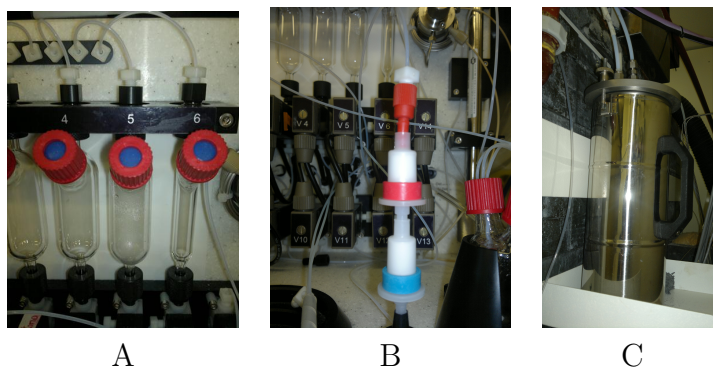


Figura 1.5.: A. frascos del 4 al 6 - B. columnas C-18 (roja) y Waters (Azul) - C. DEWAR

1.3. Producción del $[^{11}\text{C}]\text{CH}_4$

El $[^{11}\text{C}]\text{CO}_2$ hace su primer paso por una columna de Ni en la cual queda atrapado, allí se hace circular continuamente H_2 a 400°C para generar la reacción que permita convertir el $[^{11}\text{C}]\text{CO}_2$ en $[^{11}\text{C}]\text{CH}_4$ (Fig 1.1 A y B).

El CO_2 y $[^{11}\text{C}]\text{CO}_2$ que pudo no haber reaccionado, es decir, aquel que no se convirtió en $[^{11}\text{C}]\text{CH}_4$ es retenido en su forma gaseosa en un tanque de decaimiento (Fig 1.6 A), éste luego de decaer es liberado mediante una válvula y es llevado por el sistema de extracción de aire. El H_2O que se forma en el proceso también debe retenerse, para lo que se usa una columna de ascarita NaOH y O_5P_2 (Fig 1.6 B), esta columna se cambia después de su saturación; las columnas tienen aproximadamente un mes de duración.

²Tomado de <http://www.waters.com/waters/partDetail.htm?partNumber=WAT023501>

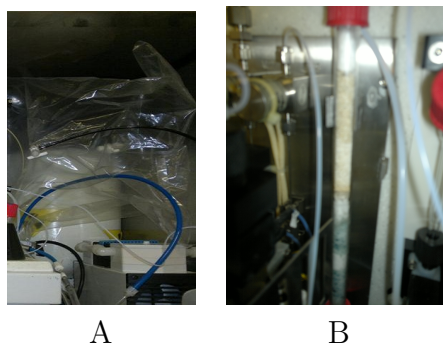


Figura 1.6.: A. Tanque de decaimiento ; B. Columna de NaOH

Se ha podido observar dos casos en los que se deben cambiar las columnas de NaOH y O_5P_5 , uno en el que se alcanza la saturación, en este caso la columna esta pastosa y no retiene más la humedad y el otro en el que la humedad no es retenida por la columna en cuyo caso el NaOH se endurece.

1.4. Producción del $[^{11}\text{C}]\text{CH}_3\text{I}$

El $[^{11}\text{C}]\text{CH}_4$ que paso la etapa anterior se retiene en una trampa de carbosphere a -75°C (Fig 1.6 A), temperatura que se obtiene con N_2 líquido, (ocurre al interior del equipo y tiene salida por la válvula 9). El $[^{11}\text{C}]\text{CH}_4$ purificado se deja reaccionar a continuación con I_2 (Fig 1.6 B) a 720°C durante aproximadamente 3 minutos (Fig 1.6 C), obteniéndose como resultado $[^{11}\text{C}]\text{CH}_3\text{I}$ en forma de gas que se hace circular por un loop con la idea de aumentar su concentración (Fig 1.6 D).

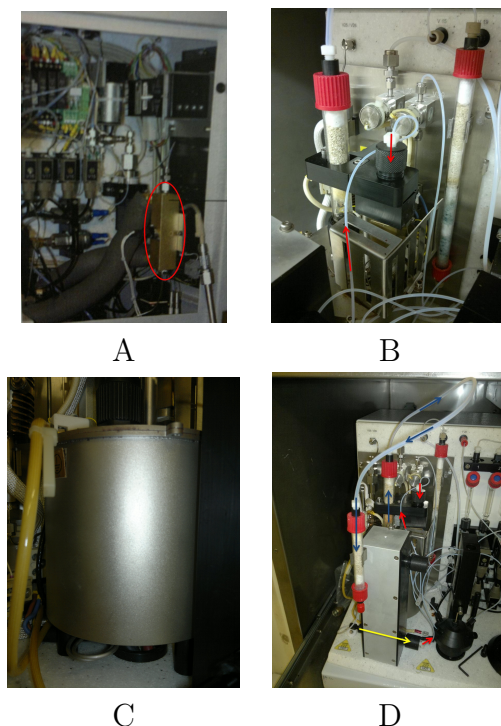


Figura 1.7.: A. Salida del CH_4 purificado - B. Recipiente de carga del I - C. Horno de reacción - D. Parte externa del Loop y columna de retención del CH_3I

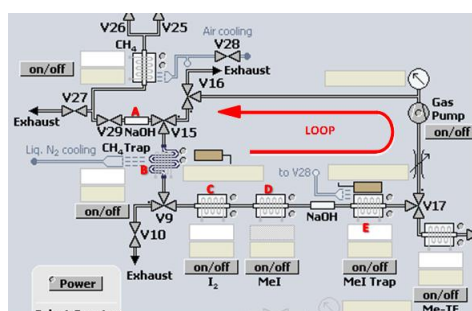


Figura 1.8.: Esquema de Loop

En este proceso además del $[^{11}\text{C}]\text{CH}_3\text{I}$ se obtiene HI; este compuesto es muy corrosivo, el mismo debe ser retenido para evitar daños posteriores al equipo y a la misma producción. Tanto el I_2 libre, es decir aquel que no participo de la reacción, como el HI son retenidos en las columnas de NaOH como I_2 y NaI respectivamente, este proceso se desarrolla a temperatura ambiente.

El $[^{11}\text{C}]\text{CH}_4$ que no reacciona re circula nuevamente por el loop con el objetivo de reaccionar con el I_2 .

1.5. Síntesis de la $[^{11}\text{C}]$ Colina y $[^{11}\text{C}]$ metionina

El proceso de síntesis (Apéndice A) inicia una vez se ha terminado la separación y captura del $[^{11}\text{C}]\text{CH}_3\text{I}$, ya que con este producto se realiza la metilación. El $[^{11}\text{C}]\text{CH}_3\text{I}$ producido es liberado y se hace pasar por una columna C-18 (Fig 1.5 B(Roja)) que previamente ha sido cargada con el precursor, para el caso de la $[^{11}\text{C}]$ colina corresponde a DMEA, es aquí donde tenemos la metilación que nos permite obtener $[^{11}\text{C}]$ colina que por intercambio anionico queda atrapada en la columna C-18.

Después de la reacción se realiza un lavado con 5 ml de etanol absoluto que son enviados desde el frasco 4 por la apertura de la válvula que lleva el mismo numero con el objetivo de eliminar el exceso de precursor, luego 4 ml de agua estéril son enviados del frasco 5 por la apertura de la válvula con el mismo número, en este caso con la idea de eliminar el etanol residual.

La $[^{11}\text{C}]$ colina se mantiene adherida en la resina Sep Pak Waters (*también sirve como columna de purificación*) y se eluye con 3 ml de solución salina que son enviados desde el frasco 6 por la apertura la misma válvula, la elución llega hasta el colector final.

Desde aquí se rota la válvula 20 que inyecta He para empujar la $[^{11}\text{C}]$ colina y de ahí por la válvula 13 va hasta el dispensado final. El frasco al cual se transfiere el producto final es estéril apirógeno y esta evacuado, tiene una capacidad de 10 ml se ventea y se le coloca una aguja acoplada a un filtro de $0.22\mu\text{m}$ para aire. El producto final ingresa al vial sellado con un tapón con septo a través de una línea que tiene un filtro de $0.22\mu\text{m}$ y aguja. La transferencia es realizada por la presión de He que se realiza en el módulo de síntesis al colector final; luego de esto la $[^{11}\text{C}]$ colina esta lista para ser usada en la realización de un estudio (Fig 1.9). La transferencia del producto final al frasco presentado en la figura 1.9 se realiza dentro de su respectivo blindaje.



Figura 1.9.: Transferencia del producto final, frasco estéril y filtro millipore

1.5 Síntesis de la [^{11}C]Colina y [^{11}C]metionina

La [^{11}C]metionina sigue un proceso de elaboración similar a la [^{11}C]colina hasta la fase de liberación del [^{11}C]CH₃I producido, ya que en este caso el precursor usado es L-homocisteína-tiolactona, la elución no requiere el uso de dos columnas al finalizar el proceso ya que la homocisteína se va al pasar por la columna. El producto final para la realización del estudio es la [^{11}C]metionina.

2. Control de calidad

Para que un radiofarmaco pueda ser administrado a un ser humano, es necesario que éste sea sometido a varias pruebas conocidas como control de calidad. El control de calidad de radiofarmacos hace parte de las buenas practicas de radiofarmacia BPR, estas resultan de la combinación entre buenas practicas de manufactura BPM y las normas de protección radiológica.

Básicamente, el control de calidad implica varias pruebas o medidas específicas que garanticen la pureza, la potencia, la identidad del producto, la seguridad biológica y la eficacia del radiofármaco. Todos los procedimientos de control de calidad que se aplican a los productos farmacéuticos no radiactivos son igualmente aplicables a los radiofármacos, además de pruebas de pureza radioquímica y radionucleídica que para este caso tienen que llevarse a cabo. A menudo, estas pruebas de control de calidad se llevan a cabo por los fabricantes desde el comienzo de la producción durante todo el camino de producción hasta el producto acabado. Sin embargo, la introducción de kits, el uso cada vez mayor de radionucleidos de período corto tales como ^{99m}Tc y la preparación in situ de muchos radiofármacos requieren que la mayoría, si no todas, las pruebas de control de calidad realicen en todos los preparados con antelación antes de la expedición de estos productos para la administración humana[4].

Todo radiofarmaco se debe someter a cuatro controles diferentes, estos son:

- Controles Físico-Químicos
- Controles Químicos
- Controles Biológicos
- Controles de Estabilidad

Los controles realizados para los productos del [^{11}C] obtenidos en la FCDN se presentan a continuación.

2.1. Controles Físico-Químicos

Varios ensayos in vitro fisicoquímicos son esenciales para la determinación de la pureza y la integridad de un radiofármaco. Algunas de estas pruebas son únicas para los radiofármacos, ya que contienen radionucleidos[4].

Dentro de estas pruebas para los radiofarmacos del [^{11}C] tenemos:

2.1.1. Apariencia

En esta prueba se evalúan la apariencia física antes y después de la recepción del radiofarmaco, para este control se debe tener plena familiaridad con las características del mismo; los cambios en esta característica física implican que su actividad biológica podría no ser la esperada para el estudio.

Para la [¹¹C]metionina y la [¹¹C]colina la especificación dada es que la solución debe ser incolora, transparente y libre de impurezas.

2.1.2. pH

Todos los radiofármacos deben tener una concentración de iones hidrógeno o pH apropiado para su estabilidad e integridad. El pH ideal de un radiofármaco debe ser 7,4 (pH de la sangre), aunque este puede variar entre 2 y 9, debido a la capacidad de tampón propia de la sangre. El pH de una solución se mide con precisión mediante un medidor de pH, mientras que evaluación colorimétrica con papel de pH (papel de tornasol) es bastante inexacta. Cualquier desviación del pH deseado debe ser tratado con precaución. Los radiofármacos también debe tener una fuerza iónica apropiada, la isotonicidad, y la osmolalidad con el fin de ser adecuada para la administración humana. La Fuerza iónica correcta se puede lograr mediante la adición de un ácido adecuado, alcalino, o electrolito y se puede calcular a partir de las concentraciones de electrolitos añadidos. En este punto, es importante añadir una palabra de precaución, dado que la fuerza iónica y el pH son factores importantes para la estabilidad de un radiofármaco, es importante utilizar el diluyente apropiado, preferiblemente el mismo disolvente usado en la preparación original[4].



Figura 2.1.: Tiras para calculo de pH

Las exigencias de pH se presentan en la siguiente tabla.

pH	
[¹¹ C]colina	[¹¹ C]metionina
4,0 - 7,0	4,5 - 8,5

Cuadro 2.1.: Requerimientos de pH

2.1.3. Pureza e identidad radionucleídica

Se define como la fracción porcentual de la actividad del radionucleido declarado de una preparación radiofarmacéutica con relación a su actividad total. Las impurezas surgen por reacciones espureas debido a las impurezas por isotopos presentes en el material del blanco. Los radionucleidos indeseables pueden pertenecer al mismo elemento que el radionucleido deseado o a un elemento diferente. La presencia de estos radionucleidos extraños, aumenta la dosis de radiación excesiva para el paciente y también puede degradar las imágenes. Estas impurezas pueden eliminarse mediante métodos químicos apropiados, siempre que sus propiedades químicas sean completamente diferentes de las de las del radionucleido deseado.

La pureza radionucleídica se determina mediante la medición de los periodos de semidesintegración y las radiaciones características emitidas por los radionucleidos. Una radiación dada puede pertenecer a varios radionucleidos, la determinación de la energía de radiación por sí sola no establece la identidad de un radionucleido, y su periodo de semidesintegración debe ser medido. Los radionucleidos que emiten rayos γ se distinguen uno de otro por la identificación de los mismos, mediante las energías medidas en los espectros obtenidos en un detector de NaI(Tl) o de [Ge(Li)] detectores acoplados a un analizador multicanal. Las emisiones β puras no son tan fáciles de comprobar como las emisiones γ debido a la dificultad en el recuento en un contador de pozo[4].

La pureza radionucleídica depende del periodo de semidesintegración del radionucleido deseado, la cantidad de impurezas que pueden estar presentes y de como estos varían en el tiempo. Así, se mide el radiofarmaco mediante un detector gamma y con el espectro se realiza una espectrometria buscando los picos característicos del radionucleido deseado y a su vez calculando el periodo de semidesintegracion en la celda caliente.



Figura 2.2.: Equipo para espectrometría gamma

Las exigencias de pureza radionucleídica se presentan en la siguiente tabla.

Pureza e Identidad Radionucleídica		
Radiofarmaco	Espectrometría gamma	$t_{1/2}$
[¹¹ C]colina	Pico principal a 511keV y dispersión	18 - 22
[¹¹ C]metionina	Compton, pudiendo haber otro a 1022keV	minutos

Cuadro 2.2.: Requerimientos de pureza radionucleídica

2.1.4. Determinación de solventes

El control de solventes presentes en el radiofarmaco se realiza haciendo una cromatografía en fase gaseosa utilizando un equipo GC.

Para el caso de los radiofarmacos del [¹¹C] se inyecta 0,4 μ l del estándar insertando la aguja de la jeringa de precisión en el puerto del inyector, se presiona la misma y luego el botón start y se retira la jeringa. El botón start debe estar iluminado en verde ya que indica que el equipo se encuentra en las condiciones deseadas.

Luego se inyecta la muestra siguiendo el mismo proceso que para el estándar, se registran los cromatogramas y se observan las áreas correspondientes a los picos; se comparan las áreas según los tiempos de retención obtenidos y se calcula la concentración de etanol mediante un algoritmo.

Algoritmo 2.1 Algoritmo para el calculo de la concentración de etanol

$$C_{Etanol} = \frac{A_{Etanol,muestra}}{A_{Etanol,standar}} * 1000\mu g/ml$$

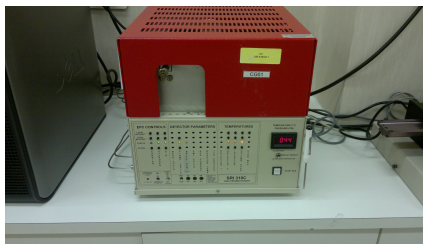


Figura 2.3.: Equipo GC para cromatografía en fase gaseosa

Las exigencias en este control se presentan en la siguiente tabla.

Determinación de solventes residuales	
[¹¹ C]colina	Etanol < 4000 $\mu\text{g}/\text{ml}$
[¹¹ C]metionina	Etanol < 6000 $\mu\text{g}/\text{ml}$

Cuadro 2.3.: Requerimientos solventes residuales

2.2. Controles Químicos

Tiene como finalidad determinar cualitativa y cuantitativamente los productos químicos presentes en la composición de los radiofarmacos, siendo estos, reactivos de la preparación, de la purificación o por la interacción entre el farmaco y el envase de despacho.

Para los radiofarmacos del [¹¹C] se realiza la identidad radioquímica.

2.2.1. Pureza e identidad radioquímica

La pureza radioquímica de un radiofármaco es la fracción de la radiactividad total en la forma química deseada en el radiofármaco. Estas impurezas radioquímicas surgen de la descomposición debida a la acción de cambio de disolvente, la temperatura, el pH, la luz, la presencia de agentes oxidantes o reductores, reacción incompleta, y radiolisis[4].

Se evita la presencia de impurezas radioquímicas ya que estas generan malos resultados en las imágenes obtenidas, ya que presentan alto fondo, además de entregar una dosis innecesaria al paciente.

La estabilidad de un compuesto es dependiente del tiempo en la exposición a la luz, cambios de temperatura, y radiolisis. Cuanto más tiempo un compuesto está expuesto a variaciones de las condiciones de luz y temperatura mayor degradación presentará, razón por la cual empieza a perder la característica para la cual fue

desarrollado. Así pues se les asigna a cada uno de los radiofarmacos preparados una fecha de vencimiento en su etiquetado final.

Si bien es cierto que existe un grupo amplio para la detección de impurezas radioquímicas en un radiofarmaco, en la FCDN el método usado es determinación de HPLC.



Figura 2.4.: Equipo HPLC

Las exigencias en este control se presentan en la siguiente tabla.

Pureza e identidad radioquímica		
Radiofarmaco	Presencia de Radiofarmaco	Impurezas Radioquímicas
[¹¹ C]colina	≥ 95 %	< 5 %
[¹¹ C]metionina	≥ 90 %	< 10 %

Cuadro 2.4.: Requerimientos de identidad radioquímica

2.3. Controles Biológicos

Con estos controles se verifica la ausencia de microorganismos, situación fundamental para un inyectable

2.3.1. Endotoxinas bacterianas

Método rápido para la prueba de endotoxinas bacterianas (BET), también llamado el lisado de amebocitos de Limulus (LAL), se emplea para la detección y cuantificación de pirógenos un tipo de endotoxina. Este método utiliza el lisado de amebocitos de la sangre de cangrejo de herradura, Limulus polyphemus. El principio de la prueba se basa en la formación de un gel opaco por pirógenos en la presencia de Ca²⁺

en la incubación de la muestra con la LAL 37°C. Una mezcla de ensayo consiste generalmente de 0,1 ml LAL y una muestra de ensayo a pH 6-8. La reacción tiene lugar dentro de 15-60 min después de la mezcla y depende de la concentración de pirógenos. La formación de un gel indica la presencia de pirógenos. Cuanto más gruesa del gel, mayor es la concentración de pirógenos de la muestra[4].

Las exigencias en este control se presentan en la siguiente tabla.

Endotoxina Bacteriana	
[¹¹ C]colina	< 25 E.U/ml
[¹¹ C]metionina	

Cuadro 2.5.: Requerimientos de endotoxina bacteriana

2.3.2. Ensayo de esterilidad

La esterilidad indica la ausencia de cualquier tipo de bacterias o microorganismo viable en la preparación de un radiofármaco. Como ya se ha mencionado, todas las preparaciones para la administración humana se deben esterilizar por métodos adecuados que dependen de la naturaleza del producto, el disolvente, y diversos aditivos[4].

Este ensayo no se realiza en las instalaciones de la FCDN, dos muestras de 1ml son enviadas a control de calidad en el centro atomico de ezeiza CAE para la realización de este control.

2.3.3. Integridad en membrana filtrante

La filtración de membrana consiste en pasar el radiofármaco a través de un filtro de membrana que elimina varios organismos por un mecanismo de tamizado. Filtros Millipore comercialmente disponibles son los filtros de membrana de ésteres de celulosa, y están disponibles en diversos tamaños de poro son unidades desechables. El tamaño de la membrana de filtro más común es 0,45 µm, pero un menor tamaño de poro de 0,22 µm es necesario para la esterilización de productos de la sangre cuyas preparaciones tienen sospechas de contaminación con pequeños microorganismos.

Este es el método de esterilización más común en la farmacia nuclear y es el de elección para los radionucleidos de período corto. En la práctica real, si el volumen del radiofármaco es pequeño, entonces la solución se aspira en una jeringa, un filtro de membrana está unido a la punta de la jeringa, y el volumen se descarga a través del filtro en un recipiente aseptico, esteril y apirogeno[4].

Las exigencias en este control se presentan en la siguiente tabla.

Integridad de la membrana filtrante	
[¹¹ C]colina	> 50psi
[¹¹ C]metionina	

Cuadro 2.6.: Requerimientos para la membrana

3. Comparación de estudios con uso de radiofármacos del ^{11}C y ^{18}F -FDG

3.1. ^{11}C colina y ^{18}F -FDG

En la realización de esta comparación se usó el trabajo “*PET/CT con ^{11}C colina y ^{18}F -FDG en pacientes con niveles elevados de PSA tras el tratamiento radical de un cáncer de próstata*”

Como es sabido la ^{11}C colina es un radiofármaco muy eficaz para el estudio de cáncer de próstata¹ y tumores cerebrales². [2] El objetivo de la comparación realizada entre la ^{11}C colina y la ^{18}F -FDG es encontrar un punto de comparación en los estudios diagnósticos llevados a cabo con estos dos radiofármacos para detección precoz y localización de recurrencias en cáncer de próstata.

La recurrencia del cáncer de próstata es más frecuente en pacientes de alto riesgo, definidos por consenso del Comité Estadounidense Conjunto sobre el Cáncer (AJCC) por uno de los tres parámetros siguientes: $T > pT2c$, Gleason > 8 , PSA (antígeno prostático específico) > 20 ng/ml. Su incidencia es de un 20-50 % de los pacientes diez años después de la prostatectomía³ y alrededor del 53 % cinco años después de la radioterapia⁴ [5].

Para la elección de pacientes se tuvo en cuenta tres parámetros de medición, estos fueron el TNM, donde T corresponde a tamaño, N a número de ganglios afectados y M metástasis, en este estudio se usó T. Otro de los parámetros fue el puntaje Gleason, este se determina a partir del análisis de muestras de tejido tomadas de la próstata durante la biopsia; a las muestras se les asigna un puntaje del 1 al 5.

¹Hara, T., Kosaka, N., Hiroichi, K., 1998. PET imaging of prostate cancer using carbon-11-choline. *J. Nucl. Med.* 39, 990–995.

²Hara, T., Kosaka, N., Shinoura, N., Kondo, T., 1997. PET imaging of brain tumor with [methyl- ^{11}C]choline. *J. Nucl. Med.* 38, 842–847.

³Ham M, Partin AW, Zahurak M, Piantadosi S, Epstein JI, Wals PC. Biochemical recurrence probability following radical prostatectomy for clinically localized prostate cancer. *J Urol.* 2003;169:517-23.

⁴Chism DB, Hanlon AL, Horwitz EM, Feigenberg SJ, Pollack A. A Comparison of the single and double factor high-risk models for risk assignment of prostate cancer treated with 3D conformal radiotherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2004;59:380- 5.

Las muestras con puntaje 1 se asemejan, en forma mas cercana a una próstata normal; el puntaje 5 presenta la posibilidad de un crecimiento agresivo. El puntaje de Gleason final resulta de la suma de dos de dichas muestras con valores entre 2 y 10. Finalmente el PSA, este examen se realiza mediante la extracción de sangre, el nivel de PSA elevado se ha asociado al incremento de la probabilidad de tener cáncer de próstata, dicha probabilidad depende de la edad, se considera como base para la realización de exámenes un PSA > 4 ng/ml, en el desarrollo de este estudio se uso un PSA > 20 ng/ml.

La tomografía por emisión de positrones (PET) con ^{18}F -FDG es una técnica de imagen ampliamente reconocida para el estudio de tumores malignos sólidos. Sin embargo, se ha descrito una menor sensibilidad en el cáncer de próstata debido a la baja afinidad del trazador para estos tumores y la eliminación de la ^{18}F -FDG en la orina, lo que dificulta la interpretación de las imágenes PET. Las células tumorales de próstata se caracterizan por una sobre expresión de la acción de colinquinasa, responsable de la producción de componentes en la membrana celular. Este proceso metabólico implica la participación de acetato y colina, mediante el cual trazadores alternativos a la ^{18}F -FDG se han desarrollado, tales como [^{11}C]acetato, [^{11}C]colina y ^{18}F -colina, que han demostrado resultados preliminares muy prometedores en la localización de recurrencias. El objetivo de este estudio es comparar la precisión diagnóstica de la PET/CT con ^{18}F -FDG y [^{11}C]colina para la detección temprana y la localización de la recurrencia del cáncer de próstata en un grupo de pacientes sometidos a tratamiento radical y con un aumento de los niveles de PSA.[5]

En el estudio fueron incluidos 38 pacientes con una edad promedio de 63 años y que presentaban sospecha de cancer de próstata luego de tratamiento radical del tumor primario, esto se determino evaluando el aumento del PSA, el cual presento valores entre (0.8-9.5)ng/ml.

20 de los pacientes tuvieron tratamiento radical con cirugía y 18 con radioterapia, 10 de los pacientes estaban sometidos a terapia antiandrogénica. Entre el tratamiento radical y los estudios con PET/CT hubo un intervalo de tiempo en promedio de 20 meses.

La producción de los radiofarmacos siguió el proceso que se menciona a continuación. La ^{18}F -FDG y la [^{11}C]colina se sintetizaron en el ciclotrón situado en la instalación PET. La [^{11}C]colina se produce por reacción de [^{11}C]yoduro de metilo con 2-dimetil-aminoetanol. El producto se purifica por medio de un cartucho de intercambio catiónico. El tiempo de síntesis total es de 20 minutos, se obtuvo un rendimiento radioquímico mayor al 80 % y una pureza radioquímica de 99,9 %. El producto se distribuye como una solución estéril de cloruro de [^{11}C]colina para inyección intravenosa. El ^{18}F -FDG es producido por una reacción de ^{18}F - F por el triflato de manosa peracetilado. El producto se somete a hidrólisis básica y se purifica por medio de un conjunto Chromabond V y posteriormente es esterilizado por autoclave. Se obtiene una solución isotónica y estéril de ^{18}F -FDG para la inyección intravenosa. La síntesis total, autoclave y tiempo de dosificación es de 1 hora, obteniéndose

rendimiento radioquímico de 60 % y una pureza radioquímica de más de 98 %[5].

El procedimiento señalado es similar al desarrollado en las instalaciones de la FCDN, con diferencia en los proveedores de los equipos usados para su desarrollo.

Para la obtención de las imágenes se siguió el protocolo que se menciona a continuación.

- Medición de glicemia no mayor a 140mg/dl
- Dosis de ¹¹C-colina y ¹⁸F-FDG (656±119)MBq vía endoveosa
- Toma de imágenes PET/CT 5 minutos después de la inyección para la [¹¹C]colina, comenzando en la pelvis y haciendo barrido en dirección al cráneo.

Después de obtener la imagen con [¹¹C]colina

- Inyección de la ¹⁸F-FDG, espera de una hora para la incorporación
- Ubicación del paciente en el PET/CT para la obtención de las imágenes.

La adquisición de la imagen para el PET es la misma tanto para la [¹¹C]colina como para la ¹⁸F-FDG.

Resultados

Recidiva local

Catorce pacientes presentaron captación focal de [¹¹C]colina en la región de la próstata, lo que sugiere la recurrencia local, mientras que sólo 6 de estos pacientes (48 %) presentaron captación de ¹⁸F-FDG en la misma localización. De estos 6 pacientes con absorción local con ambos marcadores, en 3 de ellos la intensidad de captación de ¹⁸F-FDG fue menor que la de [¹¹C]colina (Fig 3.1 A y B)⁵. La recurrencia fue confirmada por biopsia en 8 de los 14 pacientes (57 %), en 4 pacientes (28,5 %) con una reducción del PSA aún mayor después de la radioterapia, y el diagnóstico definitivo no se alcanzó en 2 pacientes (14 %), ya que la presencia de lesiones a distancia contraindica un tratamiento radical[5].

⁵A. Paciente con radioterapia radical para el cáncer de próstata hace 30 meses. Antígeno específico prostático (PSA) de 3,1 ng/ml. Captación de ¹¹C-colina en la región izquierda de la glándula prostática (imagen superior), no detectable con ¹⁸F-FDG (imagen inferior). La biopsia mostró recidiva local. B. Paciente con radioterapia radical para el cáncer de próstata hace 24 meses. Antígeno específico prostático (PSA) de 2,7 ng/ml. Captación de ¹¹C-colina en el lecho quirúrgico izquierda (imagen superior), no detectable con ¹⁸F-FDG (imagen inferior). Hubo una reducción significativa en el PSA después de la radioterapia.

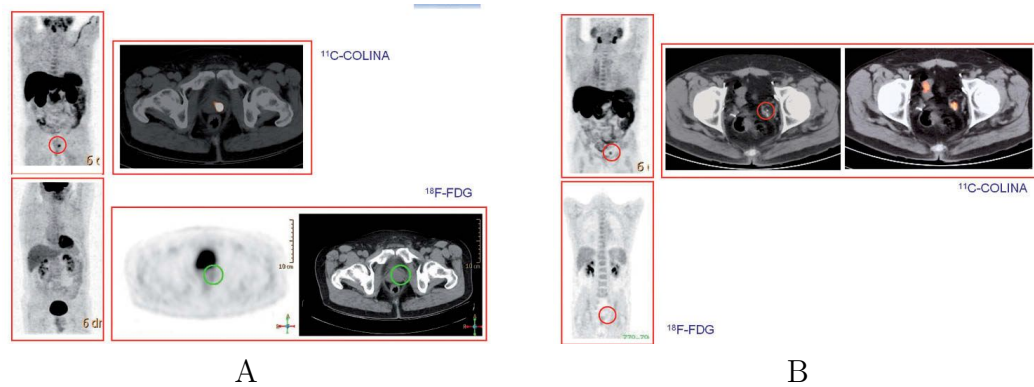


Figura 3.1.: Comparaciones de captación entre ^{11}C -colina y ^{18}F -FDG en recidiva de próstata

Recurrencia adenopática

En esta sección se incluye la afectación ganglionar regional y la participación de nodos metastásicos distantes. La [^{11}C]colina muestra la presencia de adenopatías pélvicas en 8 pacientes, mientras que sólo 4 de ellos (50%) presentaron coincidencia por captación ^{18}F -FDG. En los 4 pacientes, la intensidad de la absorción con ^{18}F -FDG fue menor que la [^{11}C]colina (Fig 3.2 A)⁶. Se observó participación mediastinal en 5 pacientes con [^{11}C]colina y también en 3 (60%) con ^{18}F -FDG. De estos 3 pacientes con absorción local con ambos marcadores, en 2 de ellos la intensidad de captación de ^{18}F -FDG fue menor que la de [^{11}C]colina (Fig. 3.2 B)⁷. En los 12 pacientes con infiltración adenopática, la confirmación se obtuvo mediante punción y aspiración con la citología ($n = 2$), reducción del PSA con la radioterapia ($n = 4$) y los siguientes con más combinaciones terapéuticas ($n = 6$).

⁶Paciente con radioterapia radical para el cáncer de próstata hace 23 meses. Antígeno específico prostático (PSA) de 3,7 ng/ml. Captación de ^{11}C -colina en la adenopatía ilíaca izquierda (imagen superior), no detectable con ^{18}F -FDG (imagen inferior). Tenga en cuenta la retención uretral de ^{18}F -FDG, adyacente al sitio de la adenopatía infiltrada. La imagen desapareció después de la terapia hormonal.

⁷Paciente con radioterapia radical para el cáncer de próstata hace 33 meses. Antígeno prostático específico (PSA) de 3,5 ng/ml. Captación de ^{11}C -colina en la adenopatía mediastinal en ventana aortopulmonar (imagen superior) con captación mínima de ^{18}F -FDG (imagen inferior). Confirmado por cirugía.

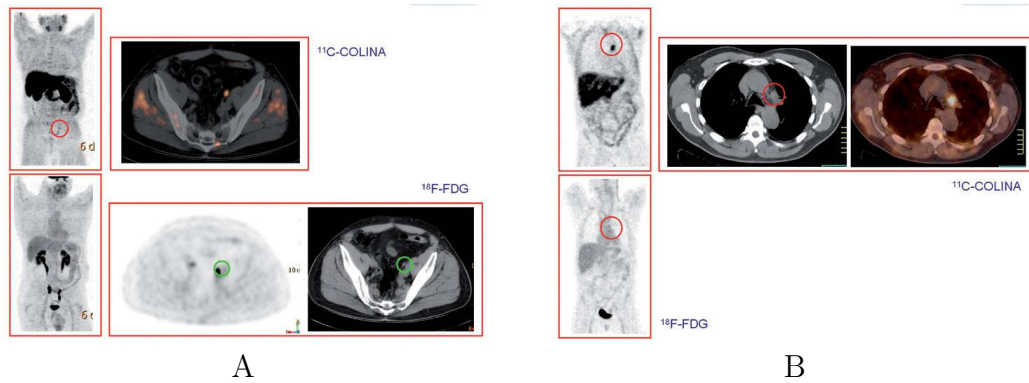


Figura 3.2.: Comparación de captación en ganglios

Metástasis óseas

Los depósitos de ^{18}F -FDG y [^{11}C]colina se detectaron en el esqueleto de 3 pacientes. En 2 de ellos, ^{18}F -FDG donde la intensidad de absorción fue menor que la de [^{11}C]colina (Fig. 3.3)⁸. En los 3 casos, el seguimiento mediante gammagrafía ósea con bifosfonatos y/o RM confirmaron metástasis óseas (una sola lesión dorsal en 1 paciente y la infiltración múltiple en 2). En 1 paciente, el PET con ^{18}F -FDG mostró una captación difusa en la cresta iliaca izquierda, sin absorción de [^{11}C]colina debido a la enfermedad monostótica de Paget del hueso.

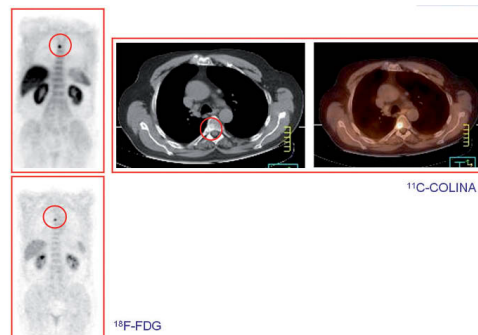


Figura 3.3.: Comparación 11C-colina y 18F-FDG en metástasis óseas

Influencia de la terapia antiandrogénica

Diez de los 38 pacientes incluidos estaban en terapia antiandrogénica. El PET/CT con [^{11}C]colina fue positivo en el 70 % de los pacientes tratados ($n = 7$) y en 68 % de los no tratados ($n = 19$), no se evidenciaron diferencias entre ambos grupos.

⁸Paciente con radioterapia radical para el cáncer de próstata hace 28 meses. Antígeno prostático específico (PSA) de 7,5 ng/ml. Captación de ^{11}C -colina en el hemi-cuerpo derecho de la vértebra torácica (imagen superior) con captación mínima de ^{18}F -FDG (imagen inferior). Muy sugestiva de metástasis mediante resonancia magnética (RM) y gammagrafía ósea.

Relación entre la detección de la recurrencia y el valor del antígeno específico de la próstata

Se establecieron tres subgrupos de aumento de PSA en la evaluación de la detección de la recurrencia con ambos trazadores (Fig. 1.4 A). En el grupo con PSA < 1 ng/ml, la [^{11}C]colina permite una detección del 40 % de las recurrencias, mientras que con la ^{18}F -FDG no se detectó ninguna (0 %). En el grupo con PSA < 4 ng/ml, la [^{11}C]colina permitió una detección de 60 % de las recurrencias, mientras que la ^{18}F -FDG detectó 27 %. En el grupo con PSA > 4 ng/ml, la [^{11}C]colina permitió una detección del 83 % de las recurrencias, mientras que la ^{18}F -FDG detectó un 50 %. Si sumamos los pacientes con un PSA por debajo de 4 ng/ml, la capacidad de detección de recurrencia fue claramente superior en [^{11}C]colina (9 estudios positivos en 19 pacientes, 47,5 %), en comparación con la ^{18}F -FDG (3 estudios positivos en 19 pacientes, 15,5 %). Además, se estudió la relación entre la localización de la recurrencia y el valor de PSA (Fig. 1.4 B). Por lo tanto, los estudios negativos en PET/CT con [^{11}C]colina presentaron una media de valor de PSA de 2,5 ng/ml, las recurrencias locales de 4,4 ng/ml, la infiltración adenopática de 5,2 ng/ml y las metástasis óseas de 8,5 ng/ml. Por lo tanto, existe una relación directa entre la localización de las recidivas y el valor de PSA, aunque existe una variabilidad importante en cada grupo[5].

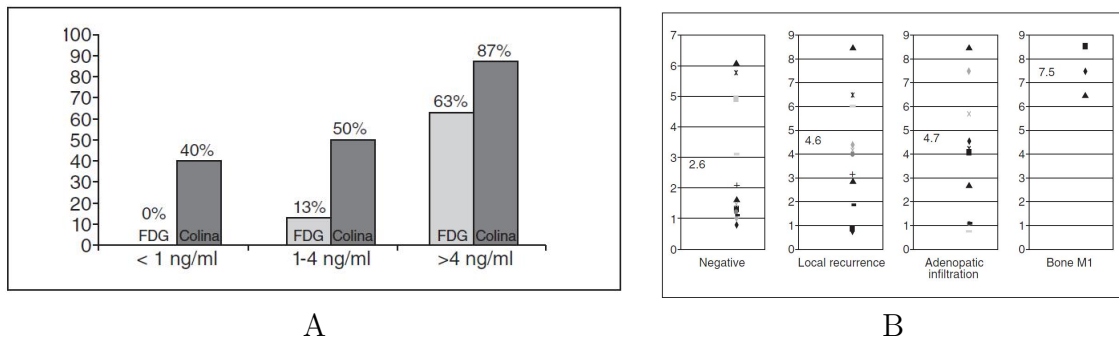


Figura 3.4.: Detección de recurrencias y valor de antígeno prostático

Para la detección temprana de cada una de las posibilidades de expansión mencionadas anteriormente de un cancer ya tratado se tienen distintos métodos, que no tienen mucha sensibilidad, requiere de distintas técnicas e implican la invasión del cuerpo de los pacientes como es el caso de la biopsia. Por esta razón es importante mantener la búsqueda de técnicas que arrojen bastante información que sean rápidas y no invasivas.

Si bien el PET/CT realizado con ^{18}F -FDG arroja resultados importantes sobre el metabolismo de distintas lesiones y permite distinguir nuevas lesiones de fibrosis, su sensibilidad en la detección de cancer de próstata no es el ideal, ya que tiene poca afinidad por las células de este tumor y porque su vía de excreción es la orina, razón por la cual brinda un alto fondo que no permite distinguir dichas lesiones.

Es así como se observa que la [^{11}C]colina muestra un mayor rendimiento frente a la ^{18}F -FDG, salvo en algunos casos.

La colina es un indicador de la tasa de multiplicación, ya que las células necesitan colina para la síntesis de fosfolípidos en la membrana[5].

En este estudio, la [^{11}C]colina permitió la detección de recurrencias en 26 pacientes (68,5%), con un aumento del PSA después del tratamiento radical del cáncer de próstata. En éstos, la PET/CT con [^{11}C]colina permitió distinguir entre recidiva local y sistémica, por lo tanto demostró un impacto directo sobre el enfoque terapéutico[5]. Lo que conlleva a una mejora en las terapias asignadas al tratamiento de los pacientes.

La definición de recurrencia bioquímica es claramente diferente después de la cirugía o la radioterapia. La cirugía radical elimina todo el tejido glandular prostático y el PSA que se espera puede que sea indetectable. Por lo tanto, la recurrencia en estos pacientes se sospecha con aumentos tempranos e inferiores en PSA. En pacientes tratados con radioterapia, la definición de recidivas con base en el PSA sigue siendo objeto de debate. Para el consenso ASTRO se requieren tres aumentos consecutivos del PSA, medidos en intervalos de tres meses. En nuestro estudio, la [^{11}C]colina fue positiva en 16 de 20 pacientes (80%) después de la cirugía, mientras que sólo fue positivo en 10 de 18 pacientes (55,5%) después de la radioterapia. Por lo tanto, la sensibilidad de la [^{11}C]colina fue mayor en el grupo de pacientes operados, incluso con bajos niveles de PSA que en los pacientes irradiados. En 12 pacientes (31,5%), el PET/CT con [^{11}C]colina fue negativo. En 2 de ellos (16,6%) la existencia de enfermedad adenopática bajo el diafragma se demostró mediante CT realizada en el siguiente control. Ninguna enfermedad se demostró en los 10 pacientes restantes después de más de 6 meses de seguimiento. Es difícil establecer el número de falsos negativos que no eran en realidad de nuestra serie, ya que todos los pacientes tenían un aumento significativo de la PSA. Esta es precisamente la limitación más importante de nuestro estudio, ya que hace que sea imposible tener una técnica para calcular el valor predictivo negativo. El tamaño de la lesión es crítico cuando se evalúa el rendimiento del PET/CT. En el rango más bajo de PSA puede haber filtraciones microscópicas, o aquellas con un volumen de menos de 5 mm^3 , son imperceptibles por PET. Sin embargo, la capacidad de detectar la infiltración adenopática en nodos por debajo de 1 cm aumenta con el uso de la fusión PET/CT. Otra limitación, aunque consideramos que es menos importante, es la posibilidad de que los procesos inflamatorios pueden provocar falsos positivos, que deben ser tenidos en cuenta en los casos en los que por la confirmación histológica no se pueden obtener. La evolución, los resultados de otras técnicas de imagen y la respuesta al tratamiento permiten sugerir que no teníamos falsos positivos. En nuestro estudio, la sensibilidad de detección de recurrencia aumenta en paralelo a la elevación del PSA. En el grupo con $\text{PSA} < 1\text{ ng/ml}$, la [^{11}C]colina permitió la detección de 40% de las recidivas. En el grupo con PSA entre 1 y 4 ng/ml, la [^{11}C]colina permitió la detección de 60% de las recurrencias, mientras que en el grupo con $\text{PSA} > 4\text{ ng/ml}$ la [^{11}C]colina permitió la detección de 83% de las recidivas. Nuestros resultados son

mejores que los de Jong y otros, que no ven recurrencias en cualquier paciente con PSA <5 ng/ml.⁹ Probablemente, la diferencia se debe al uso de PET/CT, nuestros resultados son similares a los de otros autores¹⁰. Sin embargo, ningún umbral definitivo de PSA se ha descrito para indicar la aplicación de PET con [¹¹C]-colina, la positividad de PET es precisamente más importante en pacientes con PSA elevado en el rango bajo, ya que pueden beneficiarse de una respuesta mucho más eficaz y una terapia adecuada.

La capacidad de tratamiento antiandrogénico para reducir la absorción de [¹¹C]colina está actualmente en discusión. En nuestro estudio, no hubo diferencias significativas entre los pacientes tratados y no tratados con antiandrógenos.

El PET/CT demostró ser de utilidad en la detección de las recurrencias de pacientes con PSA elevado luego de tratamientos radicales de cancer de próstata, mostrando resultados superiores al usar [¹¹C]colina frente a la ¹⁸F-FDG. También se evidenció que la sensibilidad en estudios PET/CT usando la [¹¹C]colina, que ésta se encuentra directamente relacionada al PSA y que su captación es mayor en los pacientes que fueron tratados con prostatectomía quirúrgica que aquellos que fueron tratados con radioterapia radical, se pudo observar que el tratamiento antiandrogénico no parece modificar la sensibilidad.

La estadificación por medio de PET/CT con [¹¹C]colina tuvo un impacto directo para seleccionar las terapias más adecuadas luego de la recidiva de un cancer de próstata tratado radicalmente. El estudio concluye con la recomendación de la [¹¹C]colina incluso en pacientes con PSA < 1 ng/ml, en los cuales el diagnóstico precoz de la recurrencia tiene mayores repercusiones terapéuticas.

3.2. [¹¹C]metionina y ¹⁸F-FDG

Para la realización de esta comparación se uso el trabajo “[¹¹C]metionina y ¹⁸F-FDG tomografía por emisión de positrones/CT en la evaluación de pacientes con sospecha de gliomas primarios y residual/recurrente”.

La [¹¹C]metionina es un trazador de aminoácidos útil para el diagnóstico de tumores cerebrales¹¹. El objetivo de este trabajo era el de comparar los diagnósticos obtenidos en pacientes con sospecha de gliomas primarios y residual/recurrente en estudios realizados con PET/CT usando [¹¹C]metionina y ¹⁸F-FDG.

⁹ de Jong IJ, Pruim J, Elsinga PH, Vaalburg W, Mensink HJ. Preoperative staging of pelvic lymph nodes in prostate cancer by 11C-Choline PET. *J Nucl Med.* 2003; 44:331-5.

¹⁰ Picchio M, Messa C, Landoni C, Gianolli L, Sironi S, Brioschi M, et al. Value of 11Ccholine PET for re-staging prostate cancer: a comparison with 18F-FDG PET. *J Urol.* 2003;169:1337-40.

¹¹ Cook, G.J.R., Maisey, M.N., Fogelman, I., 1999. Normal variants, artefacts and interpretative pitfalls in PET imaging with 18-fluoro-2- deoxyglucose and carbon-11 methionine. *Eur. J. Nucl. Med.* 26, 1363-1378.

La tomografía por emisión de positrones (PET) con ^{18}F -FDG ha sido aprobada como una técnica de imagen útil para tumores cerebrales. La ^{18}F -FDG PET detecta tumores malignos debido al uso de glucosa. Sin embargo, la glucosa es el sustrato principal del sistema nervioso central y la ^{18}F -FDG se acumula fisiológicamente en el tejido cerebral normal, especialmente en la materia gris, produciendo un alto fondo metabólico en el PET. Por lo tanto, los tumores con hipo-o iso-actividad metabólica, como gliomas de bajo grado (LGG), gliomas de alto grado (HGG) en la materia gris, y los tumores recurrentes pueden quedar ocultos o invisibles. Esto puede dificultar el uso de la ^{18}F -FDG en el PET para detectar, delimitar y diferenciar los gliomas y los tumores residuales/recurrente de lesiones benignas y necrosis. La [^{11}C]metionina, es un trazador de aminoácidos, se acumula preferentemente en los tejidos tumorales, tienen bajo nivel de acumulación en el tejido cerebral normal, por lo que produce un buen contraste para resaltar el consumo. Se ha prestado considerable atención en determinar si la [^{11}C]metionina puede complementar las deficiencias de la ^{18}F -FDG para las lesiones cerebrales. Por otra parte, el híbrido PET/tomografía computarizada (PET/CT) supera la limitación del PET en la resolución espacial mediante la adición de la información anatómica de la CT y cada vez tiene mayor preferencia en oncología que las dos exploraciones realizadas por separado. El objetivo del estudio fue evaluar la utilidad diagnóstica del PET/CT con la [^{11}C]metionina en pacientes con sospecha clínica de gliomas en comparación con la ^{18}F -FDG[6].

Este estudio incluyó ochenta pacientes 53 hombres y 27 mujeres todos sospechosos de gliomas cerebrales. A todos les fueron realizados exámenes en equipos PET/CT con [^{11}C]metionina y ^{18}F -FDG entre los años 2007 a 2009. La edad promedio de los pacientes fue de 38 años y entre exámenes PET/CT con ^{18}F -FDG y [^{11}C]metionina no se presentaron más de 5 días de diferencia.

Los pacientes fueron divididos en dos grupos: grupo I estaba constituido por 44 pacientes recién diagnosticados con las características clínicas de los gliomas cerebrales y el grupo II consistió en 36 pacientes de postoperatorio con sospecha de glioma residual/recurrente. El diagnóstico histopatológico de los pacientes del grupo I fue establecido posteriormente por la resección quirúrgica o biopsia estereotáxica. Ninguno de ellos había recibido ningún tratamiento especial antes del examen PET/CT. La clasificación de tumor primario se realizó de acuerdo con el sistema clasificatorio de la Organización Mundial de la Salud para los tumores cerebrales[6].

La histopatología demostró que 26 pacientes tenían gliomas primarios y 18 tenían lesiones malignas de gliomas en el cerebro, aparte de esto permitió encontrar diferentes grados y tipos de gliomas. Los 26 pacientes con gliomas se dividieron en dos subgrupos: HGG (grado III - grado IV, $n = 14$) y LGG (grado I - grado II, $n = 12$).

El grupo II consistió en 36 pacientes que tuvieron resección quirúrgica previa de los gliomas y presentaban sospecha de tumor remanente/recurrente. El diagnóstico inicial de los pacientes del grupo II al igual que el grupo anterior incluyó distintos tipos de tumores y en distintos grados. El escaneo mediante PET/CT se realizó entre 6 días y 158 meses con una media de (28 meses), todo esto después de la resección

quirúrgica. Durante este período, 17 pacientes recibieron radioterapia, 3 pacientes recibieron radioterapia y quimioterapia y 16 pacientes no recibieron ningún tratamiento especial. El intervalo de tiempo entre las investigaciones con el PET/CT y el tratamiento duraron más de seis meses, excepto para un paciente que tenía una brecha de tres meses entre el PET CT y la radioterapia. Los tumores residuales o recurrentes posteriormente se verificaron en 28 pacientes y ocho pacientes se excluyeron mediante el examen histopatológico y/o seguimiento clínico durante más de seis meses[6].

PET/CT

Todos los estudios PET/CT se realizaron en un escáner GE Discovery LS de (GE Healthcare, Waukesha, Wisconsin, EE.UU.), los datos fueron procesados utilizando Xeleris Workstation (GE Healthcare). El ^{18}F se produjo usando un ciclotrón PETtrace (GE Healthcare). La ^{18}F -FDG fue sintetizada de forma automática por el sistema de síntesis TRACERlab FX_{F-N} (GE Healthcare). La pureza radioquímica de la producida ^{18}F -FDG fue mayor al 95 %. La [^{11}C]metionina se preparó usando el método descrito por Pascali et al¹². La pureza radioquímica de la [^{11}C]metionina producida fue mayor al 95 %.

Los pacientes fueron instruidos para que ayunaran al menos seis horas antes de la inyección del trazador. Los niveles de glucosa en la sangre fueron normales antes de la administración de la ^{18}F -FDG. Alrededor de 60 minutos después de la inyección de 259-444 MBq (8-12 mCi) de ^{18}F -FDG ó 10 minutos después de la inyección intravenosa de 370-555 MBq (10-15 mCi) de [^{11}C]metionina, se comenzó la adquisición de las imágenes, incluyendo una en la posición de la cama del PET que cubre la región de toda la cabeza en el modo de 3-dimensiones en 10 minutos y una tomografía no mejorado CT en el mismo rango. La CT se realizó primero con una tensión de 140 kV, con una intensidad de corriente de 160 mA, con 0,8-segundos de rotación del tubo, y 5 mm de espesor de sección.

Las imágenes PET fueron reconstruidas constantemente con subconjunto ordenado expectativa-maximización. La corrección de la atenuación se basa en los datos de la CT. Las imágenes del PET, la CT y el PET/CT fueron generadas y fusionadas automáticamente por un software dedicado a esto. El espesor de cada rebanada de PET y CT después de la reconstrucción fue de 4,25 mm[6].

Como se puede observar los métodos usados en este estudio para la producción de los radiofarmacos ^{18}F -FDG y [^{11}C]metionina son similares a los realizados al interior de la FCDN.

Después de la aplicación de los dos grupos de pacientes

RESULTADOS

[^{11}C]metionina - PET/CT

¹²Pascali C, Bogni A, Iwata R, Decise D, Crippa F, Bombardieri E. High efficiency preparation of L-[S-methyl- ^{11}C]methionine by on-column [^{11}C]methylation on C18 Sep-Pak. J Labelled Cpd Radiopharm 1999; 42: 715-724.

Pacientes del grupo I con 26 gliomas y 18 lesiones benignas verificadas por histopatología. En total, hubo 23 verdaderos positivos, 3 falsos positivos, 15 verdaderos negativos y 3 falsos negativos usando la [¹¹C]metionina en PET/CT, lo que supone una sensibilidad del 88,5 % (23/26), una especificidad del 83,3 % (15/18) y una precisión del 86,4 % (38/44). En los subgrupos, 13 HGG y 10 LGG fueron diagnosticados correctamente por [¹¹C]metionina PET/CT y todos ellos mostraron un aumento de la captación de [¹¹C]metionina (Fig 3.5 1 y 2)¹³. Por lo tanto, la sensibilidad de la [¹¹C]metionina PET/CT fue del 92,9 % (13/14) para HGG y del 83,3 % (10/12) para LGG. Los gliomas que se perdieron por [¹¹C]metionina PET/CT fueron de un grado III astrocitoma anaplásico, un astrocitoma de grado II y uno de grado I ganglioglioma, que presentaba niveles de captación casi iguales como el cerebro normal circundante o en su área contralateral. Tres falsos positivos se encontraron con [¹¹C]metionina PET/CT una encefalomalacia, una necrosis multifocal y un granuloma inflamatorio.

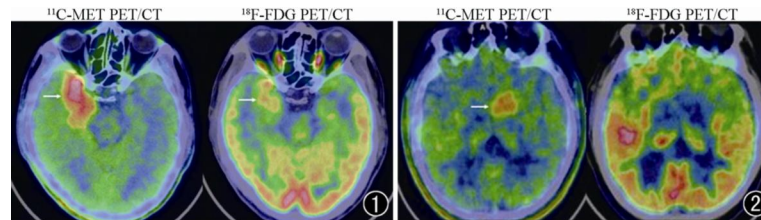


Figura 3.5.: Captaciones de la [¹¹C]metionina y ¹⁸F-FDG en glioblastoma y astrocitoma.

Para los pacientes del grupo II, se tomaron los resultados del examen histopatológico y/o seguimiento clínico como referencia, 27 verdaderos positivos, 1 falso positivo, 7 verdaderos negativos y 1 falso negativo se obtuvieron con la [¹¹C]metionina PET/CT. La sensibilidad, especificidad y exactitud de la [¹¹C]metionina PET/CT para los gliomas residual/recurrente fue del 96,4 % (27/28), 87,5 % (7/8) y 94,4 % (34/36), respectivamente. 28 pacientes aumentaron la captación regional de la [¹¹C]metionina (Fig 3.6 3 y 4)¹⁴. Se incluyeron 27 pacientes con gliomas residual/recurrente y una

¹³1. Hombre de 49 años de edad con glioblastoma temporal derecho. [¹¹C]metionina PET/CT muestra una captación regional del radiotrazador marcado en el lóbulo temporal derecho con un borde claro (flecha). La ¹⁸F-FDG PET/CT también muestra un aumento del metabolismo en el área correspondiente (flecha), pero la frontera en el enfoque no es tan clara como la que muestra la [¹¹C]metionina PET/CT. La resección quirúrgica confirmó que el límite en la [¹¹C]metionina fue consistente con la patología. / 2. Hombre de 36 años de edad con astrocitoma izquierdo en ganglios basales. La [¹¹C]metionina PET/CT regional muestra una mayor captación del radiotrazador en los ganglios basales izquierdos (flecha), no hay alteraciones apreciables de captación de la ¹⁸F-FDG PET/CT. La resección quirúrgica subsiguiente confirmó astrocitoma. El fondo bajo en [¹¹C]metionina destaca la captación tumoral.

¹⁴1. Hombre de 41 años de edad con glioma recurrente frontal izquierdo de grado II. La lesión frontal izquierda tiene una intensa captación de [¹¹C]metionina (cruz), pero es negativo en la ¹⁸F-FDG PET/CT. El contraste entre el tumor y el tejido cerebral normal es obviamente mayor

radiación de encefalopatía. Otros pacientes del grupo II fueron negativos. El falso negativo fue un tumor residual después de la resección de astrocitoma de grado II.

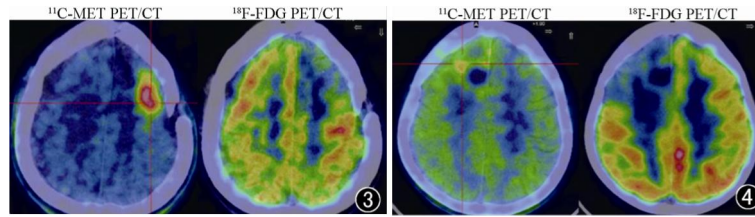


Figura 3.6.: Captaciones de la [¹¹C]metionina y ¹⁸F-FDG en glioma recurrente y gliosarcoma.

¹⁸F-FDG PET/CT

En los pacientes del grupo I, hubo 13 verdaderos positivos, 2 falsos positivos, 16 verdaderos negativos y 13 falsos negativos con la ¹⁸F-FDG PET/CT, lo que supone una sensibilidad de 50,0 % (13/26), una especificidad del 88,9 % (16/18) y una precisión del 65,9 % (29/44). En los subgrupos, nueve HGG y cuatro LGG mostraron alta actividad metabólica. La ¹⁸F-FDG PET/CT tuvo una sensibilidad del 64,3 % (9/14) para HGG y el 33,3 % (4/12) para LGG. En los falsos negativos el escaneo con la ¹⁸F-FDG PET/CT, mostró un gliosarcoma grado IV y un oligoastrocitoma grado II y en estos la actividad metabólica aumento levemente, mientras que las otras 11 lesiones mostraron una disminución del metabolismo de glucosa. Los dos falsos positivos de la ¹⁸F-FDG PET/CT fueron encefalitis viral. En el grupo II, hubo 13 verdaderos positivos, 8 verdaderos negativos y 15 falsos negativos con la ¹⁸F-FDG PET/CT. (Fig 3,6 3).

No se observaron falsos positivos en este grupo. La sensibilidad, especificidad y exactitud de la ¹⁸F-FDG PET/CT para gliomas residual/recurrente fueron 46,4 % (13/28), 100,0 % (8/8) y el 58,3 % (21/36), respectivamente. El aumento focal de actividad de la ¹⁸F-FDG sólo se observó en 13 de estos 28 pacientes. Todos los demás pacientes del grupo II carecían de hipermetabolismo regional detectable. El caso de falso negativo con la [¹¹C]metionina fue detectado por la ¹⁸F-FDG.

La comparación de [¹¹C]metionina PET/CT y la ¹⁸F-FDG PET/CT mediante el test de McNemar indicó que [¹¹C]metionina PET/CT es más sensible que la ¹⁸F-FDG PET/CT para la detección de glioma (88,5 % frente a 50,0 %; $\chi^2=6,75$, $P=0,006$).

en [¹¹C]metionina PET/CT. El mejor contraste con la [¹¹C]metionina podría tener ventajas en la detección de lesiones recurrentes en las regiones corticales. / 2. Mujer de 40 años de edad, con gliosarcoma frontal derecho remanente. La [¹¹C]metionina PET/CT muestra una mayor captación del trazador en una lesión en el margen de la zona operativa en el lóbulo frontal derecho (cruz), pero no hay aumento en la captación positiva con la ¹⁸F-FDG PET/CT. El mejor contraste con la [¹¹C]metionina podría beneficiar la detección de pequeñas lesiones remanentes que pueden ser útiles en la caracterización de las lesiones equívocas con la ¹⁸F-FDG.

La [¹¹C]metionina PET/CT detecta tumores más positivos que la ¹⁸F-FDG PET/CT, incluyendo 28.6 % (4/14) de HGG y el 50,0 % (6/12) de LGG (Figura 3.5 2).

En los subgrupos, la [¹¹C]metionina tuvo una sensibilidad mayor que la ¹⁸F-FDG en LGG (83,3 % frente a 33,3 %; $\chi^2 = 4,17$, $P = 0,031$), pero no había ninguna diferencia significativa en la sensibilidad con ¹⁸F-FDG en HGG (92,9 % frente a 64,3 %; $\chi^2 = 1,50$, $P = 0,219$). Dos casos LGG mostraron falso negativo en [¹¹C]metionina PET/CT y se pasaron por alto también en la ¹⁸F-FDG PET/CT, pero un HGG (grado III astrocitoma anaplásico) que fue negativo en [¹¹C]metionina apareció con una mayor captación de ¹⁸F-FDG. Para la detección de tumores residual/recurrente, la [¹¹C]metionina PET/CT es más sensible que la ¹⁸F-FDG PET/CT (96,4 % frente a 46,4 %; $\chi^2 = 10.56$, $P < 0,001$). Además, los tumores positivos y los remanente/recurrente tenía límites claros y de mayor tamaño en [¹¹C]metionina PET/CT que en ¹⁸F-FDG PET/CT (Figura 3.5 1), especialmente LGG y recurrencia en la materia gris (Figura 3.6 3). Lesiones equívocas con la ¹⁸F-FDG fueron positivas con la [¹¹C]metionina PET/CT (Fig 3.5 2 - Fig 3.6 4)[6].

Como se puede ver en este estudio, en la mayoría de los casos con este tipo de tumores se obtuvo un mejor resultado diagnóstico haciendo uso de la [¹¹C]metionina.

La evaluación precisa preoperatoria de los pacientes con gliomas es esencial para el tratamiento quirúrgico. La diferenciación entre tumores y lesiones benignas es de importancia crítica. La detección temprana de un tumor remanente/recurrente se asocia con una mejoría en la supervivencia del paciente. La CT y RM tradicionalmente usadas proporcionan información de localización precisa, pero a menudo fallan en mostrar la extensión precisa del tumor la diferenciación de una recidiva de fibrosis post-quirúrgica, radionecrosis y edema.

Nuestros resultados demuestran la alta sensibilidad de la [¹¹C]metionina PET/CT en la detección de los gliomas cerebrales y tumores residual/ recurrente, en comparación con la ¹⁸F-FDG PET/CT, el 38,5 % (10/26) de los gliomas tenía baja captación de la ¹⁸F-FDG, pero mostraron un aumento de la captación de la [¹¹C]metionina, el 96,4 % (27/28) de los gliomas residual/recurrente fueron detectados utilizando [¹¹C]metionina PET/CT, mientras que el 46,4 % (13/28) fueron detectados utilizando ¹⁸F-FDG PET/CT. El gran contraste en [¹¹C]metionina permite la detección de pequeñas lesiones malignas que son difíciles de detectar con ¹⁸F-FDG¹⁵. Algunos autores también reportaron que, incluso cuando no es visible con la captación de la ¹⁸F-FDG, el aumento de la captación de [¹¹C]metionina se ve en varios tipos de gliomas.¹⁶

¹⁵ Van Laere K, Ceysens S, Van Calenbergh F, de Groot T, J Menten, Flamen P, et al. La comparación directa de ¹⁸F-FDG y ¹¹C-metionina PET en sospecha de recidiva de glioma: La sensibilidad, la variabilidad entre observadores y valor pronóstico. *Eur J Med Nucl Mol imágenes* de 2005, 32: 39-51.

¹⁶ Chung JK, YK Kim, Kim SK, YJ Lee, S Paek, Yeo JS, et al. Utilidad de la ¹¹C-metionina PET en la evaluación de las lesiones cerebrales que son hipo o iso metabólicas sobre ¹⁸F-FDG PET. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2002; 29: 176-182.

En el presente estudio, 83,3 % (10/12) de LGG aumentó la absorción de la [¹¹C]metionina, mientras que sólo el 33,3 % (4/12) mostró resultados positivos sobre la ¹⁸F-FDG PET/CT (Fig 3.5 2). Para la detección de gliomas de alto grado, se observó que la sensibilidad de la [¹¹C]metionina PET/CT fue mayor que la de la ¹⁸F-FDG PET/CT, pero su diferencia no fue estadísticamente significativa. Otra superioridad de [¹¹C]metionina PET/CT es la limitación precisa de la extensión del tumor¹⁷. Debido a la naturaleza infiltrante y la heterogeneidad de los gliomas, la ¹⁸F-FDG no siempre presenta la verdadera extensión del tumor. Además, los límites del tumor difícilmente podrían observarse debido al fondo por el alto metabolismo.

La función de clasificación de la ¹⁸F-FDG PET/CT fue confirmada por el presente estudio. La relación de absorción T/G de la ¹⁸F-FDG en HGG era significativamente mayor que en LGG ($1,05 \pm 0,37$ frente a $0,66 \pm 0,14$, $P < 0,05$). Por tanto, la ¹⁸F-FDG se sugiere como el marcador no invasivo de elección para los indicadores semi-cuantitativos de clasificación histológica de los gliomas. La [¹¹C]metionina ha sido sugerida como un trazador complementario, útil para delimitar la extensión de la tumor¹⁸. Sin embargo, nuestros resultados sugieren también que la ¹⁸F-FDG se limita a la diferenciación entre LGG y lesiones benignas con no glioma, la proporción de captación T/G de la ¹⁸F-FDG fue ($0,66 \pm 0,14$ frente a $0,63 \pm 0,17$, $P = 0,754$). Esta deficiencia de la ¹⁸F-FDG PET/CT puede complementarse con la [¹¹C]metionina PET/CT. En nuestro estudio, los coeficientes de absorción T/G de la [¹¹C]metionina en LGG fueron significativamente más altos que los de las lesiones benignas ($1,78 \pm 0,61$ frente a $1,06 \pm 0,34$, $P < 0,05$), lo que permite la detección y diferenciación de LGG de lesiones benignas.

El uso clínico de la [¹¹C]metionina se centra principalmente en los campos tales como la detección de gliomas y la recurrencia, guía de biopsia, y la delimitación del volumen destino de terapia de radiación, no en clasificación del tumor. Sin embargo, la [¹¹C]metionina todavía tiene varias limitaciones dignas de mención. La primera es la corta vida media del ¹¹C que es de 20 minutos y el metabolismo rápido de la [¹¹C]metionina, lo que limita su utilización generalizada. El segundo, los resultados falsos positivos y falsos negativos pueden disminuir la confianza de los médicos clínicos para el uso de estos radiofarmacos. En nuestro estudio, hubo tres resultados falsos negativos de la [¹¹C]metionina PET/CT (uno de grado III astrocitoma anaplásico, un astrocitoma de grado II y un ganglioma grado I) y tres resultados falsos positivos (un granuloma inflamatorio, una necrosis multifocal y una encefalomalacia). Las causas reportadas de falso positivo en la [¹¹C]metionina PET incluyen desmielinización, necrosis, isquemia subaguda o crónica, absceso cerebral, infarto agudo, hematoma intracraneal y otros tumores intracranianos. El posible me-

¹⁷Kracht LW, Miletic H, Busch S, Jacobs AH, Voges J, Hoevels M, et al. Delineation of brain tumor extent with [¹¹C]L-methionine positron emission tomography: local comparison with stereotactic histopathology. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 7163-7170.

¹⁸Borbély K, Nyáry I, Tóth M, Ericson K, Gulyás B. Optimization of semi-quantification in metabolic PET studies with ¹⁸F-fluorodeoxyglucose and ¹¹C-methionine in the determination of malignancy of gliomas. *J Neurol Sci* 2006; 246: 85-94.

canismo de acumulación de la [^{11}C]metionina en las lesiones benignas sigue siendo incierto. Los peligros de la utilización de la [^{11}C]metionina deben tenerse en cuenta en el diagnóstico de lesiones que pueden dar positivo pero son benignas[6].

Este estudio lleva a la conclusión que los dos radiofarmacos proporcionan información diferente sobre el metabolismo de los gliomas cerebrales, allí se demuestra que la [^{11}C]metionina es superior en algunos aspectos frente a la ^{18}F -FDG como por ejemplo la limitación de gliomas de bajo grado presentes en la materia gris. el uso combinado de los dos radiofarmacos mejora la capacidad de evaluación de la PET/CT para la detección de los gliomas, lo que permite dar un buen diagnóstico y por tanto un buen tratamiento.

4. Análisis y Conclusiones

4.1. Análisis

El trabajo se realizó con base a las prácticas de observación en el área de producción del equipo de radiofarmacia de la FCDN. En dichas prácticas se evidenciaron los procesos de síntesis seguidos en la elaboración de radiofármacos del $[^{11}\text{C}]$. Dichos radiofármacos son usados en estudios de pacientes propios o remitidos a la FCDN, los radiofármacos usados son la $[^{11}\text{C}]$ colina y la $[^{11}\text{C}]$ metionina que se desarrollan in-situ, mediante un equipo TRACERlab FX_C PRO. El método usado por el equipo de radiofarmacia es similar al desarrollado por Pascali¹, en el cual se hace uso de columnas SPE, esto permitió la reducción en los tiempos de síntesis y por tanto una buena reproducibilidad del método.

Si bien, en el desarrollo del estudio se pudo observar que el radiofármaco de mayor uso clínico es la ^{18}F -FDG, los radiofármacos del $[^{11}\text{C}]$ - $[^{11}\text{C}]$ colina y $[^{11}\text{C}]$ metionina adquieren fuerza debido a su especificidad en la detección de pacientes que han tenido tratamientos radicales previos, en cáncer de próstata y tumores cerebrales respectivamente, lo que muestra una superioridad de la $[^{11}\text{C}]$ colina y la $[^{11}\text{C}]$ metionina frente a la ^{18}F -FDG en la realización de estos diagnósticos específicos. Esto se infiere mediante la lectura de estudios que demuestran para estos radiofármacos una mejor marcación tumoral en estos tejidos, es así como la $[^{11}\text{C}]$ colina presenta una alta captación por pequeños tumores en la próstata pero no presenta un fondo alto, dando así la opción a una localización temprana e ideal de estas lesiones, del mismo modo la $[^{11}\text{C}]$ metionina muestra una absorción preferente por tejido tumoral cerebral, lo que brinda al igual que la $[^{11}\text{C}]$ colina en la próstata un bajo fondo, permitiendo de esta manera una buena detección y diagnóstico que entregan las herramientas necesarias para realizar un tratamiento adecuado y mejorar la calidad de vida de los pacientes durante el tratamiento de la enfermedad.

Aunque la producción de ^{18}F -FDG se realiza diariamente, la de los radiofármacos del $[^{11}\text{C}]$ - $[^{11}\text{C}]$ colina (en mayor medida) y $[^{11}\text{C}]$ metionina se realiza dos días a la semana, una buena periodicidad en la producción, lo que indica que más personal médico considera los beneficios de estos radiofármacos para detecciones tempranas y tratamientos adecuados a este grupo de pacientes.

¹Pascali C, Bogni A, Iwata R, Mara C, Bombardieri E. $[^{11}\text{C}]$ methylation on a C18 Sep-Pak cartridge: a convenient way to produce $[N\text{-methyl-}^{11}\text{C}]$ choline. *J Labelled Compd Radiopharm* 2000;43: 195–203.

En el diario desarrollo de producción de radiofármacos en las instalaciones de la FCDN, se pudo observar que el personal se encuentra altamente calificado para el desarrollo de sus funciones, además de contar con una amplia experiencia, lo que permitiría una rápida reacción para enfrentar problemas que pudieran presentarse en el desarrollo de su ejercicio profesional.

Una de las cosas a resaltar en el desarrollo de este trabajo, es que la FCDN cuenta con un excelente equipo para la síntesis de los radiofármacos del $[^{11}\text{C}]$ y un grupo de radiofarmacia que aunque pequeño es sólido y comprometido con el desarrollo diario de sus funciones, sin embargo, sería de gran utilidad contar con mayor personal en esta área, ya que si bien la producción se desarrolla y entrega con las calidades deseadas, la cantidad de personal no es suficiente para permitir el desarrollo y evaluación de nuevos radiofármacos en el equipo TRACERlab FX_C PRO y los otros equipos de producción. Es de mencionar esta parte debido a que el equipo con que cuenta la FCDN está pensado para la enseñanza y la investigación, pero con poco personal se hace difícil dedicar tiempos a la investigación, enseñanza y desarrollo de nuevas preparaciones, si bien se hacen algunos desarrollos, no es lo suficiente para el máximo provecho del equipo y la experiencia del personal.

Dado que el equipo TRACERlab FX_C PRO de la FCDN está pensado para el desarrollo e investigación de nuevos radiofármacos del $[^{11}\text{C}]$, en este trabajo se considera que una falencia por parte de la FCDN se presenta por la poca atención que se presta a la posibilidad que tiene para la preparación de nuevos radiofármacos que sean útiles a otros grupos de pacientes, ya que a la fecha solo se ha usado la mitad del equipo en la producción de la $[^{11}\text{C}]$ colina y la $[^{11}\text{C}]$ metionina, pero con la otra parte del equipo podrían elaborarse otros radiofármacos del $[^{11}\text{C}]$ y capacitar a un mayor número de profesionales en esta área. La mayor limitante a esta idea es la falta de personal que permita tiempos adecuados para la investigación, desarrollo, enseñanza y puesta a punto de nuevas preparaciones, por esta razón sería recomendable aprovechar la oportunidad de generar nuevos desarrollos ayudados por la experiencia del personal y los equipos con que cuenta.

4.2. Conclusiones

Luego de realizar el estudio de producción de los radiofármacos del $[^{11}\text{C}]$ - $[^{11}\text{C}]$ colina y $[^{11}\text{C}]$ metionina y sus aplicaciones, se puede concluir en este trabajo que la producción y uso de los mismos en las instalaciones de la FCDN se encuentra a punto, lo que da confiabilidad sobre los procesos desarrollados allí y brinda perspectivas positivas para el desarrollo de nuevas preparaciones del $[^{11}\text{C}]$ que permitan realizar estudios con mayor especificidad como lo hacen la $[^{11}\text{C}]$ colina y la $[^{11}\text{C}]$ metionina y a su vez complementen cuando sea necesario los estudios realizados con la ^{18}F -FDG o los sustituyan por la obtención de mejores resultados.

Todo esto dado que se cuenta con personal altamente calificado y los equipos necesarios para estos desarrollos, ofreciendo beneficios a los pacientes, con miras a la

detección temprana de tumores, lo que brindaría a estos pacientes una mejor calidad de vida debido a la detección temprana en otros órganos y ampliaría el espectro de beneficiados por estas nuevas preparaciones; además de facilitar la toma de decisiones por parte del personal médico para la aplicación de los tratamientos adecuados.

A. Síntesis de radiofármacos del [¹¹C] - [¹¹C]colina y [¹¹C]metionina

El ¹¹C es un radionucleido atractivo para PET, ya que el carbono es un elemento ubicuo en las biomoléculas por lo tanto, no cambia la estructura química ni las propiedades bioquímicas in vivo. Además, la posibilidad de elegir entre posiciones diferentes de etiquetado en la misma molécula ofrece la posibilidad de refinar el radiofármaco en términos de estabilidad metabólica y la relación de fondo no específica¹. La corta vida de ¹¹C también permite estudios comparativos de PET con los mismos radiofármacos del [¹¹C] (estudios multitracer) en un corto período de tiempo con una dosimetría favorable para los pacientes². Por otro lado, la producción de estos radiofármacos deben realizarse en instalaciones de PET con ciclotrones en el lugar y debe ser tan rápido como sea posible para reducir la pérdida de actividad.

En los últimos años, los radiofármacos del [¹¹C] han ganado cada vez más importancia en el PET clínico, con aplicaciones relevantes principalmente en oncología clínica, en casos de limitaciones del radiofármaco PET estándar por excelencia la 2 - [¹⁸F] fluor-2-desoxi-D-glucosa ¹⁸F-FDG, un análogo de la glucosa utilizado para la estadificación, reestadificación y evaluación de la respuesta al tratamiento de una variedad de tumores³. Entre estos los radiofármacos del [¹¹C], la N-[¹¹C]metil-colina [¹¹C] colina, L-(S-metil-[¹¹C]) metionina [¹¹C] metionina y l-[¹¹C]acetato de metilo [¹¹C] acetato (Fig. A.1) se utilizan ampliamente en el PET clínico con importantes aplicaciones en oncología⁴.

¹Osman S, Lundkvist C, Pike VW, Halldin C, McCarron JA, et al. Characterisation of the appearance of radioactive metabolites in monkey and human plasma from the 5-HT1A receptor radioligand, [carbonyl-¹¹C]WAY-100635. Explanation of high signal contrast in PET and an aid to biomathematical modelling. Nucl Med Biol 1998; 25(3):215–23.

²Antoni G, Kihlberg T, Langstrom B. Aspect on the synthesis of ¹¹Clabelled compounds. In: Welch MJ, & Redvanly CS, editors. Handbook of radiopharmaceuticals; 2003, pp. 141–94.

³Kostakoglu L, Agress H, Goldsmith SF. Clinical role of FDG PET in evaluation of cancer patients. Radiographics 2003;23:315–40.

⁴Pantaleo MA, Nannini M, Maleddu A, Fanti S, Ambrosini V, Nanni C, et al. Conventional and novel PET tracers for imaging in oncology in the era of molecular therapy. Cancer Treat Rev 2008;34(2): 103–21.

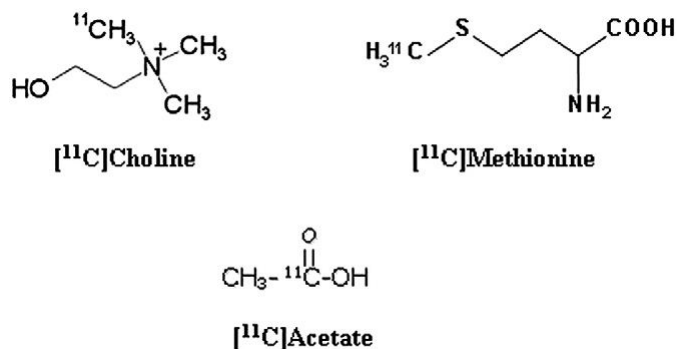


Figura A.1.: Estructuras químicas de algunos radiofármacos del [¹¹C]

Rápidas y eficientes reacciones de etiquetado y métodos de purificación son necesarios para tener un alto rendimiento radioquímico, lo que resulta en radiofármacos de alta calidad y mucha actividad disponibles para uso clínico. Varios métodos de etiquetado se han descrito en la literatura para satisfacer la creciente demanda de estos productos radiofarmacéuticos para la rutina clínica. Cada uno de ellos presenta algunas ventajas y desventajas, así como las diferencias en rendimiento radioquímico, el tiempo de síntesis general, los procedimientos de purificación radioquímica, la pureza química del producto final y la idoneidad para la automatización de procesos.

Los radiofármacos oncológicos del [¹¹C], tales como [¹¹C]colina y [¹¹C]metionina se transportan generalmente en la célula y no son moléculas de afinidad receptorial, haciendo de la actividad específica un factor menos importante.

A.1. Radiofármacos Oncológicos

La [¹¹C]colina es una sal de amonio cuaternario, es importante para el metabolismo celular. Esta molécula está implicada en la transducción de la señal celular, en el metabolismo de las lipoproteínas y en la biosíntesis de fosfatidilcolina, el principal componente de la membrana de la célula eucariota⁵. En la biosíntesis de este fosfolípido, la colina es fosforilada por la quinasa colina a fosforilcolina que se convierte en fosfatidilcolina. Se ha demostrado que varios tumores malignos sobreexpresan colina quinasa⁶, lo que resulta en niveles incrementados de fosforilcolina por acumulación de colina libre para la síntesis de la membrana celular^{7,8}. Por esta razón,

⁵Pelech SL, Vance DE. Signal transduction via phosphatidylcholine cycles. *Trends Biochem Sci* 1989;14:28-30.

⁶Glunde K, Bhujwalla ZM. Choline kinase alpha in cancer prognosis and treatment. *Lancet Oncol* 2007;8:855-7.

⁷Al-Saeedi F, Smith T, Welch A. [Methyl-3H]-choline incorporation into MCF-7 cells: correlation with proliferation, choline kinase and phospholipase D assay. *Anticancer Res* 2007;27:901-6

⁸Katz-Brull R, Margalit R, Bendel P, Degani H. Choline metabolism in breast cancer; 2H-, 13C- and 31P-NMR studies of cells and tumors. *MAGMA* 1998;6(1):44-52.

la [^{11}C]colina se introdujo como un producto radiofarmacéutico para los estudios oncológicos de PET en una variedad de enfermedades malignas^{9,10}. Entre estos, la aplicación clínica más importante es en el cáncer de próstata^{11,12}, donde la ^{18}F -FDG ha demostrado no ser exacta debido a la baja captación, relacionada con la menor expresión de proteínas transportadoras de glucosa y a la gran excreción de la ^{18}F -FDG por vía urinaria, que interfiere con la formación de imágenes en la zona de la pelvis. La [^{11}C]colina se acumula rápidamente por el cáncer de próstata y continua manteniendo una absorción constante a partir de entonces, lo que permite una mejor visualización de este tipo de tumor¹³. Este radiofármaco se empleó para la detección de la recurrencia del tumor local o distante después de una prostatectomía radical ó radioterapia. La [^{11}C]colina también ha sido usada para cada una de las etapas del cáncer de próstata y los resultados preliminares están disponibles.

La [^{11}C]metionina es un análogo marcado del aminoácido esencial metionina. Esta molécula entra en varias vías metabólicas tales como la síntesis de proteínas y la conversión de S-adenosilmetionina, que es el principal donante biológico grupo metilo y precursor de la cisteína entre otros. Las células tumorales presentan una mayor expresión de los sistemas transportadores de aminoácidos, así como la síntesis de proteínas con un aumento de la demanda de metionina¹⁴. Por estas razones, la [^{11}C]metionina se utilizó como radiofarmaco oncológico en el estudio de tumores cerebrales¹⁵ ya que los transportadores de aminoácidos se sobreexpresan para aumentar la absorción de los aminoácidos. Además, como la [^{11}C]metionina mostró poca aceptación en el tejido normal del cerebro en comparación con la ^{18}F -FDG, por lo que la baja captación fisiológica permite una mejor identificación y delimitación de tumores de grado bajo a intermedio.

La [^{11}C]metionina ha encontrado aplicaciones clínicas en caso de sospecha de recurrencia de gliomas, para delimitar el volumen de la radioterapia, así como una guía para la biopsia estereotáctica cerebral, para vigilar y predecir la respuesta al

⁹Nanni C, Zamagni E, Cavo M, Rubello D, Tacchetti P, Pettinato C, et al. ^{11}C -choline vs. ^{18}F -FDG PET/CT in assessing bone involvement in patients with multiple myeloma. *World J Surg Oncol* 2007;20(5): 68.

¹⁰Contractor KB, Kenny LM, Stebbing J, Al-Nahhas A, Palmieri C, Sinnett D, et al. [^{11}C]choline positron emission tomography in estrogen receptor-positive breast cancer. *Clin Cancer Res* 2009; 15(17):5503–10.

¹¹Murphy RC, Kawashima A, Peller PJ. The utility of ^{11}C -choline PET/CT for imaging prostate cancer: a pictorial guide. *Am J Roentgenol* 2011;196(6):1390–8.

¹²Fuccio C, Rubello D, Castellucci P, Marzola MC, Fanti S. Choline PET/CT for prostate cancer: main clinical applications. *Eur J Radiol* 2010;80(2):50–6.

¹³Sutinen E, Nurmi M, Roivainen A, Varpula M, Tolvanen T, Lehtikainen P, et al. Kinetics of [^{11}C]choline uptake in prostate cancer: a PET study. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2004;31:317–24.

¹⁴Ishiwata K, Vaalburg W, Elsinga PH, Paans AMJ, Woldring M. Comparison of L-[^{11}C]methionine and L-methyl-[^{11}C]methionine for measuring in vivo protein synthesis rates with PET. *J Nucl Med* 1988;29:1419–27.

¹⁵Sato K, Kameyama M, Ishiwata K, Hatazawa J, Katakura R, Yoshimoto T. Dynamic study of methionine uptake in glioma using positron emission tomography. *Eur J Nucl Med* 1992;19(6): 426–30.

tratamiento médico. El uso de la $[^{11}\text{C}]$ metionina también se investigó en varias aplicaciones tales como hiperparatiroidismo, tumores de cabeza y cuello y cáncer de pulmón.

A.1.1. Métodos de síntesis

La síntesis de la $[^{11}\text{C}]$ colina, es una metilación del precursor de amino N, N'-dimetilaminoetanol DMAE con $[^{11}\text{C}]\text{CH}_3\text{I}$ o $[^{11}\text{C}]\text{CH}_3\text{OTf}$, agentes de metilación (Fig. A.2).

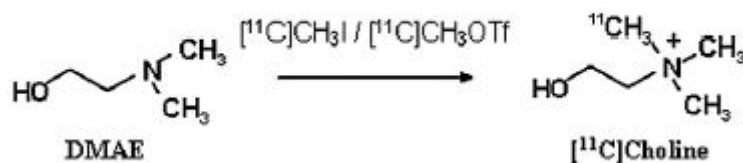


Figura A.2.: Síntesis de la $[^{11}\text{C}]$ colina

Durante la metilación de la, el DMEA se comporta como un precursor de $[^{11}\text{C}]$ colina y disolvente de reacción. Sin embargo, con el fin de mantener DMEA residual en el producto lo más bajo posible debido a la competencia con $[^{11}\text{C}]$ colina en la captación celular in vivo y para mejorar la pureza química del producto¹⁶, el DMEA también puede diluirse con diferentes disolventes. El proceso de metilación es entonces seguido por la purificación y formulación del producto con el fin de obtener una solución inyectable estéril para uso clínico con alta pureza química y radioquímica.

En el cuadro A.1 se presentan algunos métodos publicados recientemente de síntesis para este radiofármaco con agentes metilantes.

¹⁶Rosen MA, Jones RM, Yano Y, Budinger TF. Carbon-11 choline: synthesis, purification, and brain uptake inhibition by 2-dimethylaminoethanol. J Nucl Med 1985;26:1424-8.

Some recent synthesis methods for [^{11}C]choline		
Authors and year	[^{11}C]Methylation agent	Method of synthesis
Pascali et al., 2000	[^{11}C]CH ₃ I	SPE (on column)
Hara and Yuasa, 1999	[^{11}C]CH ₃ I	Bubbling
Reischl et al., 2004	[^{11}C]CH ₃ I	SPE (loop)
Quincoces et al., 2006	[^{11}C]CH ₃ I	SPE (on column)
Kuznetsova et al., 2003	[^{11}C]CH ₃ I	SPE (on column)
Mishani et al., 2001	[^{11}C]CH ₃ I	Bubbling
Zhang et al., 2006	[^{11}C]CH ₃ I	Bubbling
Roivainen et al., 2000	[^{11}C]CH ₃ OTf	Bubbling
Zheng et al., 2004	[^{11}C]CH ₃ OTf	Bubbling
Lodi et al., 2008	[^{11}C]CH ₃ I	SPE (on column)
Smith et al., 2006	[^{11}C]CH ₃ I	SPE (loop)
Shao et al., 2011	[^{11}C]CH ₃ I	SPE (on column)

Cuadro A.1.: Métodos de síntesis para la [^{11}C]colina

Pascali et al.¹⁷ introdujo el enfoque de síntesis en fase sólida en la realización de la reacción de metilación del [^{11}C] en una columna C18 SPE donde se cargo DMEA. Los avances reales de este método sobre el método de burbujeo convencional fueron la facilidad del proceso y la automatización, así como la reducción del tiempo de síntesis global. El [^{11}C]CH₃I se entregó en una columna Sep-Pak C18 (Waters) donde se cargaron 60 μl de DMEA; la reacción tuvo lugar a temperatura ambiente, y el exceso de precursor se eliminó haciendo pasar etanol y agua a través de la columna. La [^{11}C]colina fue retenida por otra columna SPE de intercambio catiónico (Sep-Pak Accell Plus CM, Waters) y se eluyó con solución de NaCl al 0,9 %. El rendimiento obtenido, sobre la base del [^{11}C]CO₂ producido, fue del 87 % y la pureza radioquímica fue superior a 99,5 %. El tiempo de síntesis total fue de 12 min. La concentración residual de DMEA en el producto fue de 28 $\mu\text{l}/\text{ml}$. Este método se aplicó en la producción rutinaria de la [^{11}C]colina por Lodi et al.¹⁸. Este grupo analizó la fiabilidad y la reproducibilidad de este método, informaron sobre los resultados a largo plazo del estudio y la solución de problemas más frecuentes. Quincoces et al.¹⁹ utilizó esta técnica SPE para realizar una síntesis simultánea de [^{11}C]colina y [^{11}C]metionina

¹⁷Pascali C, Bogni A, Iwata R, Mara C, Bombardieri E. [^{11}C] methylation on a C18 Sep-Pak cartridge: a convenient way to produce [N-methyl- ^{11}C]choline. *J Labelled Compd Radiopharm* 2000;43: 195–203.

¹⁸Lodi F, Rizzello A, Trespidi S, Di Pierro D, Marengo M, Farsad M, et al. Reliability and reproducibility of N-[^{11}C]methyl-choline and L-(Smethyl-[^{11}C])methionine solid-phase synthesis: a useful and suitable method in clinical practice. *Nucl Med Commun* 2008;29:736–40.

¹⁹Quincoces G, Penuelas I, Valero M, Serra P, Collantes M, Martí- Climent J, et al. Simple automated system for simultaneous production of ^{11}C -labeled tracers by solid supported methylation. *Appl Radiat Isot* 2006;64:808–11.

con el fin de obtener diferentes radiofármacos del $[^{11}\text{C}]$ para estudios clínicos en un tiempo corto.

La síntesis de la $[^{11}\text{C}]$ metionina es una metilación del anión sulfuro de la L-homocisteína obtenido en presencia de una base a partir del precursor L-homocisteína tiolactona²⁰ (Fig. 8).

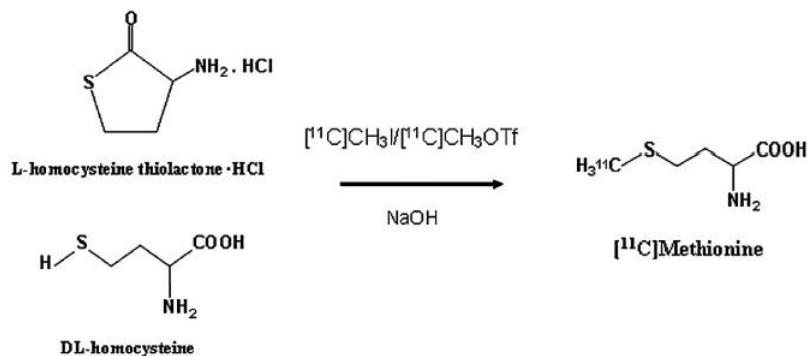


Figura A.3.: Síntesis de la $[^{11}\text{C}]$ metionina

Recientemente se introdujo la SPE para la metilación del $[^{11}\text{C}]$, con la respectiva mejora de la síntesis de estos radiofármacos. La ventaja de este método más que el método de burbujeo convencional es la simplicidad del proceso y la automatización (la reacción se lleva a cabo a temperatura ambiente, el tiempo de reacción es más corto y se elimina el tiempo de purificación por HPLC). En cuanto a $[^{11}\text{C}]$ colina, Pascali et al.²¹ describe el método de síntesis en fase sólida también para la $[^{11}\text{C}]$ metionina. La metilación con $[^{11}\text{C}]\text{CH}_3\text{I}$ se realizó a temperatura ambiente sobre una columna Sep-Pak C18 desechable cargada con el precursor de hidrocloreuro de L-homocisteína tiolactona con un buen rendimiento radioquímico y el tiempo de síntesis fue corto (11 min). Además, la columna C18 proporcionó una purificación del producto, que se obtuvo con una pureza radioquímica $>99\%$. Para obtener una concentración óptima para la realización de la síntesis de la colina se han hecho algunos esfuerzos se usó NaOH y etanol con el fin de alcanzar un alto rendimiento radioquímico y alta pureza enantiomérica de la forma L.

En la Tabla 2 se presentan algunos métodos de síntesis reciente de $[^{11}\text{C}]$ metionina[7].

²⁰Comar D, Cartron J, Maziere M, Marazano C. Labelling and metabolism of methionine-methyl- ^{11}C . Eur J Nucl Med 1976;1:11-4.

²¹Pascali C, Bogni A, Iwata R, Decise D, Crippa F, Bombardieri E. High efficiency preparation of L-[S-methyl- ^{11}C]methionine by oncolumn $[^{11}\text{C}]$ methylation on C18 Sep-Pak. J Labelled Compd Radiopharm 1999;42:715-24.

Some recent synthesis methods for [¹¹ C]methionine		
Authors and year	[¹¹ C]Methylation agent	Method of synthesis
Pascali et al., 1999	[¹¹ C]CH ₃ I	SPE (on column)
Gomez et al., 2008	[¹¹ C]CH ₃ I	SPE (loop)
Mitterhauser et al., 2005	[¹¹ C]CH ₃ I	SPE (on column)
Quincoes et al., 2006	[¹¹ C]CH ₃ I	SPE (on column)
Nagren and Halldin, 1998	[¹¹ C]CH ₃ OTf	Bubbling
Lodi et al., 2008	[¹¹ C]CH ₃ I	SPE (on column)
Gomzina and Kuznetsova, 2011	[¹¹ C]CH ₃ I	SPE (on column)

Cuadro A.2.: Métodos de síntesis para la [¹¹C]metionina

B. Descripción del equipo TRACERlab FX_C PRO

En este apéndice se presenta una breve descripción del equipo TRACERlab FX_C PRO

B.1. Descripciones Técnicas

La FCDN cuenta con un sistema TRACERlab FX_C PRO controlado por computadora, este sistema obtenido de GE Medical Systems presenta una descripción de las de las distintas partes que lo componen, características y rangos de funcionamiento, las mismas se desarrollan brevemente a continuación[8].

B.1.1. Modulo de síntesis

En el modulo de síntesis se desarrolla la producción de la $[^{11}\text{C}]\text{CH}_3\text{I}$ y la reacción de metilación. Las especificaciones técnicas de este modulo se presentan en el siguiente cuadro

Fuente de alimentación	Fuente de alimentación externa para calefacción y detector UV
Tamaño (cerrado)	(Largo 450 ; Profundo 500 ; Ancho 480) mm
Tamaño (abierto)	(Largo 450 ; Profundo 820 ; Ancho 480) mm
Espacio requerido	(Largo 730 ; Profundo 710 ; Ancho 520) mm [sin acero inoxidable] (Largo 790 ; Profundo 690 ; Ancho 480) mm [con acero inoxidable]
Peso	40 kg

Cuadro B.1.: Especificaciones técnicas del modulo de síntesis

Para que estos procesos se desarrollen, el modulo cuenta con varias etapas, en cada una de estas se desarrollan procesos específicos, estas divisiones son[9]:

1. Conectores para el conjunto de purificación y filtros estériles
2. Viales para los reactivos: Los viales para los reactivos son recipientes de vidrio con una capacidad específica, se encuentran conectados a tuberías y válvulas a través de conectores en la parte superior e inferior de los mismos. Para llenar los viales se debe pinchar un tabique ubicado en la parte frontal de estos, este procedimiento se realiza con la ayuda de una aguja de inyección estéril.
3. Reactor con un cilindro neumático para la aguja reactor PEEK y detector tipo Geiger Mueller para la medición de la actividad: El reactor es un recipiente especial hecho de vidrio de borosilicato. Se calienta en un horno de latón y se enfría por convección de aire comprimido, las temperaturas que debe alcanzar para los procesos que se desarrollan es controlada mediante software. La aguja reactor está hecha de PEEK, un cilindro neumático mueve la aguja hacia abajo a su punto más profundo. La aguja vacía el recipiente de presión con gas inerte. Tubos de teflón están unidos a la cabeza del reactor estos conectan los tubos de los reactivos al recipiente de reacción.
4. Columna para purificación para HPLC
5. Válvula de Inyección
6. Recipiente recolector con un contador de GM
7. Recipiente para la recolección de la solución intermedia
8. Sistema de producción de $[^{11}\text{C}]\text{CH}_3\text{I}$, este consta de:
 - 3 cartuchos
 - Una bomba
 - 4 Contadores GM
 - Una trampa de enfriamiento
 - 7 calentadores[9]

B.1.2. Unidad de control

La unidad de control permite regular todos los procesos químicos y físicos al interior del sistema TRACERlab FX_C PRO, el programa se encarga de controlar presiones, temperaturas y procesos de liberación de válvulas, regula los procesos químicos mediante parámetros asignados, además de registrar el historial de los procesos de síntesis.

La unidad de control está diseñada para aceptar diferentes tipos y cantidades de deslizamiento en las tarjetas para ajustarse a los requisitos de las aplicaciones de control. Esta unidad se almacena encima o debajo de la celda caliente sobre una superficie plana y limpia[8].

Dimensiones	(Largo 480 ; Profundo 260 ; Ancho 140) mm
Peso	10 kg
Fuente de poder	115 V, 60Hz 230 V, 50 Hz
Fusible de alimentación	T2A 230 V T4A 115 V

Cuadro B.2.: Especificaciones técnicas de la unidad de control

B.1.3. Calentador

El sistema cuenta con siete calentadores de los cuales seis se usan para el sistema productor de CH₃I y uno en el reactor, las especificaciones de este sistema se especifica a continuación

Horno	Función	Poder/W	Temperatura de calefacción	Temperatura de enfriamiento
1	CO ₂ - CH ₄	100	450	
2	Trampa CH ₄	100	20	-150
3	I ₂	100	125	
4	Mel	300	750	
5	Trampa Mel	100	150-200	Ca. 80
6	MeTF	100	180	
7	Reactor	100	200	

Cuadro B.3.: Especificaciones técnicas del sistema de control de temperatura

Calentamiento Tension / Potencia	24 VAC / 100 VA (para cada calentador)	
Max. temperatura de la superficie	130°C	
Materiales del reactor	Recipiente	Cristal de Cuarzo
	Cabezal del reactor	PEEK
	Cierre	Paroffluor
	Aguja	PEEK
Accionamiento de la aguja	Cilindro neumático con la posición de arranque y parada	

Cuadro B.4.: Especificaciones del reactor y sistema de calefacción

B.1.4. Ordenador e impresora

Un ordenador es necesario para ejecutar el software y controlar el funcionamiento del módulo, la unidad de control se instala fuera de la celda caliente sobre una superficie limpia y seca.

La unidad de control está conectada a la computadora con dos cables de 9pin/25pin sub-D (interfaz de serie com1/com2), con una longitud de 3 m.

Tanto el ordenador y la unidad de control debe estar situado dentro del alcance del operario y cerca de la puerta de la celda caliente. Instalaciones adecuadas de corriente para el ordenador portátil y la impresora debe estar disponible en el lugar de instalación.

La impresora se utiliza para imprimir los protocolos de síntesis que contienen información importante.

Dimensiones	(Largo 280 ; Profundo 140 ; Ancho 180) mm
Peso	6,9kg
Potencia de entrada	115 V, 60 Hz (110 W) o 230 V, 50 Hz (90 W)
Fusible	2 x T 2,5A (115V) o 2 x T 1,25A (230V)

Cuadro B.5.: Especificaciones de la bomba de vacío

B.1.5. Detector UV

El detector de UV debe estar situado dentro de la celda caliente por lo que una toma de corriente es esencial. El cable de control está conectado a la parte posterior del módulo sintetizador, y la celda de flujo UV está conectada al detector de UV y a la columna HPLC en la parte frontal del módulo[9].

Dimensiones	(Largo 106 ; Profundo 185 ; Ancho 340) mm
Peso	4 kg
Potencia de entrada	115 V, 230 V, (47-63) Hz

Cuadro B.6.: Especificaciones del detector UV

B.1.6. Bomba HPLC que incluye dos botellas de efluentes

La bomba HPLC debe estar situada fuera de la celda caliente y una toma de corriente es esencial. El cable de control de la bomba está conectado a la parte posterior de la unidad de control, y el tubo de eluyente es conectado a la válvula de 6 puertos en la parte frontal del módulo.

Bibliografía

- [1] G. Quincoces, I. Peñuelas, M. Valero, P. Serra, M. Collantes, J. Martí-Climent, J. Arbizu, M. José García-Velloso, and J. Ángel Richter, “Simple automated system for simultaneous production of 11c-labeled tracers by solid supported methylation,” *Applied radiation and isotopes*, vol. 64, no. 7, pp. 808–811, 2006.
- [2] F. Lodi, S. Trespidi, D. Di Pierro, M. Marengo, M. Farsad, S. Fanti, R. Franchi, and S. Boschi, “A simple tracerlab module modification for automated on-column [11c] methylation and [11c] carboxylation,” *Applied radiation and isotopes*, vol. 65, no. 6, pp. 691–695, 2007.
- [3] M. BÉ, V. Chisté, C. Dulieu, E. Browne, V. Chechev, N. Kuzmenko, R. Helmer, A. Nichols, E. Schönfeld, and R. Dersch, “Table of radionuclides (vol. 1-a = 1 to 150),” *Bureau International des Poids et Mesures, France: Sèvres*, 2004.
- [4] G. Saha, *Fundamentals of nuclear pharmacy*. Springer, 2010.
- [5] J. García, M. Soler, M. Blanch, I. Ramirez, E. Riera, P. Lozano, X. Pérez, E. Delgado, I. Carrio, and F. Lomeña, “Pet/ct with 11c-choline and 18f-fdg in patients with elevated psa after radical treatment of a prostate cancer,” *Revista española de medicina nuclear (English Edition)*, vol. 28, no. 3, pp. 95–100, 2009.
- [6] D. LI, Y. XU, Q. WANG, H. WU, and H. LI, “11c-methionine and 18f-fluorodeoxyglucose positron emission tomography/ct in the evaluation of patients with suspected primary and residual/recurrent gliomas,” *Chinese Medical Journal*, vol. 125, no. 1, pp. 091–096, 2012.
- [7] F. Lodi, C. Malizia, P. Castellucci, G. Cicoria, S. Fanti, and S. Boschi, “Synthesis of oncological [11c] radiopharmaceuticals for clinical pet,” *Nuclear medicine and biology*, 2011.
- [8] *TRACERlab FXC site planning guide, GE MEDICAL SYSTEMS, Rev 1, p 11*.
- [9] *TRACERlab FXC specification, GE MEDICAL SYSTEMS, Rev 2, Cap 5, p 21*.

Nomenclatura

AJCC	American Joint Committee on Cancer
ASTRO	American Society for Radiation Oncology
BPM	Buenas Prácticas de Manufactura
BPR	Buenas Prácticas de Radiofarmacia
CH3I	Yoduro de Metilo
CH4	Metano
CO2	Dióxido de Carbono
DMEA	Dimetiletanolamina
FCDN	Fundación Centro de Diagnóstico Nuclear
He	Helio
HGG	Gliomas de alto grado
HI	Ácido yodhídrico
HPLC	High-Performance Liquid Chromatography
I2	Yodo
LGG	Gliomas de bajo grado
NaI	Yoduro de sodio
NaOH	Hidroxido de Sodio
O5P2	Pentóxido de fósforo secanto
PEEK	Polietér éter cetona
PET	Tomografía por Emisión de Positrones
PIG	Philips ionization gauge
PSA	Antígeno Prstático Específico
SPE	Sample Extraction Products