



***Estudio de las Aplicaciones del Ga<sup>68</sup> en Radiofarmacia,  
Procedimiento de Producción y Controles de Calidad.***

***CARRERA: ESPECIALIZACIÓN EN RADIOQUÍMICA  
Y APLICACIONES NUCLEARES***

Alumno: María Paz Solano Carranza

Directora: Verónica Cerizola

Diciembre, 2016



**UNSAM**  
UNIVERSIDAD  
NACIONAL DE  
SAN MARTÍN

# Índice

---

CAPÍTULO I .....	4
1.1 Introducción .....	4
1.2 Objetivo .....	7
CAPÍTULO II .....	8
Marco teórico .....	8
2.1 Tomografía por emisión de positrones .....	8
2.2 Generador .....	9
2.3 Galio-68 .....	10
2.4 Generador $^{68}\text{Ge}$ / $^{68}\text{Ga}$ .....	13
2.5 Producción de Péptidos NET marcados con $^{68}\text{Ga}$ .....	17
2.5.1 Elución del equipo: .....	19
2.5.2 Rutina previa a la síntesis .....	20
2.5.3 Preparación del precursor .....	25
2.6 Controles de calidad y parámetros que debe de cumplir el $^{68}\text{Ga}$ . .....	29
2.6.1 Conceptos de los criterios para el control de calidad para radiofármacos .....	29
2.6.1.1 Pureza Radionucleídica: .....	29
2.6.1.2 Pureza radioquímica .....	29
2.6.1.3 Pureza química: .....	30
2.7 Protocolo de control de calidad para $^{68}\text{Ga}$ .....	30
2.7.1 Ensayos y límites de control de calidad .....	33
2.7.1.1 Apariencia: .....	33
2.7.1.2 Pruebas de pH .....	33
2.7.1.3 Presencia de Etanol: Esta prueba se realiza por cromatografía de gases. (GC) ....	33
2.7.1.4 Endotoxinas bacterianas: .....	33
2.7.1.5 Determinación de HEPES: .....	35
2.7.2 Análisis de Pureza e identidad química y radioquímica: .....	35
2.7.2.1 Pureza química: $^{68}\text{Ga}$ Edotreotidey determinación de otras sustancias presentes.	35
2.7.3 Análisis de pureza e identidad Radionucleídica .....	38
2.7.3.1 Identidad radionucleídica: .....	38
2.7.3.2 Pureza radionucleídica .....	39

2.8	Control de calidad de Radiofármacos .....	40
2.9	Radiofármacos del Galio .....	42
2.9.1	Agente bifuncional DOTA.....	42
2.9.2	Los radiopéptidos.....	44
2.9.3	Análogos de la somatostatina .....	45
CAPITULO III .....		47
3.1	Investigaciones y aplicaciones del galio-68 como radiofármaco. ....	47
3.1.1	<sup>68</sup> Galio- DOTA-TATE y <sup>68</sup> Galio-DOTA-NOC: Cáncer de Tiroides Bien Diferenciado (WDTC). 47	
3.1.2	Revisión de Farmacología Clínica realizada por la FDA .....	48
3.1.2.1	Biodistribucion del fármaco según estudios realizados:.....	48
3.1.2.2	Características de la distribución del medicamento: .....	49
3.1.2.3	Dosis administrada al paciente: .....	49
3.1.3	La biodistribución <sup>68</sup> Ge en órganos. ....	50
3.1.4	<sup>68</sup> Ga-DOTA-hEGF para el diagnóstico de EGFR en tumores malignos .....	51
3.1.5	<sup>68</sup> Ga-BAPEN aplicación en perfusión miocárdica regional .....	53
3.1.6	<sup>68</sup> Ga-PSMA aplicado para imágenes de cáncer de mama .....	54
Conclusiones .....		55
Bibliografía .....		57

## Resumen

La tomografía por emisión de positrones (PET) es una técnica de diagnóstico por imagen que emplea radiofármacos emisores de positrones. La elaboración de los radionucleídos más utilizados en la actualidad en PET, se realiza por medio de ciclotrones. La gran mayoría de estos radiofármacos que son utilizados para diagnóstico son de período de semidesintegración muy corto y desafortunadamente no todos los centros médicos tienen las posibilidades económicas de tener un ciclotrón para la producción de estos radioisótopos. Existe la posibilidad de la utilización de generadores, lo que hace posible el acceso a diversos radiofármacos en centros PET sin ciclotrón, promoviendo los estudios PET y haciendo posible el esparcimiento de la técnica. El objetivo de éste trabajo es el análisis de la producción de Galio-68 por medio de generador de  $Ge^{68}/Ga^{68}$ , los métodos de control de calidad que se le aplican y en qué casos clínicos es empleado, ya que ha llegado a ser de gran interés clínico para obtención de radiofármacos emisores de positrones.

# CAPÍTULO I

---

## 1.1 Introducción

En este trabajo se ha realizado un estudio y análisis de los procedimientos de obtención del  $^{68}\text{Ga}$  como radiofármaco, colaborando con los protocolos de control de calidad que se deben de realizar posterior a su síntesis. Cual sea el objetivo del radiofármaco que va ser destinado al paciente (ya sea para fines de diagnóstico o tratamiento de alguna patología), debe de contar con un sistema de calidad que garantice y asegure que el radiofármaco cumpla con los siguientes parámetros óptimos: pureza e identidad química y radioquímica, pureza e identidad radionucleídica, controles de endotoxinas bacterianas entre otros ensayos, para ser aplicado con confiabilidad al paciente.

Hoy en día el  $^{68}\text{Ga}$  ha llegado a ser un radionucleído muy útil en centros médicos para fines de diagnóstico por medio de la tomografía de emisión de positrones (PET)/tomografía computarizada (CT). Se han desarrollado nuevas técnicas para implementar al  $^{68}\text{Ga}$  no solo para fines de diagnóstico que comúnmente es utilizado, sino también para utilizarlo como terapia concomitante con otros radionucleídos como  $^{177}\text{Lu}$  o  $^{90}\text{Y}$  para tratamiento del tumor. Ha sido de gran interés para estudios en tumores neuroendocrinos, por lo que es muy utilizado en pacientes y actualmente se encuentran en el desarrollo nuevos kits de marcación para favorecer su aplicación. Se requiere de generadores de  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  para su producción, siendo una ventaja a nivel económico para muchos en hospitales y centros

médicos, que no poseen los medios financieros para la implementación de un ciclotrón de producción.

El  $^{68}\text{Ga}$  fue uno de los radionucleídos que se desarrollaron a muy temprana edad para ser aplicada en imágenes médicas, siendo obtenido por la primera generación de generadores de  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  en los años 60, que proporcionaban eludíos de  $^{68}\text{Ga}$ -EDTA. Hubo mejoras en los trazadores y los sistemas de detección tomográfica, principalmente para obtener imágenes del cerebro humano.

A finales de los 70s fue decayendo su uso por dos razones: el diseño del generador parecía inadecuado para todos los requisitos de síntesis radiofarmacéutica del  $^{68}\text{Ga}$  llegando a tener una relevancia menor y la aparición de nuevas mejoras tecnológicas con el desarrollo de nuevos radiofármacos de diagnóstico marcados con  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  y  $^{18}\text{F}$ .

En los años 80 se empezaron a implementar matrices inorgánicas y resinas orgánicas para adsorber selectivamente el  $^{68}\text{Ge}$  e ir proporcionando el  $^{68}\text{Ga}$  y a principios del siglo XXI empezaron surgir nuevos generadores empleando como eluyente ácido clorhídrico. Introduciendo inmediatamente al  $^{68}\text{Ga}$  para ser aplicado en resonancias magnéticas y SPECT. (Razbash, 2005)

Pero su éxito más relevante fue cuando se utilizó la marcación de  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-octreótidos para PET/CT en lugar del  $^{111}\text{In}$ -DTPA octreoscan. Ocasionando a partir del año 2000, un alto uso del  $^{68}\text{Ga}$ . Esto le abrió caminos en la aceptación clínica como trazador para imágenes neuroendocrinas y además aportando una mejora en los generadores de  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  para la medicina nuclear moderna. Teniendo un gran impacto favorable,

siguiendo así a los trazadores basados en  $^{99m}\text{Tc}$ -,  $^{18}\text{F}$ - y yodo radioactivo. (Baum and F. Rösch, 2013)

Los generadores hoy en día están basados en  $\text{TiO}_2$  o  $\text{SnO}_2$ , el rendimiento del eluido de galio se encuentra entre el 70%-80% cuando el generador es nuevo, con un decaimiento más o menos pronunciado en el tiempo, con niveles de Germanio de alrededor de 0,01-0,001%, aumentando este porcentaje al incrementar el tiempo de uso del generador .

## 1.2 Objetivo

El objetivo de este trabajo consiste en el análisis de los métodos de obtención del  $^{68}\text{Ga}$ , así como de los sistemas de control de calidad del producto terminado, con énfasis en la práctica de controles de calidad de radioisótopos y radiofármacos utilizados en medicina nuclear, con fines diagnósticos y terapéuticos del control de calidad radioquímico del mismo.

# CAPÍTULO II

---

## Marco teórico

### 2.1 Tomografía por emisión de positrones.

La tomografía por emisión de positrones, conocida también como PET por sus siglas inglés (Positron Emission Tomography), es una técnica nueva que se ha empleado para el diagnóstico e investigación por imágenes, que se han caracterizado por una excelente calidad de resolución, permitiendo visualizar y medir la concentración de radioisótopos emisores de positrones dentro del paciente. Se considera un gran avance en la tecnología ya que es una técnica no invasiva, por lo que el paciente no se ve afectado durante el proceso y se basa en la detección por coincidencia de los dos fotones de 511 keV emitidos en el proceso de aniquilación de positrones. Para poder aplicar esta técnica se necesita sintetizar radiofármacos que deben reunir una serie de características que vayan a fin con el tejido tumoral que se busca diagnosticar para realizar el estudio. La mayoría de los radioisótopos que se requieren para producir estos radiofármacos, son obtenidos a partir de un ciclotrón, ya que poseen períodos de semidesintegración relativamente cortos (aproximadamente menos de dos horas), como es el caso del  $^{18}\text{F}$ ,  $^{11}\text{C}$ ,  $^{15}\text{O}$  entre otros. Desafortunadamente no todos los centros médicos tienen las posibilidades económicas de tener un ciclotrón para la producción de estos radioisótopos, por lo que se

ha visto la necesidad de obtener radioisótopos emisores de positrones a partir de generadores con el fin de poder verse beneficiado con esta nueva técnica de PET, que trae grandes aportes para el diagnóstico de imágenes médicas.

## 2.2 Generador

Un generador está constituido por un sistema formado por un par madre-hija, que al no ser isótopos del mismo elemento poseen distintas propiedades químicas. Esto permite la separación selectiva del nucleído hija mediante procesos químicos. Los átomos del radionucleído hija producidos por decaimiento de la madre permanecen en el generador hasta una nueva separación.

La Farmacopea Argentina expresa lo siguiente: Cualquier sistema que incorpora un radionucleído madre fijado a una matriz apropiada, a partir del cual se produce un radionucleído hija, la que se eluye o separa de la madre por cualquier método apropiado. La hija será empleada en una preparación radiofarmacéutica.

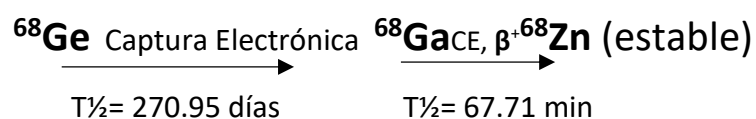
Un generador debe de cumplir ciertas características ideales entre ellas se pueden mencionar:

- El eluido debe ser estéril y libre de pirógenos
- Los eluyentes deben tener una concentración salina compatible con la administración en pacientes
- El almacenamiento debe de estar en condiciones de temperatura ambiente.

- La eficacia de separación debe ser alta, esto quiere decir sin presencia de radionucleído madre en el eluido.
- El período de semidesintegración del nucleído madre debe ser lo suficientemente corto para facilitar la regeneración del hija y lo suficientemente largo para que el generador tenga una duración adecuada.
- Las propiedades químicas del radionucleído hija deben permitir la preparación de radiofármacos por medio de equipos reactivos o kits fríos.
- El producto del decaimiento del nucleído hija debe ser un nucleído estable o de período de semidesintegración muy largo.
- La protección del sistema madre-hija debe ser sencilla y el sistema fácilmente recargable.
- El procedimiento de separación se debe llevar a cabo sin gran intervención del operador, bajo normas de protección radiológica.

## 2.3 Galio-68

Este radionucleído posee un período de semidesintegración de 68 min y es generado a partir de un radionucleído con un período relativamente largo, (287 días) que es el  $^{68}\text{Ge}$ .



El  $^{68}\text{Ga}$  posee propiedades físico – químicas muy favorables por lo que se lo considera como el segundo radioisótopo emisor  $\beta^+$  (después de  $^{18}\text{F}$ ) más importante y eficientemente utilizado en PET, con las siguientes características: La alta abundancia de emisión de positrones y la buena resolución de imágenes en PET, son las características más importantes del  $^{68}\text{Ga}$  cuando es utilizado para la obtención de imágenes biomédicas. Decae por  $\beta^+$  (con el rayo gamma de aniquilación de 511-keV de 178,2% de intensidad) se produce en 89,14% de los átomos por lo que le atribuye como uno de los emisores positrones de menor pérdida de resolución interna como resultado de la aniquilación (Yang D, 2009). La radiación de positrón de 836,02 keV da una resolución de imagen PET de aproximadamente 2,3 mm (en hueso) a 11,5 mm (en pulmón) para tejidos vivos (en comparación con 0,65-2,7 mm en el caso de  $^{18}\text{F}$ ). Estos valores están dentro de la resolución del sistema de cámaras PET modernas (4-5 mm) e incluso en sistemas PET de alta resolución (3 mm). Otra ventaja es que no hay un impacto gamma asociado en las imágenes de PET. Las cantidades de emisiones gamma asociadas son insignificantes (0,03407%) y estas caen dentro de una ventana de energía de 350-700 keV, sin causar un impacto importante en las imágenes (Yang D, 2009). Desde el punto de vista de la radiación, el  $^{68}\text{Ga}$  se ajusta bien dentro de los parámetros de seguridad de la radiación convencional. Otra ventaja que presenta el  $^{68}\text{Ga}$  es desde el punto de vista de economía y conveniencia, ya que su obtención en el sitio de uso puede realizarse con un sistema generador lo que asegura la disponibilidad del radiofármaco en centros médicos donde requieren la aplicación a pacientes y que se encuentran alejados de los centros nucleares de producción, además de que ofrece rentabilidad y disponibilidad. Esto

debido a que el nucleído de la madre ( $^{68}\text{Ge}$ ) tiene una vida útil de aproximadamente un año y por lo que puede aportar ese beneficio, desde el punto de vista costo-efectivo.

Se han realizado investigaciones donde se demuestran propiedades importantes que posee el Galio, como lo es su alta afinidad a tejidos tumorales, la marcación para radiofármacos resulta favorable y la buena disposición de unirse a biomoléculas, esto porque al tener un período de semidesintegración de 68 minutos hace que se ajuste a la farmacocinética de muchos péptidos y otras moléculas pequeñas debido a la rápida difusión, localización en la diana y el rápido aclaramiento sanguíneo, favoreciendo por ende a los estudios de diagnósticos y acercándose a las características ideales que debe tener un radiofármaco. Además el ion  $^{68}\text{Ga}^{3+}$  forma complejos estables con gran variedad de quelatos monofuncionales y bifuncionales, por lo que se acopla bien a biomoléculas transportadoras.

El Ga-68 ha tenido significantes aplicaciones en la práctica de la medicina nuclear, entre las cuales se puede incluir  $^{68}\text{Ga}$ -EDTA importante para el diagnóstico a nivel de barrera hematoencefálica, el  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TOC que también es utilizado para PET, pero va enfocado a los receptores de somatostatina para la obtención de imágenes de tumores neuroendocrinos. Y  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-bombesina para imágenes PET a nivel gastrointestinal y cáncer de próstata.

## 2.4 Generador $^{68}\text{Ge}$ / $^{68}\text{Ga}$

Hay diversos tipos de generadores a nivel comercial, en general los generadores  $^{68}\text{Ge}$  /  $^{68}\text{Ga}$  se basan en la técnica de columna y utilizan materiales adsorbentes para la columna del generador y soluciones acuosas ácidas o alcalinas que contienen agentes complejantes como eluyentes que ayudan a separar al  $^{68}\text{Ga}$  por elución a partir de su precursor  $^{68}\text{Ge}$ , que queda fijo en la columna. El desarrollo de diversos generadores de Galio busca proporcionar un eluido adecuado para la aplicación biomédica, esto incluye un adsorbente que fije al nucleido madre  $^{68}\text{Ge}$ , un eluyente adecuado para la elución del nucleido hija  $^{68}\text{Ga}$ . Se utilizan los generadores de  $^{68}\text{Ge}$  /  $^{68}\text{Ga}$  que usan dióxido de estaño, óxido de titanio ó adsorbente de sílice gel para que la retención sea adecuada. Pero en la actualidad, los generadores más disponibles son los de dióxido de titanio, utilizando como elución una solución de HCl 0.1 M. Los adsorbentes utilizados en esta tecnología de generadores buscan una alta especificidad de separación química, pero además requieren tener una alta resistencia a la radiación y estabilidad química. El generador  $^{68}\text{Ga}$  a utilizar debe ser altamente resistente a la radiación debido a la alta tasa de dosis entregada por el positrón y la radiación gamma emitida por el  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ , durante toda la vida útil del generador que por lo general es larga, ya que el período del nucleído madre  $^{68}\text{Ge}$  es largo. Los componentes que constituyen al generador deben ser no metálicos con el fin de evitar iones metálicos que pueden llegar a ser contaminantes del eluido de  $^{68}\text{Ga}$ . La columna cromatográfica del generador y los discos situados en los extremos deben de estar hechas de cuarzo o algún material plástico como el polieteretercetona, y no componentes de

vidrio borosilicato para evitar la lixiviación de iones metálicos en la solución de  $^{68}\text{Ga}$  durante el proceso.(Baum y Rösch, 2013)

Para aplicar con éxito la marcación del Ga para la producción de radiofármacos para el uso de trazadores en imágenesPET, el eluido de  $^{68}\text{Ga}$  debe evaluarse en base a tres parámetros importantes:

1. Por razones de seguridad radiológica, se busca que la solución del  $^{68}\text{Ga}$  generada debe ser de muy alta pureza radionucleidica, esto quiere decir que la contaminación de nucleidos $^{68}\text{Ge}$  en la solución de  $^{68}\text{Ga}$  debería de ser muy baja. (menos de  $10^{-3}$  %) esto debido al largo período de semidesintegración del radionucleido madre. Las impurezas químicas como los iones metálicos deben de mantenerse lo más bajo posible, para evitar toda reacción química de coordinación que pueda aparecer reduciendo el rendimiento de la radiomarcación del  $^{68}\text{Ga}$ .
2. La solución del  $^{68}\text{Ga}$  con alta concentración de actividad, también es un factor importante que afecta la capacidad de la radiomarcación del  $^{68}\text{Ga}$ , a nivel de cantidades nanomolares de trazadores, utilizados en imágenes moleculares de rutina.
3. El eluido de  $^{68}\text{Ga}$  debe de estar libre de agentes complejantes y quelantes que pueden perjudicar a la complejación del ion  $\text{Ga}^{+3}$

Todos estos parámetros permiten aplicar correctamente los procesos de marcación de los productos radiofarmacéuticos que van a ser utilizados para las imágenes de diagnóstico

PET. Es importante además que el eluido de  $^{68}\text{Ga}$  sea purificado utilizando columnas con resinas de intercambio iónico.

Como se había mencionado anteriormente el generador  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  más utilizado a nivel comercial esta basado en una columna cromatográfica de intercambio aniónico con una fase solida de  $\text{TiO}_2$  (dióxido de titanio) en donde se va encontrar adsorbido el  $^{68}\text{Ge}$ . (Lopez, 2010).

Este tipo de generadores trabajan además con una fase móvil de  $\text{HCl}$  0.1 M, teniendo dentro de sus especificaciones una vida útil de hasta 2 años, con un rendimiento 60% de  $^{68}\text{Ga}$  en 3-5 mL de eluido y 0.001- 0.005% de  $^{68}\text{Ge}$ . (Morín, 2012)

Pero por lo general para mantener un mejor rendimiento se utilizan aproximadamente un año, que abarca el período del nucleído madre, ya que conforme pasa el tiempo va decayendo su actividad disminuyendo consigo su rendimiento.

El objetivo es buscar la manera de disminuir los contaminantes que pueden afectar los rendimientos de marcación y las actividades específicas. Entre los principales contaminantes se encuentran el estaño y el titanio procedentes de los óxidos utilizados en la columna, el  $^{68}\text{Zn}$  que es un nucleído que se puede generar por decaimiento del  $^{68}\text{Ga}$  y el hierro como contaminante general.

El autor Jorge Cruz expresa: Un generador de 1110 MBq (30 mCi) después de un día de eluido puede acumular  $8,93 \cdot 10^{13}$  átomos de Zn o 10 ng y si se eluyen 800 MBq, representan  $69 \times 10^{12}$  átomos de  $^{68}\text{Ga}$  o 3,2 ng de  $^{68}\text{Ga}$ , o sea el contenido de Zn supera en 3 veces el de  $^{68}\text{Ga}$ .

En los procesos de purificación y concentración del eluido del  $^{68}\text{Ga}$ , lo que se utiliza por lo general es solo una columna de resinas de intercambio iónico, ya sea catiónica o aniónica.

Pero en un estudio realizado se hizo pasar  $^{68}\text{Ga}$  en solución de HCl 4 M por solo una columna de intercambio aniónico y se demostró que el  $^{68}\text{Ga}$  retenido en la columna se eluyó con una pequeña cantidad de agua destilada y se demostró que este método no fue capaz de eliminar las impurezas de iones metálicos como el  $\text{Fe}^{+3}$  o  $\text{Zn}^{+2}$ . (Mourtada, 2009).

Por otro lado se reportó además un método utilizando una columna de resina catiónica, y que está actualmente en uso. Esta técnica se basó en retener los iones  $^{68}\text{Ga}^{+3}$  del eluido del  $^{68}\text{Ga}$  sobre la columna de intercambio catiónico, y se observó que los iones metálicos de las impurezas co-adsorbidas se eliminaron haciendo lavados a la columna con solución de HCl 0.15 M. (Mourtada, 2009).

Llegando a una mejor conclusión, se llegó a utilizar el método de doble columna que es lo que actualmente se utiliza y se hizo la comparación con el método de columna única. Se utilizaron dos columnas de diferentes resinas conectadas en serie con salidas y entradas separadas para los eluyentes. Se observó que se obtuvo como resultado una elución final de alta pureza.

## 2.5 Producción de Péptidos NET marcados con $^{68}\text{Ga}$

La producción de  $^{68}\text{Ga}$  se llevó a cabo en la Fundación Centro de Diagnóstico Nuclear (FCDN), donde se asistió para realizar el estudio y el análisis de los procedimientos de obtención del  $^{68}\text{Ga}$  como radiofármaco. La FCDN tiene a cargo un equipo multidisciplinario en distintas áreas de la institución. Cuentan con un área donde está el ciclotrón, el cual su función es producir radioisótopos que van a ser utilizados en aplicaciones médicas para fines de diagnóstico, poseen además con un laboratorio de producción y un laboratorio de control de calidad.

El laboratorio de producción al ser el responsable de sintetizar los radiofármacos que van a ser administrados al paciente por vía endovenosa, debe de ser completamente aséptico desde el proceso de síntesis hasta la esterilización final. Además debe de cumplir con los protocolos de producción y una serie de requisitos que van sujetos a la normativa para la fabricación de inyectables que establece el ANMAT.

Dado a las estrictas normas del sistema de calidad que debe cumplir la FCDN, y por razones vinculadas a permisos para el manejo de material radioactivo no se logró realizar ninguna tarea dentro del proceso de producción ni en el proceso de controles de calidad dentro de la institución, por ende solamente se permitió la asistencia al Laboratorio de Producción y presenciar paso a paso los protocolos de producción del  $^{68}\text{Ga}$  y la síntesis del radiofármaco en sí. Gracias a su autorización, y a la explicación detallada de los procesos se logró realizar el estudio y el análisis que conlleva este trabajo.

A continuación se detalla lo que se observó durante el proceso de producción.

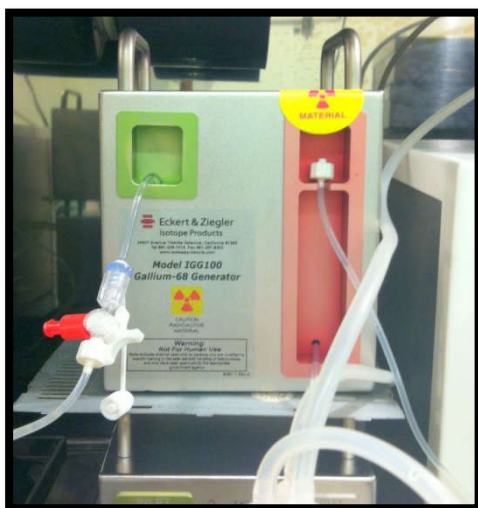
Antes de iniciar las actividades de producción  $^{68}\text{Ga}$  y su marcación, se procede a verificar que todos los insumos de producción que se van necesitan durante el proceso de síntesis estén presentes. Dentro de estos materiales se mencionan los siguientes:

- El generador  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$
- Ácido clorhídrico (HCl) 0.1 M
- El kit de síntesis catiónico, que debe de contener lo siguiente:
  - El precursor (DOTA-NOC/DOTA-TATE/DOTA-TOC)
  - Etanol absoluto
  - Etanol/Agua 50:50 v/v
  - Columna de purificación
  - NaCl 5 M
  - Buffer HEPES 1.5 M
  - Agua calidad inyectable
- Material Descartable: jeringas, válvulas de manifold, filtros.
- Cassette : Columna de purificación C-18
- Solución fisiológica
- Un vial de 20 mL donde se recolecta el producto final y 3 viales de 10 mL.

Inicialmente se empiezan con las siguientes actividades:

### 2.5.1 Elución del equipo:

El Generador que se utiliza es de marca EckertZiegler (EZ). Es un generador de germanio donde se encuentra fija a una columna de  $TiO_2$ , y se eluye con 10 mL de HCl de 0.1 M para poder desprender el Ge que está decayendo a Ga. Hay casos donde es posible utilizar dos generadores conectados en serie. Luego de ser eluido se utiliza método de purificación catiónico. *Figura 1.*



*Figura 1. EckertZiegler (EZ).*

En el procedimiento que se presencié, se observó que utilizaban dos generadores conectados en serie, en un principio se utilizaba solo un generador, pero la actividad de un solo generador es menor (alrededor de 20 mCi la Actividad inicial y la final entre 12-13 mCi). Al tener dos generadores conectados en serie, se observa una actividad de inicio alrededor de 30-35 mCi, por lo que es una ventaja eluir con dos generadores. *Figura 2.*



*Figura 2 Generador conectado en serie con un segundo generador.*

Por lo general la vida útil de un generador  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ , es de un año con una actividad inicial de 50 mCi. El rendimiento puede ir variando con el tiempo debido al decaimiento del nucleido madre.

Este generador a su vez se encuentra conectado a un módulo de síntesis que se debe acondicionar para efectuar el procedimiento.

### 2.5.2 Rutina previa a la síntesis

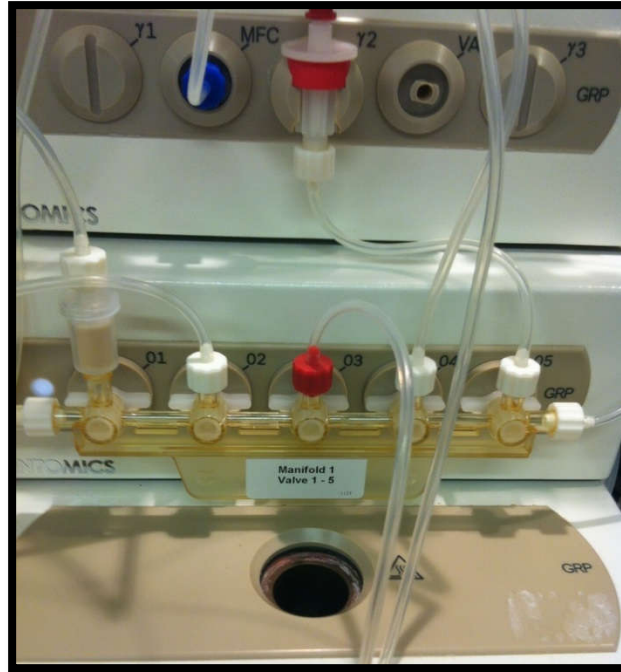
Se debe tener listo los viales con las etiquetas correspondientes al radiofármaco con la fecha, volumen y vencimiento. El producto final se dispensa en un vial de 20 mL, y las tres muestras de control de calidad se colocan en viales de 10 mL. Bajocampana deflujo laminar se le coloca al vial de producto final dos filtros que vienen en el kit catiónico, el de

color amarillo (Cathivex GV) es por donde ingresa el producto esterilizado y el azul con aguja incorporada (Millex 25) se usa como venteo. *Figura 2.*



*Figura 1. Vial dentro de blindaje con sus respectivos filtros.*

Al módulo de síntesis se le debe de adaptar el cassette que es un dispositivo con válvulas de Manifold por donde va a circular los reactivos, estas válvulas van enumeradas del 1-5, 6-10, del 11-15, son válvulas desechables que vienen en presentación de Kit , se descartan luego de su uso. Se debe verificar que las válvulas de nitrógeno y aire comprimido estén abiertas y que el módulo tenga tensión. *Figura 3.*



*Figura 3. Casette con válvulas de manifold colocadas en el módulo de síntesis con su respectiva numeración.*

Se utiliza un software llamado Scintomics Control Center, que controla el sistema de válvulas de abierto- cerrado, al momento de colocar las válvulas desechables deben encontrarse cerradas (en posición de carga) para evitar algún derrame a la hora de pinchar y colocar los viales que contengan líquidos. El kit tiene un código de color que hace coincidir las virolas de los reactivos con los spikes del cassette. La solución fisiológica se identifica con color verde, el etanol con amarillo y la de etanol/agua con color gris. Y se procede a colocar cada válvula en su respectiva posición.

Se utilizan 10 mL de HCl por cada elución.

Se procede a colocar en cada posición correspondida cada frasco y las columnas de resinas iónicas. *Figura 4*



*Figura 4. Módulo de síntesis con sus respectivas columnas y reactivos*

La columna nombrada como “C-18” es una columna con resina Aniónica, que es la que va a retener el producto final.

La columna con resina catiónica es la que va a retener el galio catiónico  $\text{Ga}^{+3}$  que va ser eluído por el generador, dejando pasar al Ge. Esta columna asegura que efectivamente en la marcación no se encuentran algún tipo de trazas metálicas.

Se coloca el Etanol absoluto en una presentación de 5 mL, donde su función es acondicionar la columna aniónica donde va quedar retenida el producto final.

Etanol/agua con una concentración 50:50 de 2 mL , esta solución es la que se encarga de desprender el producto final de la columna aniónica , para luego ser enviada al vial contenedor.

El NaCl 5M se utiliza para desprender el Ga de la columna de intercambio catiónico.

En la posición 13 se coloca el PBS que es un Buffer fosfato que anteriormente lo usaban para llevarlo a volumen final, actualmente lo sustituyen por solución fisiológica.

Al final quedan las válvulas 2, 3,12 libres, la 2 y la 12 son las que van a ser conectadas al Vial Reactor, que es donde se encuentra el precursor a utilizar con un Buffer para llevarlo a pH de marcación.

Y la línea 3 es donde va transitar el producto final para ser recolectado.

Antes de poner en marcha todo el proceso de producción se requiere hacer lavados con bastante cantidad de agua de inyectable, donde sus desechos van a un frasco que luego se descarta.

Una vez acondicionada y lista para utilizar, se coloca ahí un vial donde se colecta 20 mL del volumen total de la extracción del producto final, a este vial se le ha acoplado un filtro EPA con membrana de 0.22, con el fin de filtrar cualquier impureza que se haya eluido.

Este vial es colocado dentro de un blindaje para viales y este se coloca detrás de una compuerta plomada. *Figura 5.*



*Figura 5. Vial con blindaje colocado dentro del compartimiento blindado.*

### 2.5.3 Preparación del precursor

Dentro del Kit viene el vial que contiene el precursor (DOTA-TATE/ DOTA-NOC/ DOTA-TOC) y trae 20 microgramos de péptido; este vial se debe reconstituir con 3 mL de Buffer HEPES. Una vez reconstituido se procede a colocar dentro de un vial llamado: vial reactor.



*Figura 6. Vial reactor donde se coloca el precursor.*

Es importante tomar en cuenta lo siguiente: se debe reconstituir despacio ya que como es un péptido, al agitarlo de manera inadecuada puede generar una espuma y con esto podría ocasionarse alguna ruptura de la cadena péptica.

Además se debe usar equipo de material plástico o similar, lo que se busca es evitar cualquier tipo de utensilio metálico, ya que el complejo DOTA es un quelante, por lo que captura metales.

Una vez terminado de preparar el precursor y haber colocado todos los frascos con reactivos al módulo de síntesis se prepara el software, se carga el número de lote que es el año/mes/día/ número de la producción.

El sistema verifica si las válvulas están abiertas para que pase correctamente el eluido, la botella de descarte se encuentra vacía lista para su uso, entre otras especificaciones que revisa el sistema para dar inicio al proceso de eluido del Ga y marcación del mismo.

En primer lugar el equipo empieza tomando el Etanol absoluto y lo hacer pasar por la columna aniónica para acondicionar antes de que pase el eluido. Luego se le hace eluir agua de inyectable y un poco de aire, es fundamental realizar esto para que la columna aniónica esté en condiciones óptimas para su funcionamiento.

En los primeros 7 minutos de síntesis el sistema se dedica acondicionar las columnas.

Luego de que el equipo se encuentre listo, se procede a cerrar con una puerta de vidrio blindado a presión continuamente de la puerta plomada, para fines de seguridad

radiológica. *Figura 7*



*Figura 7. Generador conectado al módulo de síntesis, con su puerta de vidrio blindado a presión.*

El generador empieza a eluir con un flujo lento de 1 mL/ min. hasta llegar a 10 mL.

El software del computador al que esta conectado el generador y el módulo de síntesis va registrando cada paso del procediendo, favoreciendo al operador controlar de manera visual lo esta ocurriendo en el momento.

En el momento en que entra la solución de NaCl 5 M a la columna catiónica, empieza a desprender el Ga que se encuentra retenido en la columna y lo envía al vial reactor donde se encontraba previamente el precursor, para seguidamente proceder a la marcación final del radiofármaco.

Se debe considerar dos parámetros importantes para obtener una marcación óptima, entre ellos están:

- El pH que debe estar dentro de un rango entre 4-5, de lo contrario no se logra marcación.
- La temperatura que debe de estar dentro de un rango entre 120-125°C para empezar la marcación.

Conforme pasa el tiempo de la marcación va disminuyendo la temperatura a 90 °C, todos estos datos se observan por medio de un sensor conectado en el software.

Finalmente el módulo de síntesis procede a tomar los 2 mL de la solución de etanol/agua 50:50 que es lo que termina desprender lo último que queda en la columna, donde está retenido el producto final, mandándolo al vial donde se encuentra dentro del blindaje plomado.

Durante todo el procedimiento, se llevan registros de todos los procesos con el fin de garantizar la trazabilidad, en una plantilla de Excel se coloca el control de producciones diarias con la fecha, lote, la hora de inicio/final de la síntesis, actividad que se recibió al principio y la actividad final, el volumen, el nombre del precursor que se está sintetizando ese día, el cálculo del rendimiento (sin corregir/corregido con el decaimiento), rendimiento inicial y final.

Cálculo % de rendimiento:  $\%Rto = \frac{Act\ final}{Act\ inicial} \cdot 100$

$$\%Rto\ c = \frac{Act\ final}{Actividad\ inicial} e^{(\frac{\ln 2}{T^{1/2}} \cdot T)} \cdot 100$$

## 2.6 Controles de calidad y parámetros que debe de cumplir el $^{68}\text{Ga}$ .

### 2.6.1 Conceptos de los criterios para el control de calidad para radiofármacos

Seguidamente antes de explicar los procedimientos de calidad, se especificarán los ensayos generales:

**2.6.1.1 Pureza Radionucleídica:** Se determina comprobando la identidad y la actividad de todos los radionucleídos que se encuentren presentes en la muestra. La actividad debe de informarse para una cierta fecha y hora, ya que es dependiente del período de semidesintegración del radionucleído. El método de detección va a depender de cada radionucleído debido a que cada uno posee su propio período y de su energía. La pureza radionucleídica de los radiofármacos puede presentar modificaciones o cambios durante su producción, por lo que este control de calidad debe de cumplirse a lo largo de todo el período de validez de cada preparación radio farmacéutica. (Farmacopea Argentina, 2003)

**2.6.1.2 Pureza radioquímica:** para los controles de pureza radioquímica se requiere la separación de las distintas sustancias que contienen el radionucleído de la muestra a valorar y la estimación de la fracción de radioactividad asociada con la sustancia declarada. Las impurezas radioquímicas pueden ser originadas, ya sea por problemas de procedimientos, por errores durante la producción, problemas a la hora de la separación o purificación durante el proceso de fabricación del producto final ó bien por la temperatura, pH, luz o radiólisis.

Para su determinación se utiliza cualquier ensayo de separación, siendo los más usados el iTLC (cromatografía de capa delgada) y cromatografía en papel. En el caso del Galio adicionalmente a estos otros métodos recién mencionados, se utilizó un método de separación de muy alta calidad como el HPLC (cromatografía líquida de alta eficacia). (Farmacopea Argentina, 2003)

#### **2.6.1.3 Pureza química:** Para demostrar la pureza química de un producto

radiofarmacéutico se requiere la determinación cuantitativa de cada una de las especies químicas que contiene la preparación y debe ser especificado el método que debe utilizarse. (Farmacopea Argentina, 2003)

## **2.7** Protocolo de control de calidad para $^{68}\text{Ga}$

Una vez que el  $^{68}\text{Ga}$  fue sintetizado en el laboratorio de producción, se le realiza una serie de controles con el objetivo de asegurar que el radiofármaco cumpla con todos los requisitos mínimos de calidad, garantizando que esté bajo los parámetros óptimos para ser aplicado al paciente.

Para dar inicio al procedimiento de protocolo de aprobación ya sea el caso del  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TOC /  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-NOC /  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TATE, el laboratorio de producción previamente prepara una muestra con 0.1mL del  $^{68}\text{Ga}$  en una jeringa de 1mL. Y es trasladado por medio de un SAS al SECTOR DE CONTROL DE CALIDAD.

El laboratorio de control de calidad procede a realizar el siguiente procedimiento con los siguientes análisis de control:

- Análisis de apariencia.
- Identificación Radionucleídica: Espectrometría gamma, período de semidesintegración.
- pH de la muestra de  $^{68}\text{Ga}$
- Endotoxinas Bacterianas de la muestra de  $^{68}\text{Ga}$
- Contenido de Etanol en la muestra  $^{68}\text{Ga}$
- Pureza química del  $^{68}\text{Ga}$  y determinación de otras impurezas no específicas en la muestra.
- Determinación de presencia de HEPES en la muestra de  $^{68}\text{Ga}$ .
- Determinación de la pureza radionucleídica: Impurezas emisoras del  $^{68}\text{Ge}$ .
- Determinación de la pureza radioquímica: impureza de  $^{68}\text{Ga}$  Coloidal (Galio libre) y las impureza del ion  $^{68}\text{Ga}^{3+}$

Tabla 1. Protocolo de aprobación de  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TOC

Ensayo	Parámetros
Apariencia	Solución incolora/transparente
pH	4-8
Pureza química por HPLC	DOTA-TOC $\leq 50 \mu\text{g}/\text{V}$
Pureza Radioquímica (%) por HPLC	✓ [ $^{68}\text{Ga}$ ]-DOTATOC $\geq 91\%$
	✓ $^{68}\text{Ga}^{3+} \leq 2\%$
Pureza Radioquímica (%) por iTLC	✓ $^{68}\text{Ga}$ Coloidal en la muestra: $> 3 \%$
Pureza Radionucleídica por Emisión gamma	Pico principal a 511 keV , 1077 keV y eventualmente otro a 1022 keV (pico suma)
	Determinación de $^{68}\text{Ge}$ (luego de 48 horas):  < 0.001%
Identidad Radionucleídica por período de semidesintegración	62-74 minutos
Contenido de Etanol	Máximo 10% V/V
Determinación de HEPES	Máximo 0.01 mg/mL
Endotoxinas Bacterianas	<175/V U.I./mL

## 2.7.1 Ensayos y límites de control de calidad

**2.7.1.1 Apariencia:** Debe ser clara e incolora.

**2.7.1.2 Pruebas de pH:** 4.0 a 8.0 usando una tira indicadora de pH

**2.7.1.3 Presencia de Etanol: Esta prueba se realiza por cromatografía de gases. (GC)**

El **límite de etanol** debe ser máximo del 10% V / V. El tiempo de retención de la muestra debe de dar inferior al tiempo de retención del etanol estándar.

Se debe preparar la solución estándar interna: diluyendo 0.10 mL de propanol con 1000 mLde agua.

La solución de referencia: diluyendo 1,0 mLde etanol anhidro con 100 mLde la solución patrón interna.

Se utiliza gas de helio.

La solución de referencia debe de tener:

- Tiempo de retención: etanol = 2 min a 4 min.
- Resolución: mínimo 5,0 entre los picos debidos al etanol y propanol.

**2.7.1.4 Endotoxinas bacterianas:**

Menos de 175/V IU/mL, Vsiendo la dosis máxima recomendada en mililitros. La inyección puede liberarse para su uso antes de completar la prueba. Esta prueba es realizada por un método LAL test , pero actualmente se realiza un método más mediante un equipo aprobado por la FDA, llamado Endosafe®-PTS™ .

El laboratorio fabricante Charles River expone:

“Es un sistema basado en la tecnología cromogénica que proporciona resultados cuantitativos en tan solo 15 minutos y hace uso de reactivos LAL que se encuentran contenidos en cartuchos aprobados por la FDA (ya no es necesario realizar la curva) y posibilita gestionar la información y resultados a través de una computadora mediante el software EndoScan-V™ (software de medición de endotoxina). Puede ser usado en control de calidad, materias primas o muestras STAT que requieren de un análisis inmediato, la flexibilidad del PTS permite ser utilizado en los laboratorios”

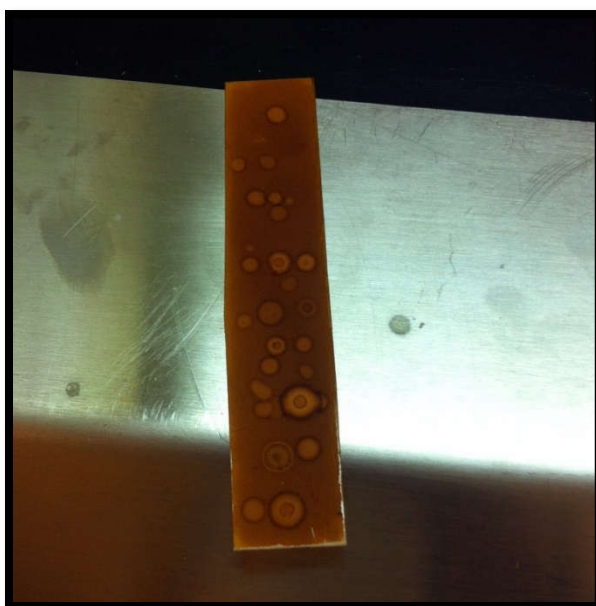
De lo citado anteriormente cabe mencionar que este sistema PTS , posee además cuatro niveles de sensibilidad: 0.005 EU/mL., 0.01 EU/mL., 0.05 EU/mL., 0.10 EU/mL. Lo que aporta confiabilidad en la medición y se encuentra bajo las especificaciones que solicita la Farmacopea Europea. *Figura 8*



*Figura 8. Equipo (PTS) para la prueba de determinación de endotoxinas bacterianas.*

### 2.7.1.5 Determinación de HEPES:

Para este ensayo se utiliza una muestra patrón de HEPES, una gota de este estándar es sembrada en una placa de alúmina, a su vez se procede a colocar una gota de la muestra de Ga, y se coloca dentro de una cuba de yodo. El resultado de la muestra debe mostrar un más color claro en comparación al estándar. *Figura 9.*



*Figura 9. Prueba para la determinación de HEPES en placa de alúmina.*

### 2.7.2 Análisis de Pureza e identidad química y radioquímica:

#### 2.7.2.1 Pureza química: $^{68}\text{Ga}$ Edotreotidey determinación de otras sustancias presentes.

Esta prueba se realiza con Cromatografía Líquida utilizando un HPLC.

Se utiliza un blanco de HCl : 10,3 g/L

Se utiliza un estándar del edotreotide, disolviendo 50 µg del edotreotide en 10.3 g/L en la solución de HCl. (STD-1): Ga-DOTA-TOC en HCl 10,3 g/L.

Se utiliza un estándar del octreótido (del precursor), disolviendo 50 µg del octreótido R en 10.3 g/L solution (STD-2): DOTA-TOC acetato en HCl 10,3 g/L.

Y la muestra a analizar: El único pico radiactivo del Ga-DOTA-TOC de la muestra debe de coincidir con el pico del estándar del Ga-DOTA-TOC (STD-1).

### Los límites:

- *Límite del edotreotide y complejos metálicos de edotreotide:*

La suma de las áreas de los picos, deben de tener una retención relativa entre 0,8 y 1,4 con referencia al edotreotide. Y no más que el área del pico principal obtenido en el estándar de referencia (STD-1). (**≤ 50 µg/V**)

- *Límite de Impurezas no específicas:*

Para cada impureza, no debe de superar al área del pico principal obtenido con el estándar de referencia (STD-1). Y se debe de despreciar cualquier pico con una retención relativa de 0,5 o menos con referencia a edotreótido (**≤ 50 µg/V**)

Las impurezas químicas, en particular el contenido de iones metálicos en la solución <sup>68</sup>Ga (como Sn, Zn, Fe, Ge) , deben mantenerse lo más bajo posible para eliminar cualquier reacción química de coordinación simultánea, que pueda reducir el rendimiento de la marcación con <sup>68</sup>Ga.

### 2.7.2.2 Determinación de la pureza radioquímica:

- **Determinación de la impureza de  $^{68}\text{Ga}$  Coloidal (Galio libre):**

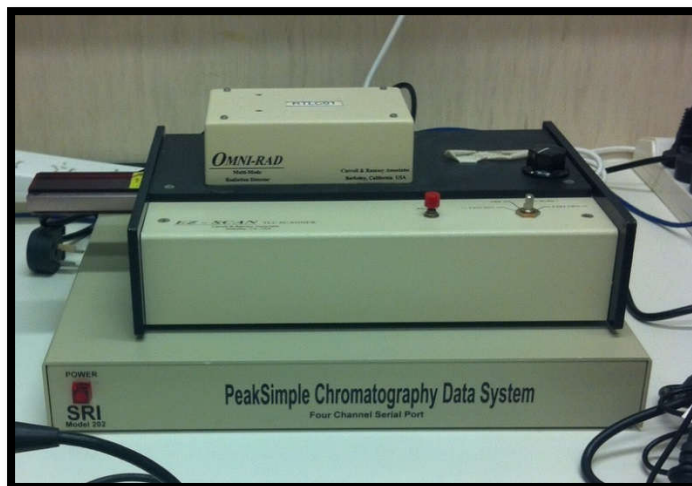
La prueba se realiza mediante iTLC, se utiliza como fase estacionaria una tira de Sílica gel y como fase móvil una solución de 77g/L de acetato de amonio en agua y metanol en una concentración 50:50 V/V. *Figura 10*



*Figura 10. Prueba Cromatográfica en Capa Delgada*

Se lleva a un Radiocromatógrafo donde se determina la distribución de la radiactividad.

El resultado que debe de dar esta impureza no puede ser mayor del 3% de la radiactividad total del  $^{68}\text{Ga}$ . *Figura 11.*



**Figura 11. Radiocromatógrafo**

- **Determinación de la impureza de  $^{68}\text{Ga}^{3+}$  :**

La prueba se realiza en el HPLC, se examina el cromatograma obtenido y se compara el pico del Ga-68-DOTA-TOC con respecto al cromatograma de la solución estándar (STD-1).

El límite de la impureza  $^{68}\text{Ga}^{3+}$ : tiene que ser menor al 2% de la radioactividad total del Galio-68.

### 2.7.3 Análisis de pureza e identidad Radionucleídica

#### 2.7.3.1 Identidad radionucleídica:

- a. *Espectrometría de rayos gamma:* en su resultado debe de aparecer un fotón gamma principal con una energía de 511 KeV y 1077 KeV.

b. *Determinación de período de semidesintegración:*

La prueba se verifica con la siguiente fórmula:

$$T_{1/2} = \frac{(\ln 2) \text{ tiempo}}{\ln (\text{actividad inicial/actividad final})}$$

El rango de aprobación se debe encontrar en el siguiente parámetro:

$$T_{1/2} = 62 \text{ min} < t_{1/2} < 74 \text{ min}$$

- c. *Impurezas radioquímicas:* Examinaren los cromatogramas obtenidos en las pruebas, el siguiente resultado: El pico principal en el radiocromatograma obtenido con la solución de la muestra, debe de ser similar en el tiempo de retención, al pico principal en el cromatograma obtenido con la solución de referencia, usando el espectrofotómetro.

### 2.7.3.2 Pureza radionucleídica

a. *Espectrometría de rayos gamma:*

En el espectro gammadebe de aparecer los picos que correspondan a fotones con una energía de 511 keV, 1077 keV y eventualmente otro a 1022 keV. Se verifica que haya un 100% de Galio y que no aparezca ningún otro pico que no sea propio del  $^{68}\text{Ga}$ .

b. *Impurezas emisoras del  $^{68}\text{Ge}$*

Se determina la cantidad de  $^{68}\text{Ga}$ ,  $^{68}\text{Ge}$  y otro tipo de impurezas radionucleídicas con un período de semidesintegración superior a 5 horas.

Para la detección y cuantificación del  $^{68}\text{Ge}$  se conserva la muestra 48 horas, esto para permitir que el  $^{68}\text{Ga}$  decaiga a un nivel que permita la detección de impurezas. Los únicos fotones gamma resultantes de la desintegración del germanio-68 tienen energías de 511 keV y 1077 keV y, dependiendo de la geometría de medición, se puede observar un pico de la suma de 1022 keV.

Resultado: la radiactividad total debida a las impurezas emisoras de  $^{68}\text{Ge}$  y gamma no puede superar el 0,001%.

Por razones de seguridad radiológica y controles de calidad la solución  $^{68}\text{Ga}$  producida por el generador  $^{68}\text{Ge} / ^{68}\text{Ga}$  debe ser de muy alta pureza radionuclídica, por lo que la contaminación  $^{68}\text{Ge}$  en la solución  $^{68}\text{Ga}$  debe ser muy baja, el **Grupo de expertos en productos radiactivos (Grupo 14)** de la Pharmacopea Europea decidió disminuir el límite de  $^{68}\text{Ge}$  en las preparaciones de  $^{68}\text{Ga}$  del 0.01% al 0.001%, debido al largo período de semidesintegración del radionúclido  $^{68}\text{Ge}$ .

## 2.8 Control de calidad de Radiofármacos.

Se asistió a la *Planta de Producción de Radioisótopos (PPR) del Centro Atómico Ezeiza* para observar y analizar técnicas de control de calidad. A pesar de todos los radioisótopos y radiofármacos que se elaboran y controlan en la planta de producción, no se produce rutinariamente  $^{68}\text{Ga}$ , pero se logró presenciar y participar en los controles que se realizan al  $^{153}\text{Sm-EDTMP}$ , debido a que tiene una forma farmacéutica similar al radiofármaco de estudio que es el  $^{68}\text{Ga}$ , ambos son inyectables que son aplicados por vía endovenosa. El

$^{153}\text{Sm}$ -EDTMP es utilizado para terapia paliativa del dolor, en pacientes con lesiones óseas metastásicas.

Se le realizaron controles de calidad como los siguientes:

Tabla 2. Ensayos de control de calidad para el  $^{153}\text{Sm}$ -EDTMP

Ensayo	Especificación
pH :	Se determina con tiras indicadorasde pH7.5 a 14. El rango debe de estar entre 7-8
Pureza Radioquímica:	Determinación del % $^{153}\text{Sm}$ libre retenido en la columna de vidrio con resina. $\%PR$ $= \frac{(Act\ total - fondo) \left( Act\ Retenida \frac{fondo}{0,95} \right)}{(Actividad - fondo)} 100$
Identificación Radionucleídica	Determinación del $^{153}\text{Sm}$ en equipo de medición gamma de alta resolución (Detector GeHP): Su espectro de rayos gamma es idéntico al de la muestra conocida de $^{153}\text{Sm}$ que presenta picos de energía plena con valores entre: 70 keV y 103 keV
Pureza Radionucleídica	Se determina la pureza del $^{153}\text{Sm}$ en el detector GeHP Se analiza la muestra de $^{153}\text{Sm}$ – EDTMP. El espectro no debe de dar menos de 99.0% de la radiactividad total esta presente en forma de $^{153}\text{Sm}$ .

## 2.9 Radiofármacos del Galio

El galio como radiofármaco debe de cumplir una serie de condiciones para que el organismo reaccione de manera efectiva y busque el objetivo al cual va dirigido. Todos los complejos del  $^{68}\text{Ga}$  tienen que cumplir a nivel de sus formulaciones estabilidad termodinámica e inercia cinética, esto para que no llegue a interactuar con componentes del plasma sanguíneo, el radiofármaco como tal debe de llegar al órgano o tejido que se va a estudiar, sin llegar a sufrir transformaciones durante todo su recorrido.

### 2.9.1 Agente bifuncional DOTA

El (ácido 1,4,7,10-tetra-azaciclododecano-N,N',N'',N''')tetra acético) conocido como DOTA, es un agente quelante bifuncional que permite enlazar por un lado al radionucleído y por el otro a la biomolécula.

Existen técnicas innovadoras de radiomarcación que utilizan estos quelantes o agentes bifuncionales que al ser unidos con el  $^{68}\text{Ga}$  forma un complejo estable con DOTA, permitiendo así la radiomarcación con péptidos de una forma rápida y eficiente, obteniendo un compuesto con alta actividad específica y de muy alta una pureza radioquímica, implicando que la masa del péptido administrada necesaria sea muy baja y con ello reducir la dosis de radiación recibida. Esto favorece con la compatibilidad y farmacocinética de muchos péptidos de interés para imágenes de diagnóstico y terapia.

El  $\text{Ga}^{3+}$  reacciona con el  $\text{OH}^-$  a pH del plasma sanguíneo y esto puede producir hidrólisis del radiofármaco, por eso uno de los controles de calidad que se le realizan al Galio es determinar concentraciones inferiores al 2% de  $\text{Ga}^{3+}$  libre. Otra manera de evitar la hidrólisis de  $\text{Ga}^{3+}$  ha sido utilizar ligandos como citrato y oxalatos a pH bajo, realizando así el marcaje por intercambio con ligandos y con eso formar complejos más estables con el ion.

Los radiofármacos de  $^{68}\text{Ga}$  deben de estar constituidos por estos agentes quelantes, con el objetivo de que formen complejos metálicos con alta estabilidad termodinámica para evitar la competencia con los quelantes propios del organismo, como es el caso de la transferrina que es la proteína transportadora de  $\text{Fe}^{3+}$  que tiene sitios libres con alta afinidad y que se encuentra a elevada concentración en sangre. Por lo que el DOTA que es muy utilizado ya que satisface los requerimientos de marcación.

El autor Anderson expone: *El DOTA(1,4,7,10 tetraazociclodecano-1,4,7,10 ácido acético) forma complejos estables octaédricos con radiometales en el estado de oxidación 3+, y su estructura cíclica le da mayor inercia cinética in vivo en comparación con ligandos acíclicos de comparable estabilidad termodinámica.* (Anderson CJ, 2010)

De lo citado cabe mencionar que por ello, es un quelante que aporta gran estabilidad en este caso con  $\text{Ga}^{3+}$ , es importante recordar que el  $\text{Ga}^{3+}$  es un metal del grupo 13 de la tabla periódica y que tiene una química basada en la formación de compuestos de coordinación.

Existen radiofármacos del  $^{68}\text{Ga}$  que han llegado a ser muy utilizados para mejorar la resolución en imágenes de diagnóstico y la cuantificación de los cambios en las

mediciones de perfusión miocárdica regional. Como por ejemplo el Ga - bisaminobistiolatos con un núcleo quelante  $N_2 S_2$ .

### 2.9.2 Los radiopéptidos

El desarrollo de radiofármacos se ha dirigido en hacer estudio de la química molecular con el objetivo de ser aplicada en la medicina nuclear ya sea para diagnóstico y para terapia. Y por eso se han basado en las ventajas que pueden tener los radiofármacos cuando son marcados con radiopéptidos, porque estos tienen la capacidad de detectar sitios bioquímicos específicos como receptores y enzimas. Dependiendo de la actividad específica que posea el radionucleído al cual se le va unir este radiopéptido y la alta sensibilidad que puede tener el equipo, así va ser la calidad de la imagen que se obtenga para hacer el estudio.

Durante décadas se han estudiado los anticuerpos monoclonales, marcados con radionucleídos con el fin de diagnóstico y terapia, pero han presentado problemas debido a su tamaño y a su baja relación de captación de algunos sitios blancos en comparación con el tejido normal. Se ha pensado utilizar fragmentos de anticuerpos que son más pequeños que los anticuerpos moleculares (50% más pequeños) para disminuir este tipo de problemas, pero se ha observado que aun así la difusión de ellos continúa siendo una limitación por su alto peso molecular. (Meléndez, 2002)

Por otro lado ven en la práctica a los **péptidos** con muchas ventajas ya que al ser más cadenas de aminoácidos son más pequeñas, tienen una mejor afinidad a receptores, son más fáciles de sintetizar y tienen una mejor respuesta inmune por parte del organismo.

Otra ventaja que presentan es que tienen la capacidad de ser eliminados rápidamente por el torrente sanguíneo dando como resultado una alta relación tejido blanco/tejido normal, en un periodo corto.

Todos estos detalles hacen ser a los péptidos una buena opción para el radiomarcaje en el ámbito de los radiofármacos.

Por ello se ha considerado en realizar análogos de péptidos como:

- El [In-DTPA-D-Phe1]-octreotido D-Phe-Cys-PheDTrp-Lys-Thr-Cys-Thr(ol), que ha sido utilizado para diagnóstico de tumores carcinoides, cáncer medular de tiroides, paragangliomas, gastromas, feocromocitoma que es un tumor poco común del tejido de la glándula suprarrenal y adenoma de la pituitaria.
- Los análogos con DOTA, han demostrado mayor estabilidad termodinámica y cinética, demostrando que su estructura química, las cargas y la hidrofobicidad de los trazadores DOTA con análogos de somatostatina y la coordinación de este quelante, tienen gran afinidad a los receptores SSTR.

### 2.9.3 Análogos de la somatostatina

Dentro de los radiofármacos que utilizan el  $^{68}\text{Ga}$ , están los análogos de somatostatina.

Los tumores neuroendocrinos, son un grupo muy grande de tumores que se originan en las células neuroendocrinas originadas en el SNC y en el Sistema endocrino donde incluye ganglios y glándulas endocrinas como la hipófisis, medula adrenal y páncreas. Estos tumores se caracterizan por presentar sitios de unión muy fuertes con la hormona inhibidora de crecimiento (SST), conocida como **somatostatina**. Existen 5 sub-tipos de

receptores que reconocen la somatostatina (SST1-SST5) y que se encuentran presentes en una gran variedad de tumores y sus metástasis. Esta característica ha servido para el desarrollar análogos de la somatostatina.

La somatostatina es una hormona que está **formada por un péptido** cíclico de 14 aminoácidos y con una vida media en plasma muy corto (de 2 minutos). Al verse inhibida la hormona de crecimiento, el cuerpo humano empieza a verse afectado con la presencia excesiva de esta hormona, por lo que se desarrolló un sustituto de somatostatina que actuara igual pero que permaneciera más tiempo en el organismo y con ello se desarrolló **el octreótido**.

De aquí se basa los radiofármacos de tratamiento y de diagnóstico para este tipo de tumores que presentaban mucha hormona de crecimiento. El octreótido es unido a radioisótopos lo que conformaría a un radiofármaco, en este caso de estudio, se puede unir al Galio-68 para formar el  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TOC y con el objetivo de hacer de él uso para diagnóstico de tumores. Además es importante destacar que en diferentes partes del mundo utilizan este compuesto de  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA unido también a otros radioisótopos más energéticos como es el caso del  $^{90}\text{Y}$  o el  $^{177}\text{Lu}$  con el fin de tratar y eliminar estos tumores sin atacar células buenas.

Dentro de los análogos de somatostatina más utilizados, cabe mencionar el complejo el DOTA-TOC, el DOTA-TATE y el DOTA- NOC.

Para las pruebas de diagnóstico para estudio PET con  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TOC, se aconseja un ayuno de 4 horas. Obteniendo imágenes para estudio en hipófisis, hígado, bazo, riñones y vejiga.

# CAPITULO III

---

## 3.1 Investigaciones y aplicaciones del galio-68 como radiofármaco.

### 3.1.1 $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TATE y $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-NOC: Cáncer de Tiroides Bien Diferenciado (WDTC).

Ambos radiofármacos son análogos de somatostatina como anteriormente se mencionó y han sido útiles para el diagnóstico de tumores neuroendocrinos, gastroentero-pancreaticos metastásicos

Ambos radiofármacos han tenido estudios en la patología de cáncer de tiroides bien diferenciado, conocido como WDTC, por sus siglas en inglés. Sobre estas células encontraron una alta cantidad de receptores SSTR-2, SSTR-3 y SSTR-5.

Al dar a conocer estas características, se plantea que tanto el  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TATE, como el  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-NOC pueden ser útiles para evaluar la adsorción de cada uno sobre la lesión y la afinidad que pueden tener sobre estos los receptores. El objetivo del estudio se basó en hacer comparación de los valores de adsorción de ambos radiofármacos, sobre una misma población de pacientes. Donde se pudo observar que  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TATE identificó 45 lesiones en la imagen y  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-NOC 42 lesiones, habiendo más valores máximos de captación de normalizada para el  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TATE. Con lo que se llegó a la conclusión que se sugiere al  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TATE en estos casos de pacientes con WDTC, teniendo una ventaja sobre  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-NOC. (revista health, 2013)

### 3.1.2 Revisión de Farmacología Clínica realizada por la FDA

La siguiente información es una Revisión de Farmacología Clínica realizada por la FDA, los datos suministrados se basa en un estudio clínico realizado por Centro Médico Universitario Vanderbilt (VUMC) para determinar la seguridad y eficacia  $^{68}\text{Ga}$ -DOTATATE:

#### 3.1.2.1 Biodistribucion del fármaco según estudios realizados:

Se ha comprobado en un estudio hecho por la FDA que alrededor del 12% de la radiactividad inyectada es excretada en orina en las primeras 4 horas, en casos de pacientes con insuficiencia hepática o renal aún no hubo información.

No se han realizado farmacocinética en sangre. Los datos sobre la biodistribución se basan en imágenes. Sandström et al. (Journal Nuclear Medicine 2013; 54: 1755-1759) Se informó biodistribución y dosimetría de  $^{68}\text{Ga}$ -DOTATATE en nueve pacientes con tumores neuroendocrinos después de la administración intravenosa (rango, 72-120 MBq).

Se hizo la dinámica en medir con PET 45 minutos sobre el área abdominal incluyendo el hígado, el bazo, las glándulas suprarrenales y los riñones inyectando simultáneamente con el  $^{68}\text{Ga}$ -DOTATATE y luego tres mediciones de PET de cuerpo entero 1, 2 y 3 horas después de la inyección . Los volúmenes de interés se mostraron en las imágenes de todo el cuerpo y en el último marco temporal de la serie de imágenes sobre subgrupos " libres de tumores" de todos los órganos fuente se identificaron claramente: hígado, riñones, bazo, pulmones, Intestino delgado y glándulas suprarrenales.

### **3.1.2.2 Características de la distribución del medicamento:**

En PET se denomina *SUVmax* como el máximo valor de captación estandarizado, y en el informe se realizó análisis semicuantitativos donde muestran que los valores de *SUVmax* son los más altos en la glándula pituitaria, el bazo, las glándulas suprarrenales y los riñones. Se observó una absorción significativa de  $^{68}\text{Ga}$ -DOTATATE por el páncreas en el 12% de los pacientes. La absorción moderada de  $^{68}\text{Ga}$ -DOTATATE también estaba presente en las glándulas salivales, glándula tiroides y en hígado normal. Los huesos generalmente mostraron bajos niveles de  $^{68}\text{Ga}$ -DOTATATE.

### **3.1.2.3 Dosis administrada al paciente:**

El fármaco se utiliza como una microdosis (se administran aproximadamente 50  $\mu\text{g}$ ). La dosis inyectable nominal única fue de 5 a 7 mCi en un volumen de 3 - 5 ml que contenía 50  $\mu\text{g}$  de  $^{68}\text{Ga}$  - DOTATATE. Las actividades administradas variaron de 4,3 mCi (159,1 MBq) a 6,0 mCi (222 MBq). Sin embargo, la gran mayoría de los pacientes (87,5%) recibieron entre 4,9 mCi (181,3 MBq) y 5,5 mCi (203,5 MBq).

La única información disponible sobre excreción es un informe de literatura que indica que el 12% de la radiactividad se excreta en la orina en las primeras 4 horas después de la administración.

### 3.1.3 La biodistribución $^{68}\text{Ge}$ en órganos.

Si bien el  $^{68}\text{Ge}$  no es utilizado como radiofármaco, sino utilizado en el generador como madre para producir el nucleído hija que es el  $^{68}\text{Ga}$ . Dentro de las especificaciones de pureza radionucleídica que se solicita en la monografía de la Farmacopea Europea, menciona: para el  $^{68}\text{Ge}$  (IV), no más de 0,001% de la radiactividad total en una preparación de  $^{68}\text{Ga}$ .

En un principio el Grupo 14 de la Farmacopea Europea decidió disminuir el límite de  $^{68}\text{Ge}$  en las preparaciones de  $^{68}\text{Ga}$  del 0,01% al 0,001%.

Pero hasta ahora la dosimetría de  $^{68}\text{Ge}$  (IV) no ha sido estudiada y el límite definido en las monografías de la Farmacopea Europea se basa en una suposición hipotética de la acumulación total de radiactividad  $^{68}\text{Ge}$  (IV) en la médula ósea con una retención alta e infinita de radionucleídos en este órgano sensible . (Velikyan,2013)

Al no basarse en datos experimentales que reflejara la biodistribución, se contribuyó con un estudio (Organ biodistribution of Germanium-68 in rat in the presence and absence of [ $^{68}\text{Ga}$ ]Ga-DOTA-TOC for the extrapolation to the human organ and whole-body radiation dosimetry) donde se determinó la dosimetría del  $^{68}\text{Ge}$  (IV). y su respectivo límite aceptable de contenido en el eluido producido por generador  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  y radiofármacos basados en  $^{68}\text{Ga}$ .

En el estudio se detalla que el ( $^{68}\text{Ge}$ )  $\text{GeCl}_4$  administrado solo o junto con el  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TOC , se eliminó rápidamente a través de la excreción renal y ninguno de los órganos medidos acumuló  $^{68}\text{Ge}$  (IV) durante el lapso del experimento de 7 días. Hubo una depuración rápida de la sangre, excreción renal y además no hubo ninguna deposición en

el tejido después de 24 horas. Además, se consideró que una fracción relativamente pequeña del germanio se distribuía en todos los órganos y se conservaba con una vida media de 1 día.

Al tener una eliminación rápida con una vida media de aproximadamente 0,6 h y al no observarse la acumulación en ningún órgano, incluyendo la médula ósea, se llegó a la conclusión que el órgano limitador de la dosis fue el riñón, y se puede administrar una cantidad máxima de  $^{68}\text{Ge}$  (IV) de 645 MBq y 935 MBq, respectivamente para mujeres y varones, antes de alcanzar una dosis efectiva de 10 mSv. (Velikyan,2013)

Estos resultados implican que el límite de  $^{68}\text{Ge}$  (IV) recomendado actualmente por la monografía de la Farmacopea Europea podría aumentarse al menos 100 veces sin exponer al paciente a daño. (Velikyan,2013)

#### 3.1.4 $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-hEGF para el diagnóstico de EGFR en tumores malignos

El receptor de factor de crecimiento epidérmico (EGFR) es una proteína en esta presente en la superficie de las células. Y tiene como función e ayudar a las células a crecer y a dividirse. Algunas células del cáncer de pulmón no microcítico tienen demasiado EGFR, lo que causa que estas células crezcan más rápidamente.

La detección de la sobreexpresión del receptor EGFR, en muchos carcinomas proporciona información diagnóstica importante para determinar la condición del paciente.

Se realizó un estudio (Preparación y evaluación de  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-hEGF para la visualización de la expresión de EGFR en tumores malignos) donde se buscó desarrollar un método

para la preparación de un trazador que fuera emisor de positrones basado en un ligando natural de EGFR, en otras palabras un anticuerpo anti-EGFR. Esto con el fin de realizar una evaluación preclínica del mismo. (Sundberg ,2005)

Una alternativa a los anticuerpos anti-EGFR podría ser el uso de un ligando natural, factor de crecimiento epidérmico humano (hEGF), como vector de diana para el suministro de radionúclidos a células tumorales (Blomquis, 1992). El peso molecular de hEGF (6,2 kDa), permite una penetración rápida del tumor y una rápida eliminación de la sangre, proporcionando un buen contraste de la imagen.

Al lograr la marcación de hEGF con un radionucleído emisor de positrones como es el caso del  $^{68}\text{Ga}$  con un periodo de semidesintegración 68 minutos hace que sea compatible con la rápida eliminación en sangre de hEGF.

El HEGF fue conjugado con un grupo quelante de DOTA macrocíclico y radiomarcado con el radionúclido emisor de positrones  $^{68}\text{Ga}$  mostró alta afinidad y especificidad de unión a EGFR y una rápida internalización tanto en células carcinoma.

El  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-hEGF como un trazador basado en péptido cumplió los requisitos principales, tales como la permeabilidad del tejido, la unión al receptor de alta afinidad y una rápida eliminación del cuerpo, que es principalmente lo que se busca en un radiofármaco.

### 3.1.5 $^{68}\text{Ga}$ -BAPEN aplicación en perfusión miocárdica regional

Se han realizados estudios en animales, proporcionando datos de biodistribución sugieren que el complejo  $^{68}\text{Ga}$ -BAPEN podría ser útil como un radiofármaco PET para visualizar el corazón. Se realizó un estudio de imagen de PET con un perro sano para evaluar el potencial de este trazador, 20 minutos después de la inyección se demostró que el corazón estaba claramente delineado en la imagen, con un buen contraste de corazón a sangre y de corazón a pulmón. La distribución de  $^{68}\text{Ga}$  en el miocardio fue homogénea..

Además, se están realizando estudios para determinar el destino químico de este marcador en el miocardio y determinar cómo la captación miocárdica de  $^{68}\text{Ga}$  está relacionada con la tasa de perfusión miocárdica regional (Tsang,1993).

En otro estudio más reciente se formuló un nuevo kit de BAPEN para el marcaje con  $^{68}\text{Ga}$ . Los kits preparados se marcaron con  $^{68}\text{Ga}$  eluido por el generador en HCl 0,1 M. Se pudo ensayar la estabilidad en suero humano, se realizó además un estudio de biodistribución en ratones normales después de la inyección. Y se logró observar que los kits preparados alcanzaron eficacias de radiomarcado superiores al 95% y mostraron una vida útil de 98 días a 25 ° C y 64,3 meses a 4 ° C. Se encontró que  $^{68}\text{Ga}$ -BAPEN era estable en suero humano a 37°C durante al menos 1 h. Además, un estudio de biodistribución reveló alta absorción cardíaca (10,8% ID / g, 1 h).

### 3.1.6 $^{68}\text{Ga}$ -PSMA aplicado para imágenes de cáncer de mama

El antígeno de membrana específico de próstata marcado con  $^{68}\text{Ga}$  (PSMA) se está desarrollando rápidamente a nivel de diagnóstico de cáncer de próstata recurrente. El PSMA es una proteína transmembrana de tipo II con alta expresión en células de carcinoma de próstata (Afshar, 2015).

Pero recientemente se ha demostrado que también se acumula en el carcinoma de células renales metastásico al igual que en varios estudios han proporcionado pruebas de que la PSMA también se expresa en la tumoración asociada a la vasculatura de cáncer de mama primario y metástasis a distancia (Sathekge, 2014).

## Conclusiones

Finalmente se llega a cumplir con el objetivo inicial que pretendía el análisis y el estudio de los procedimientos para la obtención del  $^{68}\text{Ga}$  como radiofármaco, así de los protocolos de control de calidad que se requieren. Se llegó a analizar y demostrar, que durante el procedimiento de la obtención de este radiofármaco, la Fundación Centro de Diagnóstico Nuclear utilizan el procedimiento más adecuado en cuanto a la síntesis del  $^{68}\text{Ga}$ . Generalmente en los procedimientos de obtención del radiofármaco se utiliza solamente un generador por un período de uso de 1 a 2 años, que es la vida útil del mismo, y en los procesos de purificación y concentración del eluido del  $^{68}\text{Ga}$ , lo que se utiliza es solo una columna de resinas de intercambio iónico. El procedimiento que realiza la FCDN va más allá de estos procesos generales, pues utiliza dos generadores conectados en serie por un período de un año, lo que permite lograr un mejor porcentaje de rendimiento del eluido final.

También se concluye que, por lo general, en los procesos de purificación y concentración del eluido del  $^{68}\text{Ga}$ , se utiliza solo una columna de resinas de intercambio iónico. En el caso de FCDN se utilizan las dos columnas de resinas, una aniónica y otra catiónica con lo que favorece a la obtención de un producto final con los mejores parámetros, óptimos en cuanto a presencia de impurezas.

Se analizaron los procedimientos de Control de Calidad, tanto en la Planta de Producción de Radioisótopos como en FCDN, concluyéndose así que en ambas se utiliza una serie de protocolos estrictos, en cuanto a las normas de Gestión de la Calidad de radiofármacos,

para un procedimiento que garantiza una excelente obtención de cada radioisótopo y radiofármaco requerido.

## Bibliografía

1. Razbash AA, (2005). **Germanium-68 row of products. Proceedings of the 5th International Conference on Isotope.** Bologna. Ed Medimond, p.147
2. Rösch, Frank (2013). **Theranostics, Gallium-68, and Other Radionuclides, Recent Results in Cancer Research.**Alemania. Ed Springer-Verla.p.6
3. Mourtada F, Yang D (2009). **Automated system for formulating radiopharmaceuticals.** Estados Unidos . Patend US. p.45 y 355
4. Baum y Rösch, Frank (2013) . **Theranostics, Gallium-68, and Other Radionuclides, Recent Results in Cancer Research.**Alemania. Ed Springer-Verla.p.48
5. Limeres, Manuel R (2003). **Farmacopea Argentina, séptima edición.** Argentina.p. 422 y 429.
6. López. A.(2010). **Generadores de isótopos emisores de positrones de aplicación biomédica.** Espana. Ed. Grupo de Investigación de Radiobiología. p. 212
7. Morín, José y Cruz, Jorge. (2012). **Radiofármacos del galio 68.** La Habana, Cuba. Ed.Panorama nuclear. p 2 .
8. Farmacopea Europea (2011) **Draft Monographs and General Texts for comment.** Europa. 9 Edicion. P. 297-312.
9. Comar D (1980).**A new generator for ionic Gallium-68.** Ed.J.NuclMed. p.171-173
10. Eppard E (2013) **Quantitative online isolation of  $^{68}\text{Ge}$  from  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  generator eluates for purification and immediate quality control of breakthrough.** P. 45-48.
11. Menléndez, Laura. (2002). **Radiomarcado de péptidos para diagnóstico y terapia.** México. p.4-5

12. Araman.A (2013).**Evaluation and comparison of Ga-68 DOTA-TATE and Ga-68 DOTA-NOC PET/CT imaging in well-differentiated thyroid cancer.** Estambul. Ed. National Library of medicine. p.1
13. FDA (2015). **Pharmacology Review Kit for the Preparation of 68GaDOTATATE for Injection.** Estados Unidos. p. 8-13
14. León, Luis M (2008) . **The Synthesis and Chelation Chemistry of DOTA-Peptide Conjugates.** Estados Unidos. Volumen 9. p. 2
15. Velikyan Irina (2013). **Organ biodistribution of Germanium-68 in rat in the presence and absence of [68Ga]Ga-DOTA-TOC for the extrapolation to the human organ and whole-body radiation dosimetry.** Suecia. Ed.J Nucl Med Mol.p. 154-162
16. Sundberg (2005). **Preparation and Evaluation of <sup>68</sup>Ga-DOTA-hEGF for Visualization of EGFR Expression in Malignant Tumors.** p.1883-1885
17. Tsang.Brenda. (1993). **A Gallium-68 Radiopharmaceutical That is Retained in Myocardium<sup>68</sup>Ga[(4,6-MeO<sub>2</sub>sal)<sub>2</sub>BAPEN].**Indiana.p.1-6
18. Afshar. (2015) **The diagnostic value of PET/CT imaging with the (68)Ga labelled PSMA ligand HBED-CC in the diagnosis of recurrent prostate cancer.** Ed. EurJ Nucl Med Mo IImaging.p.197–209
19. Sathekge.Mike (2014) **68Ga-PSMA imaging of metastatic breast cancer.** Berlin. Ed. Springer-Verlag. P.2

