

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**  
**FACULTAD DE FARMACIA**



**TESIS DOCTORAL**

**Desarrollo de un generador de  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ . Aplicaciones del  $^{68}\text{Ga}$  en  
tomografía por emisión de positrones**

**MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR**

**PRESENTADA POR**

**Eduardo Romero Sanz**

Director

**Miguel Ángel Morcillo Alonso**

**Madrid, 2018**







**UNIVERSIDAD  
COMPLUTENSE  
MADRID**

**FACULTAD DE FARMACIA**

**DESARROLLO DE UN GENERADOR DE  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ .  
APLICACIONES DEL  $^{68}\text{Ga}$  EN TOMOGRAFÍA POR  
EMISIÓN DE POSITRONES**

**TESIS DOCTORAL**

**Autor:**

**Eduardo Romero Sanz**

**Director de Tesis:**

**Prof. Dr. D. Miguel Ángel Morcillo Alonso**

**2017**



Miguel Ángel Morcillo Alonso, Responsable de la Unidad de Aplicaciones Biomédicas y Farmacocinética del CIEMAT (Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas).

Certifica:

Que el presente trabajo de investigación titulado: **“DESARROLLO DE UN GENERADOR DE  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ . APLICACIONES DEL  $^{68}\text{Ga}$  EN TOMOGRAFÍA POR EMISIÓN DE POSITRONES”**, constituye la memoria que presenta Eduardo Romero Sanz para optar al grado de Doctor en Farmacia, y que ha sido realizada bajo mi dirección en la Unidad de Aplicaciones Biomédicas y Farmacocinética del CIEMAT (Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas).

Para que así conste, firma la presente en Madrid a 14 de enero del 2017.

Dr. Miguel Ángel Morcillo Alonso  
Científico Titular de OPI





## AGRADECIMIENTOS

Al **Profesor Dr. D. Miguel Ángel Morcillo Alonso**, responsable de la Unidad de Aplicaciones Biomédicas y Farmacocinética del CIEMAT, por haber concebido e impulsado la realización de esta tesis doctoral con su constante apoyo personal, por su capacidad para ilusionar, por su enseñanza del razonamiento científico y por estimular el inicio de mi carrera investigadora.

A **D. Alfonso Martínez Ortega**, supervisor de la instalación radiactiva IR-08 del CIEMAT, por su esfuerzo, perseverancia, colaboración y enseñanza en todos los ámbitos referentes a las radiaciones y por su apoyo constante durante toda esta tesis doctoral.

A la **Dra. D<sup>a</sup>. Marta Oteo Vives**, investigadora del CIEMAT, por su colaboración esencial en el tratamiento de imágenes realizadas en esta tesis doctoral.

A **D. Ángel García de Lucas**, compañero de laboratorio, por su paciencia, apoyo y comprensión durante las horas en el laboratorio.

A **D. Salvador Sánchez Domínguez, D. Vicente Jurado Ruiz, D<sup>a</sup>. Tomasa Sánchez-Rey Sánchez-Rey, D<sup>a</sup> Natalia Magro Calvo, D<sup>a</sup> Marta Ibañez Moragues** y a todo el personal y colaboradores de la Instalación Radiactiva IR-08 del CIEMAT, por sus continuos ánimos y dedicación de su tiempo de forma desinteresada.

A **Dr. D. Eduardo García-Toraño Martínez**, investigador del Laboratorio de Metrología de Radiaciones Ionizantes, por su colaboración y apoyo durante esta tesis.

A mis padres, **Severino** y **Consuelo**, a mis abuelos, y a **Ángela** cuyas vidas han sido para mí un ejemplo, habiendo sabido inculcarme los valores de ilusión, trabajo, constancia, y sacrificio, los cuales han sido vitales para la ejecución de esta tesis doctoral.

A mi hermano, **Iñaki**, por ser estímulo y ejemplo con su carrera investigadora.

A mi mujer, **María**, por estar siempre a mi lado para apoyarme de forma incondicional sacrificando gran parte de su tiempo, por creer en mí, por su paciencia desmesurada y por haberme ayudado a superar las dificultades encontradas durante esta tesis.





## **DEDICATORIA**

**A Seve y Consuelo**

**A Ángela**

**A Iñaki**

**A María**





***“Soy un universo de átomos, un átomo en el universo”***

Richard Phillips Feynman

Premio Nobel (1965)





## ÍNDICE

Resumen .....	17
Listado de acrónimos y símbolos .....	21
Capítulo 1: Introducción .....	25
1.1 El núcleo atómico .....	25
1.2 Radiación electromagnética .....	26
1.3 Radioactividad, radiaciones ionizantes y su interacción con la materia .....	28
1.3.1 Principales tipos de desintegración .....	29
1.3.1.1 Desintegración alfa ( $\alpha$ ) .....	29
1.3.1.2 Desintegración beta ( $\beta$ ) .....	30
1.3.1.3 Captura electrónica (CE) .....	31
1.3.1.4 Desintegración gamma ( $\gamma$ ) .....	31
1.3.1.5 Conversión interna (CI) .....	32
1.3.1.6 Transición isomérica (TI) .....	32
1.3.2 Interacción de partículas cargadas con la materia .....	33
1.3.2.1 Colisión elástica .....	33
1.3.2.2 Colisión inelástica .....	33
1.3.2.3 Colisión radiativa .....	34
1.3.3 Interacción de fotones con la materia .....	35
1.3.3.1 Efecto Fotoeléctrico .....	35
1.3.3.2 Efecto Compton .....	36
1.3.3.3 Creación de pares .....	37
1.4 Leyes de la desintegración radiactiva .....	38
1.4.1 Desintegración de mezclas radiactivas .....	40
1.4.1.1 Radionucleidos sin relación genética .....	40
1.4.1.2 Radionucleidos con relación genética .....	41
1.5 Radiofarmacia .....	43
1.5.1 Radiofármacos para diagnóstico .....	44
1.5.1.1 Tomografía por emisión de fotón único .....	47
1.5.1.2 Tomografía por emisión de positrones .....	50
1.5.2 Radiofármacos para terapia .....	54

1.6 Producción de radionucleidos .....	59
1.6.1 Producción de radionucleidos vía reactor nuclear.....	59
1.6.2 Producción de radionucleidos vía ciclotrón .....	62
1.6.3 Producción de radionucleidos vía generador .....	65
1.6.3.1 Generadores basados en columnas cromatográficas .....	70
1.6.3.2 Generadores basados en extracción con solventes .....	72
1.6.3.3 Generadores basados en sublimación .....	72
1.6.3.4 Generadores basados en gel.....	73
1.6.3.5 Control de Calidad de generadores de radionucleidos .....	74
1.7 Propiedades del $^{68}\text{Ga}$ .....	79
1.7.1 Propiedades nucleares .....	79
1.7.2 Propiedades químicas.....	82
1.8 Referencias bibliográficas.....	87
Capítulo 2: Objetivos.....	97
Capítulo 3: Generador de $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ .....	99
3.1 Introducción .....	99
3.2 Materiales y Métodos.....	104
3.2.1 Determinación de los coeficientes de distribución (Kd) .....	105
3.2.2 Caracterización de los óxidos seleccionados .....	107
3.2.3 Determinación de la capacidad de adsorción .....	107
3.2.4 Irradiación de los óxidos .....	108
3.2.5 Preparación y evaluación de generador $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ piloto.....	110
3.2.6 Preparación y evaluación de generador $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ prototipo .....	113
3.3 Resultados y Discusión.....	115
3.3.1 Determinación de los coeficientes de distribución (Kd) .....	115
3.3.2 Caracterización de los óxidos seleccionados .....	120
3.3.4 Capacidad de adsorción de los óxidos seleccionados .....	123
3.3.3 Irradiación de los óxidos seleccionados .....	124
3.3.5 Preparación y evaluación de generador $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ piloto.....	127
3.3.6 Preparación y evaluación de generador $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ prototipo .....	135
3.4 Conclusiones .....	146
3.5 Referencias bibliográficas.....	148



Capítulo 4: Purificación de $^{68}\text{Ga}$ .....	155
4.1 Introducción .....	155
4.2 Materiales y Métodos.....	161
4.3 Resultados y Discusión.....	164
4.4 Conclusiones .....	167
4.5 Referencias bibliográficas.....	167
Capítulo 5: Aplicaciones con $^{68}\text{Ga}$ .....	171
5.1 Radiotrazadores óseos marcados con $^{68}\text{Ga}$ .....	171
5.1.1 Introducción .....	171
5.1.2 Materiales y Métodos .....	174
5.1.2.1 Radiomarcaje .....	174
5.1.2.3 Control de Calidad.....	175
5.1.2.4 Imagen PET/CT .....	176
5.1.2.5 Análisis estadístico .....	177
5.1.3 Resultados y Discusión .....	178
5.1.3.1 Radiomarcaje .....	178
5.1.3.2 Control de Calidad.....	178
5.1.3.3 Imagen PET/CT .....	179
5.1.4 Conclusiones .....	185
5.1.5 Referencias bibliográficas .....	185
5.2 Análogo de $\alpha$ -MSH marcado con $^{68}\text{Ga}$ .....	191
5.2.1 Introducción .....	191
5.2.2 Material y métodos.....	194
5.2.2.1 Radiomarcaje .....	194
5.2.2.2 Purificación del compuesto marcado.....	195
5.2.2.3 Control de calidad.....	196
5.2.2.4 Imagen PET/CT .....	196
5.2.3 Resultados y discusión .....	198
5.2.3.1 Radiomarcaje .....	198
5.2.3.2 Control de Calidad.....	198
5.2.3.3 Imagen PET/CT .....	199
5.2.4 Conclusiones .....	199

5.2.5 Referencias bibliográficas .....	200
5.3 Análogos de SST marcados con <sup>68</sup> Ga .....	205
5.3.1 Introducción .....	205
5.3.2 Materiales y Métodos .....	213
5.3.2.1 Radiomarcaje .....	213
5.3.2.2 Imagen PET/CT .....	217
5.3.2.3 El análisis estadístico.....	219
5.3.3 Resultados y Discusión .....	219
5.3.3.1 Radiomarcaje .....	219
5.3.3.2 Imagen PET/CT .....	222
5.3.4 Conclusiones .....	229
5.3.5 Referencias bibliográficas .....	230
Capítulo 6: Figuras, leyendas y tablas .....	239
Capítulo 7: Publicaciones y congresos derivados de esta tesis .....	249
7.1 Publicaciones .....	249
7.2 Congresos.....	249



## Resumen

La Tomografía por Emisión de Positrones ha experimentado un gran desarrollo en los últimos años, convirtiéndose en una técnica muy importante para la investigación biomédica y el diagnóstico en clínica de forma individualizada y no invasiva para el paciente. El desarrollo y disponibilidad de nuevos radiofármacos específicos para determinadas patologías es uno de los principales promotores de la expansión de la técnica PET en clínica, en este contexto el  $^{68}\text{Ga}$  tiene un rol importante.

Los generadores de radionucleidos pueden proporcionar de forma rutinaria radionucleidos a demanda sin depender de un acelerador o un reactor nuclear, como es el caso del  $^{68}\text{Ga}$ , el cual se puede obtener a través de un generador de  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ . La presente tesis describe el desarrollo de un generador de  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  basado en nano- $\text{SnO}_2$  calcinado, el cual se evaluó durante un período de 1 año y 305 ciclos de elución. El rendimiento de elución fue  $\geq 90\%$  cuando el generador era nuevo, decreciendo con el tiempo y el uso de éste hasta llegar  $\geq 70\%$ , mientras que el contenido  $^{68}\text{Ge}$  en el eluido fue del orden de  $10^{-4}\%$  durante todo el estudio. El generador descrito proporciona resultados satisfactorios, lo que permite utilizarlo para el marcaje de moléculas de interés en PET.

Además, se describe la implementación de un método manual para la concentración y purificación del  $^{68}\text{Ga}$  eluido de un generador de  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ , usando para ello una resina de intercambio aniónico.

Se realizó un estudio comparativo de cuantificación en PET de los radiotrazadores óseos  $^{68}\text{Ga}$ -EDTMP y  $^{68}\text{Ga}$ -BPAMD empleando el  $^{68}\text{Ga}$  obtenido del generador prototipo frente al  $^{18}\text{F}$ -FNa en ratones sanos. El  $^{18}\text{F}$ -FNa mostró los mejores resultados seguido del  $^{68}\text{Ga}$ -EDTMP y del  $^{68}\text{Ga}$ -BPAMD. Sin embargo  $^{68}\text{Ga}$ -EDTMP y  $^{68}\text{Ga}$ -BPAMD mostraron buenos resultados en las imágenes óseas mediante PET. Por lo tanto, son una alternativa para su uso en laboratorios PET sin acceso a un ciclotrón.

Por otro lado, se evaluó el uso directo del eluido del generador, sin necesidad de realizar un proceso de purificación y concentración, marcando para ello con  $^{68}\text{Ga}$  un análogo de la hormona estimulante de melanocitos conjugado con DOTA, DOTA-NAPamida. Adicionalmente, se evaluó la posible aplicación de este radioligando en el diagnóstico de tumores primarios de melanomas en un modelo de ratón mediante PET. Los resultados obtenidos permitieron visualizar, caracterizar y cuantificar este tipo de tumores.

Finalmente, se evaluaron diferentes análogos de la somatostatina (DOTA-NOC, DOTA-TOC y DOTA-TATE), marcados con  $^{68}\text{Ga}$  obtenido del generador prototipo y empleando el método de concentración y purificación desarrollado anteriormente. Estos radiopéptidos se utilizaron para obtener imágenes PET de feocromocitoma, meningiomas y de tumor pulmonar de origen neuroendocrino empleando para ello modelos animales experimentales. Los resultados mostraron el enorme potencial de estos péptidos y su posible impacto en clínica.

## **Abstract**

Positron Emission Tomography (PET) has experienced accelerated development in the last years and has become an established method for biomedical research and clinical routine diagnostics on patient individualized basis. Development and availability of new specific radiopharmaceuticals for particular diseases is one of the driving forces of the expansion of clinical PET. In this context  $^{68}\text{Ga}$  has an important role.

Radionuclide generators system can routinely provide radionuclides on demand without on-site availability of an accelerator or a nuclear reactor, such as  $^{68}\text{Ga}$ , which can be obtainable via  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  generator. This thesis described the development of a radionuclide generator based on calcined nano- $\text{SnO}_2$ . This generator was evaluated over a period of 1 year and 305 elution cycles. Elution yield was  $\geq 90\%$  when the generator is new and this value decreased with time and use of it to  $\geq 70\%$ , the  $^{68}\text{Ge}$  content in the eluate was not exceed of  $10^{-4}\%$  throughout the investigation period.



The generator described provides satisfactory results, allowing use it for labelling molecules of interest in PET imaging.

Furthermore, this thesis described a manual system based on an anion exchange-cartridge for concentration and purification for  $^{68}\text{Ga}$  obtained of a  $^{68}\text{Ga}/^{68}\text{Ga}$  generator eluate.

The  $^{68}\text{Ga}$  obtained by prototype generator was used for a comparative quantification PET image study with  $^{68}\text{Ga}$ -EDTMP,  $^{68}\text{Ga}$ -BPAMD and  $^{18}\text{F}$ -FNa in healthy mice.  $^{18}\text{F}$ -FNa has shown better results than  $^{68}\text{Ga}$ -EDTMP and  $^{68}\text{Ga}$ -BPAMD. However  $^{68}\text{Ga}$ -EDTMP and  $^{68}\text{Ga}$ -BPAMD showed good bone PET images results. Therefore, they are an alternative for use in PET centers without cyclotron.

The eluate of generator developed was tested directly, that is, without performing a process of purification and concentration. For this purpose an analogue of melanocyte-stimulating hormone conjugated to DOTA and labeled with  $^{68}\text{Ga}$  was assessed by PET for the diagnosis of primary tumors presumed melanomas in a mouse model. The results allowed us to visualize, characterize and quantify these tumors.

Finally, somatostatin DOTA-analogues (DOTA-NOC, DOTA-TOC y DOTA-TATE) were evaluated, which were radiolabeling with  $^{68}\text{Ga}$  produced by prototype generator and subjected to a process of purification and concentration as has been described above. These  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-peptides were used to obtain PET image of pheochromocytoma, meningioma and lung neuroendocrine tumor in experimental animal models using a microPET/CT scanner. The results showed the enormous potential of these peptides and their possible clinic impact.



## Listado de acrónimos y símbolos

A: número másico

A: actividad

A<sub>0</sub>: actividad inicial

AEMPS: Agencia Española del Medicamentos y Productos Sanitarios

A<sub>exp</sub>: actividad experimental

A<sub>f</sub>: actividad final

A<sub>t</sub>: actividad teórica

A<sub>tp</sub>: actividad teórica elución anterior

ADN: ácido desoxirribonucleico

AQB: agente quelante bifuncional

BET: método que debe su nombre a Brunauer-Emmett-Teller

BHJ: método que debe su nombre a Barrer-Halenda-Joiyner

BGO: germanato de bismuto

BPAMD: ácido 1,4,7,10-tetraazaciclododecano-1,4,7-triacético

BPs: bifosfonatos

Bq: bequerelio

c: velocidad de propagación de la luz en el vacío.  $3 \times 10^8$  m/s

CC: control de calidad

CE: captura electrónica

Ci: curio

CI: conversión interna

CIEMAT: Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas

CIMES: Centro de Investigaciones Médico Sanitarias

CNIO: Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas

CT: tomografía axial computarizada

d: día

DOTA: ácido 1,4,7,10-tetraazaciclododecano-1,4,7,10-tetraacético

DOTATATE: DOTA-Tyr3-octreotato

DOTANOC: DOTA-NaI3-octreótido

DOTATOC: DOTA-Tyr3-octreótido

DPD: ácido 3,3-difosfono-1,2-propanodicarboxílico  
DTPA: ácido dietilentriaminopentaacético  
EDTA: ácido etilendiaminotetraacético  
EDTMP: ácido etilendiaminotetra (metileno fosfónico)  
 $E_{\max}$ : energía máxima  
eV: electronvoltio  
FDG o  $^{18}\text{F}$ -FDG:  $^{18}\text{F}$ -fluorodesoxiglucosa  
g: gramo  
GMPs: normas de correcta fabricación  
Gy: gray  
h: hora  
Hap: hidroxiapatita  
HDP: ácido hidroxietiliden-difosfónico  
HEPES: ácido 4-(2-hidroxietil) piperazina-1-etanosulfónico  
HMG-CoA: 3-hidroxi-3-metil-glutaril-coenzima A  
HPLC: Cromatografía Líquida de Alta Resolución  
IC: conversión interna  
ICP-AES: espectroscopia de emisión en plasma de acoplamiento inductivo  
IUPAC: Unión Internacional de Química Pura y Aplicada  
iv: intravenosa  
Kd: coeficientes de distribución  
L: litro  
LET: transferencia lineal de energía  
LOR: línea de respuesta  
m: masa  
MCR: receptor de melanocortina  
MDP: ácido metileno-difosfónico  
min: minuto  
N: Número de neutrones de un núcleo  
 $N_t$ : número de núcleos radiactivos a un tiempo determinado  
 $N_0$ : número de núcleos radiactivos iniciales  
NAPamida: Ac-Nle-Asp-His-D-Phe-Arg-Trp-Gly-Lys-NH<sub>2</sub>



nm: nanómetros

NOTA: ácido 1,4,7 triazaciclononano-1,4,7-triacético

PPs: polifosfonatos

PCC: feocromocitoma

pH: coeficiente que indica el grado de acidez o basicidad de una solución acuosa

ppm: partes por millón

PQ: pureza química

PET: tomografía por emisión de positrones

PRN: pureza radionucleídica

PRQ: pureza radioquímica

PTFE: politetrafluoroetileno

rcf: fuerza centrífuga relativa

RE: rendimiento de elución o eficiencia de elución

ReCCMSH (Arg11):  $\alpha$ -MSH3-13 ReO (Cys3,4,10,D-Phe7, arg11)

RM: rendimiento de marcaje

ROI: región de interés

MR: resonancia magnética

SST: somatostatina

SSTR: receptor de somatostatina

SEM: microscopía electrónica de barrido

SPE: extracción en fase sólida

SPECT: tomografía computarizada de emisión de fotón único

SUV: Valor de Captación Estandarizado

$T_{1/2}$  o T: periodo de semidesintegración

t: tiempo

TAC: tomografía axial computarizada

TFA: ácido trifluoroacético

TI: transición isomérica

TLC: Cromatografía Líquida en Capa Fina

TND: tejido no tumoral

TNE: tumor de origen neuroendocrino

tr: tiempo de retención

TRAP: ácido triazaciclononano fosfínico

UCM: Universidad Complutense de Madrid

V: volumen

V: voltio

XRD: difracción de rayos X

Z: Número atómico

2D-OSEM: Ordered Subset Expectation Maximization

$\alpha$ : radiación alfa

$\alpha$ -MSH: hormona estimulante de melanocitos alfa

$\beta^-$ : radiación beta negativa

$\beta^+$ : radiación beta positiva

$\gamma$ : radiación gamma

$\lambda$ : constante de desintegración radiactiva

$^{\circ}\text{C}$ : grados Celsius



## Capítulo 1: Introducción

### 1.1 El núcleo atómico

El núcleo atómico está formado por dos tipos de partículas llamadas protones, con carga eléctrica positiva, y neutrones, sin carga eléctrica, que se mantienen unidas debido a unas fuerzas de atracción muy intensas y de muy corto alcance que son capaces de vencer la repulsión eléctrica entre las cargas positivas de los protones, denominadas fuerzas de interacción fuerte. Los protones y los neutrones reciben el nombre genérico de nucleones, por ser ambos los constituyentes de los núcleos atómicos. En torno al núcleo se encuentran los electrones, partículas con carga eléctrica negativa, mucho más ligeras que los protones y neutrones del núcleo (la masa del protón o del neutrón son muy parecidas y aproximadamente 1840 veces la masa del electrón).

- Diámetro del núcleo:  $10^{-13}$  cm
- Diámetro del átomo:  $10^{-8}$  cm
- Masa del núcleo:  $10^{-21}$  g
- Densidad del Núcleo:  $10^{14}$  g/cm<sup>3</sup>

El número de protones y neutrones que constituyen un determinado núcleo se denomina número másico de ese núcleo y se representa por A. El número de neutrones que existen en un núcleo se representa por N, mientras que el número de protones se representa por Z, denominado número atómico. Por lo tanto:

$$A = Z + N$$

[1]

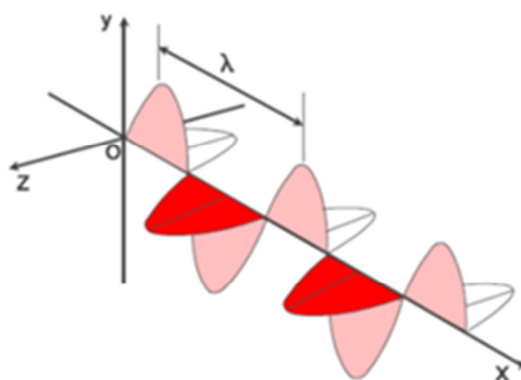
A los diferentes núcleos atómicos que existen en la naturaleza o que pueden producirse artificialmente se les llama, en general, nucleidos y se les designa mediante el símbolo:



Siendo X el símbolo del elemento químico correspondiente y A y Z el número másico y el número atómico, respectivamente. Todos los átomos que poseen el mismo número de protones en su núcleo tienen el mismo número atómico y pertenecen al mismo elemento. Estos nucleidos (de igual Z), pero distinto número de neutrones, y por tanto distinto A, reciben el nombre de isótopos del elemento en cuestión. Los átomos que dan lugar los isótopos de un mismo elemento poseen distintas propiedades físicas, pero, las mismas propiedades químicas, ya que éstas sólo dependen del número de electrones en la corteza.

## 1.2 Radiación electromagnética

A partir de las investigaciones de Maxwell en 1870 y hasta comienzos del siglo XX, se acepta generalmente que la luz es el resultado de la propagación de una onda electromagnética. Es decir, de campos eléctrico y magnético oscilantes que se propagan a través del espacio. La velocidad de propagación en el vacío de tales ondas,  $c$ , resulta ser una constante fundamental, cuyo valor es aproximadamente  $3 \times 10^8$  m/s (Figura 1) (CIEMAT, 2014).



**Figura 1.** Naturaleza ondulatoria de la radiación (CIEMAT, 2014).

El carácter ondulatorio de la radiación electromagnética es necesario para explicar una serie de fenómenos, tales como difracción, interferencia, refracción y polarización. Sin embargo, la descripción puramente ondulatoria, resulta del todo insuficiente para explicar

los fenómenos de interacción de la radiación con la materia, tales como el efecto fotoeléctrico, y en general todos los procesos de absorción y emisión de energía de átomos o núcleos.

Tales fenómenos fueron correctamente interpretados por Planck y Einstein a principios del siglo XX. Para ello, hubo de admitirse que las ondas electromagnéticas están constituidas por minúsculos paquetes de energía, llamados cuantos de radiación o fotones. El fotón puede ser considerado como una partícula de masa nula en reposo y con una energía dada. La intensidad de emisión de la radiación electromagnética es el número de fotones por unidad de superficie.

La representación de la radiación electromagnética como onda o como corpúsculo, constituye dos aspectos complementarios de una misma realidad, que se manifiesta en una u otra forma según el tipo de fenómenos que se consideren. La luz se comporta como si fuera una onda en fenómenos de refracción, difracción, interferencia, etc. En cambio en procesos de intercambio de energía con átomos y núcleos, actúa como si fuera un corpúsculo.

Estudiando esta naturaleza dual, Luis de Broglie propuso en 1924, que esta propiedad era extensible a la totalidad de la materia. De acuerdo con esta hipótesis, hoy bien comprobada experimentalmente, todas las partículas deben exhibir comportamiento ondulatorio en condiciones adecuadas. Las ondas electromagnéticas conocidas se extienden sobre una amplia gama de longitudes de onda, que comprenden desde las ondas radioeléctricas más largas, del orden de miles de kilómetros hasta la radiación gamma más corta, que se extiende hasta el femtometro.

En la Figura 2 (CIEMAT, 2014) puede observarse por ejemplo que la luz visible cubre una porción sumamente reducida del espectro electromagnético, que se extiende desde los 780 nm para la luz roja, hasta los 380 nm del violeta. Los límites de separación entre las distintas zonas, no presentan valores nítidos y existe siempre un cierto margen de solapamiento.

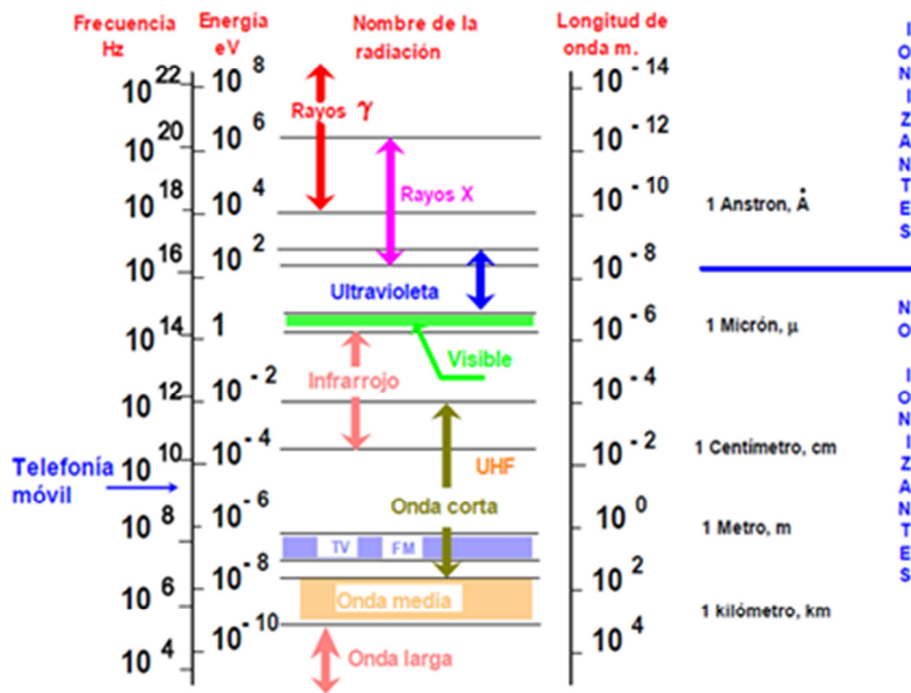


Figura 2. Espectro de ondas electromagnéticas (CIEMAT, 2014).

### 1.3 Radioactividad, radiaciones ionizantes y su interacción con la materia

La radioactividad puede definirse como el fenómeno mediante el cual los núcleos inestables liberan energía por medio de la emisión espontánea de partículas, radiaciones, o de ambas a la vez, para alcanzar de esta forma su estabilidad. La radioactividad puede ser natural, descubierta por H. Becquerel (1896) donde la sustancia ya la posee en su estado natural o artificial, descubierta por el matrimonio Curie (1898) donde la radioactividad ha sido inducida por irradiación.

Todas aquellas partículas (electrones, neutrones, protones, partículas alfa, partículas beta, etc.) y radiación electromagnética de energía superior a 100 eV (Rayos X y radiación gamma) que tienen la propiedad de producir ionización en los átomos constituyentes de la materia, se denominan radiaciones ionizantes y pueden interaccionar de diferentes formas con esta.

### 1.3.1 Principales tipos de desintegración

De acuerdo con la naturaleza de la radiación emitida, existen tres tipos fundamentales de procesos radiactivos: radiactividad alfa, radiactividad beta y radiactividad gamma (Figura 3) (CIEMAT, 2014).

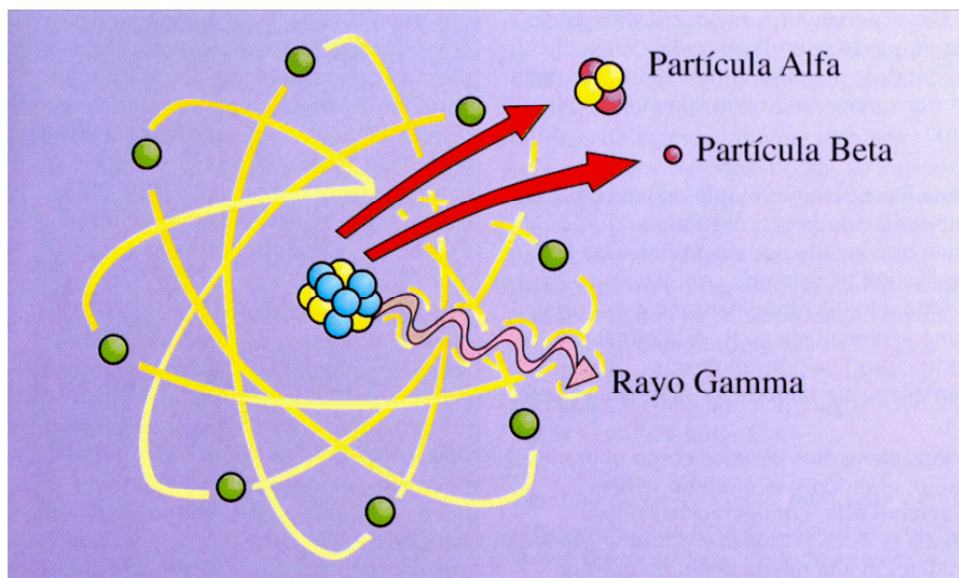
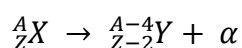


Figura 3. Principales tipos de desintegración radiactiva (CIEMAT, 2014).

#### 1.3.1.1 Desintegración alfa ( $\alpha$ )

Las partículas alfa son partículas iguales a los núcleos de helio, formadas por dos protones y dos neutrones fuertemente ligados. Se trata, por tanto, de partículas pesadas cargadas doblemente con carga positiva. Cuando un núcleo emite una partícula alfa, su  $Z$  disminuye en dos unidades y  $A$  disminuye en cuatro unidades.



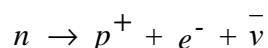
La mayoría de los radionucleidos que emiten partículas alfa son núcleos pesados, con  $A$  mayor de 140 y el fenómeno es consecuencia de la repulsión eléctrica entre los protones

del núcleo atómico. El espectro energético de las partículas  $\alpha$  es un espectro discreto; es decir, las partículas se emiten con una energía o energías determinadas, características del radionucleido considerado.

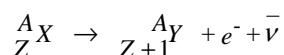
### 1.3.1.2 Desintegración beta ( $\beta$ )

La desintegración beta puede ser de dos tipos: la desintegración ( $\beta^-$ ) o emisión de un electrón y la desintegración ( $\beta^+$ ) o emisión de un positrón. Los núcleos que experimentan este tipo de desintegración alteran su  $Z$  pero no su  $A$ , de forma que los núcleos residuales son isóbaros del originario.

La desintegración  $\beta^-$  es el resultado de la desintegración de un neutrón del núcleo que se transforma en un protón dando lugar a la emisión de un electrón y un antineutrino.



Se da principalmente en núcleos que poseen un número excesivo de neutrones. El núcleo inicial se transforma entonces en otro núcleo atómico diferente que tiene el mismo número másico que el originario pero su número atómico es una unidad mayor.

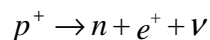


El espectro energético de los electrones emitidos por un determinado radionucleido emisor  $\beta^-$  es un espectro continuo; es decir, los electrones emitidos presentan una distribución continua de energías, abarcando desde cero hasta una energía máxima  $E_{\max}$  que es característica del núcleo en particular.

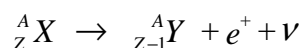
La desintegración  $\beta^+$  consiste en la emisión de positrones por los núcleos atómicos. El positrón es la antipartícula del electrón: tienen la misma masa pero su carga eléctrica es



positiva. La desintegración  $\beta^+$  es el resultado de la transformación de un protón del núcleo en un neutrón, con la emisión de un positrón y un neutrino.

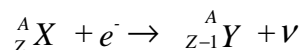


El núcleo residual tendrá el mismo número másico que el originario pero su número atómico se verá reducido en una unidad.



### 1.3.1.3 Captura electrónica (CE)

En este proceso, el núcleo captura un electrón, transformando un protón del núcleo en un neutrón y un neutrino. El núcleo residual tiene el mismo número de nucleones que el originario, pero su número atómico disminuye en una unidad. El proceso queda representado por:

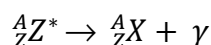


El resultado final durante la CE es similar a la  $\beta^+$ , ya que A se mantiene constante y Z disminuye en una unidad. El núcleo generado durante este proceso suele encontrarse excitado emitiendo fotones gamma de diferentes energías para alcanzar su estabilidad.

### 1.3.1.4 Desintegración gamma ( $\gamma$ )

La emisión de rayos gamma es un proceso mediante el cual, un núcleo que se encuentra en un estado excitado pasa a un estado de menor energía mediante la emisión de radiación electromagnética. Esta emisión ocurre por tanto en núcleos excitados y representa para el núcleo un medio para desprenderse de su energía de excitación. Por

ejemplo, suele ocurrir en los núcleos que acaban de experimentar una desintegración alfa o beta, ya que probablemente queden en un estado excitado y se desexcitarán emitiendo un fotón. Este proceso se representa por:



Donde, \* representa el núcleo en un estado excitado.

A los isótopos emisores de positrones se les puede considerar en la práctica como emisores de radiación gamma ya que por ser los positrones partículas inestables, interaccionan con electrones del medio, teniendo lugar la aniquilación de ambas partículas y convirtiéndose la masa en energía mediante la formación de dos fotones gamma de 0,511 MeV de energía cada uno.

### 1.3.1.5 Conversión interna (CI)

Otro de los medios que dispone el núcleo excitado para desprenderse del exceso de energía, consiste en transferírsela a un electrón cortical el cual es desprendido del átomo. Este proceso es conocido como conversión interna (CI). Este proceso deja una vacante en una capa cercana al núcleo, que será ocupada por un electrón procedente de una capa más externa, el cual dejará otra vacante, repitiéndose el proceso de nuevo y así sucesivamente hasta quedar todos los huecos ocupados y el átomo ionizado. Este proceso está acompañado por la emisión de rayos X característicos del átomo en cuestión como consecuencia de todas estas transiciones electrónicas.

### 1.3.1.6 Transición isomérica (TI)

En la desintegración gamma, un núcleo excitado emite un fotón. Generalmente la emisión del fotón ocurre en un lapso de tiempo muy pequeño (del orden de picosegundos) pero sólo en algunos casos la emisión se retrasa. Este proceso se

conoce como transición isomérica (TI) y ocurre en aquellos núcleos que poseen la característica de estar excitados durante un tiempo cuantificable, son los denominados átomos metaestables. El cambio del estado metaestable al estable está acompañado por la emisión de energías en forma de radiación gamma. Esta propiedad del núcleo se distingue en el símbolo del radionucleido agregando la letra “m” a continuación de su número másico, un ejemplo de esto lo constituye el  $^{99m}\text{Tc}$ .

Al igual que en la desintegración  $\gamma$  y en la CI, en este proceso no hay cambio en el número Z ni A y a aquellos núcleos que la presentan se llaman isómeros nucleares.

### **1.3.2 Interacción de partículas cargadas con la materia**

Cuando una partícula cargada penetra en la materia, experimenta la acción de fuerzas electrostáticas de núcleos y sobre todo, de electrones, lo que supone una acción paulatina de frenado que concluye con la detención de la partícula. Las partículas cargadas pierden su energía al interactuar con la materia a través de tres tipos de interacciones, fundamentalmente:

#### **1.3.2.1 Colisión elástica**

La partícula choca con los átomos del medio desviándose de su trayectoria y cediendo una cierta cantidad de energía en forma de energía cinética. No se produce alteración atómica ni nuclear en el medio.

#### **1.3.2.2 Colisión inelástica**

La partícula choca con los átomos del medio modificando la estructura electrónica de los mismos produciendo excitaciones: movimiento de electrones a niveles energéticos menos ligados o ionizaciones arrancando electrones del átomo.

Si la transferencia de energía de la partícula cargada al electrón atómico del medio material que atraviesa es suficiente, es decir, superior a la energía de ionización del electrón en el átomo al que pertenece, el electrón abandona el átomo y éste queda ionizado. Se crea así un par de iones: un ion positivo constituido por el átomo ionizado y un ion negativo constituido por el electrón expulsado. Este tipo de ionización, originado por la transferencia de energía de la partícula cargada incidente a los electrones atómicos, recibe el nombre de ionización primaria.

Si estos electrones disponen de energía suficiente para, a su vez, producir nuevas ionizaciones en otros átomos, liberando nuevos electrones, tiene lugar la ionización secundaria. Ambas ionizaciones contribuyen a la ionización total. La ionización es la interacción fundamental de las partículas alfa con la materia.

Cuando en la colisión de la partícula incidente con un electrón atómico, se transfiere una cantidad de energía menor que la energía de ionización correspondiente, el electrón no puede ser arrancado del átomo al que pertenece, pero sí puede pasar a ocupar un nivel superior de energía. El efecto producido entonces es una excitación. El átomo excitado volverá inmediatamente a su estado fundamental mediante la emisión de radiación electromagnética.

### **1.3.2.3 Colisión radiativa**

La partícula cargada se frena o se desvía en su interacción con los átomos del medio y, como resultado, emite ondas electromagnéticas (emite radiación, de ahí el nombre de colisión radiativa) sin modificar la estructura del átomo. Este proceso, a nivel elemental se produce con mayor probabilidad en las proximidades del núcleo atómico como consecuencia de pequeñas desviaciones de la partícula incidente. Es la radiación de frenado y recibe el nombre de bremsstrahlung.

El predominio de uno u otro mecanismo de interacción de las partículas cargadas con la materia, depende de la naturaleza y energía de la partícula incidente y de la naturaleza del medio natural atravesado.

La radiación de frenado o bremsstrahlung resulta ser de mucha menor importancia, prácticamente despreciable, para partículas cargadas e iones pesados (protones, deuterones, partículas alfa), en cambio es mucho más importante para los electrones, ya que tienen muy poca masa y la radiación de frenado es importante, en especial si el medio material tiene  $Z$  elevado. De esta manera, en un tubo de rayos X, se produce este tipo de radiación, haciendo incidir un haz de electrones en un blanco, generalmente de wolframio, en el que previamente se ha hecho el vacío.

### **1.3.3 Interacción de fotones con la materia**

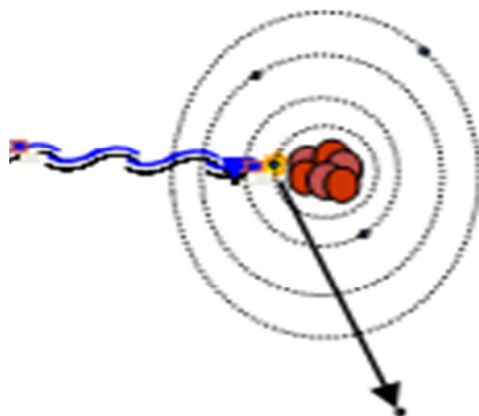
La radiación X y gamma son radiaciones electromagnéticas cuya interacción directa con la materia da lugar a la liberación de electrones que serán los que producirán fundamentalmente excitación e ionización de los átomos y moléculas de la misma. Son por tanto radiaciones indirectamente ionizantes.

La interacción directa tiene lugar a través de alguno de los tres procesos que se describen a continuación.

#### **1.3.3.1 Efecto Fotoeléctrico**

El fotón es completamente absorbido y toda su energía transferida a un electrón, el cual escapa del átomo al que estaba ligado con una energía cinética igual a la diferencia entre la energía del fotón incidente y la de ligadura al átomo. Se puede interpretar como una transferencia total de la energía del fotón a un electrón ligado en un átomo. Este efecto predomina en los electrones de las capas más internas del átomo, con el número atómico y con energías de los fotones bajas. Como el átomo residual queda con un

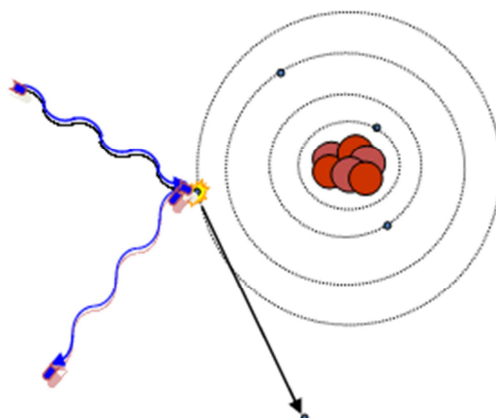
electrón menos, se producirá emisión de radiación electromagnética característica al ocupar dicha vacante otro electrón del mismo átomo, situado en un nivel energético superior (Figura 4) (CIEMAT, 2014).



**Figura 4.** Esquema simplificado: efecto fotoeléctrico (CIEMAT, 2014).

### 1.3.3.2 Efecto Compton

El fotón sólo cede al electrón con el que interacciona una parte de su energía, convirtiéndose en otro fotón de menor energía y desviándose de la trayectoria inicial. La energía cedida al electrón varía dependiendo del ángulo de dispersión del fotón saliente respecto a la dirección inicial. Este efecto predomina en los electrones poco ligados (capas más externas del átomo) y con energías de los fotones medio-altas (0,5-10 MeV) y disminuye con el número atómico del átomo blanco (Figura 5) (CIEMAT, 2014).



**Figura 5.** Esquema simplificado: efecto compton (CIEMAT, 2014).

### 1.3.3.3 Creación de pares

El fotón gamma al acercarse a un núcleo atómico se transforma materializándose en un electrón y un positrón. Puesto que se trata de una conversión de energía en materia y la suma de las masas del electrón y positrón equivale a una energía de 1,02 MeV, ésta tendrá que ser la energía mínima del fotón incidente para que pueda tener lugar la creación de pares.

Al incidir un haz de fotones sobre la materia, la probabilidad de que se produzca un efecto u otro depende de la energía de los fotones y de la naturaleza de la sustancia atravesada. El efecto fotoeléctrico es el más importante para la absorción de fotones de baja energía. El efecto Compton es el proceso que prevalece en la absorción de fotones X o gamma de energía intermedia. A partir de un valor mínimo de 1,02 MeV, la producción de pares aumenta con la energía de los fotones incidentes y es el proceso que predomina a energías altas.

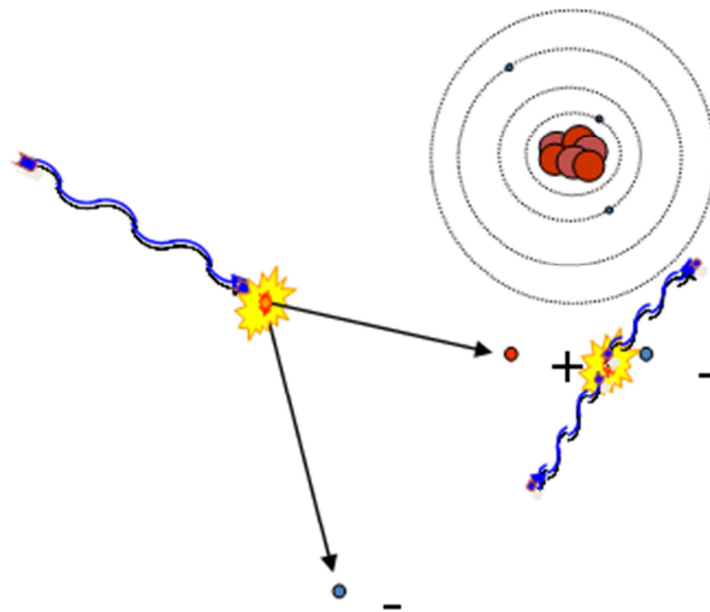


Figura 6. Esquema simplificado: creación de pares (CIEMAT, 2014).

En la absorción de la radiación electromagnética, las contribuciones del efecto fotoeléctrico y del de creación de pares aumentan notablemente con el número atómico del elemento que constituye la materia absorbente. La contribución del efecto Compton depende en menor grado de dicho número atómico.

El paso de la radiación electromagnética a través de la materia se caracteriza por una ley de atenuación exponencial. Esto es así porque en la interacción de un haz de fotones con la materia que atraviesan, estos son eliminados del haz a título individual, mediante los procesos descritos anteriormente (Figura 6) (CIEMAT, 2014).

## 1.4 Leyes de la desintegración radiactiva

La actividad de un elemento radiactivo es el número de transformaciones nucleares espontáneas que se producen en una cantidad de un radionucleido en la unidad de tiempo. La unidad del sistema internacional es el Becquerelio (Bq) que corresponde a una desintegración/segundo. Asimismo, existe otra unidad especial de actividad que es el Curio (Ci), que equivale a  $3,7 \times 10^{10}$  desintegraciones/segundo. Por lo tanto, la actividad presente en la unidad de masa de un radionucleido se denomina actividad específica y suele expresarse en Bq/g, mientras que la actividad por unidad de volumen se denomina concentración específica y sus unidades son Bq/L (Stein, 1973).

La velocidad con que un determinado isótopo radiactivo se transforma en otro nucleido se expresa por la fracción de átomos que se desintegran por segundo mediante la constante de desintegración radiactiva,  $\lambda$ , característica de cada radionucleido. Dicha constante representa la probabilidad de que un determinado núcleo se desintegre en la unidad de tiempo subsiguiente a un instante inicial arbitrario. Es la misma para todos los núcleos de una misma especie y es independiente de los factores externos al núcleo, tanto físicos como químicos.

El número de átomos de un determinado radionucleido presentes en una masa de sustancia radiactiva irá disminuyendo continuamente con el transcurso del tiempo y con mayor o menor rapidez, según sea mayor o menor el valor de su constante de desintegración. Al cabo de un cierto intervalo de tiempo, el número de átomos del radionucleido en cuestión se habrá reducido a la mitad. A dicho intervalo de tiempo se le llama período de semidesintegración y se representa por  $T_{1/2}$  o por  $T$ .

Existe una relación sencilla entre la constante de desintegración  $\lambda$  (constante característica de cada radionucleido) y el período de semidesintegración,  $T_{1/2}$ .

$$T_{1/2} = \frac{\ln 2}{\lambda}$$

[2]

Por tanto, cuanto mayor sea  $\lambda$ , más rápidamente se desintegrará el radionucleido y menor será su período.

La actividad de una cantidad determinada de un radionucleido, es directamente proporcional al número de átomos radiactivo  $N$  y a la constante de desintegración  $\lambda$ :

$$A = \lambda \times N$$

[3]

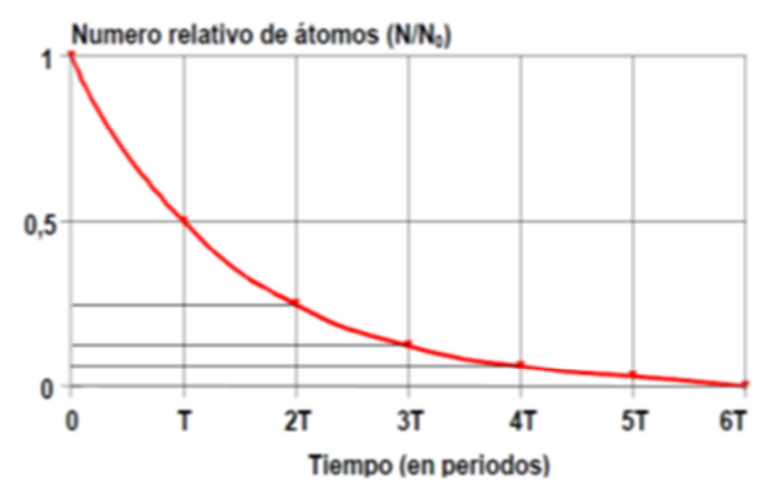
La desintegración radiactiva obedece a una ley de decrecimiento exponencial, es considerado como un proceso de naturaleza estadística y queda expresado por la fórmula:

$$N = N_0 \times e^{-\lambda t}$$

[4]

Siendo  $N_0$  el número de átomos radiactivos iniciales,  $N$  el número de átomos presentes al cabo de un tiempo  $t$  y  $\lambda$  la constante de desintegración radiactiva.

Si expresamos el tiempo en períodos de semidesintegración, la representación gráfica de la disminución con el tiempo de la cantidad presente de un isótopo radiactivo, correspondiente a esta expresión matemática, es la que se muestra en la (Figura 7) (CIEMAT, 2014).



**Figura 7.** Decaimiento de una fuente radiactiva en función de sus períodos de semidesintegración (CIEMAT, 2014).

### 1.4.1 Desintegración de mezclas radiactivas

Cuando se tiene una mezcla de dos o más radionucleidos y se desea calcular la desintegración de la misma, hay que considerar dos casos.

#### 1.4.1.1 Radionucleidos sin relación genética

Cuando ninguno de los radionucleidos de la mezcla se produce como consecuencia de la desintegración de otro, la actividad total  $A$  será igual a la suma de cada una de las actividades de los respectivos componentes, es decir:

$$A = A_1 + A_2 + \dots \dots A_N = \lambda_1 N_1 + \lambda_2 N_2 + \dots \dots \lambda_n N_n$$

[5]



### 1.4.1.2 Radionucleidos con relación genética

Hay ocasiones en que al desintegrarse un radionucleido se forma un nuevo nucleido radiactivo que, a su vez, puede desintegrarse transformándose en otro radionucleido o en un nucleido estable. En el primero de los casos, el de dos radionucleidos, a los que comúnmente se les llama radionucleido padre y radionucleido hijo, la desintegración del radionucleido padre viene dada por la siguiente ecuación:

$$A = A_0 \times e^{-\lambda t}$$

[6]

La actividad del radionucleido hijo depende, por un lado, de la desintegración del radionucleido padre y, por otra parte, se desintegra con su propia constante de desintegración  $\lambda_2$ .

$$\frac{dN_2}{dt} = \lambda_1 N_1 - \lambda_2 N_2$$

[7]

Siendo  $N_1$  y  $N_2$  el número de átomos del radionucleido padre e hijo respectivamente.

El número de átomos del radionucleido hijo al cabo de un tiempo  $t$  es:

$$N_{2(t)} = N_{1(0)} \frac{\lambda_1}{\lambda_2 - \lambda_1} (e^{-\lambda_1 t} - e^{-\lambda_2 t}) + N_{2(0)} e^{-\lambda_2 t}$$

[8]

Como en el momento  $t = 0$  no existen átomos del radionucleido hijo, la ecuación anterior puede simplificarse quedando:

$$N_{2(t)} = N_{1(0)} \frac{\lambda_1}{(\lambda_2 - \lambda_1)} (e^{-\lambda_1 t} - e^{-\lambda_2 t})$$

[9]

Y la actividad del radionucleido hijo vendrá dada por la ecuación:

$$A_{2(t)} = A_{1(0)} \frac{T_1}{(T_1 - T_2)} \left( e^{-\frac{t}{T_1} \ln 2} - e^{-\frac{t}{T_2} \ln 2} \right) \quad [10]$$

Cuando el periodo de semidesintegración del radionucleido padre es mayor que el del hijo ( $T_1 > T_2$ ), pero ambos, aproximadamente, del mismo orden de magnitud, al ser  $\lambda_1 < \lambda_2$ , para un  $t$  suficientemente largo, el sumando  $e^{-\frac{t}{T_2} \ln 2}$  decrece más rápidamente que el  $e^{-\frac{t}{T_1} \ln 2}$  y por lo tanto la ecuación puede simplificarse de la siguiente forma:

$$A_{2(t)} = A_{1(0)} \frac{T_1}{T_1 - T_2} e^{-\frac{t}{T_1} \ln 2} \quad [11]$$

El sistema alcanza un estado de equilibrio en el que la actividad del radionucleido hijo es:

$$A_2 = \frac{T_1}{T_1 - T_2} A_1 \quad [12]$$

Como  $T_1 > T_2$ , la actividad del radionucleido hijo decae con el periodo de semidesintegración del padre. A este tipo de equilibrio se le denomina equilibrio radioquímico transitorio.

Si el periodo de semidesintegración del radionucleido padre es mucho mayor que el del radionucleido hijo ( $T_1 \gg T_2$ ) puede despreciarse  $T_2$  frente a  $T_1$  y, asimismo,  $T_1$  frente a  $t$ , quedando simplificada en la forma:

$$A_{2(t)} = A_1 \left( 1 - e^{-\frac{t}{T_2} \ln 2} \right) \quad [13]$$

De donde se deduce que la actividad del radionucleido hijo solamente depende de  $T_2$ . Y como  $T_{1/2} = \ln 2/\lambda$  (ecuación 2, capítulo 1, apartado 1.4.1.2, página 39) la ecuación anterior también puede expresarse de la siguiente forma:

$$A_{2(t)} = A_1(1 - e^{-\lambda_2 t})$$

[14]

Al cabo de un tiempo  $t$  suficientemente largo, la actividad del radionucleido hijo es igual a la actividad del radionucleido padre. A este tipo de equilibrio se le llama equilibrio radioquímico secular.

$$A_1 = A_2$$

[15]

Finalmente en el caso de que el periodo de semidesintegración del radionucleido padre es menor que el del hijo, no se alcanza un estado de equilibrio, ya que la relación de actividades del radionucleido hijo y el radionucleido padre aumenta constantemente en función del tiempo.

## 1.5 Radiofarmacia

La radiofarmacia es la especialidad sanitaria que estudia los aspectos farmacéuticos, químicos, bioquímicos, biológicos y físicos de los radiofármacos, así mismo, aplica dichos conocimientos a los procesos de diseño, producción, preparación, control de calidad y dispensación de los radiofármacos tanto en su vertiente asistencial clínica para diagnóstico y terapia en medicina nuclear como en centros experimentales de investigación. Los radiofármacos se pueden clasificar en función de su aplicación, que depende del tipo de radionucleido utilizado, en radiofármacos para diagnóstico y radiofármacos para terapia (Qaim, 2001a).

### 1.5.1 Radiofármacos para diagnóstico

Los radiofármacos con fines diagnósticos no tienen ninguna acción fármaco-terapéutica, ni efectos secundarios, ni reacciones adversas graves, actúan como trazadores fijándose en un tejido, órgano o sistema determinado, permitiendo obtener imágenes de forma no invasiva mediante el uso de técnicas de imagen, destacando la tomografía computarizada de emisión de fotón único (SPECT) o tomografía por emisión de positrones (PET) y permitiendo la valoración del proceso estudiado cualitativa y/o cuantitativamente. Estas imágenes no son únicamente morfológicas, sino funcionales y morfo-funcionales e incluso moleculares, proporcionando el estudio de procesos bioquímicos, el diagnóstico precoz en patologías óseas, cardiología, oncología, neurología, así como en infecciones y nefrología. Los criterios para el uso de radionucleidos para fines diagnósticos se detallan a continuación.

- Ausencia de emisión de partículas.

Dado que el objetivo principal del uso de un radiofármaco para diagnóstico es permitir estudiar y cuantificar su biodistribución de forma no invasiva, la radiación emitida debe ser capaz de pasar a través de los tejidos depositando la mínima cantidad posible de energía dentro del propio tejido, disminuyendo de esta forma la dosis recibida al paciente. Por lo tanto, es deseable que el radionucleido que se utiliza para fines diagnósticos, solamente emita radiación  $\gamma$ . Por consiguiente, el radionucleido debe decaer por captura electrónica o por transición isomérica sin ningún proceso de conversión interna, el cual produciría fotones de rayos X, siendo la mayoría absorbidos por el paciente y no contribuirían a la formación de la imagen. Además, es conveniente que solo emita un fotón  $\gamma$  permitiendo de esta forma obtener imágenes tomográficas tridimensionales, por ejemplo mediante SPECT. Los radionucleidos emisores de partículas, tales como  $\alpha$  y  $\beta^-$  no son adecuados debido a su corto rango de penetración y alta transferencia lineal de energía (LET), es decir la gran cantidad de energía que depositan estas partículas cuando interaccionan con la materia, ya que pueden quedar parcial o totalmente absorbidas en los tejidos produciendo una alta dosis al paciente sin

ayuda diagnóstica. Sin embargo, existen excepciones como el caso de los radionucleidos emisores de partículas  $\beta^+$ , los cuales pueden ser utilizados para aplicaciones diagnósticas debido a que la aniquilación del positrón con un electrón del medio conduce a la emisión de dos fotones gamma con una energía de 511 keV, estos dos fotones resultantes pueden utilizarse para obtener una imagen mediante PET, siendo esta técnica más sensible que el SPECT.

- Adecuada emisión de energía.

La energía de emisión de los fotones gamma debe estar en un rango óptimo para la formación de imágenes para diagnóstico. Las gammacámaras o los SPECT, utilizan detectores basados en cristales de centelleo, siendo los más comunes NaI(Tl), para la detección de los fotones gamma y la posterior formación de imágenes como se detalla en el siguiente apartado, siendo los fotones gamma de energías comprendidas entre 80-300 keV los más adecuados para su uso en tales equipos. Fotones gamma con energía por debajo de 80 keV pueden ser atenuados por el propio tejido y por lo tanto no obtenerse imágenes (Saha, 2000). Por otro lado, fotones gamma de más de 300 keV de energía no pueden ser adecuadamente colimados y por lo tanto, la imagen obtenida es de baja resolución (Saha, 2000). Sin embargo, en PET, los dos fotones gamma de 511 keV provenientes de la reacción de aniquilación son detectados en coincidencia, utilizando detectores apropiados, como pueden ser germanato de bismuto (BGO), pudiendo obtenerse de esta forma la imagen.

- Adecuado periodo de semidesintegración.

Es necesario usar radionucleidos con un  $T_{1/2}$  suficiente para poder obtener imágenes durante el estudio y que a su vez, se desintegre lo más rápidamente posible para evitar dosis innecesaria al paciente. Por otro lado, el  $T_{1/2}$  debe ser adecuado para que se pueda sintetizar el radiofármaco, realizar su correspondiente control de calidad y el transporte si es necesario.

Aparte del  $T_{1/2}$ , también hay que tener en cuenta la vida media biológica del radiofármaco, la cual tiene una relación directa con su tiempo de residencia en el cuerpo, y esto depende de la naturaleza de la propia molécula utilizada.

- Facilidad de producción del radionucleido.

El radionucleido debe estar fácilmente disponible y su rendimiento de producción debe ser rentable.

- Alta actividad específica y pureza.

El radiofármaco debe ser producido con una alta actividad específica y alta pureza química, radioquímica y radionucleídica. La alta actividad específica indica que la actividad deseada del radiofármaco puede ser sintetizado con la mínima cantidad de molécula precursora. La alta pureza radionucleídica del radiofármaco reduce la dosis no deseada al paciente por posibles impurezas, mientras que la alta pureza química y radioquímica asegura su idoneidad para el marcaje de diversas moléculas durante la preparación de radiofármacos.

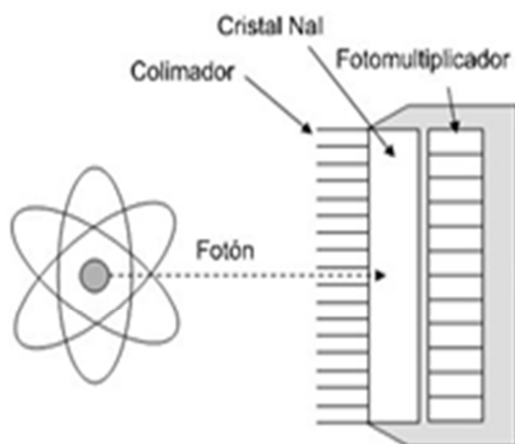
- Química del radionucleido.

El radionucleido debe poseer una química versátil para poder ser obtenido en varias formas químicas permitiendo de esta forma el marcaje de diversas moléculas de interés. En el caso de radionucleidos procedentes de elementos metálicos, es necesario que la química de coordinación frente a agentes quelantes forme complejos suficientemente estables para la preparación de una amplia variedad de radiofármacos.

Basándose en las diferentes modalidades de formación de imágenes para las que se utilizan radionucleidos de diagnóstico, se pueden clasificar en dos tipos: radionucleidos que se emplean para obtener imágenes mediante SPECT y los que se utilizan para obtener imágenes mediante PET (Qaim, 2001a).

### 1.5.1.1 Tomografía por emisión de fotón único

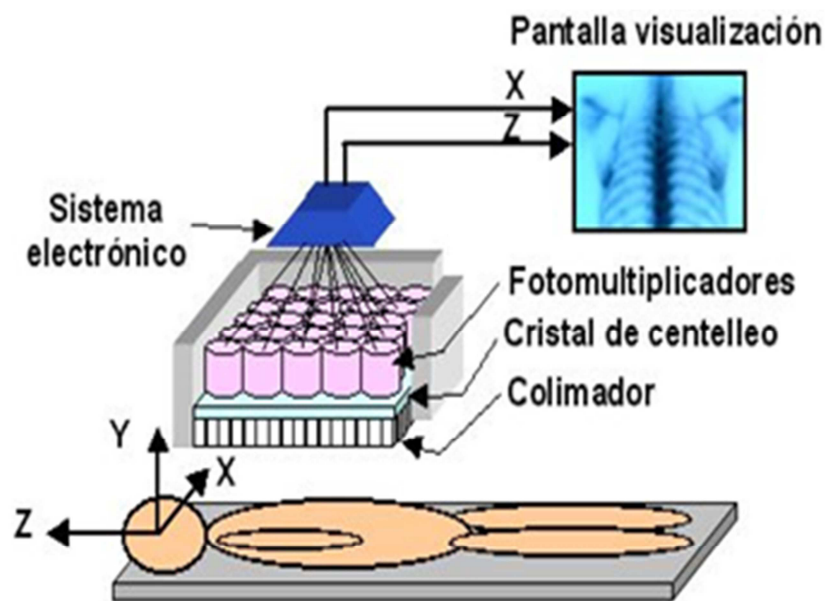
Una gammacámara o cámara de centelleo, también llamada cámara Anger en honor a Hal Anger O., quien desarrolló la gammacámara a finales de 1950, es una técnica de diagnóstico por imagen ampliamente utilizada en medicina nuclear. Se basa en la detección de fotones gamma mediante cristales de centelleo de NaI(Tl) sobre los cuales se ubican numerosos fotomultiplicadores.



**Figura 8.** Esquema simplificado del colimador, cristal de centelleo y fotomultiplicador (CIEMAT, 2014).

La radiación gamma incide selectivamente en los cristales gracias a la utilización de un colimador, provocando fotones de luz visible, los cuales, por efecto fotoeléctrico, producen electrones en los fotocátodos de los fotomultiplicadores, generando señales cuyo procesamiento posterior da lugar a una imagen que informa sobre la distribución espacial del radiofármaco en el paciente (Figura 8) (CIEMAT, 2014).

La discriminación de los fotones gamma emitidos se realiza por medio de un colimador que se compone de una matriz formada por agujeros paralelos separados por tabiques de muy pequeño grosor definiendo un campo de visión paralelo a la zona de emisión gamma. Los colimadores suelen estar contruidos de plomo, debido a su alto número atómico, proporcionando de esta forma una absorción eficaz de los fotones que surgen de direcciones no específicas, es decir, discriminando los fotones que no interesan para la formación de imágenes (Figura 9) (CIEMAT, 2014).



**Figura 9.** Esquema simplificado del funcionamiento de la gammacámara (CIEMAT, 2014).

El sistema detector de las gammacámaras, también llamado cabezal, permanece estático obteniéndose una imagen plana, en dos dimensiones. Basándose en este principio, los equipos SPECT permiten obtener información tridimensional mediante la obtención de cortes bidimensionales a diferentes ángulos, denominados proyecciones, de la región en estudio del paciente. Por ello los sistemas actuales, constan de diversos cabezales los cuales rotan alrededor del paciente, obteniendo múltiples proyecciones bidimensionales siendo posteriormente procesadas por algoritmos de reconstrucción para dar un conjunto de datos de distribución en 3 dimensiones.

El uso de cámaras rotatorias de doble y triple cabezal, de colimadores convergentes de geometría de barrido ha aumentado la sensibilidad de los sistemas SPECT y favorecido su amplio uso clínico (Tanaka, 1995).

La cantidad de fotones gamma registrados por los cristales de NaI(Tl) depende de la energía del fotón incidente, disminuyendo a medida que aumenta la energía del fotón, siendo de alrededor de 60% para fotones de 300 keV (Knoll, 2000), además, fotones gamma de alta energía pueden atravesar los tabiques plomados del colimador y/o desviarse llegando al detector de diferentes direcciones, degradando la calidad de la imagen final obtenida. Por el contrario fotones gamma de baja energía, < 80 keV, pueden ser parcialmente absorbidos por el propio paciente no llegando al detector. Por lo tanto, las energías más convenientes para poder ser detectadas son del rango de 80 a 300 keV, siendo la energía más preferible de 150 keV (Saha, 2001).

Radionucleido	$T_{1/2}$	Modo decaimiento	Emisión $\gamma$ principal
			E keV (probabilidad emisión %)
$^{99m}\text{Tc}$	6,0 h	TI	140,5 (88,9)
$^{131}\text{I}$	13,3 h	CE	159,0 (82,8)
$^{67}\text{Ga}$	3,3 d	CE	93,3 (38,3)
$^{111}\text{In}$	2,8 d	CE	245,4 (94,2)
$^{201}\text{Tl}$	72,9 h	CE	167,4 (10,0)

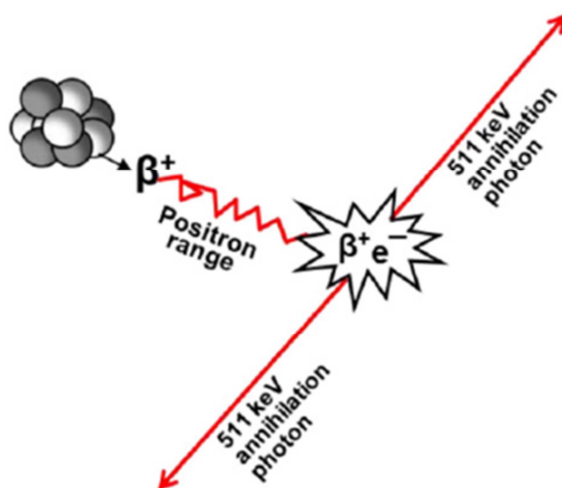
**Tabla 1.** Principales características de los radionucleidos más utilizados en imagen: SPECT. Tabla adaptada de Chakravarty, (2011).

Los radionucleidos más utilizados en Medicina Nuclear para diagnóstico mediante SPECT son  $^{99m}\text{Tc}$ ,  $^{67}\text{Ga}$ ,  $^{111}\text{In}$ ,  $^{123}\text{I}$  y  $^{201}\text{Tl}$ , destacando las aplicaciones del  $^{99m}\text{Tc}$  por encima del resto. Las principales características físicas de los principales radionucleidos para SPECT pueden apreciarse en la Tabla 1 (Chakravarty, 2011). Un caso especial ocurre con el  $^{131}\text{I}$ , el cual es un emisor  $\beta^-$  y se utiliza para terapia y adicionalmente puede ser visualizado por SPECT debido a que también emite  $\gamma$ , pero debido a su energía (364,5 keV) requiere colimadores especiales para ello.

### 1.5.1.2 Tomografía por emisión de positrones

La tomografía por emisión de positrones es una técnica no invasiva de diagnóstico, como sucede en el resto de técnicas diagnósticas en Medicina Nuclear, permite cuantificar la incorporación de un trazador el cual ha sido marcado previamente con un isótopo radiactivo emisor  $\beta^+$ . La resolución espacial obtenida es relativamente alta además de elevada sensibilidad debido a la colimación electrónica que proporcionan estos equipos.

El fundamento físico de la obtención de imágenes mediante PET se basa en el registro de dos fotones gamma con una energía 511 keV emitidos en ángulo cercano a los 180°, misma dirección y sentido opuesto (Figura 10) (Velikyan, 2014).



**Figura 10.** Esquema simplificado de la reacción de aniquilación entre un positrón y un electrón (Velikyan, 2014).

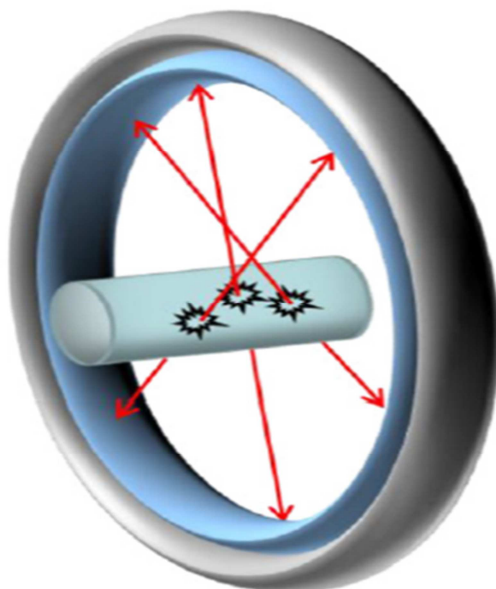
Estos dos fotones son el resultado de la aniquilación de un positrón (partícula con misma masa que el electrón pero con carga positiva) emitido por el radionucleido utilizado al interactuar con un electrón presente en el medio.

La interacción de estas dos partículas con misma masa y diferente carga hace que la masa se transforme en energía de acuerdo a la expresión de la equivalencia entre masa y energía de la teoría de la relatividad especial de Einstein siguiente:

$$E = mc^2$$

[16]

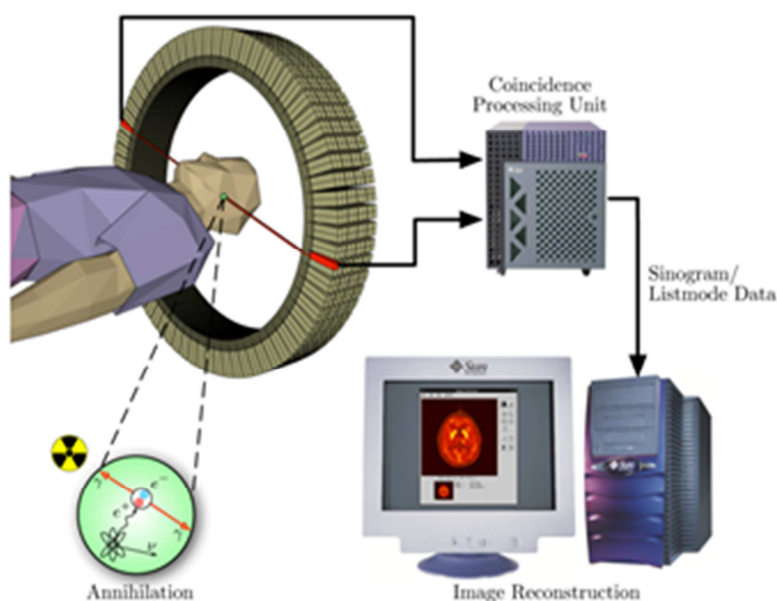
dando como resultado dos fotones gamma de 511 keV. Los dos fotones gamma son registrados en coincidencia por detectores contrapuestos, denominándose línea de respuesta (LOR) a la línea que une a los dos detectores (Figura 11)., permitiendo así, localizar el punto donde se produce el proceso de aniquilación (Ruiz, 2001).



**Figura 11.** Eventos detectados en coincidencia en PET (Velikyan, 2014).

Este tipo de tomógrafos están compuestos por un anillo de detectores que registran la detección de millones de eventos en coincidencia, aportando información de la concentración y ubicación espacial del radiotrazador positrónico (Figura 12) (CIEMAT, 2014).

Los datos se almacenan en una matriz bidimensional llamada sinograma, a partir de la cual se reconstruye la imagen usando técnicas de retroproyección o iterativas. La detección por coincidencia elimina la colimación física empleada en SPECT, lo que implica una ganancia en sensibilidad, incrementando la calidad de la imagen mediante la mejora de la relación señal/ruido, permitiendo además disminuir el tiempo de los estudios, favorecer los estudios dinámicos y mejorar la resolución temporal (Rahmim y cols., 2005).



**Figura 12.** Esquema simplificado del funcionamiento del PET (CIEMAT, 2014).

El ruido de fondo ocasionado en los sistemas PET por la detección de fotones en coincidencia que no proceden de la misma aniquilación del positrón se denominan coincidencias aleatorias, y al no brindar información útil con relación a la ubicación del emisor, deben ser corregidas (Hoffman y cols., 1981a). El uso de diferentes cristales de centelleo, una cuidadosa estimación de las coincidencias aleatorias y la elección apropiada de los algoritmos de reconstrucción de imágenes, tienen como resultado la disminución de la degradación sufrida en la relación señal/ruido de las imágenes PET (Rahmim y cols., 2005).

Además de los eventos aleatorios, los dos fotones aniquilados pueden desviarse de su dirección original como resultado de las interacciones Compton y alcanzar el detector en coincidencias fuera de posición, lo que afecta el contraste global de la imagen PET. Estos eventos pueden ser discriminados basándose en la energía de los fotones dispersados (Hoffman y cols., 1981b).

La tecnología PET permite estudiar la ruta metabólica de cualquier molécula si esta puede marcarse adecuadamente con un radionucleido emisor de positrones, lo que hace que un número importante de trazadores PET se encuentre en continuo desarrollo.

Su combinación con la tomografía axial computarizada (TAC o CT), proporcionando ésta una imagen anatómico-morfológica, la han convertido en una técnica (PET/CT) con mucho más potencial ya que permite la obtención de una imagen funcional por PET y morfológica por CT de forma simultánea. Destaca por ser una de las modalidades de mayor interés dentro de la imagen molecular, extendiendo su uso para el diagnóstico y planificación del tratamiento a nivel clínico, en áreas como oncología, neurología y cardiología así como en la investigación en fase preclínica.

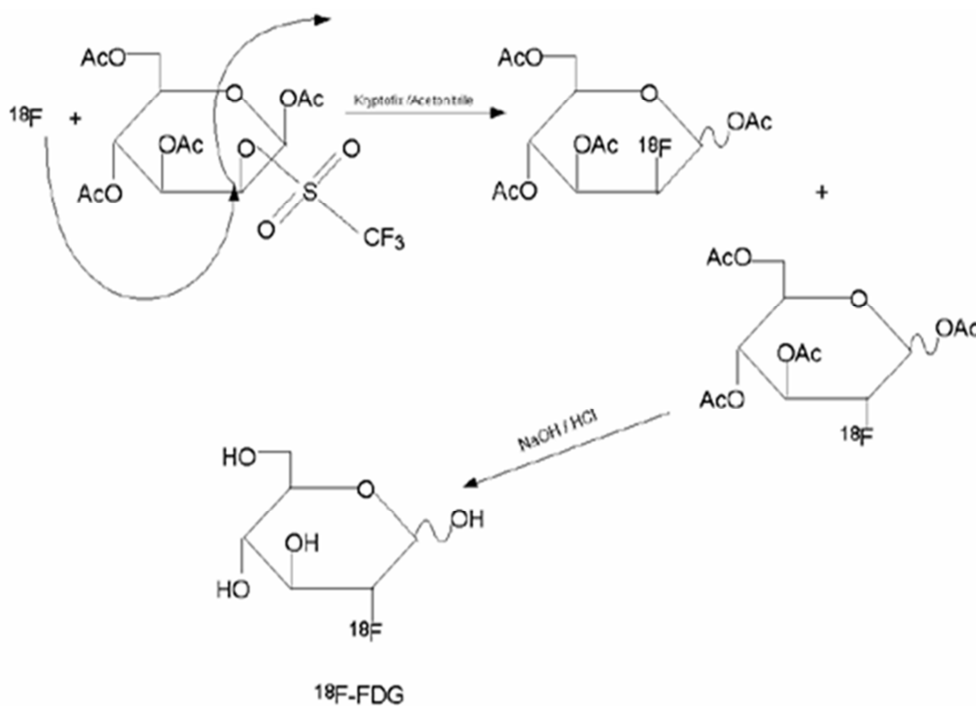


Figura 13. Estructura y síntesis por sustitución nucleófila de  $^{18}\text{F}$ -Fluorodesoxiglucosa (Yu, 2006).

El  $^{18}\text{F}$  es el radionucleido más ampliamente utilizado en PET, debido al radiofármaco  $^{18}\text{F}$ -FDG ( $^{18}\text{F}$ -fluorodesoxiglucosa) el cual es un análogo de la glucosa (Figura 13) (Yu, 2006) y se utiliza como radiotrazador para el diagnóstico y estadiaje de gran variedad de tumores debido a que sufre atrapamiento celular metabólico.

El crecimiento exponencial del uso de  $^{18}\text{F}$ -FDG mediante PET en las últimas dos décadas, ha hecho que pase a denominarse como la "molécula del milenio" (Ramamoorthy, 2007; Coenen y cols., 2010; Nabi y Zubeldia, 2002). Otros radionucleidos que también se utilizan para obtener imágenes PET son,  $^{11}\text{C}$ ,  $^{13}\text{N}$ ,  $^{15}\text{O}$ ,  $^{68}\text{Ga}$ ,  $^{82}\text{Rb}$  etc. Las características físicas de los radionucleidos de uso común para la PET se muestran en la Tabla 2 (Chakravarty, 2011).

Radionucleido	$T_{1/2}$	Modo decaimiento	Emisión $\gamma$ principal E keV (probabilidad emisión %)
$^{18}\text{F}$	109,8 min	$\beta^+$	511 (200,0)
$^{68}\text{Ga}$	67,8 min	$\beta^+$ , CE	511 (176,0)
$^{11}\text{C}$	20,4 min	$\beta^+$	511 (199,5)
$^{13}\text{N}$	9,9 min	$\beta^+$	511 (199,6)
$^{15}\text{O}$	122,2 s	$\beta^+$	511 (199,8)
$^{82}\text{Rb}$	1,2 min	$\beta^+$ , CE	511 (192,0)

**Tabla 2.** Principales características de los radionucleidos más utilizados en imagen: PET. Tabla adaptada de Chakravarty, (2011).

### 1.5.2 Radiofármacos para terapia

Los radiofármacos con fines terapéuticos están diseñados para que la radiación emitida incida de forma focalizada en las zonas específicas a tratar. Para que este tipo de terapia sea efectiva es esencial utilizar radiofármacos que proporcionen altas dosis absorbidas en dichas zonas, minimizando además la exposición a la radiación en el resto de tejidos tanto como sea posible, para ello se emplean radiofármacos basados en radionucleidos emisores de partículas  $\beta^-$  o  $\alpha$ .

Los radionucleidos con aplicación en terapia deben tener las siguientes características.

- Emisión de alta LET.

Los radionucleidos utilizados para terapia deben emitir radiaciones de alta LET, es decir, partículas tales como  $\alpha$ ,  $\beta^-$  o electrones Auger. Estas partículas emitidas, en función de su masa y energía tienen diferentes rangos de penetración en el tejido. Este tipo de radiación produce citotoxicidad debido al depósito de dosis de forma localizada, lo que resulta en la muerte celular. Aunque la emisión  $\alpha$  tiene una alta LET, a menos que se focalice de manera muy precisa en la zona a tratar, puede dar lugar a dosis de radiación innecesaria a los tejidos sanos. En el caso de los electrones Auger, estos tienen energías muy bajas y se disipa toda la energía dentro de un rango muy corto del orden de nm. Por lo tanto, es necesario que los radiofármacos basados en radionucleidos emisores de electrones Auger sean dirigidos de forma muy precisa dentro de la célula a tratar, preferiblemente dentro del núcleo celular. Por otro lado, los radionucleidos emisores  $\beta^-$  emiten un electrón, el cual recorre un rango de  $\mu\text{m}$  hasta a unos pocos mm, dependiendo de su energía. Los emisores  $\beta^-$  suelen ser los más empleados para terapia, siendo la mayoría radioisótopos de elementos metálicos pudiendo ser fácilmente producidos en reactores nucleares (Qaim, 2001b).

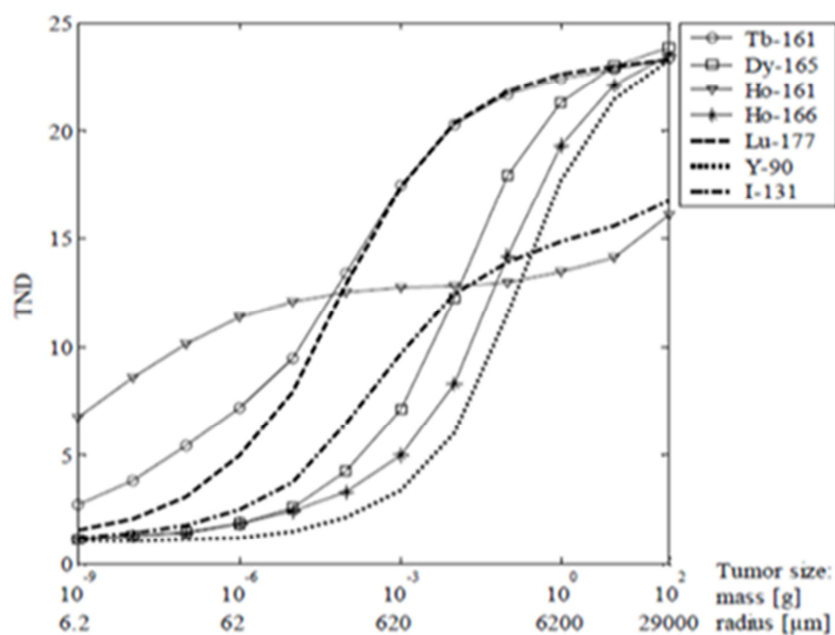
- Emisores  $\gamma$  capaces de formar imágenes, con baja probabilidad de emisión.

Además de la radiación de partículas requerida para la eficacia terapéutica, una adicional emisión gamma (80-300 keV) puede resultar adecuada para formación de imágenes, ya que de esta forma permite mediante la emisión  $\gamma$  obtener imágenes *in vivo* de la biodistribución del radiofármaco pudiendo estimarse la dosimetría recibida en los pacientes (Wessels y Rogus, 1984; Volkert, 1991). Sin embargo, debido a que la radiación gamma puede irradiar tejidos no deseados, aumentando la dosis recibida a los pacientes, así como el aumento de la exposición del personal, es preferible para estos casos la emisión de fotones con baja probabilidad de emisión.

- Adecuado periodo de semidesintegración

El  $T_{1/2}$  de un radionucleido con fines terapéuticos es un parámetro crítico a tener en cuenta a la hora de la elección del radionucleido candidato. Dependiendo del objetivo para que se utilice, un radionucleido terapéutico debe ser cuidadosamente elegido basándose en su correspondiente  $T_{1/2}$ . Con el fin de maximizar el efecto terapéutico, el  $T_{1/2}$  del radionucleido debe estar en concordancia con la biodistribución del radiofármaco *in vivo* y con su perfil farmacocinético (Wessels y Rogus, 1984; Volkert, 1991).

Al igual que un radionucleido con fines diagnósticos, un radionucleido con fines terapéuticos debe estar disponible a un coste económico razonable con actividad y purzas adecuadas para su aplicación. Por otra parte, su química debe ser susceptible para la preparación de diversos radiofármacos metabólicamente estables.



**Figura 14.** Simulación dosimétrica de la relación entre la tasa de dosis absorbida en el tumor y el tejido normal (TND) en relación con la energía de la partícula emitida y el tamaño del tumor para varios emisores  $\beta^-$  (Uusijärvi y cols., 2006).

Los radionucleidos emisores  $\beta^-$  son los más utilizados usados para terapia en la actualidad. Estos proporcionan un rango de penetración relativamente largo, del orden de mm, dependiendo de la energía emitida y son particularmente importantes para los tumores sólidos con una alta heterogeneidad. Los radionucleidos emisores  $\beta^-$  producen distribución de la dosis más homogénea incluso si el trazador se distribuye heterogéneamente dentro del tejido diana (Zalutsky, 2003). Además muchos de estos radionucleidos  $\beta^-$  suelen presentar emisión  $\gamma$  en su decaimiento radiactivo lo cual permite detectarlos mediante gammagrafía.

Una simulación dosimétrica de la relación entre la tasa de dosis absorbida en el tumor y el tejido normal (TND) en relación con la energía de la partícula emitida y el tamaño del tumor para diversos radionucleidos emisores  $\beta^-$ , varios radiolantánidos,  $^{90}\text{Y}$  y  $^{131}\text{I}$ , ha sido descrito recientemente (Figura 14) (Uusijärvi y cols., 2006). El tratamiento terapéutico en el caso de radionucleidos emisores  $\beta^-$  y  $\gamma$  de alta energía como son  $^{90}\text{Y}$  y  $^{131}\text{I}$  respectivamente, ha sido demostrado ser eficaz en tumores con tamaño por encima de 1 mm (Figura 14) (Uusijärvi y cols., 2006), mientras que para radiolantánidos emisores  $\beta^-$  de baja y media energía, como es el caso de  $^{177}\text{Lu}$  y  $^{161}\text{Tb}$  la absorción de dosis es eficaz en tumores de un tamaño entre 50 y 100  $\mu\text{m}$  (Uusijärvi y cols., 2006).

Los radionucleidos emisores de radiación  $\alpha$  muestran un gran potencial para terapia de tumores debido a su alta LET y por lo tanto alta citotoxicidad (Nayak y cols., 2005). Por ello han sido propuestos para el tratamiento de las células cancerígenas (Beyer y cols., 2004), sin embargo, son pocos los radionucleidos emisores  $\alpha$  que pueden ser útiles en clínica, ya que la mayoría de estos radionucleidos tienen un periodo de semidesintegración muy largo o decaen en otros radionucleidos con otro tipo de emisión y periodos de semidesintegración igualmente largos.

Los principales radionucleidos utilizados en terapia se recogen en la Tabla 3 (Chakravarty, 2011), en la cual aparece indicado su  $T_{1/2}$ , tipo de emisión, energía principal y probabilidad de emisión.

Radionucleido	T <sub>1/2</sub>	Modo de decaimiento	Energía (keV)	Emisión $\gamma$ principal E keV (probabilidad emisión %)
<sup>32</sup> P	14,3 d	$\beta^-$	1710,6	---
<sup>47</sup> Sc	3,3 d	$\beta^-$ , $\gamma$	600,1	159,4 (68,0)
<sup>67</sup> Cu	61,8 h	$\beta^-$ , $\gamma$	577,0	184,6 (48,7)
<sup>77</sup> As	38,8 h	$\beta^-$ , $\gamma$	682,9	239,0 (1,6)
<sup>89</sup> Sr	50,5 d	$\beta^-$	1496,6	---
<sup>90</sup> Y	64,1 h	$\beta^-$	2282,0	---
<sup>105</sup> Rh	35,4 h	$\beta^-$ , $\gamma$	567,0	318,9 (19,2)
<sup>109</sup> Pd	13,7 h	$\beta^-$ , $\gamma$	1115,9	88,0 (3,6)
<sup>111</sup> Ag	7,4 d	$\beta^-$ , $\gamma$	1036,8	342,1 (6,7)
<sup>131</sup> I	8,0 d	$\beta^-$ , $\gamma$	970,8	364,5 (81,2)
<sup>133</sup> Xe	5,2 d	$\beta^-$ , $\gamma$	427,4	81,0 (37,1)
<sup>142</sup> Pr	19,1 h	$\beta^-$ , $\gamma$	2162,3	1575,6 (3,7)
<sup>149</sup> Pm	53,1 h	$\beta^-$ , $\gamma$	1071,0	285,9 (2,8)
<sup>153</sup> Sm	46,3 h	$\beta^-$ , $\gamma$	808,4	103,2 (28,3)
<sup>159</sup> Gd	18,5 h	$\beta^-$ , $\gamma$	970,6	58,0 (26,2)
<sup>165</sup> Dy	2,3 h	$\beta^-$ , $\gamma$	1282,6	94,7 (3,6)
<sup>166</sup> Ho	26,8 h	$\beta^-$ , $\gamma$	1854,5	80,6 (6,2)
<sup>169</sup> Er	9,4 d	$\beta^-$ , $\gamma$	351,2	---
<sup>175</sup> Yb	4,2 d	$\beta^-$ , $\gamma$	470,0	396,3 (6,5)
<sup>177</sup> Lu	6,7 d	$\beta^-$ , $\gamma$	498,2	208,4 (11,0)
<sup>186</sup> Re	90,6 h	$\beta^-$ , $\gamma$	1069,5	137,2 (8,6)
<sup>188</sup> Re	16,9 h	$\beta^-$ , $\gamma$	2120,4	155,0 (14,9)
<sup>194</sup> Ir	19,3 h	$\beta^-$ , $\gamma$	2246,9	328,4 (13,0)
<sup>198</sup> Au	2,7 d	$\beta^-$ , $\gamma$	1372,5	411,8 (95,5)
<sup>199</sup> Au	3,1 d	$\beta^-$ , $\gamma$	452,6	158,4 (36,9)
<sup>211</sup> At	7,2 h	$\alpha$ , $\gamma$	5982,4	687,0 (0,3)
<sup>212</sup> Bi	60,6 min	$\alpha$ , $\gamma$	6207,1	727,2 (11,8)
<sup>213</sup> Bi	45,6 min	$\alpha$ , $\gamma$	5982,0	439,7 (27,3)
<sup>223</sup> Ra	11,4 d	$\alpha$ , $\gamma$	5979,3	269,4 (13,6)
<sup>225</sup> Ac	10,0 d	$\alpha$ , $\gamma$	5935,1	99,7 (3,5)

**Tabla 3.** Características físicas de los principales radionucleidos utilizados en terapia. Principal modo decaimiento; para la emisión  $\beta^-$  solo la energía máxima es mencionada. Tabla adaptada de Chakravarty, (2011).



Los radionucleidos emisores de electrones Auger, como el  $^{161}\text{Ho}$ , pertenecen a otra clase interesante de agentes terapéuticos que todavía está en estudio. La aplicación biológica de los electrones Auger no fue apreciada durante muchos años debido a su bajo nivel de energía (0,01 a 100 keV) hasta que a principios de los años setenta se demostró su fuerte radiotoxicidad, principalmente en el ácido desoxirribonucleico (ADN) celular (Hofer y Hughes 1971). Su efecto terapéutico depende de su localización, ya que cuando están situados fuera del núcleo celular su radiotoxicidad es baja, mientras que a nivel intranuclear provoca daño en el ADN por su alta LET. La potencial aplicación de este tipo de radionucleidos es limitada ya que se requiere que sean dirigidos al interior del núcleo celular a tratar.

Los radionucleidos  $^{131}\text{I}$  y  $^{153}\text{Sm}$ , el primero utilizado en el tratamiento de cáncer de tiroides, el hipertiroidismo y el segundo como paliativo al dolor producido por metástasis óseas, son los más utilizados en la práctica clínica. Actualmente se hallan en fase de investigación numerosos radiofármacos para tratar diversas enfermedades y se espera que la mayoría de estos fármacos estén implementados en clínica próximamente de forma rutinaria, como es el caso del  $^{223}\text{RaCl}_2$  para tratamiento de pacientes con cáncer de próstata resistentes a la castración (Colletti, 2013).

## **1.6 Producción de radionucleidos**

Hoy en día, los radionucleidos utilizados en medicina nuclear se producen en instalaciones de radiofarmacia y/o radioquímica por medio de reactores nucleares, ciclotrones y generadores de radionucleidos.

### **1.6.1 Producción de radionucleidos vía reactor nuclear**

Un gran número de radionucleidos utilizados en Medicina Nuclear se producen en reactores nucleares (Rayudu, 1990; Adelstein y Manning, 1995). Un reactor nuclear es una instalación en la que la reacción en cadena de fisión nuclear se lleva a cabo de una

manera controlada, en general, se utiliza para la producción de energía (Figura 15). El núcleo de un reactor nuclear está constituido por los denominados elementos de combustible elaborados con materias fisionables como son el  $^{235}\text{U}$  o  $^{239}\text{Pu}$ .



**Figura 15.** Fotografía de un reactor nuclear. JEN-1, Junta de Energía Nuclear, Madrid (CIEMAT, 2014).

Las reacciones de fisión nuclear, aparte de producir enormes cantidades de energía, también dan lugar a grandes cantidades de neutrones, los cuales son esenciales para el mantenimiento de la reacción en cadena de fisión nuclear. Además, estos reactores también se utilizan para la producción artificial de radionucleidos.

Los neutrones emitidos a partir de reacciones de fisión tienen energías muy altas y por lo tanto muy altas velocidades siendo la probabilidad de interacción con otros nucleidos muy baja y no pueden producir reacciones de fisión. Por lo tanto, estos neutrones se moderan para que su energía disminuya hasta el rango de 0,025 eV (neutrones térmicos), los cuales tienen una mayor probabilidad de interacción con el núcleo de otros átomos y son extremadamente importantes para la producción de radionucleidos (Friedlander y cols., 1981), muchos de ellos con aplicación en medicina nuclear (Baker, 1965; Mushtaq, 2010).

Radionucleido	T <sub>1/2</sub>	Modo decaimiento*	Reacción de producción más común	Abundancia isotópica natural	Sección eficaz (b)
<b>(n,γ)</b>					
<sup>24</sup> Na	15,0 h	β <sup>-</sup>	<sup>25</sup> Na(n,γ) <sup>24</sup> Na	100,0	0,53
<sup>32</sup> P	14,3 d	β <sup>-</sup>	<sup>31</sup> P(n,γ) <sup>32</sup> P	100,0	0,18
<sup>35</sup> S	87,5 d	β <sup>-</sup>	<sup>34</sup> S(n,γ) <sup>35</sup> S	4,2	0,29
<sup>51</sup> Cr	27,7 d	CE	<sup>50</sup> Cr(n,γ) <sup>51</sup> Cr	4,4	15,9
<sup>59</sup> Fe	44,5 d	β <sup>-</sup> , γ	<sup>58</sup> Fe(n,γ) <sup>59</sup> Fe	0,3	0,0013
<sup>60</sup> Co	5,3 y	β <sup>-</sup> , γ	<sup>59</sup> Co(n,γ) <sup>60</sup> Co	100,0	37,18
<sup>75</sup> Se	119,8 d	CE	<sup>74</sup> Se(n,γ) <sup>75</sup> Se	0,9	51,8
<sup>99</sup> Mo	67,0 h	β <sup>-</sup> , γ	<sup>98</sup> Mo(n,γ) <sup>99</sup> Mo	24,1	0,13
<sup>109</sup> Pd	13,7 h	β <sup>-</sup> , γ	<sup>108</sup> Pd(n,γ) <sup>109</sup> Pd	26,5	8,3
<sup>142</sup> Pr	19,1 h	β <sup>-</sup> , γ	<sup>141</sup> Pr(n,γ) <sup>142</sup> Pr	100	11,5
<sup>153</sup> Sm	46,3 h	β <sup>-</sup> , γ	<sup>152</sup> Sm(n,γ) <sup>153</sup> Sm	26,7	206
<sup>159</sup> Gd	18,5 h	β <sup>-</sup> , γ	<sup>158</sup> Gd(n,γ) <sup>159</sup> Gd	24,8	2,2
<sup>165</sup> Dy	2,3 h	β <sup>-</sup> , γ	<sup>164</sup> Dy(n,γ) <sup>165</sup> Dy	28,2	1610
<sup>166</sup> Ho	26,8 h	β <sup>-</sup> , γ	<sup>165</sup> Ho(n,γ) <sup>166</sup> Ho	100	66
<sup>169</sup> Er	9,4 d	β <sup>-</sup> , γ	<sup>168</sup> Er(n,γ) <sup>169</sup> Er	26,8	2,74
<sup>175</sup> Yb	4,2 d	β <sup>-</sup> , γ	<sup>174</sup> Yb(n,γ) <sup>175</sup> Yb	31,8	69
<sup>177</sup> Lu	6,7 d	β <sup>-</sup> , γ	<sup>176</sup> Lu(n,γ) <sup>177</sup> Lu	2,6	2100
<sup>186</sup> Re	90,6 d	β <sup>-</sup> , γ	<sup>185</sup> Re(n,γ) <sup>186</sup> Re	37,4	106
<sup>192</sup> Ir	73,8 d	β <sup>-</sup> , γ	<sup>191</sup> Ir(n,γ) <sup>192</sup> Ir	37,3	645
<sup>194</sup> Ir	19,2 d	β <sup>-</sup> , γ	<sup>193</sup> Ir(n,γ) <sup>194</sup> Ir	62,7	111
<sup>198</sup> Au	2,7 d	β <sup>-</sup> , γ	<sup>197</sup> Au(n,γ) <sup>198</sup> Au	100	98,65
<b>(n,γ) y (n,γ)</b>					
<sup>166</sup> Dy	81,5 h	β <sup>-</sup>	<sup>164</sup> Dy(n,γ) <sup>165</sup> Dy(n,γ) <sup>166</sup> Dy	28,2	2700;3500
<sup>188</sup> W	69,0 d	β <sup>-</sup> , γ	<sup>186</sup> W(n,γ) <sup>187</sup> W(n,γ) <sup>188</sup> W	28,6	36;70
<b>(n,γ) y β<sup>-</sup></b>					
<sup>77</sup> As	1,6 d	β <sup>-</sup> , γ	<sup>76</sup> Ge(n,γ,β <sup>-</sup> ) <sup>77</sup> As	7,7	0,092
<sup>105</sup> Rh	35,3 h	β <sup>-</sup> , γ	<sup>104</sup> Ru(n,γ,β <sup>-</sup> ) <sup>105</sup> Rh	18,6	145
<sup>111</sup> Ag	7,5 d	β <sup>-</sup> , γ	<sup>110</sup> Pd(n,γ,β <sup>-</sup> ) <sup>111</sup> Ag	11,7	0,37
<sup>131</sup> I	8,0 d	β <sup>-</sup> , γ	<sup>130</sup> Te(n,γ,β <sup>-</sup> ) <sup>131</sup> I	33,8	0,27
<sup>149</sup> Pm	53,1 h	β <sup>-</sup> , γ	<sup>148</sup> Nd(n,γ,β <sup>-</sup> ) <sup>149</sup> Pm	5,8	2,50
<sup>177</sup> Lu	6,7 d	β <sup>-</sup> , γ	<sup>176</sup> Y(n,γ,β <sup>-</sup> ) <sup>177</sup> Lu	12,7	2,40
<sup>199</sup> Au	3,1 d	β <sup>-</sup> , γ	<sup>198</sup> Pt(n,γ,β <sup>-</sup> ) <sup>199</sup> Au	7,2	3,66

Radionucleido	$T_{1/2}$	Modo decaimiento*	Reacción de producción más común	Abundancia isotópica natural	Sección eficaz (b)
<b>(n,p) y (n,<math>\alpha</math>)</b>					
$^3\text{H}$	12,3 a	$\beta^-$	$^6\text{Li}(n,\alpha)^3\text{H}$	7,5	940
$^{14}\text{C}$	5730 a	$\beta^-$	$^{14}\text{N}(n,p)^{14}\text{C}$	99,6	1,83
$^{32}\text{P}$	14,3 d	$\beta^-$	$^{32}\text{S}(n,p)^{32}\text{P}$	95,0	0,07
$^{67}\text{Cu}$	2,4 d	$\beta^-, \gamma$	$^{67}\text{Zn}(n,p)^{67}\text{Cu}$	4,1	0,0012
$^{89}\text{Sr}$	50,5 d	$\beta^-$	$^{89}\text{Y}(n,p)^{89}\text{Sr}$	100	0,0003
<b>(n,f)</b>					
$^{90}\text{Sr}$	28,6 a	$\beta^-$	$^{235}\text{U}(n,f)^{90}\text{Sr}$	0,7	Y = 5,89%
$^{99}\text{Mo}$	67,0 h	$\beta^-, \gamma$	$^{235}\text{U}(n,f)^{99}\text{Mo}$	0,7	Y = 6,14%
$^{131}\text{I}$	8,0 d	$\beta^-, \gamma$	$^{235}\text{U}(n,f)^{131}\text{I}$	0,7	Y = 2,84%

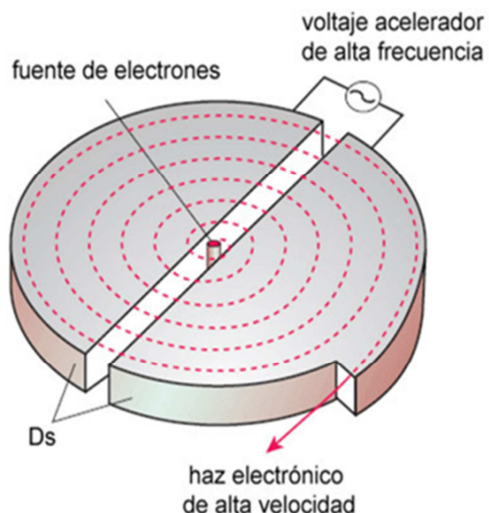
**Tabla 4.** Características físicas de los principales radionucleidos producidos en reactor nuclear, adaptada de Chakravarty, (2011). \*Solo es mencionado el principal modo de decaimiento, Sección eficaz = magnitud proporcional a la probabilidad de que un neutrón incidente interactúe con un núcleo en un medio material y según una reacción nuclear específica,  $b$  = barnio ( $1b = 10^{-28} \text{ m}^2$ ); Y = rendimientos de fisión.

## 1.6.2 Producción de radionucleidos vía ciclotrón

El ciclotrón es un acelerador circular de partículas cargadas, bien con signo positivo, protones o deuterones, o negativo como electrones. Estas partículas son aceleradas por un campo magnético oscilatorio hasta que alcanzan una energía cinética suficiente para producir reacciones nucleares al interactuar con un material llamado “blanco” o diana (Figura 16 y 17) (CIEMAT, 2014).

Al bombardear el material del blanco con las partículas aceleradas se inducen reacciones nucleares que dan lugar a la formación de isótopos radiactivos o radionucleidos. El material del blanco varía según el radionucleido que se desee obtener, y es intercambiable. Su estado físico puede ser sólido, líquido o gaseoso.





**Figura 16.** Esquema simplificado del funcionamiento de un ciclotrón (CIEMAT, 2014).

Los ciclotrones pueden ser clasificados en relación a su energía. Los ciclotrones de baja energía, entre 10 y 18 MeV, son conocidos vulgarmente como “baby ciclotrons” o “ciclotrones de uso médico”. Son mucho más económicos, sencillos de manejar y automatizados, permitiendo producir  $^{15}\text{O}$ ,  $^{13}\text{N}$ ,  $^{11}\text{C}$ ,  $^{18}\text{F}$  entre otros, los cuales son de gran utilidad en PET ya que decaen emitiendo un positrón. Los periodos de semidesintegración de estos cuatro radionucleidos son relativamente cortos, siendo 2 min para el  $^{15}\text{O}$ , 10 min para el  $^{13}\text{N}$ , 20 min para el  $^{11}\text{C}$  y 109 min para el  $^{18}\text{F}$ .



**Figura 17.** Fotografía de un ciclotrón comercial (CIEMAT, 2014).

Radionucleido	T <sub>1/2</sub>	Modo de decaimiento	Reacción de producción más común	Abundancia isotópica natural
<sup>11</sup> C	20,4 min	β <sup>+</sup>	<sup>14</sup> N(rfα) <sup>11</sup> C	99,6
<sup>13</sup> N	9,9 min	β <sup>+</sup>	<sup>16</sup> O(p,α) <sup>13</sup> N	99,8
<sup>15</sup> O	122,2 s	β <sup>+</sup>	<sup>14</sup> N(d,n)/ <sup>15</sup> N(p,n) <sup>15</sup> O	99,6/0,4
<sup>18</sup> F	109,8 min	β <sup>+</sup>	<sup>18</sup> O(p,n) <sup>18</sup> F	0,2
<sup>19</sup> Ne	17,3 s	β <sup>+</sup>	<sup>19</sup> F(p,n)/ <sup>16</sup> O(α,n) <sup>19</sup> Ne	100,0/99,8
<sup>21</sup> Na	23 s	β <sup>+</sup>	<sup>20</sup> Ne(d,n)	90,5
<sup>28</sup> Mg	21,2 h	β <sup>-</sup>	<sup>26</sup> Mg(α,2p) <sup>28</sup> Mg	11,0
<sup>47</sup> Sc	3,3 d	β <sup>+</sup> , γ	<sup>48</sup> Ti(p,2p) <sup>47</sup> Sc	73,8
<sup>57</sup> Ni	36,0 h	β <sup>+</sup> , CE	<sup>56</sup> Fe(3He,2n) <sup>57</sup> Ni	91,7
<sup>64</sup> Cu	12,8 h	β <sup>-</sup> β <sup>+</sup> , CE	<sup>64</sup> Ni(p,n) <sup>64</sup> Cu	0,9
<sup>67</sup> Cu	61,8 h	β <sup>-</sup> , γ	<sup>68</sup> Zn(p,2p) <sup>67</sup> Cu	18,8
<sup>67</sup> Ga	3,2 d	CE	<sup>68</sup> Zn(p,2n) <sup>67</sup> Ga	18,0
<sup>68</sup> Ge	271,0 d	CE	<sup>69</sup> Ga(p,2n) <sup>68</sup> Ge	60,0
<sup>74</sup> As	17,9 d	β <sup>-</sup> β <sup>+</sup> , CE	<sup>71</sup> Ga(α,n) <sup>74</sup> As	40,0
<sup>77</sup> As	38,8 h	β <sup>-</sup> , γ	<sup>80</sup> Se(p,α) <sup>77</sup> As	49,6
<sup>77</sup> Br	57,0 h	CE	<sup>75</sup> As(α,2n) <sup>77</sup> Br	100,0
<sup>86</sup> Y	14,7 h	β <sup>+</sup>	<sup>86</sup> Sr(p,n) <sup>86</sup> Y	9,8
<sup>103</sup> Pd	16,9 d	CE	<sup>103</sup> Rh(p,n) <sup>103</sup> Pd	100,0
<sup>111</sup> In	2,8 d	CE	<sup>111</sup> Cd(p,n) <sup>111</sup> In	12,8
<sup>117m</sup> Sn	13,6 d	TI	<sup>121</sup> Sb(p,2p,3n) <sup>117m</sup> Sn	57,40
<sup>123</sup> I	13,3 h	CE	<sup>121</sup> Sb(α,2n) <sup>123</sup> I	57,4
<sup>127</sup> Xe	36,4 d	CE	<sup>127</sup> I(p,n) <sup>127</sup> Xe	100,0
<sup>165</sup> Er	10,3 h	CE	<sup>165</sup> Ho(p,n) <sup>165</sup> Er	100,0
<sup>197</sup> Hg	64,1 h	CE	<sup>197</sup> Au(p,n) <sup>197</sup> Hg	100,0
<sup>201</sup> Tl	72,9 h	CE	<sup>203</sup> Tl(p,3n) <sup>201</sup> Tl	29,5
<sup>211</sup> At	7,2 h	α, γ	<sup>209</sup> Bi(α,2n) <sup>211</sup> At	100,0

**Tabla 5.** Características físicas de los principales radionucleidos producidos en ciclotrón (Chakravarty, 2011).



Los ciclotrones de energía más alta, por encima de 22 MeV, permiten producir además de los radionucleidos ya mencionados  $^{111}\text{In}$ ,  $^{201}\text{Tl}$ ,  $^{123}\text{I}$  con aplicación en SPECT (Carreras Delgado, 1995; Clanton, 2002). Y los ciclotrones de energía por encima de 50 MeV permiten realizar terapia tumoral con neutrones, y los de energía superior a 100 MeV terapia tumoral con protones, además de análisis por activación neutrónica, análisis de materiales, investigación en radiobiología, física y química. Sin embargo, son de precio muy elevado y funcionamiento muy complejo (Carreras Delgado, 1995).

Los radionucleidos producidos comúnmente en ciclotrón no tienen la forma química y farmacéutica adecuada para ser utilizados directamente como radiotrazadores, por lo que generalmente son incorporados a moléculas más complejas de interés en medicina nuclear, síntesis se realiza en los laboratorios de radiofarmacia.

Los laboratorios de radiofarmacia han de encontrarse en proximidad inmediata al ciclotrón debido al relativamente corto periodo de semidesintegración; además, el proceso de síntesis y marcaje de las diversas moléculas orgánicas e inorgánicas utilizadas ha de ser rápido y automatizado para reducir, en lo posible, la exposición a radiaciones del personal, existiendo módulos automáticos disponibles comercialmente para la síntesis de las moléculas más usadas en PET. Los principales radionucleidos producidos vía ciclotrón se muestran en la Tabla 5.

### **1.6.3 Producción de radionucleidos vía generador**

Determinados radionucleidos originan por su desintegración otro nucleido también radiactivo. A este segundo radionucleido se le denomina comúnmente radionucleido hijo, así como al primero radionucleido padre, y decimos que entre los dos existe una relación genética. La Figura 18 muestra de forma simplificada un generador de radionucleidos y un generador de radionucleidos comercial.

Un generador puede definirse como un sistema constituido por dos radionucleidos con relación genética (padre e hijo) que, al ser elementos distintos, poseen propiedades químicas diferentes, permitiendo mediante procedimientos físicos o químicos la separación selectiva del hijo con alto grado de pureza. Por lo tanto, existe la posibilidad de producir radionucleidos emisores de positrones vía generador, siendo un proceso más sencillo y con una inversión económica más baja que mediante un reactor o ciclotrón y permitiendo abastecer a centros PET.



**Figura 18.** Esquema simplificado de un generador de radionucleidos (izquierda) y fotografía de un generador de radionucleidos comercial (derecha).

Los principales radionucleidos producidos vía generador se muestran en la Tabla 6 (IAEA, 2010).

Generador	Radionucleido Padre			Radionucleido Hijo		
	$T_{1/2}$	Vía de producción	Principal tipo de decaimiento	$T_{1/2}$	Principal tipo de decaimiento	Aplicación
$^{42}\text{Ar}/^{42}\text{K}$	32,9 a	R	$\beta^-$	12,36 h	$\beta^-$	Química
$^{44}\text{Ti}/^{44}\text{Sc}$	47,3 a	A	CE	4,04 h	$\beta^+$	PET
$^{52}\text{Fe}/^{52\text{m}}\text{Mn}$	8,28 h	A	$\beta^+$	21,1 min	$\beta^+$	PET
$^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$	270,8 d	A	CE	67,8 min	$\beta^+$	PET

Radionucleido Padre				Radionucleido Hijo		
Generador	T <sub>1/2</sub>	Vía de producción	Principal tipo de decaimiento	T <sub>1/2</sub>	Principal tipo de decaimiento	Aplicación
<sup>72</sup> Se/ <sup>72</sup> As	8,4 d	A	CE	1,08 d	β <sup>+</sup>	PET
<sup>83</sup> Rb/ <sup>83m</sup> Kr	86,2 d	A	CE	1,86 h	γ	Química/ Radiofarmacia
<sup>82</sup> Sr/ <sup>82</sup> Rb	25,6 d	A	CE	1,27 min	β <sup>+</sup>	PET
<sup>90</sup> Sr/ <sup>90</sup> Y	28,5 a	R, R(f)	β <sup>-</sup>	2,67 d	β <sup>-</sup>	Terapia
<sup>99</sup> Mo/ <sup>99m</sup> Tc	2,75 d	R, R(f)	β <sup>-</sup>	6,01 h	γ	SPECT
<sup>103</sup> Pd/ <sup>103m</sup> Rh	16,97 d	R, A	CE	56,12 min	γ, TI	Química
<sup>109</sup> Cd/ <sup>109m</sup> Ag	1,267 a	A	CE	36,6 s	γ	Angiografía
<sup>113</sup> Sn/ <sup>113m</sup> In	115,1 d	R	CE	1,66 h	γ	Terapia
<sup>118</sup> Te/ <sup>118</sup> Sb	6,0 d	A	CE	3,6 min	β <sup>+</sup>	PET
<sup>132</sup> Te/ <sup>132</sup> I	3,26	R(f)	β <sup>-</sup>	2,28 h	γ, β <sup>-</sup>	Terapia
<sup>137</sup> Cs/ <sup>137m</sup> Ba	30,0 a	R, R(f)	β <sup>-</sup>	2,55 min	γ	Diagnóstico
<sup>140</sup> Ba/ <sup>140</sup> La	12,75 d	A	β <sup>-</sup>	1,68 d	γ, β <sup>-</sup>	Química/ Radiofarmacia
<sup>134</sup> Ce/ <sup>140</sup> La	3,16 d	A	CE	6.4 min	β <sup>+</sup>	PET
<sup>144</sup> Ce/ <sup>144</sup> Pr	284,9 d	R, R(f)	β <sup>-</sup>	17,3 min	γ	Química/ Radiofarmacia
<sup>140</sup> Nd/ <sup>140</sup> Pr	3,37 d	A	CE	3,39 min	β <sup>+</sup> , CE	PET
<sup>166</sup> Dy/ <sup>166</sup> Ho	3,40 d	R	β <sup>-</sup>	1,12 d	β <sup>-</sup>	Terapia
<sup>167</sup> Tm/ <sup>167m</sup> Er	9,24 d	A	CE	2,28 s	γ	Química/ Radiofarmacia
<sup>172</sup> Hf/ <sup>172</sup> Lu	1,87 a	A	CE	6,70 d	γ	Química/ Radiofarmacia
<sup>178</sup> W/ <sup>178</sup> Ta	21,5 d	A	CE	9,31 min	γ	Angiografía
<sup>188</sup> W/ <sup>188</sup> Re	69,4 d	R	β <sup>-</sup>	16,98 h	β <sup>-</sup>	Terapia

Generador	Radionucleido Padre			Radionucleido Hijo		
	$T_{1/2}$	Vía de producción	Principal tipo de decaimiento	$T_{1/2}$	Principal tipo de decaimiento	Aplicación
$^{191}\text{Os}/^{191\text{m}}\text{Ir}$	15,4 d	R	$\beta^-$	4,94 s	$\gamma$	Angiografía
$^{194}\text{Os}/^{194}\text{Ir}$	6,0 a	R	$\beta^-$	19,15 h	$\gamma, \beta^-$	Terapia
$^{226}\text{Ra}/^{222}\text{Rn}$	16000 a	CD	A	3,83 d	$\alpha$	Terapia
$^{225}\text{Ac}/^{213}\text{Bi}$	10,0 d	A, CD	A	45, 6 min	$\beta^-, \alpha$	Terapia

**Tabla 6.** Características físicas de los principales radionucleidos producidos vía generador de radionucleidos. Tabla adaptada de IAEA, (2010). A = *acelerador*, CD = *cadena de decaimiento*, R = *reactor*, *captura de neutrones*, R(f) = *fisión en reactor*, CE = *captura electrónica*.

Los generadores de radionucleidos pueden clasificarse en función del tipo de equilibrio radioquímico que presenten, secular o transitorio, como puede apreciarse en la Tabla 7 (IAEA, 2010).

Tipo de equilibrio	Padre ( $T_{1/2}$ )	Hijo ( $T_{1/2}$ )	Modo decaimiento hijo	$T_{1/2}$ padre/ $T_{1/2}$ hijo
Secular	$^{68}\text{Ge}$ (270 d)	$^{68}\text{Ga}$ (68 min)	$\beta^+$	$5,7 \times 10^2$
	$^{90}\text{Sr}$ (28,6 a)	$^{90}\text{Y}$ (64,1 h)	$\beta^+$	$3,9 \times 10^2$
	$^{82}\text{Sr}$ (25,6 d)	$^{82}\text{Rb}$ (1,27 min)	$\beta^+$	$2,9 \times 10^2$
	$^{81}\text{Rb}$ (4,58 h)	$^{81\text{m}}\text{Kr}$ (13 s)	$\gamma$	$1,3 \times 10^2$
	$^{188}\text{W}$ (69 d)	$^{188}\text{Re}$ (16,9 h)	$\beta^-$	$9,8 \times 10^1$
Transitorio	$^{62}\text{Zn}$ (9,26 h)	$^{62}\text{Cu}$ (9,74 min)	$\beta^+$	$5,7 \times 10^1$
	$^{99}\text{Mo}$ (2,75 d)	$^{99\text{m}}\text{Tc}$ (6,0 h)	$\gamma$	3,0
	$^{166}\text{Dy}$ (3,40 d)	$^{166}\text{Ho}$ (1,117 d)	$\beta^-$	1,1

**Tabla 7.** Clasificación de los principales tipos de generadores en función del tipo de equilibrio radioquímico. Tabla adaptada de IAEA, (2010).



Para poder realizar un generador de radionucleidos deben de cumplirse una serie de premisas, como son:

- Debe ser un sistema formado por dos radionucleidos, siendo el radionucleido hijo el producto del decaimiento radiactivo del radionucleido padre.
- El radionucleido padre debe de tener un  $T_{1/2}$  mayor al  $T_{1/2}$  del hijo.
- El producto del decaimiento del radionucleido hijo debe de ser un átomo estable o en su defecto debe de ser un radionucleido con un  $T_{1/2}$  lo suficientemente largo y además que el tipo y energía de emisión no entrañen riesgo para la salud.
- Las propiedades físicas y/o químicas del radionucleido padre y del radionucleido hijo deben de ser distintas para permitir una separación selectiva con alto grado de pureza entre ambos, además utilizando una técnica física o química el proceso debe de ser fácil, eficaz y que no entrañe ningún riesgo.
- La intervención del operador en el funcionamiento del generador debe ser mínima para minimizar la dosis recibida.
- El radionucleido hijo obtenido debe presentarse en una forma química que permita usarse para el marcaje de diferentes moléculas.
- El  $T_{1/2}$  del radionucleido padre debe de ser suficientemente largo para poder hacer uso del generador durante un periodo de tiempo relativamente largo.
- La vida útil del generador debe de permitir un uso prolongado de este, teniendo un comportamiento lo más regular posible.
- Los componentes del generador, es decir, los reactivos involucrados, tubos, accesorios etc., deben ser lo más resistentes posibles a la radiación.

La separación de las parejas de padres e hijos que pertenecen al grupo adyacente de la tabla periódica de los elementos es uno de los aspectos más difíciles de la investigación en el campo de los generadores de radionucleidos, ya que en muchos casos, poseen propiedades similares. A veces la separación se complica por los múltiples estados de oxidación de los dos radionucleidos y su tendencia a formar una gran variedad de complejos (Mirzadeh y Knapp, 1996).

Preferiblemente, el radionucleido hijo debe obtenerse en una forma que sea susceptible para el uso directo en la preparación de radiofármacos. En el caso de radionucleidos metálicos, la forma iónica es la más deseable. Además, los generadores de radionucleidos para aplicaciones biomédicas deben ser de diseño simple, eficiente y fácil de operar. Diversas técnicas, tales como cromatografía en columna, extracción con solventes y la sublimación se han descrito para la preparación de los generadores de radionucleidos (Boyd, 1982a; Boyd, 1982b; Molinsky, 1982; Boyd, 1987). La conversión del radionucleido padre en un "gel" insoluble y su uso como fase estacionaria de una columna cromatográfica de la que el radionucleido hijo puede ser eluido es otra estrategia descrita (Knapp y Mirzadeh, 1994; Boyd, 1997). De las distintas estrategias para el diseño de estos generadores la cromatografía en columna y la extracción por solventes son los métodos más utilizados para su preparación en aplicaciones biomédicas. La elección de una técnica en particular se hace generalmente por razones técnicas, económicas y logísticas, haciendo énfasis en uno u otro de estos factores en función de las circunstancias. Las ventajas y desventajas relativas de cada una de estas técnicas se discuten a continuación. Existen diferentes tipos de generadores en función del método que se utiliza para la separación selectiva del radionucleido padre y del radionucleido hijo, algunos de los más comunes se describen a continuación.

### **1.6.3.1 Generadores basados en columnas cromatográficas**

Este es el método más utilizado para la preparación de los generadores de radionucleidos, principalmente debido a su simplicidad de funcionamiento. Este método se basa en la separación cromatográfica debido a la diferente afinidad en una fase

estacionaria a modo de columna y una solución eluyente como fase móvil. En general, el radionucleido padre tiene una afinidad muy alta de retención en la matriz de la columna mientras que la afinidad del radionucleido hijo es baja. El radionucleido padre, con  $T_{1/2}$  más largo, se adsorbe sobre el soporte sólido y el radionucleido hijo es obtenido selectivamente de forma periódica utilizando eluyentes adecuados. Tanto columnas de naturaleza orgánicas como inorgánicas han sido evaluados como soportes cromatográficos para generadores de radionucleidos (Mushtaq, 2004). Sin embargo, el deterioro debido a la radiólisis puede hacer que disminuya la vida útil del generador, afectando al rendimiento de elución, y al contenido del radionucleido padre en el eluido. Este fenómeno suele ser más acusado en matrices orgánicas ya que la energía de enlace suele ser menor que la emitida por la radiación, obteniendo cuando esto sucede fragmentos de la matriz orgánica junto con el radionucleido hijo eluido, comportándose como impurezas químicas indeseables. Por este motivo, la actividad del radionucleido padre que se puede cargar en este tipo de columnas suele estar limitada. Las matrices inorgánicas, debido a su alta energía de enlace tienen una resistencia más alta a la radiación, además de buenas propiedades de intercambio iónico, lo que hacen que sean las más habituales en la preparación de los generadores de radionucleidos. Los compuestos inorgánicos más utilizados son los óxidos metálicos tales como  $Al_2O_3$ ,  $ZrO_2$ ,  $TiO_2$ , etc. (Mushtaq, 2004; Samuelson, 1963). Uno de los principales problemas de este tipo de óxidos metálicos es su solubilidad en los diferentes solventes utilizados como eluyentes, pudiendo verse incrementada debido a eluciones sucesivas durante un período prolongado de tiempo (Mushtaq, 2004; Roesch y Riss, 2010). Este fenómeno provoca impurezas químicas, las cuales pueden interferir en las distintas reacciones posteriores de marcaje con el radionucleido hijo obtenido (Roesch y Riss, 2010).

Otra limitación importante de los generadores basados en columnas cromatográficas es la limitada capacidad de adsorción de las matrices utilizadas. El volumen necesario de eluyente para la obtención del radionucleido hijo va a depender del tamaño de la columna y ésta va a depender de su capacidad de adsorción (Boyd, 1982a). Por este motivo va a ser importante que la actividad específica del radionucleido padre sea alta con el fin de reducir el tamaño de la columna, ya que si la actividad específica del radionucleido padre es baja, la actividad obtenida del radionucleido hijo estará muy

diluida, lo que requerirá un proceso posterior de concentración de la elución para poder ser empleada en el marcaje de diferentes moléculas (Knapp y Mirzadeh, 1994).

### 1.6.3.2 Generadores basados en extracción con solventes

La extracción con solventes es otro enfoque que ha sido ampliamente utilizado para la preparación de los generadores de radionucleidos (Boyd, 1982a; Boyd, 1982b; Molinsky, 1982; Boyd, 1987; Taskaev y cols., 1995; Svoboda, 1987). Este método se basa en la relativa solubilidad del radionucleido padre y del radionucleido hijo en dos líquidos inmiscibles, siendo lo más habitual utilizar un solvente acuoso y un solvente orgánico (Morrison y Freiser, 1962). A diferencia de los generadores basados en columna cromatográfica los generadores de extracción por solventes tienen algunas ventajas económicas y técnicas como es que la actividad específica del radionucleido padre no es un parámetro tan crítico. Sin embargo, la extracción de solvente consiste en un proceso de separación selectiva de múltiples etapas, por lo tanto, se requiere personal altamente cualificado para esta operación. Además, el manejo de grandes volúmenes de solventes orgánicos puede conllevar posibles riesgos de volatilidad. Por otra parte, el solvente orgánico puede sufrir radiólisis formando impurezas junto al radionucleido, las cuales pueden interferir en las posteriores reacciones de marcaje incluso también puede disminuir la eficiencia en la separación selectiva del radionucleido padre e hijo.

### 1.6.3.3 Generadores basados en sublimación

Este tipo de generadores son muy limitados, ya que solamente pueden ser utilizados para la separación de radionucleidos padre e hijo si existe una diferencia suficiente entre sus puntos de evaporación a una determinada temperatura. Hasta la fecha, este método se ha limitado sólo a un tipo de generador de  $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$ , llevado a cabo por la Comisión Australiana de Energía Atómica, para proporcionar  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  con fines diagnósticos (Boyd, 1982a; Boyd, 1982b; Molinsky, 1982; Boyd, 1987; Zsinka, 1987).



El procedimiento se basa en el calentamiento de trióxido de molibdeno a 850 ° C bajo una corriente de oxígeno. En estas condiciones, el óxido de tecnecio ( $Tc_2O_7$ ) sublima, separándolo así del óxido de molibdeno. La principal ventaja de este método es que puede utilizarse a pesar de que la actividad específica del radionucleido padre, en este caso ( $^{99}Mo$ ), sea baja (Boyd, 1982a). Además el radionucleido hijo,  $^{99m}Tc$ , se obtiene con muy alta concentración radiactiva y adecuada pureza radionucleídica (Boyd, 1982a). Sin embargo, hay numerosas desventajas en este método, en primer lugar, el proceso de separación es muy complicado y un sistema automatizado para su uso rutinario no ha sido desarrollado. En segundo lugar, la eficiencia de la separación selectiva es del 25-40%, y en tercer lugar, hay posibilidad de fugas de radiactividad en forma de gas, por lo que todo el proceso requiere una compleja instalación y personal muy cualificado. Por lo tanto, a pesar de su capacidad de producir  $^{99m}Tc$  con muy alta pureza, este proceso ha tenido una limitada aceptación.

#### 1.6.3.4 Generadores basados en gel

Este procedimiento se basa en utilizar el propio radionucleido padre como matriz de la columna mediante su conversión en un compuesto insoluble en forma de gel. El uso del término "gel" es debido al trabajo inicial con  $^{99}Mo$ , en el que la matriz resultante tiene aspecto de gel. Este método es una alternativa útil al generador de columna cromatográfica cuando se utilizan radionucleidos padres con baja actividad específica (Boyd, 1997). Existen generadores de este tipo de  $^{99}Mo/^{99m}Tc$  y de  $^{188}W/^{188}Re$ . Se basa en la incorporación de los radionucleidos padres como el  $^{99}Mo$  o el  $^{188}W$  en precipitados insolubles de zirconio o titanio (Boyd, 1997; Evans y cols., 1987; Moore y cols., 1987; Dadachov y cols., 2002; Monroy-Guzman y cols., 2007). El contenido de  $^{99}Mo$  o  $^{188}W$  en el interior de la matriz de gel es de 25-30% (Monroy-Guzman y cols., 2007). Aunque el generador de "gel" es simple de operar, la preparación del propio gel es bastante complejo y los rendimientos de estos generadores dependen del sistema empleado para la preparación del "gel" (Boyd, 1997; Evans y cols., 1987; Moore y cols., 1987; Dadachov y cols., 2002; Monroy-Guzman y cols., 2003; Monroy-Guzman y cols., 2007).

Por consiguiente, factores como como el pH, las concentraciones de los reactivos utilizados, el orden de adición de los reactivos, la temperatura aplicada, etc., influyen en la separación selectiva del radionucleido hijo y del padre con una gran variabilidad de resultados (Knapp y Mirzadeh, 1994).

### **1.6.3.5 Control de Calidad de generadores de radionucleidos**

El fin de los generadores de radionucleidos es la aplicación clínica en medicina nuclear, por tanto, es imperativo que sean evaluados mediante un estricto control de calidad (CC) antes de ser usados. El control de calidad implica pruebas y mediciones específicas que aseguren la eficiencia de la elución del generador, la identidad del producto, la seguridad biológica, la pureza, la concentración radiactiva y la eficacia del radionucleido hijo obtenido para la preparación de potenciales radiofármacos. Estos métodos se describen brevemente a continuación.

#### **1.6.3.5.1 Eficiencia de elución**

La eficiencia o rendimiento de elución (RE) de un generador de radionucleidos se define como el porcentaje del radionucleido hijo obtenido durante el proceso de elución respecto del total. La actividad teórica del radionucleido hijo presente en el generador en el momento de elución puede ser calculada mediante las ecuaciones del equilibrio radioquímico anteriormente mencionadas, sin embargo en la práctica, la actividad experimental del radionucleido hijo obtenida suele ser menor a la actividad teórica debido a su interacción con el medio utilizado para su separación física o química. La eficiencia de elución se puede definir por la ecuación:

$$RE = \frac{A_{exp}}{A_t} \times 100$$

[17]

Donde, RE es el rendimiento de elución,  $A_{\text{exp}}$  es la actividad obtenida experimentalmente y  $A_t$  es la actividad teórica calculada.

Para un generador de radionucleidos el rendimiento de elución debe de ser aceptable, y esencial que dicha eficiencia permanezca constante durante el período estipulado de utilización, es decir, la vida útil del generador.

### 1.6.3.5.2 Pureza radionucleídica de la elución

La pureza radionucleídica (PRN) se define como el porcentaje de la actividad del radionucleido hijo respecto al total de actividad obtenida en la elución, ya que puede haber presentes impurezas de otros radionucleidos por purificaciones incompletas tras la obtención del radionucleido (Saha, 2000). En los generadores de radionucleidos las principales impurezas radionucleídicas que pueden aparecer es la presencia del radionucleido padre en el eluido, que suelen tener  $T_{1/2}$  relativamente largos. Este tipo de impurezas pueden tener diversas consecuencias, tales como competir en las reacciones de síntesis, marcaje con radionucleidos no deseados, lo que llevaría a un incremento de exposición a la radiación y a la posibilidad de producir efectos radiotóxicos en los pacientes, además de interferir posteriormente en el proceso de adquisición de imágenes.

La determinación de impurezas radionucleídicas suele ser analizada principalmente por espectrometría gamma, usando para ello un detector con un analizador multicanal (Saha, 2000). Esta técnica se puede utilizar tanto para análisis cualitativo, así como para la estimación cuantitativa. Sin embargo, en el caso de generadores de radionucleidos en los que tanto el radionucleido padre como el hijo sean emisores  $\beta^-$ , por ejemplo el generador  $^{90}\text{Sr}/^{90}\text{Y}$ , las posibles impurezas radionucleídicas no pueden ser cuantificadas por este método siendo necesario recurrir a espectrometría beta usando para ello un contador de centelleo líquido (Pandey y cols., 2008; Bonardi y cols., 2009; Skraba y cols., 1978).

### 1.6.3.5.3 Pureza radioquímica de la elución

La pureza radioquímica (PRQ) se define como la fracción de actividad del radionucleido hijo eluido en la forma química deseada y expresada en porcentaje (Saha, 2000). Las impurezas radioquímicas pueden estar presentes en el radionucleido hijo durante su obtención por elución o incluso en su posterior almacenamiento debido a varios factores, tales como la acción del solvente y el efecto de la radiólisis, el cambio en la temperatura o el pH, la presencia de agentes oxidantes o reductores. Las impurezas radioquímicas presentes pueden influir en las reacciones de marcaje de ligandos y biomoléculas incluso en su posterior biodistribución (Saha, 2000). La presencia de impurezas radioquímicas, procedentes de un generador de radionucleidos, pueden ser detectadas y determinadas por diversos métodos analíticos, siendo los más utilizados la cromatografía en papel, cromatografía en capa fina, electroforesis en papel, cromatografía líquida de alta resolución, filtración en gel, cromatografía en gel, cromatografía de intercambio iónico, extracción con solvente, dilución inversa y precipitación (Saha, 2000).

### 1.6.3.5.4 Pureza química

La pureza química (PQ) indica las posibles especies formadas no deseadas, ya sean orgánicas o inorgánicas, presentes en la elución obtenida del generador. La presencia de estas impurezas químicas puede afectar a los rendimientos de marcaje.

En el caso de columnas cromatográficas y generadores basados en extracción con solventes, la degradación radiolítica o química de la matriz de la columna o del propio solvente pueden dar lugar a ese tipo de impurezas. La presencia de estas impurezas químicas se puede evitar mediante el uso de reactivos químicos con alto grado de pureza y el empleo de una metodología de trabajo sistemática y metódica. El nivel de estas impurezas químicas pueden ser detectadas y cuantificadas por diversas técnicas analíticas como colorimetría, espectrofotometría y espectroscopia de emisión con plasma de acoplamiento inductivo (ICP-AES) (Saha, 2000).

Si es necesario, las impurezas químicas presentes en el eluido del generador se pueden eliminar o minimizar mediante la aplicación de técnicas de separación simples, tales como, precipitación, extracción con solvente, intercambio iónico y destilación (Saha, 2000).

#### **1.6.3.5.5 Rendimiento de marcaje**

El rendimiento de marcaje (RM), rendimiento de reacción, o rendimiento de síntesis puede ser definido como el porcentaje de radionucleido incorporado en la molécula de interés expresado en porcentaje (Saha, 2000). La idoneidad de un generador de radionucleidos para aplicaciones médicas se puede demostrar por su rendimiento en el marcaje de moléculas con el radionucleido hijo obtenido, este parámetro también puede considerarse como una prueba indirecta de la pureza química del radionucleido.

#### **1.6.3.5.6 Las pruebas biológicas**

Pruebas de control de calidad biológica se llevan a cabo para determinar la esterilidad y pirogenicidad de un generador de radionucleidos antes de la preparación de radiofármacos para uso clínico. La esterilidad indica la ausencia de cualquier tipo de bacterias viables o microorganismo en el eluido. Es esencial disponer del radionucleido hijo obtenido del generador en forma estéril ya que el objetivo es poder usarlo con el fin de preparar los radiofármacos en clínica, ya que la administración de un radiofármaco no estéril puede causar una amplia variedad de infecciones que conducen a varios problemas fisiológicos llegando en casos extremos a la posible muerte del paciente (Saha, 2000). Los procedimientos más utilizados para la esterilización de los radionucleidos obtenidos del generador son por medio de vapor o esterilización a alta temperatura y la esterilización por filtración a través de microfiltros de membrana desechables de 0,22  $\mu\text{m}$ , disponibles comercialmente (Saha, 2000).

Los pirógenos son polisacáridos o proteínas producidas por el metabolismo de microorganismos y si están presentes en el radiofármaco final pueden causar una amplia variedad de problemas fisiológicos, como por ejemplo, fiebre, escalofríos, malestar, leucopenia, sofocos, sudoración, dolor de cabeza y dolor en las articulaciones (Saha, 2000). Como cualquier otro producto cuya vía de administración sea intravenosa es obligatorio que el contenido en pirógenos esté por debajo de los límites establecidos. Para evitar esto es necesario usar reactivos y productos químicos de alta calidad y teniendo especial cuidado en la preparación y el almacenamiento del generador.

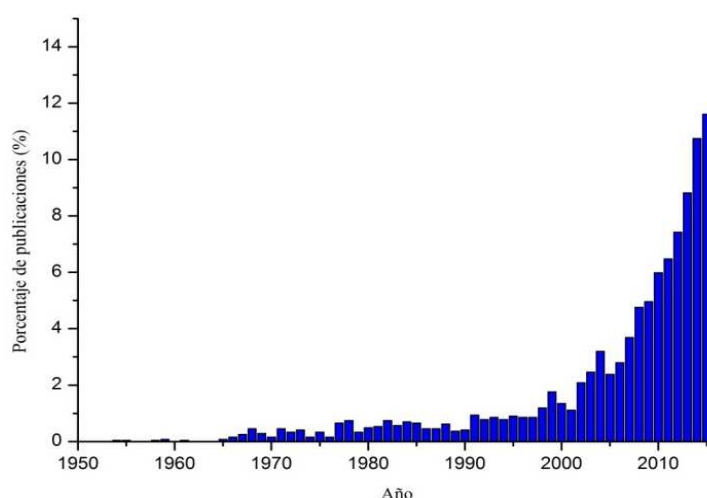
Hay descritos numerosos métodos para analizar la esterilidad y pirogenicidad radioquímica (Saha, 2000). Sin embargo, ya que todos estos métodos llevan mucho tiempo, la esterilidad y las pruebas de pirogenicidad para el radionucleido obtenido del generador que en ocasiones tienen un  $T_{1/2}$  muy corto, se suelen realizar a posteriori. Sin embargo, con el fin de asegurar la esterilidad y pirogenicidad, varias eluciones tienen que ser analizadas demostrando que cumpla con los requisitos de calidad antes de su uso.

#### **1.6.3.5.7 Periodo de validez de un generador de radionucleidos**

La vida útil de un generador de radionucleidos es el periodo para el que el generador se puede utilizar en las aplicaciones clínicas requeridas de forma segura. La vida útil de un generador está influenciada por el periodo de semidesintegración del radionucleido padre, así como por su estabilidad y reproducibilidad en el rendimiento de elución, la pureza radionucleídica y la pureza química del radionucleido eluido. Los generadores con radionucleidos con largos  $T_{1/2}$  se espera que tengan una mayor vida útil, sin embargo, está influenciada por el procedimiento adoptado para la separación selectiva de los radionucleidos padre e hijo. Este parámetro influye de una manera importante en el precio final de un generador de radionucleidos.

## 1.7 Propiedades del $^{68}\text{Ga}$

Los radiofármacos basados en  $^{68}\text{Ga}$  tienen un gran potencial tanto experimental, como clínico en imagen mediante PET. Tal como se aprecia en la Figura 19, las publicaciones científicas relacionadas con  $^{68}\text{Ga}$  han experimentado un crecimiento exponencial en los últimos años, esto es debido principalmente a que el  $^{68}\text{Ga}$  posee una serie de características idóneas para su aplicación en imagen PET, las cuales se enumeran a continuación.

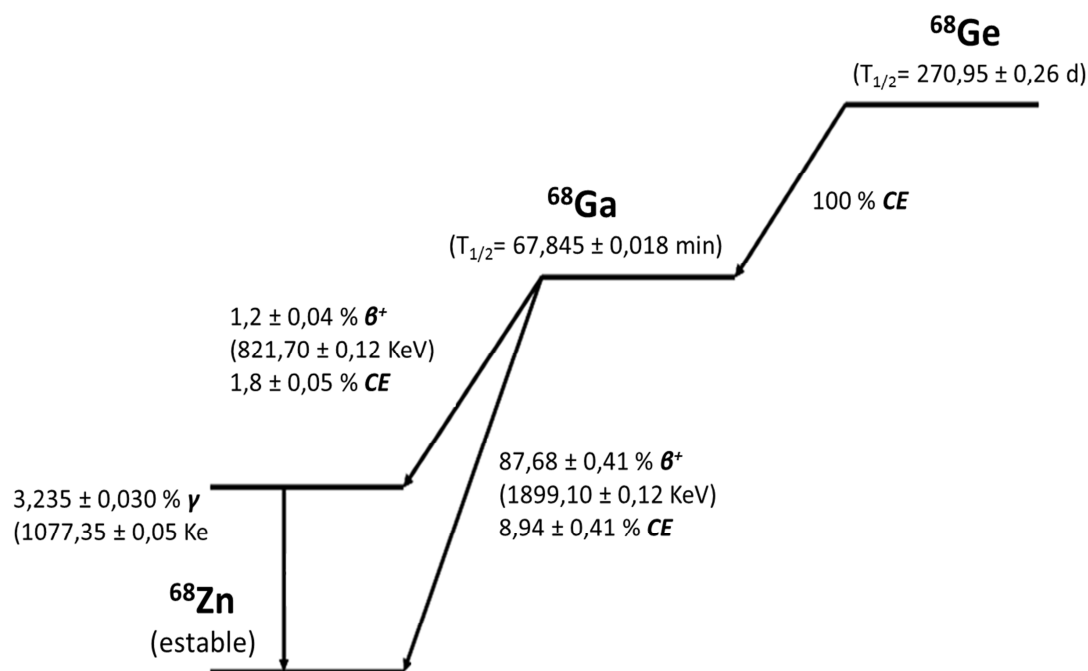


**Figura 19.** Porcentaje publicaciones relacionadas con  $^{68}\text{Ga}$  (1950-2015), búsqueda en ScienceDirect.

### 1.7.1 Propiedades nucleares

El  $^{68}\text{Ga}$  alcanza su estabilidad mediante la emisión de un positrón con una probabilidad de emisión del  $88,88 \pm 0,41\%$  y mediante captura de electrónica con una probabilidad del  $11,11 \pm 0,4\%$  hasta convertirse en  $^{68}\text{Zn}$ , el cual es un nucleido estable (Figura 20) (DDEP, 2015). Además, tiene un  $T_{1/2}$  de  $67,845 \pm 0,018$  min, valor recientemente modificado en colaboración con el Laboratorio de Metrología de Radiaciones Ionizantes (CIEMAT). El nuevo valor de esta constante se estimó por dos métodos diferentes: mediante cámara de ionización y espectrometría gamma con detectores de Ge, utilizando para las medidas  $^{68}\text{Ga}$  procedente de un generador comercial de  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  (Eckert & Ziegler) (García-Toraño y cols., 2013; García-Toraño y cols., 2014).

Este  $T_{1/2}$  es compatible con la farmacocinética de numerosas moléculas de bajo peso molecular como pueden ser fragmentos de anticuerpos, péptidos, aptómeros y oligonucleótidos de interés en el diagnóstico, la planificación de la radioterapéutica, y el seguimiento de la respuesta a la quimio/radioterapia (Fani y cols., 2008).



**Figura 20.** Esquema simplificado de la desintegración radiactiva del  $^{68}\text{Ge}$  y del  $^{68}\text{Ga}$ , basado de DDEP, (2015).

Una de las posibles desventajas de usar  $^{68}\text{Ga}$  en PET es la denominada pérdida de resolución intrínseca (Cañadas y cols., 2010). Este fenómeno se debe a que la reacción de aniquilación del positrón ocurre a cierta distancia de donde se produjo el acto de desintegración positrónica, siendo dependiente de la energía de los positrones, por lo que las imágenes pierden resolución (Pagani y cols., 1997).

No obstante, actualmente existen softwares en desarrollo para solventar este fenómeno. En la Tabla 8 (Pagani y cols., 1997) se muestran diferentes valores de pérdida de resolución intrínseca para los radionucleidos más utilizados en PET.

Radionucleido	E $\beta$ +max (MeV)	Pérdida resolución intrínseca (mm)
<b>Radionucleidos producidos en generador</b>		
<sup>52m</sup> Mn	2,63	3,5
<sup>62</sup> Cu	2,93	4,0
<sup>68</sup> Ga	1,90	2,4
<sup>82</sup> Rb	3,35	4,7
<sup>110</sup> In	2,25	3,0
<sup>118</sup> Sb	2,70	3,6
<sup>122</sup> I	3,12	4,3
<b>Radionucleidos producidos en ciclotrón</b>		
<sup>18</sup> F	0,635	0,7
<sup>34m</sup> Cl	2,47	2,6
	1,35	
<sup>38</sup> K	2,60	3,5
<sup>51</sup> Mn	2,21	2,9
<sup>52</sup> Mn	0,575	0,63
<sup>52</sup> Fe	0,804	0,92
<sup>55</sup> Co	1,5	1,6
	1,04	
<sup>61</sup> Cu	1,22	1,5
<sup>64</sup> Cu	0,657	0,73
<sup>72</sup> As	3,32	3,6
	2,49	
<sup>75</sup> Br	1,74	2,2
<sup>76</sup> Br	3,98	5,3
	3,44	
<sup>82m</sup> Rb	0,8	0,91
<sup>83</sup> Sr	1,23	1,4
	0.803	
	2,34	
	2,02	
<sup>86</sup> Y	1,60	1,8
	1,25	
	1,04	
	1,04	

Radionucleido	E $\beta$ +max (MeV)	Pérdida resolución intrínseca (mm)
<b>Radionucleidos producidos en ciclotrón</b>		
<sup>89</sup> Zr	0,897	1
<sup>94m</sup> Tc	2,47	3,3
	4,60	
	4,03	
<sup>120</sup> I	2,49	5,4
	1,54	
	2,13	
<sup>124</sup> I	1,53	2,3
	0,808	

**Tabla 8.** Pérdida de resolución intrínseca en PET en función de la energía del positrón emitido de los radionucleidos más utilizados. Tabla adaptada de Pagani y cols., (1997).

El <sup>68</sup>Ga es el producto de la desintegración radiactiva de <sup>68</sup>Ge (Figura 20), radionucleido padre, el cual tiene un  $T_{1/2}$  de  $270,95 \pm 0,26$  días (DDEP, 2015), lo que permite la producción de <sup>68</sup>Ga durante un periodo de tiempo relativamente largo. Como el <sup>68</sup>Ga puede ser producido a través de un sistema generador de radionucleidos, siendo una gran ventaja frente los radionucleidos PET más habitualmente utilizados como son <sup>18</sup>F, <sup>11</sup>C, <sup>13</sup>N, <sup>15</sup>O, <sup>64</sup>Cu y <sup>124</sup>I, los cuales se producen mediante ciclotrón.

### 1.7.2 Propiedades químicas

En solución acuosa el único estado de oxidación estable para este metal es +3, donde el  $\text{Ga}^{3+}$  es solamente estable en condiciones ácidas. En el intervalo de pH de 3-7 se puede hidrolizar, formando complejos hidroxilo insolubles como  $\text{Ga}(\text{OH})_3$  si su concentración supera el rango de nanomolar, mientras que a pH fisiológico su solubilidad es alta debido a la formación casi en exclusiva de iones  $(\text{Ga}(\text{OH})_4)^-$  (Moerlein y Welch, 1981; Green y Welch, 1989; Bernstein y cols., 1998). Para evitar la formación de  $\text{Ga}(\text{OH})_3$ ,



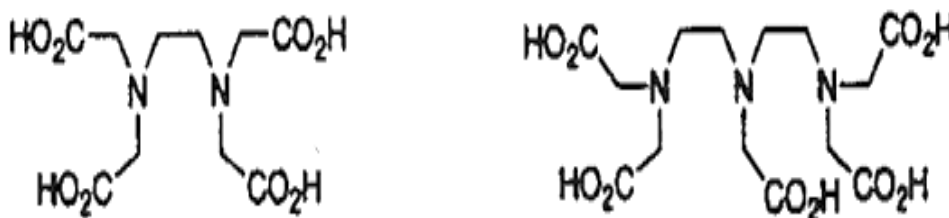
durante las reacciones de marcaje de moléculas con  $^{68}\text{Ga}$  se utilizan tampones con propiedades acomplejantes débiles de metales como es el caso del acetato sódico o HEPES (4-(2-hidroxietil)piperazina-1-etanosulfónico), permitiendo de esta forma poder realizar síntesis a pH a 3,5-5 (Buchmann y cols., 2007; Maecke y cols., 2005; Meyer y cols., 2004; Velikyan y cols., 2004; Heppeler y cols., 1999; Koukouraki y cols., 2006). Aunque los rendimientos radioquímicos de síntesis con  $^{68}\text{Ga}$  mediante el uso de tampón HEPES han sido muy altos (Bauwens y cols., 2010; Velikyan y cols., 2004) su uso en clínica aún no ha sido autorizado (Velikyan y cols., 2008; Velikyan y cols., 2010).

El catión  $\text{Ga}^{3+}$  tiene una química de coordinación muy similar al ion  $\text{Fe}^{3+}$ , ambos poseen una carga +3 con un radio iónico de 0,62 Å para el  $\text{Ga}^{3+}$  y de 0,65 Å para el  $\text{Fe}^{3+}$  (Base y cols., 1986) y siendo seis el principal número de coordinación de ambos. El ion  $\text{Ga}^{3+}$  se clasifica como un ácido de Lewis fuerte, formando complejos termodinámicamente estables con ligandos que actúan como bases de Lewis fuertes, es decir, forma complejos estables con ligandos que contienen átomos donadores de electrones como oxígeno, nitrógeno y azufre (Fani y cols., 2008). Este fenómeno hace que el  $^{68}\text{Ga}$  sea adecuado para el marcaje directo de diversas macromoléculas, aunque una de las estrategias más utilizadas para marcar moléculas con  $^{68}\text{Ga}$  es mediante agentes quelantes bifuncionales (AQB) los cuales han demostrado alta afinidad frente a galio, por lo tanto, la reacciones de marcaje con  $^{68}\text{Ga}$  suelen realizarse mediante AQB previamente conjugados a moléculas biológicamente activas.

Los AQB forman complejos estables con cationes metálicos y permiten unirse covalentemente a las moléculas de interés. El mismo AQB puede acomplejar diferentes cationes, haciendo posible usar la misma molécula activa para diagnóstico y para terapia, empleando diferentes radionucleidos, fenómeno conocido como “*theranostics*” (Roesch y Baum, 2011). Así, el  $^{68}\text{Ga}$  tiene un gran potencial diagnóstico, planificación radioterápica y seguimiento a la respuesta en quimio-radioterapia, ya que la misma molécula marcada con radionucleidos  $\beta^-$  ( $^{90}\text{Y}$  o  $^{177}\text{Lu}$ ) puede emplearse para terapia. La mayoría de los agentes quelantes diseñados para  $\text{Ga}^{3+}$  son hexadentados, aunque existen quelantes que son estables *in vivo* y tienen números de coordinación de cuatro o cinco. Los AQB conjugados a una molécula deben ser capaz de quelar el  $\text{Ga}^{3+}$  de forma rápida

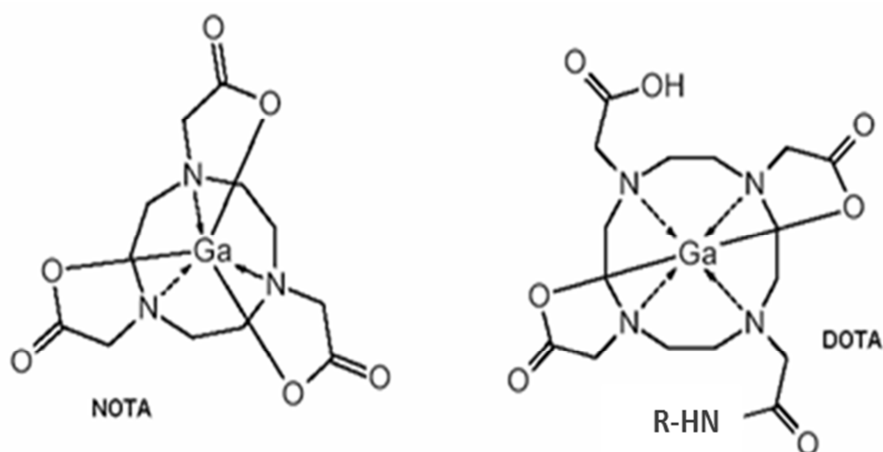
y eficiente, además, la unión del  $\text{Ga}^{3+}$  con el AQB debe ser cinéticamente estable en un intervalo de pH de 4-8 y frente a la presencia de otros cationes presentes en suero como  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  o  $\text{Fe}^{3+}$  y además deben ser solubles en los solventes utilizados.

Diversos agentes quelantes bifuncionales han sido estudiados como es el caso de los agentes lineales de cadena abierta como el EDTA (Ácido etilendiaminotetraacético) o DTPA (ácido dietilentriaminopentaacético) (Figura 21) y sus derivados, los cuales son ampliamente conocidos en radiofarmacia empleándose principalmente para el marcaje con  $^{111}\text{In}$  o  $^{90}\text{Y}$ .



**Figura 21.** Fórmula estructural de los agentes quelantes bifuncionales lineales más utilizados en la actualidad: EDTA (izquierda) y DTPA (derecha).

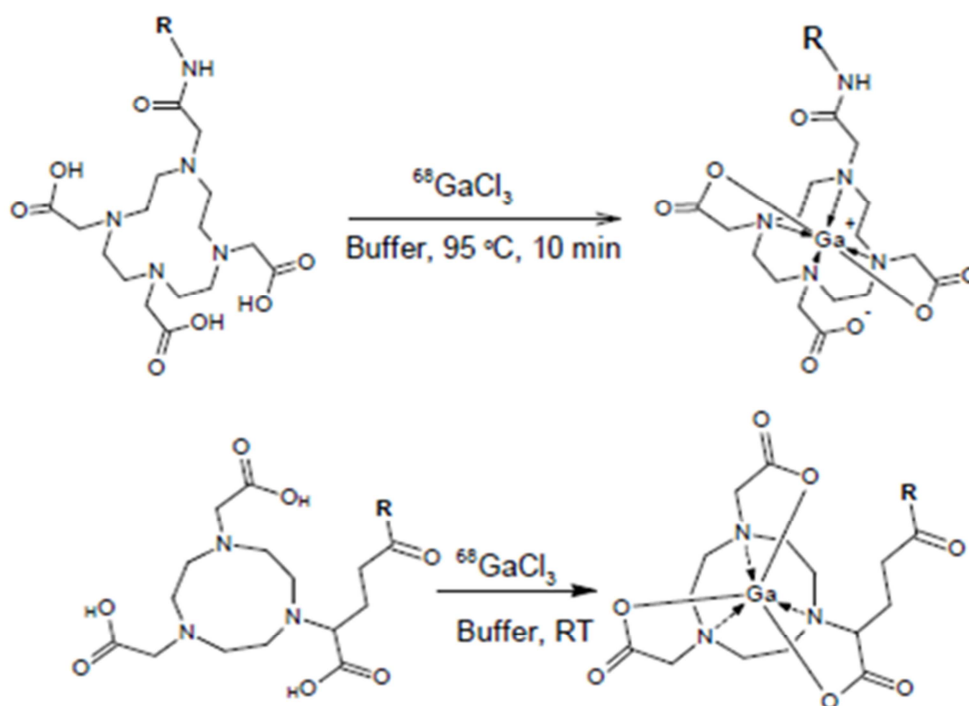
La mayoría de estos complejos, aunque tienen elevadas cinéticas de marcaje, muestran baja estabilidad *in vivo* e *in vitro*, con la posibilidad de eliminación o transquelación del radionucleido. Por ello, que en la actualidad, prácticamente han dejado de utilizarse y han sido reemplazados por compuestos macrocíclicos basados en carboxilato como DOTA (ácido 1,4,7,10-tetraazaciclododecano-1,4,7,10-tetraacético) y NOTA (ácido 1,4,7 triazaciclononano-1,4,7-triacético) (Boschi y cols., 2013) (Figura 22); también han sido estudiados quelantes macrocíclicos basados en fosfinatos como TRAP (ácido triazaciclononano fosfínico) y sus derivados (Šimeček y cols., 2012; Notni y cols., 2012).



**Figura 22.** Fórmula estructural de los agentes quelantes bifuncionales macrocíclicos más utilizados para  $^{68}\text{Ga}$  en la actualidad: Ga-NOTA (izquierda) y Ga-DOTA (derecha).

El principal requisito para poder usar  $\text{Ga}^{3+}$  en el marcaje de diferentes moléculas con fines diagnósticos es la estabilidad termodinámica del compuesto final para poder evitar fenómenos de transquelación principalmente debidos a la proteína plasmática transferrina, ya que ésta es una proteína transportadora de  $\text{Fe}^{3+}$  y tiene alta afinidad de unión por el  $\text{Ga}^{3+}$ , con una constante de afinidad de  $\log K = 20,3$  (Harris y Pecoraro., 1983). Por lo tanto, los complejos marcados deben ser más estables que el complejo transferrina- $\text{Ga}^{3+}$  con el objetivo que no se produzca intercambio con esta proteína, que resultaría en una acumulación de  $^{68}\text{Ga}$  en hígado y pulmón de los pacientes.

Aunque existe un continuo desarrollo para la mejora de los AQB y a pesar que otros muestran mayor estabilidad y mejor cinética de formación con  $\text{Ga}^{3+}$ , hoy en día el DOTA es el más utilizado (Figura 22), pudiendo conjugarse fácilmente por las cadenas laterales permitiendo posteriormente ser unido al N-terminal de diferentes péptidos, proteínas y anticuerpos de bajo peso molecular que tengan un interés en el estudio mediante PET. Una de las principales ventajas del DOTA frente a otros AQB es que este muestra gran afinidad por radionucleidos  $\beta^-$  como  $^{90}\text{Y}$  o  $^{177}\text{Lu}$  utilizados para terapia, permitiendo de esta forma realizar estudios de theranostics.



**Figura 23.** Esquema de reacciones de  $^{68}\text{Ga}$  con DOTA (arriba) a  $90^\circ$  y NOTA (abajo) a temp. ambiente.

La reacción de síntesis de  $^{68}\text{Ga}$  con DOTA tiene una cinética de formación lenta, por lo tanto, se ve favorecida tras calentar entre  $80$  y  $100\text{ }^\circ\text{C}$  (Figura 23). El proceso de calentamiento durante la reacción de marcaje puede realizarse de forma convencional con una placa calefactora o mediante un microondas. El calentamiento mediante microondas disminuye el tiempo de la reacción química, reduce reacciones secundarias, aumenta los rendimientos y proporciona mayor reproducibilidad (Elander y cols., 2000; Velikyan y cols., 2004). Las aplicaciones más importantes con  $^{68}\text{Ga}$  en radiofarmacia se basan en el marcaje de moléculas de naturaleza peptídica de bajo peso molecular, destacando los análogos de somatostatina (Romero y Morcillo, 2012) debido a que han demostrado alta afinidad frente a los receptores de somatostatina que se sobreexpresan en tumores de origen neuroendocrino (TNE). Los análogos de somatostatina marcados con  $^{68}\text{Ga}$  más empleados en la actualidad son:  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-Tyr<sup>3</sup>-octreótido ( $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TOC),  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-Nal<sup>3</sup>-octreótido ( $^{68}\text{Ga}$ -DOTANOC) y  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-Tyr<sup>3</sup>-octreotato ( $^{68}\text{Ga}$ -DOTATATE) (Antunes y cols., 2007; Fani y cols., 2008; Banerjee y Pomper, 2013).

## 1.8 Referencias bibliográficas

- Adelstein, S.J., Manning, F.J. 1995. Isotopes for Medicine and the Life Sciences. National Academies Press, Washington DC.
- Antunes, P., Ginja, M., Zhang, H., Waser, B., Baum, R.P., Reubi, J.C., Maecke H. 2007. Are radiogallium-labelled DOTA-conjugated somatostatin analogues superior to those labelled with other radiometals?. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging.* 34(7): 982-993.
- Baker, P.S. 1965. Reactor produced radionuclides. Radioactive pharmaceuticals. U.S. A.E.C. Symposium Series, Oak-Ridge, Tennessee.
- Banerjee, S.R., and Pomper, M.G. 2013. Clinical applications of Gallium-68. *Appl. Radiat. Iso.* 76: 2-13.
- Bauwens, M., Chekol, R., Vanbilloen, H., Bormans, G., Verbruggen, A. 2010. Optimal buffer choice of the radiosynthesis of (<sup>68</sup>Ga)-Dotatoc for clinical application. *Nucl. Med. Commun.* 31(8): 753-758.
- Bernstein, L.R. 1998. Mechanisms of therapeutic activity for gallium. *Pharmacol. Rev.* 50: 665-682.
- Beyer, G.J., Miederer, M., Vranjes-Duric, S., Comor, J.J., Künzi, G., Hartley, O., Senekowitsch-Schmidtke, R., Soloviev, D., Buchegger, F. 2004. Targeted alpha therapy in vivo: direct evidence for single cancer cell kill using <sup>149</sup>Tb-rituximab. *Eur. J. Nuc. Med. Mol. Imaging.* 31: 547- 554.
- Boschi, S., Lodi, F., Malizia, C., Cicoria, G., Marengo, M. 2013. Automation synthesis modules review. *Appl. Radiat. Isot.* 76: 38-45.
- Bonardi, M.L., Martano L., Groppi, F., Chinol, M. 2009. Rapid determination of <sup>90</sup>Sr impurities in freshly “generator eluted” <sup>90</sup>Y for radiopharmaceutical preparation. *Appl. Radiat. Isot.* 67: 1874-1877.
- Boyd, R.E. 1982a. Technetium-99m generators-The available options. *Int. J.*

- Appl. Radiat. Isot. 33: 801-809.
- Boyd, RE. 1982b. Molybdenum-99: Technetium-99m generator. Radiochim. Acta. 30: 123-145.
  - Boyd, RE. 1987. Technetium generators: Status and prospects. Radiochim. Acta. 41: 59-63.
  - Boyd, RE. 1997. The gel generator: a viable alternative source of  $^{99m}\text{Tc}$  for nuclear medicine. Appl. Radiat. Isot. 48: 1027-1033.
  - Buchmann, I., Henze, M., Engelbrecht, S., Eisenhut, M., Runz, A., Schäfer M., Schilling, T., Haufe, S., Herrmann, T., Haberkorn, U. 2007. Comparison of  $^{68}\text{Ga}$ -DOTATOC PET and  $^{111}\text{In}$ -DTPAOC (Octreoscan) SPECT in patients with neuroendocrine tumours. Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging. 34: 1617-1626.
  - Cañadas, M., Romero, E., Vaquero, JJ., Vicente, E., Udías, JM., Romero, L. 2010. Performance Evaluation for  $^{68}\text{Ga}$  and  $^{18}\text{F}$  of the ARGUS Small-Animal PET Scanner based on the NEMA NU-4 Standard. Nuclear Science Symposium and Medical Imaging. 30 octubre - 6 noviembre. Knoxville (EEUU).
  - Carreras-Delgado, JL. 1995. La tomografía por emisión de positrones en oncología. Instituto de España, Real Academia Nacional de Medicina. Madrid.
  - Chakravarty, R. 2011. Development of radionuclide generators for biomedical applications. Phd Thesis. Bhabha Atomic Research Centre. Mumbai, India.
  - CIEMAT. 2014. Curso de Técnico Experto en Protección Radiológica. Ciemat. Madrid.
  - Clanton, J. 2002. FDG production and distribution. In: Delbeke D, Martin WH, Patton JA, Sandler MP, editors. Practical FDG Imaging: A Teaching File. Springer-Verlag. 1ª ed. New York.
  - Coenen, HH., Elsinga, PH., Iwata, R., Kilbourn, MR., Pillai, MRA., Rajan, MGR., Wagner, Jr, HN., Zaknun, JJ. 2010. Fluorine-18 radiopharmaceuticals



- beyond [ $^{18}\text{F}$ ]FDG for use in oncology and neurosciences. Nucl. Med. Biol. 37: 727-740.
- Colletti, PM. 2013. New treatment option:  $^{223}\text{Ra}$  chloride, the first approved unsealed  $\alpha$ -emitting radiopharmaceutical. Clin. Nucl. Med. 38(9): 724-725.
  - Dadachov, MS., So, LV., Lambrecht, RM., Dadachova, E. 2002. Development of titanium tungstate-based  $^{188}\text{W}/^{188}\text{Re}$  gel generator using tungsten of natural isotope abundance. Appl. Radiat. Isot. 57: 641-646.
  - DDEP (Decay Data Evaluation Project Data), 2015. Available from [http://www.nucleide.org/DDEP\\_WG/DDEPdata.htm](http://www.nucleide.org/DDEP_WG/DDEPdata.htm).
  - Elander, N., Jones, J. R., Lu, S. Y., Stone-Elander, S. 2000 Microwave-enhanced radiochemistry. Chem. Soc. Rev. 29: 239-249.
  - Evans, JV., Moore, PW., Shying, ME., Sodeau, JM. 1987. Zirconium molybdate gel as a generator for technetium-99m-I. The concept and its evaluation. Appl. Radiat. Isot. 38: 19-23.
  - André, JP., Maecke, HR. 2008.  $^{68}\text{Ga}$ -PET: a powerful generator-based alternative to cyclotron-based PET radiopharmaceuticals. Contrast. Media. Mol. Imaging. 3(2): 67-77.
  - Friedlander, G., Kennedy, JW., Macias, ES., Miller, JM. 1981. Nuclear Reaction. In: Nuclear and Radiochemistry. John Wiley and Sons. 3<sup>a</sup> ed. New York.
  - García-Toraño, E., Peyres, V., Romero, E., Roteta, M. 2013. Measurement of the Half-life of Ga-68. 19th International Conference on Radionuclide Metrology and its Applications. 17-21 junio. Amberes (Bélgica).
  - García-Toraño, E., Peyrés, V., Romero, E., Roteta, M. 2014. Measurement of the half-life of  $^{68}\text{Ga}$ . Appl. Radiat. Isot. 87: 122-125.

- Green, MA., Welch, MJ. 1989. Gallium radiopharmaceutical chemistry. *Int. J. Rad. Appl. Instrum. B.* 16: 435-448.
- Harris, WR., Pecoraro V. 1983. Thermodynamic binding constants for gallium transferrin. *Biochemistry.* 22: 292-299.
- Heppeler, A., Froidevaux, S., Mäcke, HR., Jermann, E., Béhé, M., Powell, P., Hennig, M. 1999. Radiometal-labelled macrocyclic chelator-derivatised somatostatin analogue with superb tumour-targeting properties and potential for receptor-mediated internal radiotherapy. *Chem. Eur. J.* 5: 1974-1981.
- Hofer, KG., Hughes, WL. 1971. Radiotoxicity of intranuclear tritium, iodine-125, and iodine-131. *Radiat. Res.* 47: 94-109.
- Hoffman, EJ., Huang, SC., Phelps, ME., Kuhl, DE. 1981a. Quantification in positron emission tomography: Effect of accidental coincidences. *J. Comput. Assist. Tomogr.* 5: 391-400.
- Hoffman, EJ., Phelps, ME., Huang, SC. 1981b. A new tomograph for quantitative positron emission tomography of the brain. *IEEE. Trans. Nucl. Sci.* 28: 9911-9913.
- IAEA, 2010. Production of Long Lives Parent Radionuclides for Generators:  $^{68}\text{Ge}$ ,  $^{82}\text{Sr}$ ,  $^{90}\text{Sr}$  and  $^{188}\text{W}$ . *Radioisotopes and radiopharmaceuticals Series, 2.* International Atomic Energy Agency. STI/PUB/1436.
- Knapp, Jr, FF., Mirzadeh, S. 1994. The continuing important role of radionuclide generator systems for nuclear medicine. *Eur. J. Nucl. Med.* 21: 1151-1165.
- Knoll, GF. 2000. *Radiation Detection and Measurements.* 3<sup>a</sup> ed. New York.
- Koukouraki, S., Strauss, LG., Georgoulas, V., Eisenhut, M., Haberkorn, U., Dimitrakopoulou-Strauss, A. 2006. Comparison of the pharmacokinetics of  $^{68}\text{Ga}$ -DOTATOC and  $^{18}\text{F}$ -FDG in patients with metastatic neuroendocrine



- tumours scheduled for  $^{90}\text{Y}$ -DOTATOC therapy. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging.* 33: 1115-1122.
- Maecke, HR., Hofmann, M., Haberkorn, U. 2005.  $^{68}\text{Ga}$ -labeled peptides in tumour imaging. *J. Nucl. Med.* 46(1): 172S-178S.
  - Meyer, GJ., Mäcke, HR., Schumacher, J., Knapp, HW., Hofmann, M. 2004.  $^{68}\text{Ga}$  Labelled DOTA derivatised peptide ligands. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging.* 31: 1097-1104.
  - Mirzadeh, S., Knapp, Jr, FF. 1996. Biomedical radioisotope generator systems. *J. Radioanal. Nucl. Chem.* 203: 471-488.
  - Moerlein, SM., Welch, MJ. 1981. The chemistry of gallium and indium as related to radiopharmaceutical production. *Int. J. Nucl. Med. Biol.* 8: 277-287.
  - Molinsky, VJ. 1982. A review of  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  generator technology. *Int. J. Appl. Radiat. Isot.* 33: 811-819.
  - Monroy-Guzman, F., Diaz-Archundia, LV., Ramirez, AC. 2003. Effect of the Zr: Mo ratio on  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  generator performance based on zirconium molybdate gels. *Appl. Radiat. Isot.* 59: 27-34.
  - Monroy-Guzman, F., Romero, OC., Velazquez, HD. 2007. Titanium molybdate gels as matrix of  $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$  generators. *J. Nucl. Radiochem.* 8: 11-19.
  - Moore, PW., Shying, ME., Sodeau, JM., Evans, JV., Maddalena, DJ., Farrington, KH. 1987. Zirconium molybdate gel as a generator for technetium-99m - II. High activity generators. *Appl. Radiat. Isot.* 38: 25-29.
  - Morrison, GH., Freiser, H. 1962. Solvent extraction in analytical chemistry. John Wiley and Sons, Inc. New York.
  - Mushtaq, A. 2004. Inorganic ion-exchangers: Their role in chromatographic radionuclide generators for the decade 1993-2002. *J. Radioanal. Nucl. Chem.* 262: 797-810.

- Mushtaq, A. 2010. Reactors are indispensable for radioisotope production. *Ann. Nucl. Med.* 24: 759-760.
- Nabi, HA., Zubeldia, JM. 2002. Clinical applications of  $^{18}\text{F}$ -FDG in oncology. *J. Nucl. Med. Technol.* 30: 3-9.
- Nayak, T., Norenberg, J., Anderson, T., Atcher, R. 2005. A comparison of high-versus low-linear energy transfer somatostatin receptor targeted radionuclide therapy in vitro. *Cancer Biotherapy Radiopharmaceuticals.* 20: 52-57.
- Notni, J., Pohle, K., Wester, HJ. 2012. Comparative gallium-68 labeling of TRAP-, NOTA-, and DOTA-peptides: practical consequences for the future of gallium-68-PET. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging.* 2(1): 28.
- Pagani, M., Stone-Elander, S., Larsson, SA. 1997. Alternative positron emission tomography with non-conventional positron emitters: effects on their physical properties on image quality and potential clinical applications. *Eur. Jour. Nuc. Med.* (24) 10.
- Pandey, U., Dharmi, PS., Jagesia, P., Venkatesh, M., Pillai, MRA. 2008. A novel extraction paper chromatography (EPC) technique for the radionuclidic purity evaluation of  $^{90}\text{Y}$  for clinical use. *Anal. Chem.* 80: 801-807.
- Qaim, SM. 2001a. Nuclear data relevant to the production and application of diagnostic radionuclides. *Radiochim. Acta.* 89: 223-231.
- Qaim, SM. Therapeutic radionuclides and nuclear data. 2001b. *Radiochim. Acta.* 89: 297-302.
- Rahmim, A., Cheng, JC., Blinder, S., Camborde, ML., Sossi, V. 2005. Statistical dynamic image reconstruction in state-of-the-art high resolution PET. *Phys. Med. Biol.* 50: 4887-4912.
- Rahmim, A. 2006. PET vs. SPECT: in the Context of Ongoing Developments (Review Article). *Iran. J. Nucl. Med.* 14(25): 1-20.
- Ramamoorthy, N. 2007. Discovery of artificial radioactivity by I. Curie and F.



- Joliot. In: Tomar BS, editor. Nobel Prize winning discoveries in nuclear sciences. IANCAS Bulletin. 5: 59-67.
- Rayudu, GVS. 1990. Production of radionuclides for medicine. Sem. Nucl. Med. 20: 100-110.
  - Roesch, F., Baum, RP. 2011. Generator-based PET radiopharmaceuticals for molecular imaging of tumours: on the way to THERANOSTICS. Dalton Trans. 40(23): 6104.
  - Roesch, F., Riss, PJ. 2010. The renaissance of the  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  radionuclide generator initiates new developments in  $^{68}\text{Ga}$  radiopharmaceutical chemistry. Curr. Top. Med. Chem. 10: 1633-1668.
  - Romero, E., Morcillo, MA. 2012. Nuevos Radiofármacos PET: ¿Dónde estamos?. Aula virtual radiofarmacia. Seminario avances en radiofarmacia. Actividad docente acreditada por la Comisión de Formación Continuada de las profesiones Sanitarias de la Comunidad de Madrid- Sistema Nacional de Salud. 5-9 marzo.
  - Ruiz, JA., 2001. Tomógrafos PET. Rev. Esp. Med. Nuclear. 20(7): 561-574.
  - Saha, GB. 2000. Radiopharmaceuticals and methods of radiolabeling. In: Fundamentals of nuclear pharmacy. Springer-Verlag. 3<sup>o</sup> ed. New York.
  - Saha, GB. 2001. Physics and Radiobiology of Nuclear Medicine. Springer. 2<sup>a</sup> ed. New York.
  - Samuelson, O. 1963. Ion exchange separations in analytical chemistry. John Wiley and Sons Inc. New York.
  - Šimeček, J., Schulz, M., Notni, J., Plutnar, J., Kubíček, V., Havlíčková, J., Hermann, P. 2012. Complexation of metal ions with TRAP (1,4,7-triazacyclononane phosphinic acid) ligands and 1,4,7-triazacyclononane-1,4,7-triacetic acid: phosphinate-containing ligands as unique chelators for trivalent

- gallium. *Inorg. Chem.* 51(1): 577-590.
- Skraba, WJ., Arino, H., Kramer, HH. 1978. A new  $^{90}\text{Sr}/^{90}\text{Y}$  radioisotope generator. *Int. J. Appl. Radiat. Isot.* 29: 91-96.
  - Stein, J. 1973. *Isótopos radiactivos*. Alhambra. 1ª ed. Madrid.
  - Svoboda, K. 1987. Survey of solvent extraction  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -generator technologies. *Radiochim. Acta.* 41: 83-89.
  - Tanaka, E. 1995. Instrumentation for PET and SPECT studies, Proceedings of a Symposium. IAEA-SM-337/38. Vienna.
  - Taskaev, E., Taskaeva, M., Nikolov, P. 1995. Extraction generator for  $[^{99\text{m}}\text{Tc}]$ sodium pertechnetate production. *Appl. Radiat. Isot.* 46: 13-16.
  - Uusijärvi, H., Bernhardt, P., Roesch, F., Maecke, HR., Forssell-Aronsson, E. 2006. Electron- and positron-emitting radiolanthanides for therapy: aspects of dosimetry and production. *J. Nucl. Med.* 47(5): 807-814.
  - Velikyan, I., Beyer, GJ., Langstroem, B. 2004. Microwave-supported preparation of  $^{68}\text{Ga}$  bioconjugates with high specific radioactivity. *Bioconjug. Chem.* 15: 554-560.
  - Velikyan, I., Beyer, GJ., Bergstrom-Pettermann, E., Johansen, P., Bergstrom, M., Langstrom, B. 2008. The importance of high specific radioactivity in the performance of ( $^{68}\text{Ga}$ )-labeled peptide. *Nucl. Med. Biol.* 35: 529-536.
  - Velikyan, I., Sundin, A., Eriksson, B., Lundqvist, H., Sorensen, J., Bergstrom, M., Langstroem, B. 2010. In vivo binding of  $[^{68}\text{Ga}]$ -DOTATOC to somatostatin receptors in neuroendocrine tumours -- impact of peptide mass. *Nucl. Med. Biol.* 37: 265-275.
  - Velikyan, I. 2014. Prospective of  $^{68}\text{Ga}$ -Radiopharmaceutical Development. *Theranostics.* 4(1): 47-80.
  - Volkert, WA., Goeckeler, WF., Ehrhardt, GJ., Ketring, AR. 1991. Therapeutic radionuclides: Production and decay properties considerations. *J. Nucl. Med.* 32:



174-185.

- Wessels, BW., Rogus, RD. 1984. Radionuclide selection and model absorbed dose calculations for radiolabeled tumor associated antibodies. *Med. Phys.* 11: 638-645.
- Zalutsky, MR. 2003. Radionuclide Therapy. In: Vértes, A., Nagy, S., Klencsár, Z. *Handbook of Nuclear Chemistry*. Amsterdam. 4: 315-350.
- Yu, S. 2006. Review of  $^{18}\text{F}$ -FDG Synthesis and Quality Control. *Biomed. Imaging Interv. J.* 2(4): e57.
- Zsinka, L. 1987.  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  sublimation generators. *Radiochim. Acta.* 41: 91-96.





## Capítulo 2: Objetivos

1. Desarrollo de un generador de  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ . Caracterización de óxidos metálicos como fase estacionaria de un generador y estudiar su estabilidad frente a la radiólisis. Desarrollar un generador piloto y evaluarlo en el tiempo mediante ciclos de elución. Realizar un escalado de actividad montando un generador prototipo.
2. Implementación de un sistema manual para purificar y concentrar el  $^{68}\text{Ga}$  obtenido a partir de un generador de  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ , basándose en el uso de una resina de intercambio aniónico.
3. Aplicaciones del  $^{68}\text{Ga}$  en tomografía por emisión de positrones:
  - a) Radiotrazadores óseos. Realizar un estudio *in vivo* comparativo de  $^{68}\text{Ga}$ -EDTMP y  $^{68}\text{Ga}$ -BPAMD frente a  $^{18}\text{F}$ -NaF mediante la cuantificación de imágenes PET en animales de experimentación sanos.
  - b) Evaluar el uso directo del  $^{68}\text{Ga}$  obtenido del generador prototipo desarrollado anteriormente mediante el marcaje de un análogo de la hormona estimulante de melanocitos (DOTA-NAPamida). Evaluar el  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-NAPamida como potencial radioligando PET en el diagnóstico de melanomas utilizando un modelo animal.
  - c) Análogos de somatostatina. Evaluar el proceso manual de purificación y concentración del  $^{68}\text{Ga}$  eluido de un generador mediante la síntesis de análogos de somatostatina (DOTA-TOC, DOTA-NOC, y DOTA-TATE) para la detección mediante PET de diferentes tumores de origen neuroendocrino, feocromocitoma, meningioma y tumor pulmonar de origen neuroendocrino en diferentes modelos animales. Colaborar en la implementación del diagnóstico de este tipo de tumores mediante  $^{68}\text{Ga}$  del primer caso clínico presentado en España.



## Capítulo 3: Generador de $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$

### 3.1 Introducción

Existen generadores de  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  descritos desde hace más de cincuenta años (Gleason, 1960; Greene y Tucker, 1961; Yano y Anger, 1964) pero en la última década ha surgido un gran auge del  $^{68}\text{Ga}$  en medicina nuclear, tanto clínica como experimental. Esto ha sido principalmente debido al aumento de nuevas aplicaciones con este radionucleido, no solo en diagnóstico, sino también para la planificación del posterior tratamiento de numerosas patologías, permitiendo realizar “Theranostics” (Roesch y Baum, 2011). Este término se basa en la capacidad de marcar la misma molécula tanto empleando radionucleidos con fines diagnósticos, como puede ser el caso del  $^{68}\text{Ga}$  u otros emisores  $\beta^+$  y con radionucleidos emisores  $\beta^-$  utilizados para terapia, permitiendo de esta forma realizar y monitorizar un tratamiento. Por lo tanto, debido al potencial del  $^{68}\text{Ga}$ , en la actualidad, se está trabajando en el desarrollo de estos generadores hacia la optimización para su uso clínico desde el punto de vista regulatorio (Roesch, 2013).

La mayoría de este tipo de generadores descritos están basados en la separación selectiva del par de radionucleidos  $^{68}\text{Ge}$  y  $^{68}\text{Ga}$  mediante el uso de una columna cromatográfica. El radionucleido padre es adsorbido en la columna compuesta de un agente que ejerce un alto grado de interacción y por medio de un proceso o ciclo posterior de elución usando un solvente específico como fase móvil, puede obtenerse el radionucleido hijo mientras que el padre permanece en la columna. Dependiendo de la naturaleza de los distintos materiales utilizados para el diseño de la columna estos generadores pueden clasificarse en generadores de naturaleza orgánica o inorgánica.

Los generadores de tipo orgánico se fundamentan en la interacción del  $\text{Ge}^{4+}$  con grupos fenólicos, destacando los basados en pirogalol-formaldehído (Schumacher y Maier-Borst, 1981; Neirinckx y cols., 1982), los basados en un polímero de estireno-divinilbenceno que contiene grupos N-metilglucamina (Nakayama y cols., 2003) y en derivados de sílice (Zhernosekov y cols., 2010).

Los generadores de tipo inorgánico son más numerosos ya que al trabajar con soluciones radiactivas se involucra la energía de las partículas o fotones emitidos, las cuales son en general, superior en varios órdenes de magnitud a la energía de enlace de la mayoría de las moléculas de naturaleza orgánica, pudiendo ocasionar procesos de destrucción. Este proceso es conocido como radiólisis y los compuestos inorgánicos, generalmente, suelen ser más resistentes. Respecto a los generadores de naturaleza inorgánica destacan los basados en  $\text{Al}_2\text{O}_3$  (Greene y Tucker 1961; Egamediev y cols., 2000),  $\text{Al}(\text{OH})_3$  o  $\text{Fe}(\text{OH})_3$  (Kopecky y cols., 1973; Kopecky y Mudrova, 1974),  $\text{SnO}_2$  (Girardi y cols., 1970; Loc'h y cols., 1980; McElvany y cols., 1984; Tang y cols., 1997, Cheng y cols., 2000; Aardaneh y Van der Walt, 2006),  $\text{ZrO}_2$  (Malyshev y Smirnov, 1975),  $\text{ZrP}$  (Jun Young Lee y cols., 2016),  $\text{TiO}_2$  (Neirinckx y Davis, 1980; Razbash, 2003),  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  (Ambe, 1987; Cao y cols., 1998) y  $\text{CeO}_2$  (Bao y Song, 1983; Song y Bao, 1995). Más recientemente han sido estudiados con este propósito óxidos nano-metálicos como t- $\text{ZrO}_2$  (Chakravarty y cols., 2011), un derivado de  $\text{CeO}_2$ -PAN (Chakravarty y cols., 2010) y  $\text{SnO}_2$  mesoporoso (Chakravarty y cols., 2016b). La Figura 1 muestra un resumen de los principales generadores de  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  descritos basados en columnas de óxidos metálicos y compuestos orgánicos (IAEA, 2013).

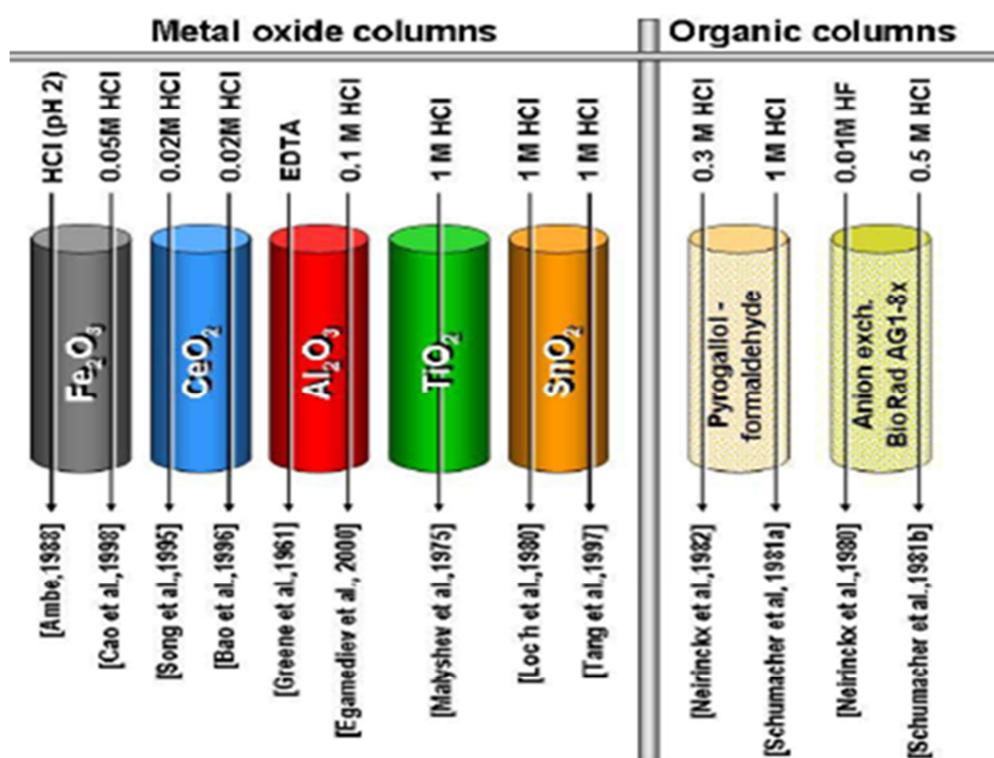


Figura 1. Resumen de los principales generadores descritos de  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  (IAEA, 2013).








Los generadores de  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  más utilizados y disponibles actualmente de forma comercial se describen a continuación; un resumen de las principales características de estos generadores se recoge en la Tabla 1.

El generador basado en  $\text{TiO}_2$  modificado, descrito en 2003, ha sido diseñado por Ciclotrón Ltd (Rusia). Este tipo de generador utiliza como eluyente  $\text{HCl}$  0,1 M y muestran rendimientos de elución del  $^{68}\text{Ga}$  de alrededor del 75% cuando es nuevo, con un contenido de  $^{68}\text{Ge}$  en el eluido del  $5 \times 10^{-3}\%$ . Estos rendimientos pueden verse alterados con el uso, después de aproximadamente 1 año o 200 eluciones descendiendo hasta aproximadamente el 50% de eficiencia de elución de  $^{68}\text{Ga}$  y aumentando el contenido en  $^{68}\text{Ge}$  alrededor a  $1 \times 10^{-2}\%$  (IAEA, 2013; Meyer y cols., 2004; Velikyan y cols., 2004; Asti y cols., 2008).

Un generador similar es el disponible por Eckert & Ziegler (Alemania). Este generador se eluye con 7-10 mL de  $\text{HCl}$  0,1 M y la eficiencia de elución de  $^{68}\text{Ga}$  cuando es nuevo es 70%. Este rendimiento puede disminuir si el generador no se eluye con regularidad. El contenido en  $^{68}\text{Ge}$  normalmente oscila entre  $3 \times 10^{-5}\%$  cuando es nuevo y hasta  $5 \times 10^{-3}\%$  después de 200 eluciones o con un año de uso, pudiendo alcanzar valores de  $1 \times 10^{-3}\%$  si el generador no se eluye durante unos días, pero normalizándose estos valores después de varios ciclos de elución sucesivos (IAEA, 2013; Ocak y cols., 2010; Petrik y cols., 2011).

Otros sistemas que utilizan un óxido metálico como fase estacionaria son los basados en  $\text{SnO}_2$  producidos en iThemba Labs (República de Sudáfrica). Este generador es eluido mediante una solución de 5-6 mL de  $\text{HCl}$  0,6-1 M siendo el rendimiento 80% de  $^{68}\text{Ga}$  obtenido y su contenido en  $^{68}\text{Ge}$  de  $2 \times 10^{-3}\%$  (IAEA, 2013).

También existen generadores comerciales basados en derivados de sílice, estos tipo de generadores han sido desarrollados y comercializados por ITG Isótopos Tecnologic Garching GmbH (Alemania). Los generadores de ITG se eluyen usando  $\text{HCl}$  0,05 M con un rendimiento de elución de  $^{68}\text{Ga} \geq 80\%$  y un contenido en  $^{68}\text{Ge}$  de  $5 \times 10^{-3}\%$ .

						
<b>SnO<sub>2</sub></b>	<b>TiO<sub>2</sub></b>	<b>TiO<sub>2</sub></b>	<b>-SiO<sub>2</sub></b>	<b>SnO<sub>2</sub></b>	<b>---</b>	<b>CeO<sub>2</sub>-PAN</b>
HCl 0,6-1 M	HCl 0,1 M	HCl 0,1 M	HCl 0,05 M	HCl 1 M	HCl 0,1 M	HCl 0,1 M
5-6 mL	7 mL	7-10 mL	4 mL	5 mL	1,1 mL	4-5 ml
<b>Datos generador nuevo</b>						
<b>---% <sup>68</sup>Ga eluido---</b>						
80% <sup>b</sup>	75% <sup>a</sup>	65% <sup>a</sup>	80% <sup>a</sup>	50% <sup>a</sup>	70-75% <sup>a</sup>	80% <sup>c</sup>
75% <sup>c</sup>	80% <sup>b</sup>	70% <sup>b</sup>	80% <sup>c</sup>			80% <sup>e</sup>
100% <sup>d</sup>		80% <sup>c</sup>	80% <sup>g</sup>			80% <sup>e</sup>
		60-75 <sup>f</sup>				
<b>---% <sup>68</sup>Ge eluido---</b>						
2 x 10 <sup>-3</sup> % <sup>b</sup>	5 x 10 <sup>-3</sup> % <sup>a</sup>	3 x 10 <sup>-5</sup> % <sup>b</sup>	5 x 10 <sup>-3</sup> % <sup>a</sup>	5 x 10 <sup>-5</sup> % <sup>a</sup>	1 x 10 <sup>-3</sup> % <sup>a</sup>	1 x 10 <sup>-5</sup> % <sup>e</sup>
1 x 10 <sup>-2</sup> % <sup>d</sup>	1 x 10 <sup>-3</sup> % <sup>b</sup>		5 x 10 <sup>-4</sup> % <sup>g</sup>			
<b>---Metales---</b>						
---	(Pb, Zn, Al, Ni y Cu)	(Pb, Zn, Al, Ni y Cu)	---	(Fe y Sn)	(Fe, Cu, Ga, Ni y Pb)	(Fe, Ce y Mn)
	5-150 ppm	< 2 ppm		< 0,5 ppm	≤ 7,2 ppm	< 0,1 ppm
	(total) <sup>a</sup>	(total) <sup>a</sup>		(total) <sup>a</sup>	(individual) <sup>a</sup>	(total) <sup>e</sup>
<b>Datos generador con el tiempo de uso</b>						
<b>---% <sup>68</sup>Ga eluido---</b>						
50%	60%	60%	70%	36%	60%	70%
(1 año) <sup>d</sup>	(1 año) <sup>a</sup>	(1 año) <sup>a</sup>	(1 año) <sup>c</sup>	(300 días) <sup>a</sup>	(1 año) <sup>a</sup>	(1 año) <sup>c</sup>
75%	50%	50%	60%			
(300 días) <sup>c</sup>	(1 año) <sup>b</sup>	(1 año) <sup>c</sup>	(9 meses) <sup>g</sup>			
<b>---% <sup>68</sup>Ge eluido---</b>						
2 x 10 <sup>-2</sup> %	1 x 10 <sup>-2</sup> %	5 x 10 <sup>-3</sup> %	6 x 10 <sup>-4</sup> %			8 x 10 <sup>-5</sup> %
(1 año) <sup>c</sup>	(1 año) <sup>b</sup>	(1 año) <sup>b</sup>	(1 año) <sup>c</sup>			(1 año) <sup>c</sup>
1 x 10 <sup>-2</sup> %		6 x 10 <sup>-2</sup> %	6 x 10 <sup>-3</sup> % <sup>g</sup>	---	---	1 x 10 <sup>-5</sup> % <sup>e</sup>
(300 días) <sup>d</sup>		(1 año) <sup>c</sup>	(9 meses)			
		5 x 10 <sup>-3</sup> %				
		5 x 10 <sup>-4</sup> %				
		(450 días) <sup>f</sup>				
<b>---Metales---</b>						
(Sn, Fe, Cu, Mn y Al)	---	(Ti, Fe, Cu, Mn y Al)	(Si, Fe, Cu, Mn y Al)	---	---	(Ce, Fe, Cu, Mn y Al)
1-20 ppm		1-10 ppm	< 0,1 ppm			< 0,1 ppm
(total) <sup>c</sup>		(total) <sup>c</sup>	(total) <sup>c</sup>			(total) <sup>c</sup>
<b>---Productor---</b>						
iThemba (Sudáfrica)	Cyclotron (Rusia)	E & Z (Alemania)	ITG (Alemania)	PARS Isotope (Irán)	IRE Elit (Bélgica)	BARC (India)

<sup>a</sup> ficha técnica, <sup>b</sup> IAEA, (2013). <sup>c</sup> Chakravarty y cols., (2016a). <sup>d</sup> de Blois y cols., (2011). <sup>e</sup> Chakravarty y cols., (2010). <sup>f</sup> Lin y cols., (2012).

<sup>g</sup> Chakravarty y cols., (2016c).

**Tabla 1.** Resumen de los generadores comerciales de <sup>68</sup>Ge/<sup>68</sup>Ga.



Recientemente también se han introducido tres nuevos generadores en el mercado. El primero de ellos, comercializado por PARS Isotope (Irán), basado en SnO<sub>2</sub> (Fazaeli y cols., 2012) y eluido con 1 M de HCl, con rendimientos de elución del 50% cuando es nuevo, descendiendo después con el uso hasta el 36% y con un contenido en <sup>68</sup>Ge de 5 × 10<sup>-5</sup>%.

Otro, es el comercializado por IRE Elit (Bélgica), que utiliza una solución de 0,1 M de HCl como eluyente, con un rendimiento de elución del 70-75% cuando es nuevo, decreciendo hasta el 60% después de un año y un contenido en <sup>68</sup>Ge de 1 × 10<sup>-4</sup>%.

Por último, el generador basado en nanocerio-poliacrilonitrilo (CeO<sub>2</sub>-PAN) el cual es diseñado en el Bhabha Atomic Center (India) tiene rendimientos de elución de <sup>68</sup>Ga del 80% y con un contenido en <sup>68</sup>Ge del 1 × 10<sup>-5</sup>%.

Sin embargo, estos generadores comerciales no están aprobados para su utilización en clínica, exceptuando el de Eckert & Ziegler el cual es el único que actualmente consta de autorización por parte de la Agencia Europea de Medicamentos. Esto se debe fundamentalmente a que disminuye el rendimiento de elución de <sup>68</sup>Ga y aumenta el contenido en <sup>68</sup>Ge con el número de eluciones y el tiempo de uso de estos (Roesch, 2013).

La mayoría de los generadores de radionucleidos emplean óxidos metálicos a granel como fase estacionaria en la separación cromatográfica. Los óxidos metálicos a granel, en general, muestran una baja capacidad de absorción, una selectividad limitada, una baja estabilidad química y una alta degradación debida a la radiólisis cuando su uso es prolongado (Chakravarty y cols., 2016b). El uso de nanomateriales empleados como fase estacionaria en comparación a los sorbentes a granel convencionales puede ser una alternativa debido a sus diferentes propiedades físico-químicas (Dash y Chakravarty, 2016). Una serie de adsorbentes basados en nanomateriales han sido recientemente estudiados, entre los que destacan t-ZrO<sub>2</sub>, CeO<sub>2</sub>-PAN y SnO<sub>2</sub> mesoporoso, mostrando resultados prometedores para la preparación de generadores de <sup>68</sup>Ge/<sup>68</sup>Ga (Chakravarty y cols., 2010; Chakravarty y cols., 2011; Chakravarty y cols., 2016b).

Los objetivos principales de este capítulo son:

- Estudiar diferentes nanomateriales de óxidos de titanio y estaño como fase estacionaria de una columna cromatográfica para el desarrollo de un generador  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ , valorando la separación selectiva del par germanio y galio mediante la determinación de sus coeficientes de distribución a diferentes concentraciones de ácido clorhídrico.
- Caracterización de los óxidos más prometedores y estudiar su estabilidad frente a la radiólisis.
- Desarrollar un generador piloto y evaluarlo en el tiempo mediante ciclos de elución, estudiando los rendimientos de  $^{68}\text{Ga}$  obtenido y el contenido de  $^{68}\text{Ge}$  en la elución.
- Realizar un escalado de actividad montando un generador prototipo de 740 MBq, evaluando el rendimiento de elución, perfil de elución y contenido de metales y  $^{68}\text{Ge}$  en el eluido durante 1 año y más de 300 ciclos de elución.

### 3.2 Materiales y Métodos

Se emplearon reactivos de grado analítico en todos los experimentos; ácido clorhídrico 34% (Ultrex II, J.T. Baker), hidróxido sódico (Sigma-Aldrich) y agua desionizada, Milli-Q ultrapure water system (Millipore Corp.).

Los óxidos de titanio estudiados fueron:  $\text{TiO}_2$  cristalizado en forma de anatasa con tamaño de cristal del orden de 25 nanómetros (Aldrich) ( $\text{TiO}_2$ .na),  $\text{TiO}_2$  cristalizado en forma de anatasa con tamaño de cristal del orden de 200 nanómetros (Panreac) ( $\text{TiO}_2$ .a) y  $\text{TiO}_2$  cristalizado en forma de rutilo obtenido mediante calentamiento del  $\text{TiO}_2$ .a a 1200 °C en un horno ( $\text{TiO}_2$ .r).



Y los óxidos de estaño: SnO<sub>2</sub> obtenido a partir de SnCl<sub>4</sub> x 5 H<sub>2</sub>O (Acros Organics) mediante una hidrólisis en medio básico con NaOH (SnO<sub>2</sub>-ac) y SnO<sub>2</sub> obtenido de SnO<sub>2</sub>-ac después de ser sometido a una serie de lavados con agua desionizada para eliminar el exceso de cloruros (SnO<sub>2</sub>-la).

Los óxidos, TiO<sub>2</sub>-r, SnO<sub>2</sub>-ac y SnO<sub>2</sub>-la, se sintetizaron por el Departamento de Química Inorgánica (Facultad de Farmacia perteneciente a la Universidad Complutense de Madrid).

Además, también se estudiaron: SnO<sub>2</sub> obtenido de forma comercial (metastannic acid, Keeling & Walker) (SnO<sub>2</sub>-co) y SnO<sub>2</sub>-co sometido a un proceso de calcinado a 900 °C durante 3 horas en un horno y enfriado hasta alcanzar temperatura ambiente con el objetivo de aumentar su tamaño de cristalinidad (SnO<sub>2</sub>-cal).

Todos los óxidos: TiO<sub>2</sub>-na, TiO<sub>2</sub>-a, TiO<sub>2</sub>-r, SnO<sub>2</sub>-ac, SnO<sub>2</sub>-la, SnO<sub>2</sub>-co y SnO<sub>2</sub>-cal se tamizaron con un tamiz de laboratorio de acero inoxidable, seleccionando el tamaño de partículas con rango de 100 a 150 micrómetros.

### 3.2.1 Determinación de los coeficientes de distribución (Kd)

Con el objetivo de estudiar la capacidad potencial de separación de los diferentes óxidos del par <sup>68</sup>Ge/<sup>68</sup>Ga, se determinaron los coeficientes de distribución (Kd) para los iones germanio y galio a diferentes concentraciones de ácido clorhídrico. Los iones de Ge se obtuvieron empleando una solución comercial de <sup>68</sup>Ge/<sup>68</sup>Ga JSC Isotope (Rusia) en equilibrio radioquímico secular y los iones de Ga de una alícuota diluida de <sup>68</sup>Ga obtenida a partir de un generador comercial de TiO<sub>2</sub> Ciclotrón Co. Ltd. (Rusia). Para ello, se emplearon viales con fondo cónico los cuales contenían 50 mg de los diferentes óxidos en 5 mL de soluciones de HCl a diferentes concentraciones junto a una pequeña alícuota que contenía actividad (1,85 x 10<sup>4</sup> Bq) procedente bien de la solución comercial o bien de la elución de un generador comercial de <sup>68</sup>Ge/<sup>68</sup>Ga.

La mezcla se agitó durante 3 h a temperatura ambiente y posteriormente, se centrifugó utilizando una centrífuga de laboratorio modelo 5810 (Eppendorf) a 3800 RCF 10 min. El sobrenadante se separó pipeteando cuidadosamente para no remover el precipitado y se transfirió a un tubo. Finalmente, el precipitado se lavó tres veces (1,5 mL) usando HCl a la concentración correspondiente y transfiriendo los lavados al tubo que contiene sobrenadante. Los estudios de Kd para cada óxido se realizaron por triplicado tanto para germanio como para galio.

Los Kd del galio se calcularon cuantificando la actividad de  $^{68}\text{Ga}$  inmediatamente después de la centrifugación empleando un contador de centelleo sólido automático Cobra (Perkin Elmer) con la configuración de ventana apropiada (de 400-600 keV) para detectar los fotones gamma de 511 keV procedentes de la reacción de aniquilación. Mientras que para el cálculo de los Kd del germanio, debido a que el  $^{68}\text{Ge}$  decae únicamente por captura electrónica su actividad no puede ser estimada directamente, por lo que tanto el sobrenadante como el precipitado se dejaron decaer durante 24-48 h para asegurar la completa desintegración radiactiva del  $^{68}\text{Ga}$  que pudiese estar presente en ese momento. Transcurrido ese tiempo, existe formación de  $^{68}\text{Ga}$  debido al propio decaimiento de  $^{68}\text{Ge}$ , hasta que ambos radionucleidos están en equilibrio radioquímico secular y por tanto tienen la misma actividad, permitiendo de esta forma estimar la actividad de  $^{68}\text{Ge}$  mediante la cuantificación de la actividad de  $^{68}\text{Ga}$ . Los valores de Kd, expresados en mL/g, se calcularon utilizando la siguiente expresión:

$$Kd = \frac{(A_t - A_{un})V}{A_{un}m}$$

[1]

Donde,  $A_t$  es la actividad empleada,  $A_{un}$  es la actividad en el sobrenadante,  $V$  es el volumen de la solución expresada en mL y  $m$  es la masa del óxido expresada en g.

Los óxidos con mejores valores de Kd se caracterizaron y evaluó su capacidad de adsorción y su estabilidad frente a la radiólisis.

### 3.2.2 Caracterización de los óxidos seleccionados

Los óxidos seleccionados se caracterizaron usando diferentes técnicas analíticas con el objetivo de estudiar su estructura y propiedades. La caracterización se llevó a cabo gracias a la colaboración con algunas unidades del CIEMAT, concretamente: Difracción de rayos X (XRD) con la Unidad de Residuos de Alta Actividad, microscopía electrónica de barrido (SEM) con la División de Materiales de Interés Energético y Brunauer-Emmett-Teller (BET) con la Unidad de Geología Ambiental Aplicada. El tipo de cristalinidad se calculó cualitativamente mediante mediciones por difracción de rayos X usando un equipo X'Pert MPD-(Philips) y para la estimación del tamaño de los cristales se empleó el método Langford, (1992); el estudio por microscopía electrónica de barrido se realizó usando un equipo JSM 6400 (Jeol) y la superficie de área y el tamaño de poro se calcularon mediante la técnica BET utilizando para ello el equipo ASAP 2020 (Micromeritics).

### 3.2.3 Determinación de la capacidad de adsorción

La capacidad de adsorción máxima se calculó en condiciones estáticas. Para ello, se usaron viales cónicos que contenían 22 mg de los diferentes óxidos y se les adicionó 2,2 mL de una solución de Ge libre de portador, previamente preparada disolviendo 160 mg de GeO<sub>2</sub> en una solución de NaOH 0,1 N y ajustada con HCl, a continuación se añadió una alícuota de  $1,85 \times 10^4$  Bq de <sup>68</sup>Ge. La concentración final de la mezcla resultante fue de HCl 0,5 M y 5 mg/mL de Ge.

La mezcla se agitó durante 3 h a temperatura ambiente. Posteriormente, la solución sobrenadante que contenía germanio no adsorbido, se separó por centrifugación del precipitado que contenía germanio adsorbido de forma similar a la descrita en el apartado de determinación de los coeficientes de distribución (capítulo 3, apartado 3.2.1, página 106). Para la cuantificación se utilizó un contador automático de centelleo sólido Cobra (Perkin Elmer) dejando decaer previamente las muestras durante un periodo de 24-48 h.

La capacidad máxima de adsorción, expresada como mg Ge/g óxido, se calculó utilizando la siguiente expresión:

$$\text{Capacidad de adsorción} = \frac{(A_t - A_s)m_{Ge}}{A_t m_{Ox}}$$

[2]

Donde,  $A_t$  y  $A_s$  representan la actividad total empleada y la actividad del sobrenadante respectivamente,  $m_{Ge}$  es la cantidad de germanio empleada expresada en mg y  $m_{Ox}$  la masa del óxido expresada en g. Este experimento se realizó por triplicado.

### 3.2.4 Irradiación de los óxidos

Con el fin de estudiar la estabilidad frente a la radiación de los óxidos seleccionados se estimó la dosis teórica que podrían recibir al ser utilizados como fase estacionaria de un sistema cromatográfico en el interior de la columna de un generador con una actividad de 1,85 GBq de  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  durante el período de 1 año.

Las condiciones de irradiación se simularon mediante código GAMOS (GAMOS, 2011). GAMOS es un código de programación que a su vez facilita el uso del código de transporte de la radiación GEANT4 sin necesidad de programar en C ++. GEANT4 se basa en métodos de Montecarlo, ya que las estimaciones basadas en este método son una de las herramientas más precisas para el estudio del transporte de la radiación en geometrías complejas. El modelo desarrollado en este estudio fue: los óxidos distribuidos de forma homogénea y compacta con una geometría cilíndrica (5 x 0,6 cm; altura x radio interno) donde se adsorbió el  $^{68}\text{Ge}$ , empaquetados en una columna de borosilicato (5 x 0,6 x 0,66 cm; altura x radio interno x radio externo) y recubierta de un blindaje de plomo de forma cilíndrica (10 x 0,66 x 5,66 cm; altura x radio interno x radio externo). De este modo, se calculó la dosis por desintegración en la fase estacionaria (expresada como Gy/desintegración).



El número total de desintegraciones,  $N_t$ , ocurridas en el periodo de un año se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$N_t = \int_0^t A_0 e^{-\lambda t} dt = \left[ \frac{-A e^{-\lambda t}}{\lambda} \right]_0^t = \frac{A}{\lambda} (1 - e^{-\lambda t})$$

[3]

Donde,  $A$  representa la actividad del  $^{68}\text{Ge}$  en equilibrio,  $\lambda$  la constante de desintegración radiactiva del  $^{68}\text{Ge}$  y  $t$  tiempo transcurrido estimado.

Como el  $^{68}\text{Ga}$  se encuentra en equilibrio radioquímico secular con su radionucleido padre  $^{68}\text{Ge}$ , que tiene un  $T_{1/2}$  de 270,95 d, el número de desintegraciones producidas en ese tiempo es necesario multiplicarlo por dos para considerar también la contribución del  $^{68}\text{Ga}$ . De esta forma se estimó la dosis teórica recibida en los diferentes óxidos del generador.

La irradiación se llevó a cabo en la Planta de Irradiación NÁYADE (Figura 2), perteneciente al CIEMAT. Esta instalación se compone de una piscina de agua de 1,2 m de lado y de 4,5 m de profundidad, en cuyo interior presenta varias fuentes radiactivas de  $^{60}\text{Co}$ , radionucleido emisor de rayos gamma con energías de 1,17 y 1,33 MeV. Estas fuentes radiactivas se disponen agrupadas en lotes de diferente actividad, fundamentalmente debidos a su edad de adquisición, permitiendo diferentes dosis de irradiación en función de la distancia y tiempo de exposición de los materiales a irradiar a las fuentes.

La tasa de dosis experimental se determinó mediante un sistema de dosimetría Fricke (Fricke y Morse, 1927; Fricke y Hart, 1966). El dosímetro Fricke es reconocido como un patrón de referencia secundario para dosimetría de altas dosis (ICRU, 1969; ASTM, 1984; IAEA, 1985) y es ampliamente utilizado con fines de calibración. Este método proporciona una medición fiable de la dosis absorbida en agua, basándose en un proceso de oxidación inducida por efecto de la radiación ionizante de los iones hierro, de ferroso a férrico, en solución acuosa ácida. El dosímetro es una solución de  $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \times 6$

H<sub>2</sub>O y NaCl disuelto en H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, permitiendo medir la dosis absorbida mediante el aumento de la absorción de luz a una longitud de onda específica. Para ello, se empleó un espectrofotómetro previamente calibrado UVISPEK UV (Hilge & Wattsat) y a temperatura estable, midiendo la absorción de luz en la región de 300 nm.



**Figura 2.** Planta de irradiación Nayade perteneciente al CIEMAT.

### 3.2.5 Preparación y evaluación de generador <sup>68</sup>Ge/<sup>68</sup>Ga piloto

Dos columnas de borosilicato (5 x 0,6 x 0,66 cm; altura x radio interno x radio externo) provistas de una frita de politetrafluoroetileno (PTFE) (20 μm) tanto en la parte inferior como en la superior, se recubrieron con un cilindro de plomo que actúa como blindaje (10 x 0,66 x 5,66 cm; altura x radio interno x radio externo) y empaquetadas con 1,5 g de cada óxido seleccionado. A continuación, se lavaron con 50 mL de HCl 0,5 M para eliminar los posibles restos de partículas finas. Posteriormente, una alícuota de HCl 0,5 M que contenía 1,85 MBq de <sup>68</sup>Ge libre de portador procedente JSC Isotope (Rusia) se añadió a las columnas, a un flujo de 0,5 mL/min, quedando estas cargadas radiactivamente. En este momento, las columnas se lavaron con 50 mL de solución de HCl 1M para favorecer su empaquetado. Todas las operaciones se llevaron a cabo en un sistema cerrado usando tubos de PTFE (1,58 mm de diámetro externo), como líneas de conexión, siendo accesibles externamente sólo el tubo de entrada y el de salida. Al día siguiente después de la carga del <sup>68</sup>Ge, los generadores estuvieron listos para su uso.

Diferentes concentraciones de HCl preparadas a partir de ácido clorhídrico 34% se evaluaron como eluyentes, utilizando para el proceso de elución una bomba de infusión. Las eluciones se llevaron a cabo con regularidad, una, dos o tres veces al día, durante más de 100 y 200 ciclos para los generadores pilotos basados en SnO<sub>2</sub>-co y SnO<sub>2</sub>-cal, respectivamente.

Los rendimientos de elución del <sup>68</sup>Ga y su contenido en <sup>68</sup>Ge del generador piloto basado en SnO<sub>2</sub>-co eluido se evaluaron usando HCl 0,5 M (1 mL/min), HCl 1 M (1 mL/min), HCl 2 M (1 mL/min), HCl 1 M (1,5 mL/min) y HCl 1 M (1 mL/min) en forma seca, es decir, secando la columna con aire después de cada elución.

Los rendimientos de elución del <sup>68</sup>Ga y su contenido en <sup>68</sup>Ge del generador piloto basado en SnO<sub>2</sub>-cal eluido se evaluaron usando HCl 0,5 M (1 mL/min), HCl 1 M (1 mL/min), HCl 2 M (1 mL/min), HCl 1 M (1,5 mL/min), HCl 1 M (0,5 mL/min) y HCl 1 M (1 mL/min) en forma seca, es decir, secando la columna con aire después de cada elución.

El contenido en <sup>68</sup>Ge en los eluidos se calculó mediante espectrometría gamma utilizando para ello un espectrómetro gamma de germanio coaxial (Ortec). Todas las muestras se dejaron decaer durante más de 48 h para asegurar la desintegración radiactiva completa de <sup>68</sup>Ga. El <sup>68</sup>Ge se calculó mediante la cuantificación del pico de 511 keV en el espectro obtenido (Figura 3), que corresponde a la desintegración radiactiva de <sup>68</sup>Ga generado por el <sup>68</sup>Ge, ya que ambos están en equilibrio radioquímico secular y por tanto se encuentran presentes con la misma actividad.

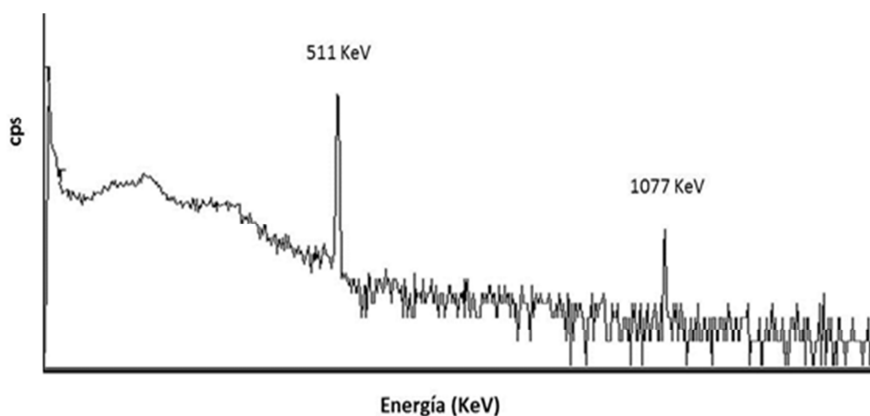


Figura 3. Espectro gamma del <sup>68</sup>Ga.

La actividad de  $^{68}\text{Ga}$  eluida de los generadores se cuantificó experimentalmente usando un activímetro VCC-405 (Veenstra Instruments) previamente calibrado, y el rendimiento de elución se expresó como el porcentaje de la actividad experimental respecto a la actividad teórica estimada presente en la columna del generador, corregidos ambos valores por el tiempo de decaimiento y expresados a la hora de comienzo de la elución.

La actividad teórica del  $^{68}\text{Ga}$  para la primera elución ( $A_{ta,1^a elu}$ ), se dedujo de la siguiente ecuación, que corresponde al equilibrio radioquímico (ecuación 14, capítulo 1, apartado 1.4.1.2, página 41):

$$A_{ta,1^a elu} = A_{1,t=0}(1 - e^{-\lambda_2 t})$$

[3]

Donde,  $A_{1,t=0}$  es la actividad de  $^{68}\text{Ge}$  cargada en el generador,  $\lambda_2$  es la constante de desintegración radiactiva del  $^{68}\text{Ga}$  y  $t$  es el intervalo de tiempo que transcurre entre la elución y el momento en el que el generador se cargó.

Para el cálculo de la actividad teórica de  $^{68}\text{Ga}$  de la segunda elución y sucesivas es necesario tener en cuenta el decaimiento del  $^{68}\text{Ge}$  mediante ( $e^{-\lambda_1 t_1}$ ), empleándose la siguiente ecuación:

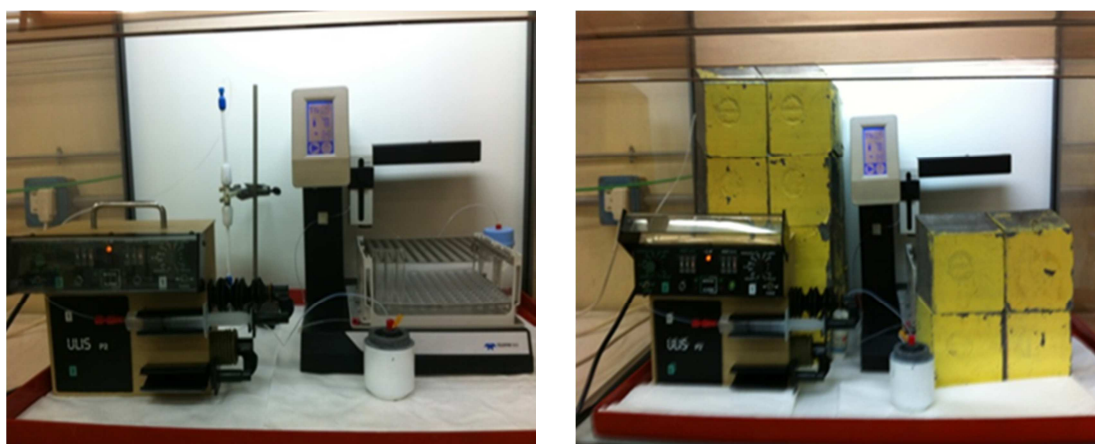
$$A_{ta,2^a elu} = A_{1,t'}(e^{-\lambda_1 t_1})(1 - e^{-\lambda_2 t'})$$

[4]

En la cual, aparecen nuevos términos, siendo,  $A_{1,t'}$  la actividad de  $^{68}\text{Ge}$ ,  $t_1$  es el intervalo de tiempo que transcurre entre la elución y el momento en el que el generador se cargó,  $\lambda_1$  es la constante de desintegración radiactiva del  $^{68}\text{Ge}$  y  $t'$  corresponde al intervalo de tiempo transcurrido desde la elución anterior.

### 3.2.6 Preparación y evaluación de generador $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ prototipo

La preparación del escalado en actividad del generador prototipo se realizó de manera similar a la descrita en el apartado anterior, utilizando una columna compuesta de borosilicato Bench Mark (Omnifit) con dimensiones de 100 mm de alto y 6 mm de radio interior, provista de una frita (20 micras) de PTFE en la parte superior e inferior y recubiertas de un cilindro de plomo de 50 mm de espesor, seguido de los filas de ladrillos de plomo de un espesor total de 100 mm, que actúan a modo de blindaje (Figura 4).



**Figura 4.** Columna del generador  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  prototipo: sin blindaje (izquierda) y blindada con plomo (derecha).

El óxido seleccionado (4,5 g) se empaquetó en la columna y se cargó con 740 MBq de actividad de  $^{68}\text{Ge}$  JSC Isotope (Rusia) a un flujo de 0,5 mL/min. El generador prototipo se eluyó de forma húmeda y seca, usando soluciones de HCl 0,5 y 1 M, empleando un flujo de 1 mL/min. El rendimiento de elución, perfil de elución y el contenido en  $^{68}\text{Ge}$  en el eluido se evaluaron durante un período de 1 año, eluyendo regularmente el generador en intervalos de una, dos o tres veces al día, hasta alcanzar 305 eluciones.

El contenido de  $^{68}\text{Ge}$  en el eluido se cuantificó mediante espectrometría gamma utilizando para ello un espectrómetro gamma de germanio coaxial (Ortec). Todas las muestras se dejaron decaer durante más de 48 h para asegurar la desintegración radiactiva completa de  $^{68}\text{Ga}$  eluido. El  $^{68}\text{Ge}$  se calculó mediante la cuantificación del pico de 511 keV en el espectro obtenido, que corresponde a la desintegración radiactiva de  $^{68}\text{Ga}$  generado por el  $^{68}\text{Ge}$ , ya que ambos están en equilibrio radioquímico secular y se encuentran presentes con la misma actividad.

Además, con el propósito de estudiar el posible desplazamiento del  $^{68}\text{Ge}$  lo largo de la columna con el número de eluciones o con el tiempo de uso, a la columna del generador se le realizó una imagen PET/CT usando un equipo Argus (SEDECAL), tanto al principio, como al final del estudio. Las imágenes PET se adquirieron durante 5 min con los siguientes parámetros: ventana de energía 250 a 700 keV, y para el CT: tensión de 40 KV, corriente 150  $\mu\text{A}$ , 2 exposiciones, 360 proyecciones y resolución estándar. Las imágenes PET se corrigieron para eventos aleatorios, de dispersión y sin corrección de atenuación, posteriormente se reconstruyeron utilizando 2D-OSEM (Ordered Subset Expectation Maximization) mediante algoritmo de 16 subconjuntos y dos iteraciones.

El contenido de las posibles trazas metálicas presentes en el eluido se cuantificó ya que los cationes metálicos pueden actuar como competidores con el  $\text{Ga}^{3+}$  en las síntesis indirectas mediadas por un agente quelante. Por otro lado, la presencia de metales requiere concentraciones relativamente altas de los precursores, pudiendo causar una disminución de la actividad específica de la molécula marcada. Estas medidas se realizaron en las primeras eluciones y después de un año de uso del generador, correspondiente al final del estudio.

Las mediciones se llevaron a cabo usando un espectrómetro Thermo X series II, espectrómetro Varian 735ES y un cromatógrafo iónico Dionex 4500i, perteneciente a la División de Química (CIEMAT). Se determinaron las concentraciones de los siguientes metales: Ag, Al, As, Ba, Bi, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, In, Mg, Mn, Ni, Pb, Sb, Sn y Ti.

### 3.3 Resultados y Discusión

#### 3.3.1 Determinación de los coeficientes de distribución (Kd)

La retención de un radionucleido en un determinado material depende del coeficiente de distribución de dicho radionucleido. Debido a la diferencia en sus valores de Kd, los radionucleidos padres e hijos tienen diferente afinidad de retención hacia el material estudiado y por tanto se pueden separar eficazmente. Generalmente, el radionucleido padre tiene un valor muy alto de Kd y para el radionucleido hijo es despreciable o muy pequeño (Chakravarty y cols., 2012).

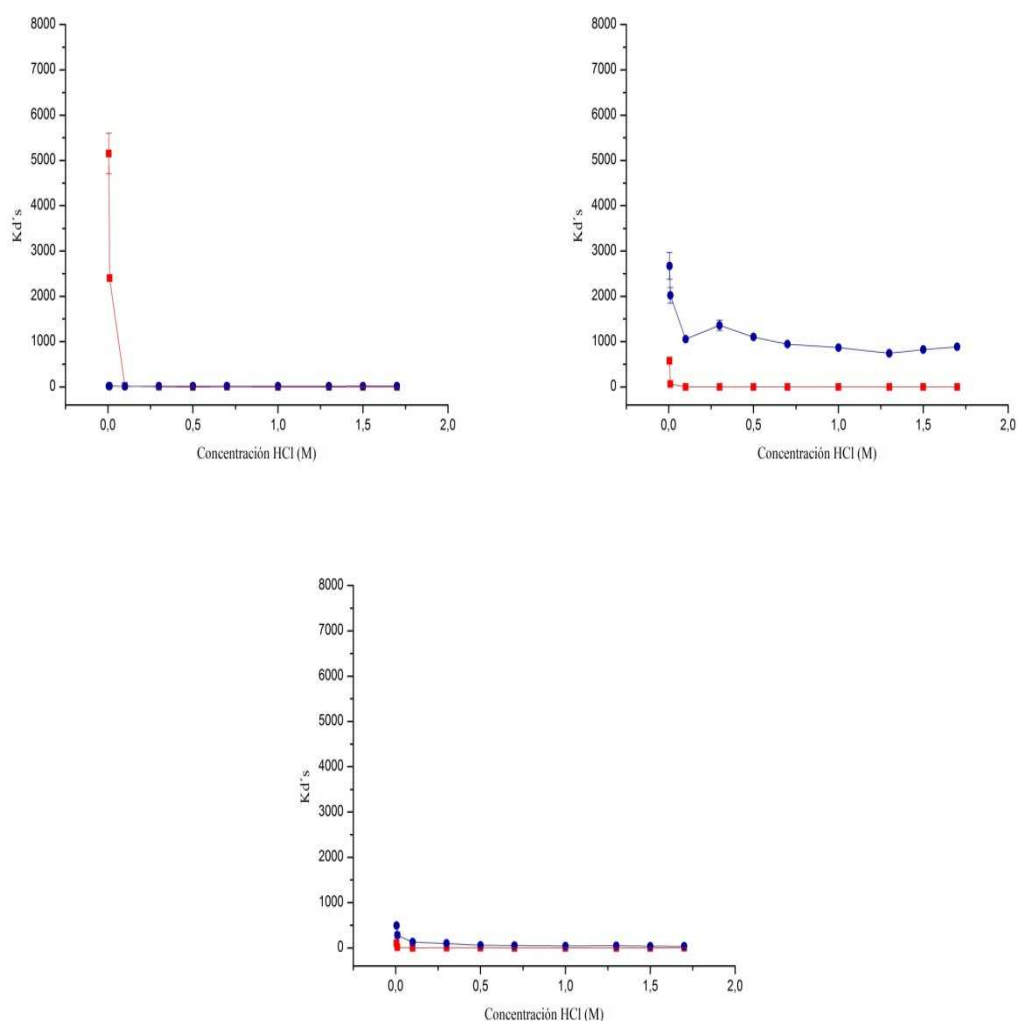
Los coeficientes de distribución del germanio y del galio obtenidos para los diferentes óxidos estudiados usando diferentes concentraciones de ácido clorhídrico (0,005-1,7 M) pueden observarse en las Tablas 2 y 3, los iones Ge mostraron valores de Kd más altos que los iones Ga, permitiendo por lo tanto una eficiente separación.

En el caso de los óxidos de titanio estudiados,  $\text{TiO}_2\text{-a}$ ,  $\text{TiO}_2\text{-na}$  y  $\text{TiO}_2\text{-r}$  (Tabla 2 y Figura 5), los resultados experimentales mostraron que los valores de Kd del Ge disminuyeron a medida que aumentó la concentración de ácido clorhídrico hasta 1 M, a partir de esta concentración permanecieron prácticamente constantes. Los valores de Kd a concentraciones de HCl por encima de 0,1 M fueron dos-tres órdenes de magnitud mayores para  $\text{TiO}_2\text{-na}$  que para  $\text{TiO}_2\text{-a}$  y  $\text{TiO}_2\text{-r}$ .

Los valores de Kd del Ga fueron más bajos que los del Ge, siendo un orden de magnitud más bajo para  $\text{TiO}_2\text{-na}$  y  $\text{TiO}_2\text{-r}$  que para  $\text{TiO}_2\text{-a}$  y permaneciendo estables desde 0,1 M. Por lo tanto, los mejores resultados para los diferentes óxidos de titanio los mostró  $\text{TiO}_2\text{-na}$  (Romero y Morcillo, 2017).

HCl (M)	<i>TiO<sub>2</sub>-a</i>		<i>TiO<sub>2</sub>-na</i>		<i>TiO<sub>2</sub>-r</i>	
	<i>Kd Ge</i>	<i>Kd Ga</i>	<i>Kd Ge</i>	<i>Kd Ga</i>	<i>Kd Ge</i>	<i>Kd Ga</i>
<b>0,005</b>	5154,2	18,5	2671,3	580,2	495,2	104,8
	± 452,1	± 0,3	± 295,8	± 78,1	± 17,95	± 29,4
<b>0,01</b>	2402,1	17,9	2021,8	61,4	282,1	13,7
	± 46,5	± 1,1	± 171,7	± 3,8	± 70,8	± 2,9
<b>0,1</b>	19,4	13,1	1052,3	1,4	128,8	0,9
	± 1,5	± 0,6	± 0,9	± 0,3	± 17,5	± 1,1
<b>0,3</b>	3,6	14,7	1358,6	0,8	99,7	2,1
	± 0,5	± 1	± 116,1	± 0,8	± 16,8	± 1,8
<b>0,5</b>	1,8	15,1	1099,6	1,3	56,8	2,4
	± 0,9	± 1,5	± 27,3	± 0,4	± 3,7	± 1,3
<b>0,7</b>	2,3	15,4	942,3	1,2	52,7	1,6
	± 0,2	± 2	± 33,3	± 0,4	± 2,8	± 0,5
<b>1</b>	1,7	16,3	865,1	1,1	43,6	1,5
	± 0,5	± 0,7	± 13,6	± 0,3	± 8,2	± 1,6
<b>1,3</b>	0,3	16,5	739,5	0,8	48,5	1,4
	± 0,6	± 0,7	± 41,8	± 0,1	± 9,1	± 0,8
<b>1,5</b>	1,4	17,4	824,6	0,5	37,0	1,8
	± 1,0	± 0,3	± 39,9	± 0,3	± 3,9	± 1
<b>1,7</b>	0,8	17,4	883,4	0,1	35,9	2,6
	± 0,3	± 1,1	± 5,2	± 0,1	± 0,7	± 0,8

**Tabla 2.** Coeficientes de distribución (Kd) para Ge<sup>4+</sup> y Ga<sup>3+</sup> a diferentes concentraciones de HCl para: TiO<sub>2</sub>-a, TiO<sub>2</sub>-na y TiO<sub>2</sub>-r. Media ± desviación estándar (n = 3).



**Figura 5.** Coeficientes de distribución (Kd) para Ge<sup>4+</sup> (●) y Ga<sup>3+</sup> (■) a diferentes concentraciones de HCl para: TiO<sub>2</sub>-a (arriba, izquierda), TiO<sub>2</sub>-na (arriba, derecha) y TiO<sub>2</sub>-r (abajo, centro). Media ± desviación estándar (n = 3).

Para los óxidos de estaño (Tabla 3 y Figura 6) los valores de Kd del Ge también decrecieron al incrementar la concentración de HCl. SnO<sub>2</sub>-co y SnO<sub>2</sub>-cal obtuvieron los valores más altos, siendo aproximadamente el doble para SnO<sub>2</sub>-cal que para SnO<sub>2</sub>-co y estando estos resultados en concordancia con estudios realizados anteriormente (Aardaneh y Van der Walt, 2006), en los cuales se ha demostrado que el empleo de óxidos de estaño tratados térmicamente mostraron más <sup>68</sup>Ga eluido y menor contenido en <sup>68</sup>Ge en el diseño de este tipo de generadores (Romero y Morcillo, 2017).

HCl (M)	<i>SnO<sub>2</sub>-ac</i>		<i>SnO<sub>2</sub>-l</i>		<i>SnO<sub>2</sub>-co</i>		<i>SnO<sub>2</sub>-cal</i>	
	<i>Kd Ge</i>	<i>Kd Ga</i>	<i>Kd Ge</i>	<i>Kd Ga</i>	<i>Kd Ge</i>	<i>Kd Ga</i>	<i>Kd Ge</i>	<i>Kd Ga</i>
<b>0,005</b>	5963,9	7855,8	3519,2	873,8	3888,2	4380,2	6190,5	6492,3
	± 618,6	± 562,9	± 701,5	± 45,5	± 99	± 143,6	± 1328,9	± 685,7
<b>0,01</b>	4689,2	8423,2	6270,2	7402,5	4091,7	1320,6	5944,1	3839,2
	± 280	± 1586,5	± 340,5	± 331,4	± 525,4	± 151,5	± 996,4	± 304,5
<b>0,1</b>	2139,1	9,6	2585,1	4,1	3029,3	10,1	5450,8	11,2
	± 91	± 1,7	± 220,1	± 1,4	± 188,8	± 0,7	± 661,2	± 0,3
<b>0,3</b>	1279,2	2,2	1537,1	1,6	2873,4	4,5	3831,6	3,7
	± 8,1	± 0,3	± 59,4	± 0,5	± 125,9	± 2,6	± 1071,1	± 0,6
<b>0,5</b>	1015,9	1,4	1115,3	3,1	2686,4	3,4	4453,3	2,5
	± 106,5	± 0,3	± 44,2	± 3,1	± 139,3	± 0,7	± 529,9	± 0,6
<b>0,7</b>	878,1	1,8	907,9	1,9	2546,1	3,5	4395,6	2,1
	± 26,32	± 0,6	± 22	± 0,3	± 80,1	± 0,9	± 310,1	± 0,8
<b>1</b>	756,9	0,9	692,3	2,3	2602,3	4,2	4720,6	3
	± 33,9	± 0,7	± 7,1	± 0,7	± 103,4	± 1,8	± 655,1	± 1,6
<b>1,3</b>	653,8	1,4	583,7	1,4	2296,9	3,6	4005,6	2,8
	± 18,75	± 0,3	± 17,3	± 0,3	± 14,4	± 0,8	± 259,9	± 1,1
<b>1,5</b>	613,9	2,1	510,8	1,5	2225,4	3,2	4946,8	3,8
	± 32,2	± 1,3	± 5,68	± 1,7	± 196,1	± 1,2	± 577,8	± 1,6
<b>1,7</b>	588,2	1,3	477,5	2,6	2229,2	2,6	4354,4	2,5
	± 17,73	± 1,4	± 13,2	± 0,2	± 120,9	± 0,2	± 350,6	± 0,2

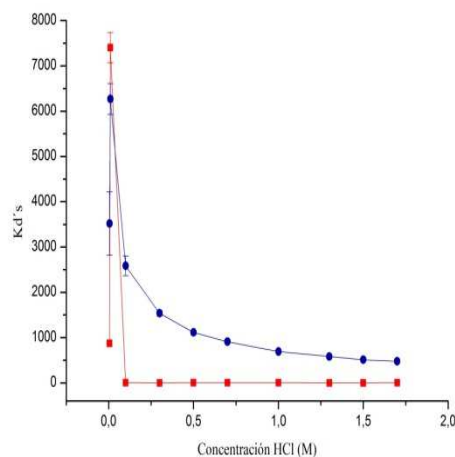
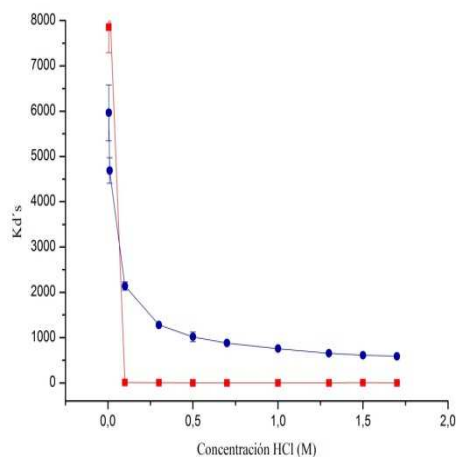
**Tabla 3.** Coeficientes de distribución (Kd) para Ge<sup>4+</sup> y Ga<sup>3+</sup> a diferentes concentraciones de HCl para: SnO<sub>2</sub>-ac, SnO<sub>2</sub>-la, SnO<sub>2</sub>-co y SnO<sub>2</sub>-cal. Media ± desviación estándar (n = 3).

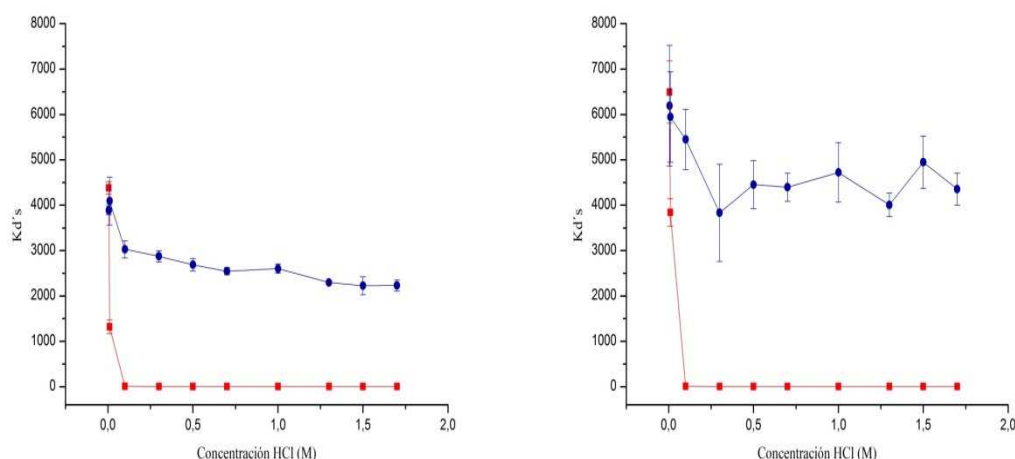
Las nano-partículas de SnO<sub>2</sub> se pueden considerar como aglomerados cubiertos por grupos hidroxilo en su superficie que al interactuar con soluciones acuosas, reciben una carga superficial dependiente del pH, que es la principal responsable de la captación



de iones metálicos (Chakravarty y cols., 2011). En soluciones ácidas, los compuestos de germanio probablemente mayoritarios se encuentran cargados negativamente, y son:  $(\text{GeO}(\text{OH})_3)^-$ ,  $(\text{GeO}_2(\text{OH})_2)^{2-}$  y  $((\text{Ge}(\text{OH})_4)_8(\text{OH})_3)^{3-}$  (Everest y Salmon, 1954; Neirinckx y Davis, 1980). La fuerte afinidad de estos óxidos para las distintas especies de germanio iónico a bajo pH se debe probablemente a la atracción electrostática de iones de germanio cargados negativamente con la superficie cargada positivamente del  $\text{SnO}_2$ . Ya que el Ga a este pH se encuentra como ion  $\text{Ga}^{3+}$ , por lo tanto, una separación casi completa, podría lograrse debido a la repulsión electrostática del ion con carga positiva  $\text{Ga}^{3+}$  con la superficie cargada positivamente del  $\text{SnO}_2$  (Chakravarty y cols., 2011). Estos resultados están en concordancia con los valores de  $K_d$  para el Ga frente a los de Ge obtenidos en las condiciones experimentales.

Por lo tanto, los valores de  $K_d$  obtenidos del Ge fueron más altos para los óxidos de estaño y los valores de  $K_d$  del Ga fueron sustancialmente bajos para todos los óxidos de estaño y de titanio. Por lo tanto, los posteriores experimentos se limitaron a evaluar los óxidos con mejores resultados, siendo  $\text{SnO}_2\text{-co}$  y  $\text{SnO}_2\text{-cal}$  los candidatos más prometedores para el desarrollo de generadores.



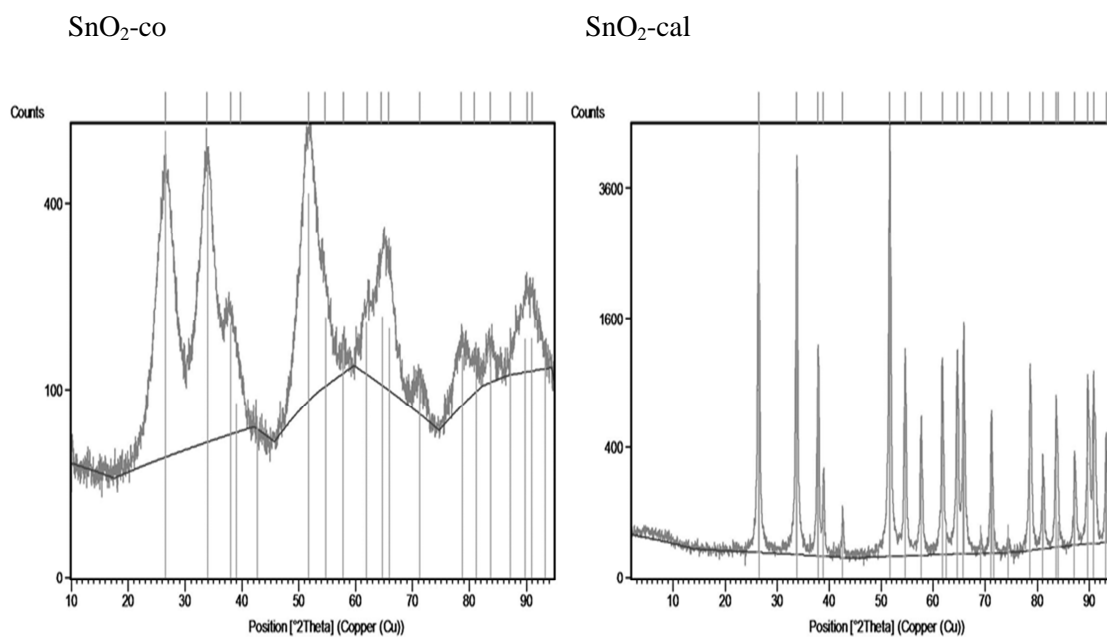


**Figura 6.** Coeficientes de distribución ( $K_d$ ) para  $\text{Ge}^{4+}$  (●) y  $\text{Ga}^{3+}$  (■) a diferentes concentraciones de HCl para:  $\text{SnO}_2\text{-ac}$  (arriba, izquierda),  $\text{SnO}_2\text{-la}$  (arriba, derecha),  $\text{SnO}_2\text{-co}$  (abajo, izquierda) y  $\text{SnO}_2\text{-cal}$  (abajo, derecha). Media  $\pm$  desviación estándar ( $n = 3$ ).

### 3.3.2 Caracterización de los óxidos seleccionados

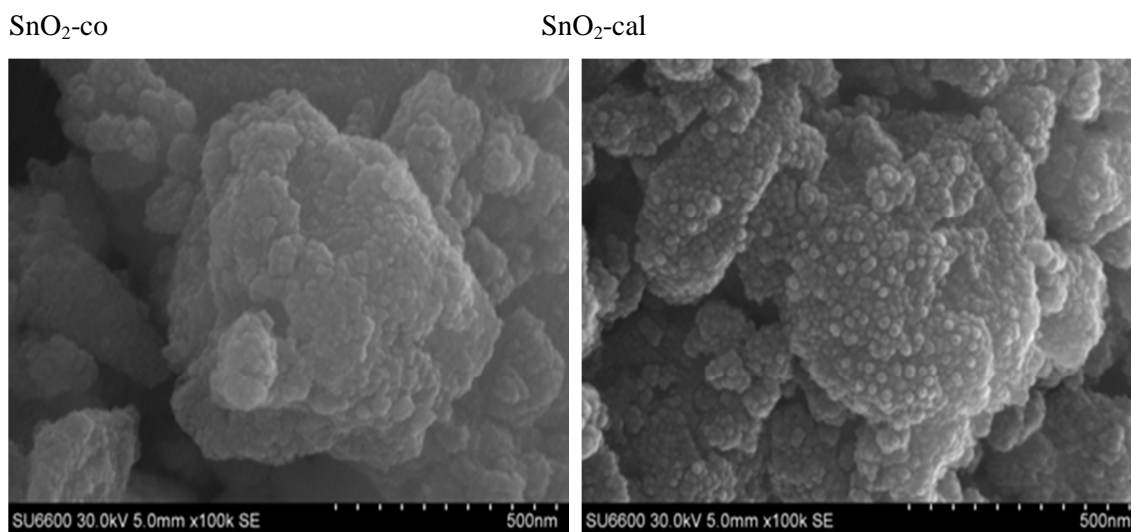
La caracterización se llevó a cabo mediante Difracción de rayos X (XRD), microscopía electrónica de barrido (SEM) y Brunauer-Emmett-Teller (BET).

Los resultados obtenidos por XRD mostraron que los picos presentes obtenidos en los difractogramas correspondientes a  $\text{SnO}_2\text{-co}$  y  $\text{SnO}_2\text{-cal}$  (Figura 7) corresponden a fases tetragonales mayoritariamente para todos los casos (Romero y Morcillo, 2017). Los picos poco definidos y su amplitud indicaron naturaleza nanocrystalina en ambos casos. El tamaño medio de cristal se determinó por el método de Langford, obteniendo  $2,3 \pm 0,4$  nm para  $\text{SnO}_2\text{-co}$  mientras que para  $\text{SnO}_2\text{-cal}$  el tamaño se incrementó a  $28,1 \pm 0,5$  nm debido al tratamiento térmico, como también se infiere por la aparición de picos más estrechos y afilados y de acuerdo con los resultados descritos por Aardaneh y Van der Walt (2006).



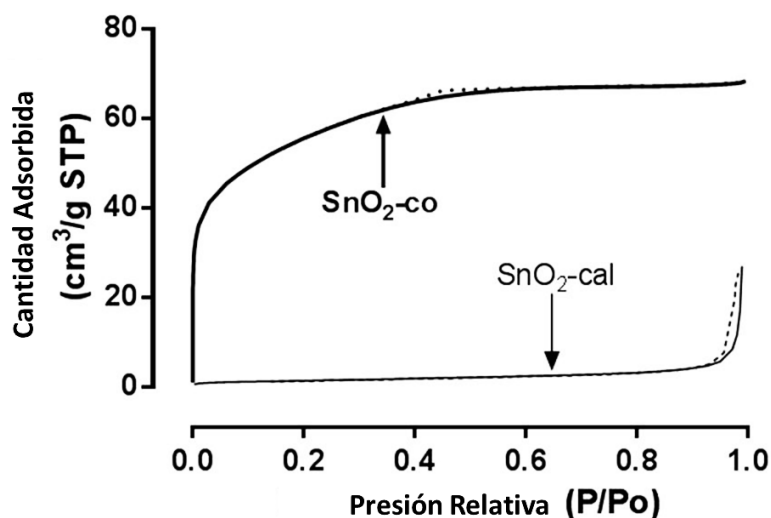
**Figura 7.** Difractogramas, fase mayoritaria tetragonal, correspondientes a SnO<sub>2</sub>-co (izquierda) y SnO<sub>2</sub>-cal (derecha).

Los ensayos de SEM (Figura 8) mostraron que SnO<sub>2</sub>-co y SnO<sub>2</sub>-cal presentaron forma esférica con un alto grado de aglomeración entre las partículas (Romero y Morcillo, 2017).



**Figura 8.** Imágenes SEM, SnO<sub>2</sub>-co (izquierda) y SnO<sub>2</sub>-cal (derecha).

Las isothermas de adsorción y desorción de  $N_2$  a temperatura de nitrógeno líquido obtenidas mediante la técnica BET se muestran en la Figura 9.



**Figura 9.** Isothermas BET de adsorción (línea continua) y desorción (línea discontinua) de  $N_2$ , para  $SnO_2$ -co y  $SnO_2$ -cal.

La cantidad adsorbida en los valores de  $p/p_o$  próximos a 0.99 fue de  $68 \text{ cm}^3/\text{g}$  y  $27 \text{ cm}^3/\text{g}$  para  $SnO_2$ -co y  $SnO_2$ -cal, respectivamente. El  $SnO_2$ -co mostró una isoterma de tipo I de acuerdo con la clasificación de la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC), lo que indica una estructura microporosa (Sing y cols., 1985), mientras que la isoterma del  $SnO_2$ -cal fue de tipo IV aunque no mostró una meseta característica para este tipo de isothermas a altos valores de  $p/p_o$ , indicando que el  $SnO_2$ -cal tiene una estructura tanto mesoporosa como macroporosa (Sing y cols., 1985). El ciclo de histéresis del  $SnO_2$ -cal mostró que era del tipo H3, que por lo general se asocia con agregados de partículas similares a placas que dan lugar poros en forma de hendidura (Sing y cols., 1985). Las superficies específicas calculadas a partir de las isothermas de adsorción utilizando la ecuación BET fueron  $196,9 \text{ m}^2/\text{g}$  y  $5,3 \text{ m}^2/\text{g}$  para  $SnO_2$ -co y  $SnO_2$ -cal, respectivamente (Romero y Morcillo, 2017). Sin embargo, es necesario tener cierta cautela con el valor obtenido de la superficie específica para  $SnO_2$ -co ya que el método BET es poco fiable para reproducir un valor de la superficie real, si la isoterma es de tipo I (Sing y cols., 1985).

El radio medio de los poros se evaluó mediante la adsorción de N<sub>2</sub> usando el método BBJ (Barrer, Halenda, Joiyner) y se encontró que era 1,3 y 14,8 nm para SnO<sub>2</sub>-co y SnO<sub>2</sub>-cal, respectivamente, indicando que el SnO<sub>2</sub>-co es microporoso, mientras que el sorbente SnO<sub>2</sub>-cal es mesoporoso/macroporoso.

Estos valores están de acuerdo con los descritos por Gaber y cols., (2014), lo cual corrobora el hecho de que cuando las nanopartículas de SnO<sub>2</sub> se calcinan a temperaturas elevadas aumenta el tamaño de cristal y disminuye la superficie de área debido al crecimiento de las partícula, apreciándose un aumento del diámetro promedio de poro como resultado de la aglomeración entre partículas. Los estudios indicaron de manera concluyente que ambos óxidos (SnO<sub>2</sub>-co y SnO<sub>2</sub>-cal) pueden ser utilizados en el desarrollo de generadores de <sup>68</sup>Ge/<sup>68</sup>Ga.

### 3.3.4 Capacidad de adsorción de los óxidos seleccionados

Los estudios estáticos realizados mostraron que las capacidades de adsorción del SnO<sub>2</sub>-co y SnO<sub>2</sub>-cal fueron de 168 ± 2 mg Ge/g y 139 ± 4 mg Ge/g en HCl 0,5 M respectivamente (Romero y Morcillo, 2017).

Es necesario mencionar que la capacidad de adsorción no se determinó bajo condiciones dinámicas pero los resultados obtenidos bajo condiciones estáticas están en línea con los descritos por Chakravarty y cols., (2010) y por Buwa, (2014) en los cuales determinan la capacidad de adsorción de ZrO<sub>2</sub> y TiO<sub>2</sub> respectivamente (Chakravarty y cols., 2010 y por Buwa, 2014).

La cantidad de germanio presente en 37 GBq (1 Ci) de <sup>68</sup>Ge libre de portador es de sólo 0,14 mg, por lo tanto, cualquiera de estos óxidos seleccionados permitiría ser implementado en la separación selectiva de muy altas actividades del par <sup>68</sup>Ge/<sup>68</sup>Ga.

### 3.3.3 Irradiación de los óxidos seleccionados

La estabilidad a la radiación del material utilizado como columna de un generador de radionucleidos juega un papel decisivo en el funcionamiento de este pudiendo afectar de forma directa a su vida útil. Este material debe ser capaz de soportar la exposición continua a la radiación emitida tanto por el radionucleido padre como por el hijo.

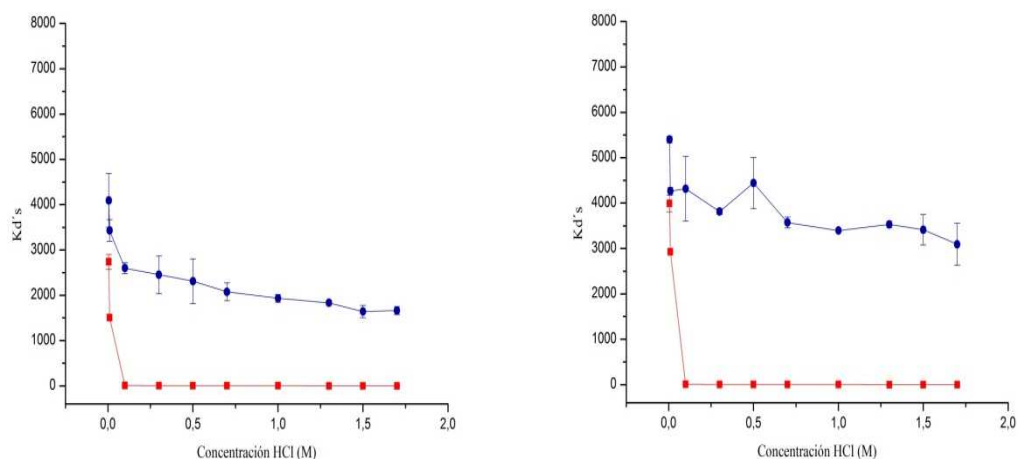
El cálculo teórico mediante GAMOS comentado anteriormente proporciona una dosis absorbida de  $4,78 \times 10^{-11}$  Gy por desintegración. Como el  $^{68}\text{Ga}$  se encuentra en equilibrio radioquímico secular con su radionucleido padre,  $^{68}\text{Ge}$ , el número de desintegraciones producidas es necesario multiplicarlo por dos para considerar también la contribución del  $^{68}\text{Ga}$  (1,85 GBq). Por lo tanto, los óxidos estudiados estarían expuestos a una dosis de 1,81 MGy.

El proceso de irradiación se llevó a cabo a temperatura ambiente, con una tasa de dosis de 6.636k Gy/h y con una falta de uniformidad de la dosis de 3,13%, con el fin de irradiar las muestras con una dosis conservativa de 2 MGy (Romero y Morcillo, 2017). Los valores de Kd después del proceso de irradiación siguieron la misma tendencia que antes de la irradiación y fueron alrededor de tres órdenes de magnitud más altos para el Ge que para el Ga. En el caso del Ge, fueron ligeramente inferiores en las muestras irradiadas, aunque prácticamente no cambiaron en el caso del Ga (Tabla 4 y Figura 10) (Romero y Morcillo, 2017).

Por lo tanto, ambos óxidos demostraron ser estables a la radiólisis y pudiendo separar de manera efectiva Ge y Ga; este resultado corrobora que los óxidos metálicos nanocristalinos presentan una alta estabilidad a la radiación en comparación con sus homólogos de mayor tamaño (Bai y cols., 2010).

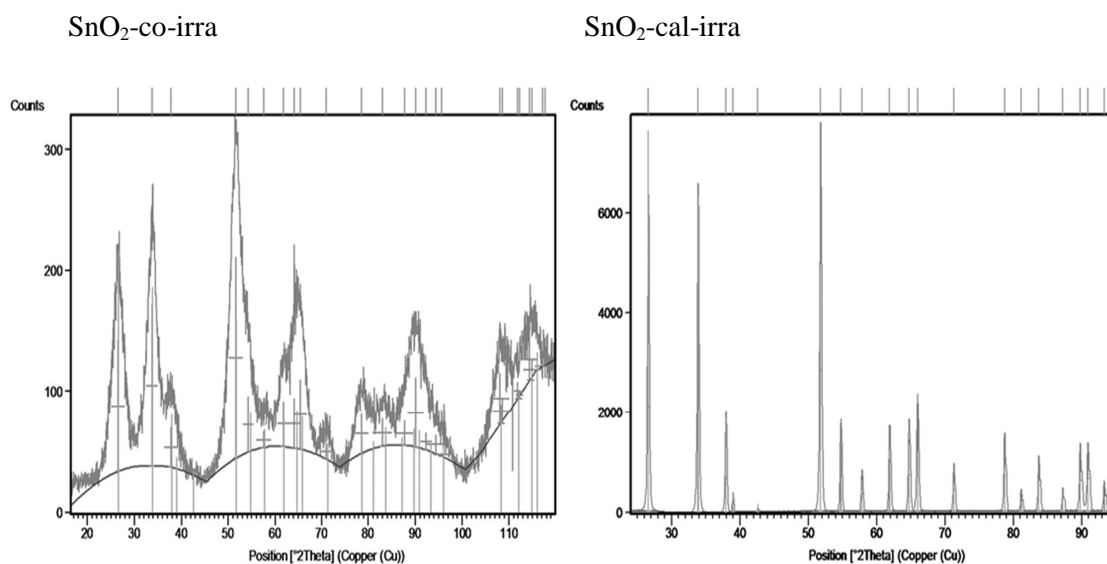
HCl (M)	<i>SnO<sub>2</sub>-co-irra</i>		<i>SnO<sub>2</sub>-cal-irra</i>	
	<i>Kd Ge</i>	<i>Kd Ga</i>	<i>Kd Ge</i>	<i>Kd Ga</i>
<b>0,005</b>	4093,1 ± 596,5	2739,7 ± 165,2	5399,8 ± 72,2	3992,1 ± 180,8
<b>0,01</b>	3429,5 ± 239,1	1504,2 ± 46,5	4263,6 ± 82,7	2929,1 ± 10,7
<b>0,1</b>	2598,4 ± 117,3	8,5 ± 1,1	4315,1 ± 711,2	11,5 ± 0,1
<b>0,3</b>	2454,3 ± 415,2	4,4 ± 0,4	3811,7 ± 67,1	4,1 ± 1,8
<b>0,5</b>	2311,7 ± 493,5	2,7 ± 0,1	4442,5 ± 564,4	3,8 ± 0,1
<b>0,7</b>	2076,6 ± 195,9	2,1 ± 1,9	3572,5 ± 120,2	3,6 ± 0,5
<b>1</b>	1932,2 ± 84,3	2,1 ± 0,4	3396,3 ± 16,9	2,1 ± 1,1
<b>1,3</b>	1831,5 ± 54,2	1,5 ± 0,6	3531,1 ± 68,3	1,2 ± 0,4
<b>1,5</b>	1640,8 ± 135,6	1,6 ± 0,4	3412,7 ± 331,3	1,8 ± 0,4
<b>1,7</b>	1663,5 ± 87,3	1,8 ± 1,1	3093,7 ± 460,8	1,9 ± 0,8

**Tabla 4.** Coeficientes de distribución (Kd) para Ge<sup>4+</sup> y Ga<sup>3+</sup> a diferentes concentraciones de HCl para: SnO<sub>2</sub>-co-irra, SnO<sub>2</sub>-cal-irra. Media ± desviación estándar (n = 3).



**Figura 10.** Coeficientes de distribución ( $K_d$ ) para  $\text{Ge}^{4+}$  (●) y  $\text{Ga}^{3+}$  (■) a diferentes concentraciones de HCl para:  $\text{SnO}_2$ -co-irra (izquierda),  $\text{SnO}_2$ -cal-irra (derecha). Media  $\pm$  desviación estándar ( $n = 3$ ).

Las Figura 11 muestran los difractogramas de ambos óxidos metálicos irradiados pudiendo observarse que eran apenas distinguibles de los de las muestras no irradiadas. Se encontró que el tamaño de cristal para  $\text{SnO}_2$ -co-irra y para  $\text{SnO}_2$ -cal-irra para fue de  $2,6 \pm 0,5$  nm y  $26,6 \pm 0,6$  nm, respectivamente. Por lo tanto, puede considerarse que el tamaño de cristal no se vio influenciado durante el proceso de irradiación con  $^{60}\text{Co}$  (Romero y Morcillo, 2017).



**Figura 11.** Difractogramas, fase mayoritaria tetragonal, correspondientes a  $\text{SnO}_2$ -co-irra (izquierda) y  $\text{SnO}_2$ -cal-irra (derecha).

### 3.3.5 Preparación y evaluación de generador $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ piloto

Los resultados de los dos generadores piloto se muestran en las Tablas 5 y 6 para la columna basadas en  $\text{SnO}_2\text{-co}$  y  $\text{SnO}_2\text{-cal}$  respectivamente (Romero y Morcillo, 2017). En ambos generadores pilotos se logró la adsorción cuantitativa del 100% de la actividad de  $^{68}\text{Ge}$  empleada y permitieron obtener  $^{68}\text{Ga}$  fácilmente eluyendo por encima de una concentración de  $\text{HCl}$  0,5 M. La Figura 12 muestra los rendimientos obtenidos del generador basado en  $\text{SnO}_2\text{-co}$  eluido regularmente; la eficiencia de elución de  $^{68}\text{Ga}$  fue del 40-65% durante 100 ciclos.

Nº	HCl (M)	flujo (mL/min)	% elu	% $^{68}\text{Ge}$ elu	Nº	HCl (M)	flujo (mL/min)	% elu	% $^{68}\text{Ge}$ elu
1	0,5	1	51,7		54	2	1	62,2	$1,02 \times 10^{-1}$
2	0,5	1	51,1		55	2	1	68,1	$2,10 \times 10^{-2}$
3	0,5	1	45,7	$43 \times 10^{-1}$	56	2	1	66,7	
4	0,5	1	45,2		57	2	1	62,3	
5	0,5	1	45,8		58	2	1	67	$4,93 \times 10^{-2}$
6	0,5	1	44,2		59	2	1	65,9	
7	0,5	1	43,7	$1,78 \times 10^{-2}$	60	2	1	64,9	$1,89 \times 10^{-2}$
8	0,5	1	40,2	$1,08 \times 10^{-2}$	61	2	1	66,1	
9	0,5	1	43,8		62	2	1	63	$2,94 \times 10^{-1}$
10	0,5	1	41,8		63	2	1	65,1	
11	0,5	1	43,8	$1,50 \times 10^{-2}$	64	2	1	60,7	
12	0,5	1	42,1	$2,22 \times 10^{-2}$	65	2	1	72,1	
13	0,5	1	43,2		66	2	1	64,4	
14	0,5	1	40,2	$9,31 \times 10^{-3}$	67	2	1	60,9	
15	0,5	1	40		68	2	1	66,1	$6,71 \times 10^{-2}$
16	0,5	1	43,3		69	2	1	63,5	
17	0,5	1	40,1	$8,47 \times 10^{-3}$	70	2	1	59,9	$2,73 \times 10^{-1}$
18	0,5	1	39,7	$1,04 \times 10^{-2}$	71	2	1	62,7	$7,68 \times 10^{-2}$
19	0,5	1	42,1	$7,23 \times 10^{-3}$	72	2	1	65,7	$5,92 \times 10^{-2}$
20	0,5	1	41,1		73	2	1	60	$2,51 \times 10^{-2}$
21	0,5	1	37,6		74	2	1	64,9	$1,43 \times 10^{-2}$
22	0,5	1	39,9	$1,09 \times 10^{-2}$	75	1	1	57,5	
23	0,5	1	39	$8,02 \times 10^{-2}$	76	1	1	52,3	

Nº	HCl (M)	flujo (mL/min)	% elu	% <sup>68</sup> Ge elu	Nº	HCl (M)	flujo (mL/min)	% elu	% <sup>68</sup> Ge elu
24	1	1	45,6	4,90 x 10 <sup>-2</sup>	77	1	1	52,3	
25	1	1	59,3		78	1	1	54,5	3,94 x 10 <sup>-1</sup>
26	1	1	58,8		79	1	1	52,4	3,71 x 10 <sup>-1</sup>
27	1	1	59,4	1,17 x 10 <sup>-2</sup>	80	1	1	54	
28	1	1	58,9	1,77 x 10 <sup>-2</sup>	81	1	1	53,7	
29	1	1	56,8		82	1	1	50	
30	1	1	60,7	3,55 x 10 <sup>-2</sup>	83	1	1	52,6	
31	1	1	61	2,72 x 10 <sup>-2</sup>	84	1	1	47,7	9,02 x 10 <sup>-2</sup>
32	1	1	59,2	2,30 x 10 <sup>-1</sup>	85	1	1	51,8	
33	1	1	61,4	4,21 x 10 <sup>-2</sup>	86	1	1	51,7	1,39 x 10 <sup>-1</sup>
34	1	1	57,4	4,53 x 10 <sup>-2</sup>	87	1	1	52,1	5,84 x 10 <sup>-2</sup>
35	1	1	59,6		88	1	1	53,5	
36	1	1	61	3,71 x 10 <sup>-2</sup>	89	1	1	60,2	7,11 x 10 <sup>-2</sup>
37	1	1	57,5	5,71 x 10 <sup>-2</sup>	90	1	1	51,6	4,01 x 10 <sup>-2</sup>
38	1	1	59,3	1,65 x 10 <sup>-1</sup>	91	1	1	52,2	
39	1	1	59,5		92	1	1	50,7	9,96 x 10 <sup>-2</sup>
40	1	1	57,7	5,93 x 10 <sup>-2</sup>	93	1	1	53	
41	1	1	58,3		94	1	1	50,9	5,62 x 10 <sup>-2</sup>
42	1	1	60,5		95	1	1	54,9	
43	1	1	57,8	2,28 x 10 <sup>-2</sup>	96	1	1	51,3	4,44 x 10 <sup>-2</sup>
44	1	1	61,2		97	1	1	57,1	
45	1	1	58		98	1	1	51,4	
46	1	1	56,5		99	1	1	55	
47	1	1	56,1		100	1	1	56,4	6,29 x 10 <sup>-2</sup>
48	1	1	53,9		101	1	1s	53,1	
49	1	1	54,7		102	1	1s	58,9	
50	1	1	50,6		103	1	1s	57	4,44 x 10 <sup>-2</sup>
51	2	1	54,1		104	1	1s	53,3	
52	2	1	61,9		105	1	1s	53	
53	2	1	59,6						

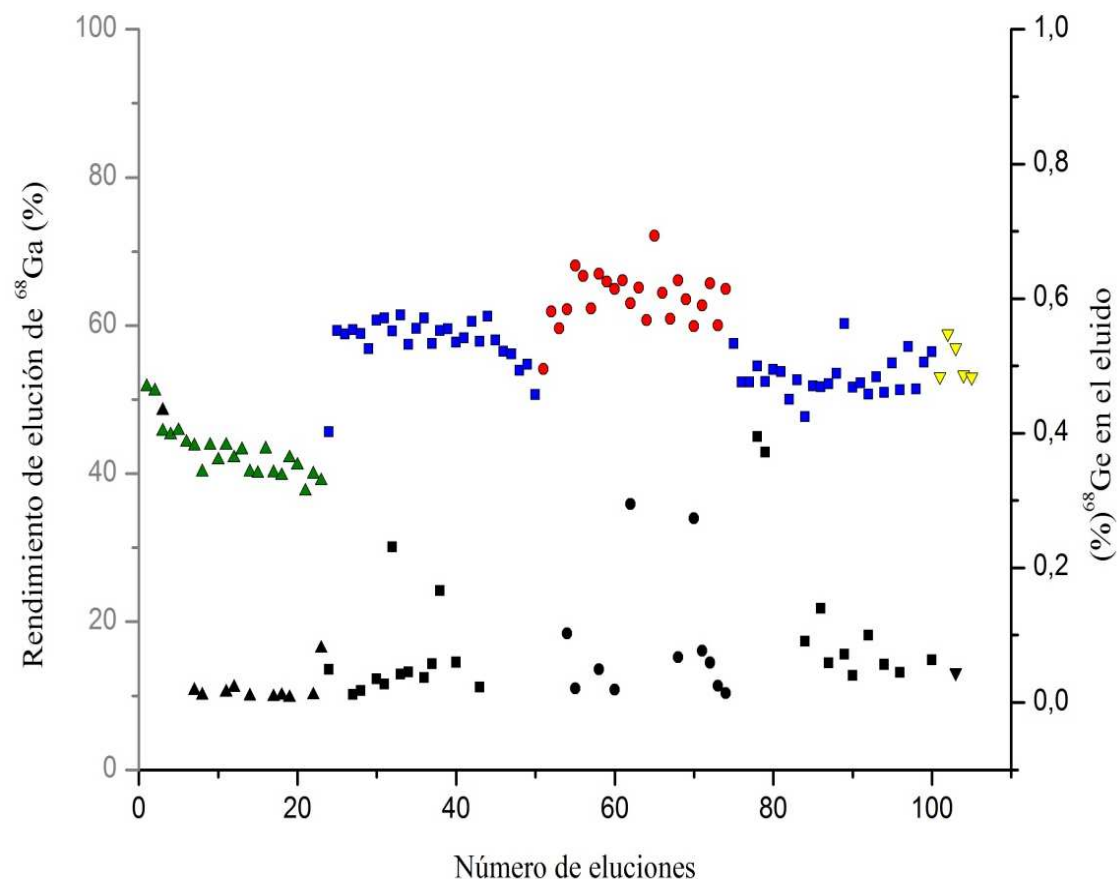
**Tabla 5.** Resultados correspondientes a la valoración del generador basado en SnO<sub>2</sub>-co. Siendo: N° = número de eluciones, % elu = rendimiento de <sup>68</sup>Ga en cada elución, % <sup>68</sup>Ge elu = el % en <sup>68</sup>Ge presente en cada elución y s = elución en forma seca.



La Figura 13 muestra los rendimientos obtenidos del generador basado en SnO<sub>2</sub>-cal igualmente eluido de forma regular; la eficiencia de elución del <sup>68</sup>Ga fue del 60-80% durante 200 ciclos de elución. Ambos generadores piloto mostraron rendimientos de elución de <sup>68</sup>Ga más altos a medida que se aumentó la concentración de HCl de 0,5 M a 2 M utilizado como eluyente y no se apreciaron grandes diferencias respecto a la velocidad de flujo empleada ni en la forma eluir (forma seca y húmeda). Los mejores resultados de los dos generadores pilotos se obtuvieron cuando se eluyeron usando HCl 1-2 M a un flujo de 1 mL/min aunque el generador basado en SnO<sub>2</sub>-cal mostró rendimientos de <sup>68</sup>Ga eluido (75-80%) mayores que el de SnO<sub>2</sub>-co (60-65%); estos resultados corroboran los obtenidos anteriormente en los estudios de los coeficientes de distribución.

Como ya se ha comentado anteriormente, los picos obtenidos por XRD para SnO<sub>2</sub>-cal fueron más altos, lo que indica un tamaño de cristal más grande y una mayor cristalinidad, mientras que los picos del SnO<sub>2</sub>-co fueron más pequeños y anchos. Por otra parte, el SnO<sub>2</sub> tratado térmicamente resulto ser macroporoso/mesoporoso, lo que podría facilitar la difusión de los iones de Ga por el sorbente. Por lo tanto, el mayor rendimiento de elución de <sup>68</sup>Ga del SnO<sub>2</sub>-cal en comparación con el SnO<sub>2</sub>-co puede estar presumiblemente asociado con el tamaño de poro y grado de cristalinidad producidos por el tratamiento térmico al que ha sido sometido.

Los resultados de los generadores pilotos están en concordancia con los obtenidos por Loc'h y cols., (1980). Estos autores describen un generador de <sup>68</sup>Ge/<sup>68</sup>Ga basado en SnO<sub>2</sub>, del cual se incrementa la actividad de <sup>68</sup>Ga eluida a medida que aumenta la concentración de HCl de 0,5 a 10 M, siendo del 50% para HCl 0,5M y de 75-80% para HCl 1M. Otros estudios muestran rendimientos de elución de <sup>68</sup>Ga similares 70-80% (McElvany y cols., 1984), 55-75% (Tang y cols., 1997) y 60-70% (Cheng y cols., 2000) empleando HCl 1 M en un generador basado en SnO<sub>2</sub>. Aardaneh y cols., (2006) empleando SnO<sub>2</sub> calcinado, obtuvieron un rendimiento de elución de <sup>68</sup>Ga del 65%.



**Figura 12.** Resumen estudio generador  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  piloto basado en  $\text{SnO}_2$ -co eluido regularmente,  $^{68}\text{Ga}$  eluido: HCl 0,5 M, flujo 1 mL/min ( $\blacktriangle$ ), HCl 1 M, flujo 1 mL/min ( $\blacksquare$ ), HCl 2 M, flujo 1 mL/min ( $\bullet$ ), HCl 1 M, flujo 1 mL/min forma seca ( $\blacktriangledown$ ) y el contenido de  $^{68}\text{Ge}$ : ( $\blacktriangle$ ), ( $\blacksquare$ ), ( $\bullet$ ), ( $\blacktriangledown$ ) en cada elución respectivamente.

Una gran ventaja de los generadores pilotos descritos en este trabajo es la posibilidad de operar de forma "seca", disminuyendo de esta manera la posible degradación de la fase estacionaria empaquetada en la columna por permanecer en contacto con un medio ácido (Cheng y cols., 2000).

N°	HCl (M)	flujo(mL/min)	%elu	% $^{68}\text{Ge}$ elu	N°	HCl (M)	flujo (mL/min)	% elu	% $^{68}\text{Ge}$ elu
1	0,5	1	52		104	1	1s	79,5	
2	0,5	1	51,7		105	1	1s	79,2	$1,97 \times 10^{-3}$
3	0,5	1	63,9		106	1	1s	79,6	
4	0,5	1	63,1	$8,61 \times 10^{-4}$	107	1	1s	75,9	
5	0,5	1	65,9		108	1	1s	79,1	



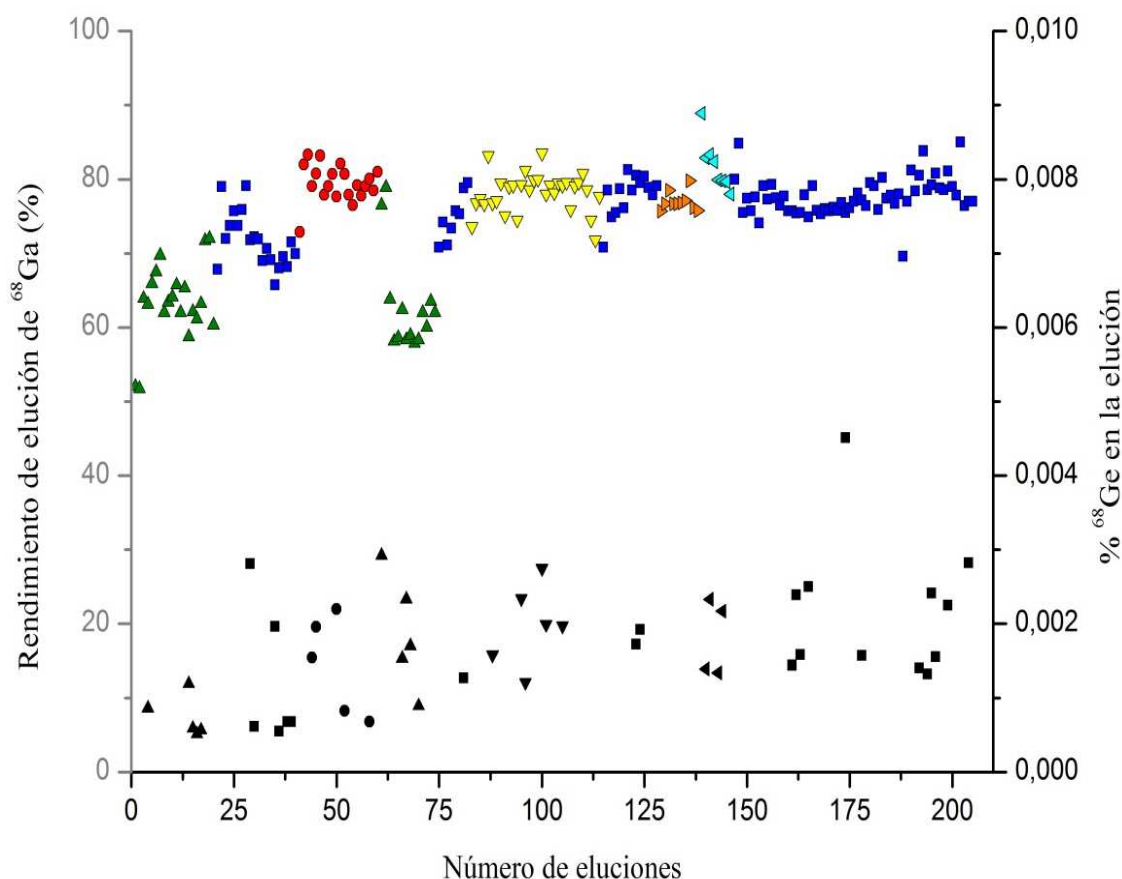
Nº	HCl (M)	flujo(mL/min)	%elu	% <sup>68</sup> Ge elu	Nº	HCl (M)	flujo (mL/min)	% elu	% <sup>68</sup> Ge elu
6	0,5	1	67,5		109	1	1s	79,6	
7	0,5	1	69,7		110	1	1s	80,8	
8	0,5	1	62		111	1	1s	78,6	
9	0,5	1	63,4		112	1	1s	74,5	
10	0,5	1	64,1		113	1	1s	71,8	
11	0,5	1	65,7		114	1	1s	77,7	
12	0,5	1	62		115	1	1	70,8	
13	0,5	1	65,3		116	1	1	78,5	
14	0,5	1	58,7	1,19 x 10 <sup>-3</sup>	117	1	1	74,9	
15	0,5	1	62,1	5,88 x 10 <sup>-4</sup>	118	1	1	75,5	
16	0,5	1	61,1	5,13 x 10 <sup>-4</sup>	119	1	1	78,7	
17	0,5	1	63,2	5,64 x 10 <sup>-4</sup>	120	1	1	76,1	
18	0,5	1	71,7		121	1	1	81,3	
19	0,5	1	72		122	1	1	78,5	
20	0,5	1	60,3		123	1	1	80,5	1,72 x 10 <sup>-3</sup>
21	1	1	67,8		124	1	1	79,5	1,92 x 10 <sup>-3</sup>
22	1	1	79		125	1	1	80,4	
23	1	1	72		126	1	1	78,9	
24	1	1	73,7		127	1	1	77,9	
25	1	1	75,7		128	1	1	79,1	
26	1	1	73,7		129	1	1,5	75,7	
27	1	1	75,9		130	1	1,5	76,7	
28	1	1	79,1		131	1	1,5	78,5	
29	1	1	71,8	2,81 x 10 <sup>-3</sup>	132	1	1,5	76,7	
30	1	1	72,2	6,11 x 10 <sup>-4</sup>	133	1	1,5	76,7	
31	1	1	71,9		134	1	1,5	76,8	
32	1	1	69		135	1	1,5	77,1	
33	1	1	70,6		136	1	1,5	79,8	
34	1	1	69,1		137	1	1,5	76,2	
35	1	1	65,7	1,96 x 10 <sup>-3</sup>	138	1	1,5	75,8	
36	1	1	68	5,50 x 10 <sup>-4</sup>	139	1	0,5	88,9	
37	1	1	69,5		140	1	0,5	82,9	1,39 x 10 <sup>-3</sup>
38	1	1	68,2	6,75 x 10 <sup>-4</sup>	141	1	0,5	83,3	2,33 x 10 <sup>-3</sup>
39	1	1	71,5	6,74 x 10 <sup>-4</sup>	142	1	0,5	82,4	
40	1	1	69,9		143	1	0,5	79,9	1,34 x 10 <sup>-3</sup>
41	2	1	72,9		144	1	0,5	79,8	2,17 x 10 <sup>-3</sup>

N°	HCl (M)	flujo(mL/min)	%elu	% <sup>68</sup> Ge elu	N°	HCl (M)	flujo (mL/min)	% elu	% <sup>68</sup> Ge elu
42	2	1	82		145	1	0,5	79,7	
43	2	1	83,3		146	1	0,5	78	
44	2	1	79,1	1,54 x 10 <sup>-3</sup>	147	1	1	80	
45	2	1	80,8	1,96 x 10 <sup>-3</sup>	148	1	1	84,8	
46	2	1	83,2		149	1	1	75,5	
47	2	1	77,9		150	1	1	77,4	
48	2	1	79,1		151	1	1	75,7	
49	2	1	80,7		152	1	1	77,6	
50	2	1	77,7	2,22 x 10 <sup>-3</sup>	153	1	1	74,1	
51	2	1	82,1		154	1	1	79,1	
52	2	1	80,7	8,25 x 10 <sup>-4</sup>	155	1	1	77,3	
53	2	1	77,9		156	1	1	79,3	
54	2	1	76,5		157	1	1	77,5	
55	2	1	79,2		158	1	1	76,5	
56	2	1	77,8		159	1	1	77,7	
57	2	1	79,1		160	1	1	75,7	
58	2	1	80,1	6,77 x 10 <sup>-4</sup>	161	1	1	75,7	1,44 x 10 <sup>-3</sup>
59	2	1	78,5		162	1	1	75,4	2,39 x 10 <sup>-3</sup>
60	2	1	81		163	1	1	75,5	1,58 x 10 <sup>-3</sup>
61	0,5	1	76,5	2,92 x 10 <sup>-3</sup>	164	1	1	77,9	
62	0,5	1	78,9		165	1	1	74,9	2,55 x 10 <sup>-3</sup>
63	0,5	1	63,8		166	1	1	79,1	
64	0,5	1	58,1		167	1	1	75,8	
65	0,5	1	58,6		168	1	1	75,3	
66	0,5	1	62,4	1,53 x 10 <sup>-3</sup>	169	1	1	76	
67	0,5	1	58,3	2,33 x 10 <sup>-3</sup>	170	1	1	75,7	
68	0,5	1	58,9	1,75 x 10 <sup>-3</sup>	171	1	1	76,2	
69	0,5	1	57,8		172	1	1	75,8	
70	0,5	1	58,3	8,92 x 10 <sup>-4</sup>	173	1	1	76,8	
71	0,5	1	62		174	1	1	75,5	4,51 x 10 <sup>-3</sup>
72	0,5	1	60		175	1	1	76,1	
73	0,5	1	63,5		176	1	1	77	
74	0,5	1	62		177	1	1	78,1	
75	1	1	70,8		178	1	1	77,2	1,57 x 10 <sup>-3</sup>
76	1	1	74,2		179	1	1	76,4	
77	1	1	71,1		180	1	1	79,5	
78	1	1	73,4		181	1	1	79,1	



N°	HCl (M)	flujo(mL/min)	%elu	% <sup>68</sup> Ge elu	N°	HCl (M)	flujo (mL/min)	% elu	% <sup>68</sup> Ge elu
79	1	1	75,7		182	1	1	75,9	
80	1	1	75,3		183	1	1	80,2	
81	1	1	78,8	1,27 x 10 <sup>-3</sup>	184	1	1	77,4	
82	1	1	79,5		185	1	1	77,8	
83	1	1s	73,6		186	1	1	76,7	
84	1	1s	76,8		187	1	1	78	
85	1	1s	77,4		188	1	1	69,6	
86	1	1s	76,7		189	1	1	77	
87	1	1s	83,2		190	1	1	81,2	
88	1	1s	76,8	1,58 x 10 <sup>-3</sup>	191	1	1	78,4	
89	1	1s	77,1		192	1	1	80,5	1,44 x 10 <sup>-3</sup>
90	1	1s	79,5		193	1	1	83,8	
91	1	1s	75,1		194	1	1	78,6	1,32 x 10 <sup>-3</sup>
92	1	1s	79		195	1	1	79,2	2,41 x 10 <sup>-3</sup>
93	1	1s	79,2		196	1	1	80,8	1,55 x 10 <sup>-3</sup>
94	1	1s	74,5		197	1	1	78,8	
95	1	1s	79,3	2,34 x 10 <sup>-3</sup>	198	1	1	78,6	
96	1	1s	81,2	1,21 x 10 <sup>-3</sup>	199	1	1	81,1	2,25 x 10 <sup>-3</sup>
97	1	1s	78,6		200	1	1	79	
98	1	1s	79,9		201	1	1	77,8	
99	1	1s	80		202	1	1	85	
100	1	1s	83,5	2,75 x 10 <sup>-3</sup>	203	1	1	76,4	
101	1	1s	78	1,99 x 10 <sup>-3</sup>	204	1	1	77	2,82 x 10 <sup>-3</sup>
102	1	1s	79,2		205	1	1	77	
103	1	1s	78,2						

**Tabla 6.** Resultados correspondientes a la valoración del generador piloto basado en SnO<sub>2</sub>-cal. Siendo: N° = número de eluciones, % elu = rendimiento de <sup>68</sup>Ga en cada elución, % <sup>68</sup>Ge elu = el % en <sup>68</sup>Ge presente en cada elución y s = elución en forma seca.



**Figura 13.** Resumen estudio generador  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  piloto basado en  $\text{SnO}_2\text{-cal}$  y eluido regularmente, para el  $^{68}\text{Ga}$ : HCl 0,5 M, flujo 1 mL/min ( $\blacktriangle$ ), HCl 1 M, flujo 1 mL/min ( $\blacksquare$ ), HCl 2 M, flujo 1 mL/min ( $\bullet$ ), HCl 1 M, flujo 1,5 mL/min ( $\blacktriangleright$ ), HCl 1 M, flujo 0,5 mL/min ( $\blacktriangleleft$ ) y HCl 1 M, flujo 1 mL/min forma seca ( $\blacktriangledown$ ) y para el contenido de  $^{68}\text{Ge}$ : ( $\blacktriangle$ ), ( $\blacksquare$ ), ( $\bullet$ ), ( $\blacktriangleright$ ), ( $\blacktriangleleft$ ), ( $\blacktriangledown$ ) en cada elución respectivamente.

Respecto al contenido de  $^{68}\text{Ge}$  en el eluido o “breakthrough” (Tablas 5 y 6 y Figuras 12 y 13) puede observarse que para el generador piloto basado en  $\text{SnO}_2\text{-cal}$  después de 200 eluciones fue de  $1,6 \times 10^{-3} \pm 7 \times 10^{-4}\%$  (media aritmética  $\pm$  desviación estándar,  $n = 45$ ) y de  $4,1 \times 10^{-2} \pm 2,7 \times 10^{-2}\%$  ( $n = 39$ ) para el generador piloto basado en  $\text{SnO}_2\text{-co}$  durante 100 eluciones. En el caso de no realizar eluciones diarias (durante fines de semana, largos periodos, etc), el breakthrough aumentó significativamente. La cantidad de  $^{68}\text{Ge}$  eluida disminuyó hasta los valores anteriores después de realizar eluciones sucesivas, por tanto, es recomendable realizar las eluciones de forma diaria.

Los generadores disponibles en la actualidad de forma comercial (Tabla 1) son eluidos con soluciones de ácido clorhídrico desde 0,05 hasta 1 M, los rendimientos de elución de  $^{68}\text{Ga}$  van desde alrededor desde 65% hasta 80% y aproximadamente un contenido en  $^{68}\text{Ge}$  del 0,01-0,001% cuando estos generadores son nuevos pudiendo verse incrementados estos valores mediante los ciclos de elución y el tiempo de uso, por tanto, los dos generadores pilotos evaluados en el presente trabajo muestran resultados semejantes a otros generadores descritos, aunque el generador basado en  $\text{SnO}_2\text{-cal}$  tiene una mayor capacidad de separación selectiva del par  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  usando HCl como eluyente. Además, se obtiene alrededor de un 15% más de  $^{68}\text{Ga}$  y un breakthrough en el eluido inferior en dos órdenes de magnitud (Figura 13) en comparación con el generador basado en  $\text{SnO}_2\text{-co}$  (Figura 12). Por lo tanto, el  $\text{SnO}_2\text{-cal}$  resultó ser el potencial candidato para el desarrollo del escalado de un generador  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  con más actividad.

### 3.3.6 Preparación y evaluación de generador $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ prototipo

La adsorción de 740 MBq de actividad de  $^{68}\text{Ge}$  en el generador prototipo de  $\text{SnO}_2\text{-cal}$  resultó completa. La Tabla 7 y Figura 14, muestran los rendimientos del generador prototipo durante 1 año y 305 eluciones. Las primeras 68 eluciones mostraron rendimientos de elución del  $70,06 \pm 3,51\%$  (usando HCl 0,5 M como eluyente y un flujo de 1 mL/min), las siguientes 50 eluciones rendimientos del  $91,09 \pm 1,84\%$  (usando HCl 1 M, 1 mL/min), las sucesivas 41 eluciones del  $86,32 \pm 2,12\%$  (usando HCl 1 M y un flujo de 1,5 mL/min), las siguientes 59 eluciones  $83,47 \pm 1,51\%$  (empleando HCl 1 M, 1 mL/min), las siguientes 15 eluciones mostraron rendimientos de  $80,10 \pm 3,80\%$  (en forma seca empleando HCl 1 M, 1 mL/min), las siguientes 20 eluciones  $81,42 \pm 2,90\%$  (empleando HCl 1 M y un flujo de 1 mL/min), las siguientes 25 de  $77,86 \pm 3,36\%$  (en forma seca, HCl 1 M, 1 mL/min) y finalmente las últimas 27 de  $73,82 \pm 1,89\%$  (en forma húmeda, empleando HCl 1 M, 1 mL/min).

Nº	HCl (M)	flujo (mL/min)	% elu	% <sup>68</sup> Ge elu	Nº	HCl (M)	flujo (mL/min)	% elu	% <sup>68</sup> Ge elu
1	0,5	1	71		154	1	1,5	84,8	
2	0,5	1	70,1	4,18 x 10 <sup>-5</sup>	155	1	1,5	84,3	4,01 x 10 <sup>-5</sup>
3	0,5	1	72,6	4,14 x 10 <sup>-5</sup>	156	1	1,5	85	1,12 x 10 <sup>-4</sup>
4	0,5	1	68,4	2,64 x 10 <sup>-5</sup>	157	1	1,5	85,4	7,86 x 10 <sup>-5</sup>
5	0,5	1	70	2,54 x 10 <sup>-5</sup>	158	1	1,5	83,6	5,24 x 10 <sup>-5</sup>
6	0,5	1	65,2	1,77 x 10 <sup>-5</sup>	159	1	1,5	83,8	4,04 x 10 <sup>-5</sup>
7	0,5	1	65,6		160	1	1	85,9	5,48 x 10 <sup>-5</sup>
8	0,5	1	70,2	5,80 x 10 <sup>-4</sup>	161	1	1	86,7	4,90 x 10 <sup>-5</sup>
9	0,5	1	65,7	2,84 x 10 <sup>-5</sup>	162	1	1	86,8	6,10 x 10 <sup>-5</sup>
10	0,5	1	69,5	1,65 x 10 <sup>-5</sup>	163	1	1	84,4	
11	0,5	1	65,8	1,79 x 10 <sup>-5</sup>	164	1	1	86,3	
12	0,5	1	68,4	1,34 x 10 <sup>-4</sup>	165	1	1	83,5	5,78 x 10 <sup>-5</sup>
13	0,5	1	70,2	9,23 x 10 <sup>-5</sup>	166	1	1	85	3,91 x 10 <sup>-5</sup>
14	0,5	1	75	1,53 x 10 <sup>-4</sup>	167	1	1	84,6	
15	0,5	1	75,5	1,57 x 10 <sup>-5</sup>	168	1	1	85	
16	0,5	1	70,1	1,55 x 10 <sup>-5</sup>	169	1	1	84,7	
17	0,5	1	65,8	3,06 x 10 <sup>-5</sup>	170	1	1	84,4	
18	0,5	1	70,2	5,01 x 10 <sup>-5</sup>	171	1	1	84,7	3,66 x 10 <sup>-5</sup>
19	0,5	1	67,1	8,16 x 10 <sup>-5</sup>	172	1	1	83,6	
20	0,5	1	65,1	7,17 x 10 <sup>-5</sup>	173	1	1	83,1	
21	0,5	1	73,5	1,19 x 10 <sup>-4</sup>	174	1	1	83,9	4,69 x 10 <sup>-5</sup>
22	0,5	1	67,5	7,06 x 10 <sup>-5</sup>	175	1	1	83,5	4,65 x 10 <sup>-5</sup>
23	0,5	1	69,6	6,99 x 10 <sup>-5</sup>	176	1	1	83,6	
24	0,5	1	68,2	9,02 x 10 <sup>-5</sup>	177	1	1	84,3	4,73 x 10 <sup>-5</sup>
25	0,5	1	70,3	8,94 x 10 <sup>-5</sup>	178	1	1	81,5	
26	0,5	1	72,6	6,97 x 10 <sup>-5</sup>	179	1	1	82,6	
27	0,5	1	71,2	1,02 x 10 <sup>-4</sup>	180	1	1	83,2	4,38 x 10 <sup>-5</sup>
28	0,5	1	67,8	6,03 x 10 <sup>-5</sup>	181	1	1	84,4	
29	0,5	1	74,2	5,80 x 10 <sup>-5</sup>	182	1	1	84	4,38 x 10 <sup>-5</sup>
30	0,5	1	71,4		183	1	1	83,1	4,62 x 10 <sup>-5</sup>
31	0,5	1	68,5		184	1	1	83,7	4,15 x 10 <sup>-5</sup>
32	0,5	1	70,1		185	1	1	82,4	
33	0,5	1	65,9		186	1	1	83,4	4,80 x 10 <sup>-5</sup>
34	0,5	1	65,7	8,75 x 10 <sup>-5</sup>	187	1	1	85,7	
35	0,5	1	68,9	6,01 x 10 <sup>-5</sup>	188	1	1	80,8	
36	0,5	1	62,8		189	1	1	82,3	
37	0,5	1	75,6		190	1	1	82,5	5,66 x 10 <sup>-5</sup>



Nº	HCl (M)	flujo (mL/min)	% elu	% <sup>68</sup> Ge elu	Nº	HCl (M)	flujo (mL/min)	% elu	% <sup>68</sup> Ge elu
38	0,5	1	68,5		191	1	1	83,4	
39	0,5	1	72,5	8,43 x 10 <sup>-5</sup>	192	1	1	84,4	
40	0,5	1	67,4	4,80 x 10 <sup>-5</sup>	193	1	1	80,5	
41	0,5	1	69,8	5,59 x 10 <sup>-5</sup>	194	1	1	84,6	
42	0,5	1	68,4		195	1	1	82,3	5,07 x 10 <sup>-5</sup>
43	0,5	1	69		196	1	1	81,4	
44	0,5	1	70,8		197	1	1	83,9	
45	0,5	1	68,6		198	1	1	80,2	
46	0,5	1	73,5		199	1	1	83,9	
47	0,5	1	68,4		200	1	1	83,2	4,37 x 10 <sup>-5</sup>
48	0,5	1	69,8		201	1	1	82,6	
49	0,5	1	66,8	6,10 x 10 <sup>-5</sup>	202	1	1	84	
50	0,5	1	71	4,91 x 10 <sup>-5</sup>	203	1	1	85,6	
51	0,5	1	71,2	4,18 x 10 <sup>-5</sup>	204	1	1	83,1	
52	0,5	1	71,6		205	1	1	83,8	
53	0,5	1	72,6		206	1	1	81,4	
54	0,5	1	73,2	6,30 x 10 <sup>-5</sup>	207	1	1	83,1	
55	0,5	1	68	7,44 x 10 <sup>-5</sup>	208	1	1	82,9	
56	0,5	1	66,6	4,70 x 10 <sup>-5</sup>	209	1	1	83,3	
57	0,5	1	65,8	5,59 x 10 <sup>-5</sup>	210	1	1	85	
58	0,5	1	67,4		211	1	1	81,8	4,40 x 10 <sup>-5</sup>
59	0,5	1	66,7	4,74 x 10 <sup>-5</sup>	212	1	1	83,1	5,03 x 10 <sup>-5</sup>
60	0,5	1	77,2	5,10 x 10 <sup>-5</sup>	213	1	1	84,3	5,19 x 10 <sup>-5</sup>
61	0,5	1	76,8	6,13 x 10 <sup>-5</sup>	214	1	1	82,5	
62	0,5	1	68		215	1	1	83,1	
63	0,5	1	79,4	4,63 x 10 <sup>-5</sup>	216	1	1	80,5	4,70 x 10 <sup>-5</sup>
64	0,5	1	76,9	6,36 x 10 <sup>-5</sup>	217	1	1	80,7	
65	0,5	1	67,5		218	1	1	82,5	
66	0,5	1	76,9	4,30 x 10 <sup>-5</sup>	219	1	1s	75,5	
67	0,5	1	76,2	3,06 x 10 <sup>-4</sup>	220	1	1s	77,8	
68	0,5	1	72		221	1	1s	84,6	4,54 x 10 <sup>-5</sup>
69	1	1	95,5	4,43 x 10 <sup>-5</sup>	222	1	1s	91,5	4,52 x 10 <sup>-5</sup>
70	1	1	94,1	8,11 x 10 <sup>-5</sup>	223	1	1s	80,1	4,89 x 10 <sup>-5</sup>
71	1	1	89,8	4,85 x 10 <sup>-5</sup>	224	1	1s	80,1	
72	1	1	92,2		225	1	1s	78,7	4,68 x 10 <sup>-5</sup>
73	1	1	92,6		226	1	1s	80,5	
74	1	1	89,9	5,28 x 10 <sup>-5</sup>	227	1	1s	81,3	

Nº	HCl (M)	flujo (mL/min)	% elu	% <sup>68</sup> Ge elu	Nº	HCl (M)	flujo (mL/min)	% elu	% <sup>68</sup> Ge elu
75	1	1	92,4	5,45 x 10 <sup>-5</sup>	228	1	1s	78,9	4,24 x 10 <sup>-5</sup>
76	1	1	90,8		229	1	1s	77,6	
77	1	1	88,9		230	1	1s	78,4	
78	1	1	92,2	6,09 x 10 <sup>-5</sup>	231	1	1s	80,9	
79	1	1	93		232	1	1s	77,8	
80	1	1	89,6	5,71 x 10 <sup>-5</sup>	233	1	1s	77,8	
81	1	1	93,4		234	1	1	76,8	
82	1	1	92,2	4,85 x 10 <sup>-5</sup>	235	1	1	78,8	
83	1	1	89,8		236	1	1	80,9	
84	1	1	93,4		237	1	1	77,8	5,40 x 10 <sup>-5</sup>
85	1	1	92,7	4,82 x 10 <sup>-5</sup>	238	1	1	79,1	
86	1	1	90,2		239	1	1	78	
87	1	1	92,2	6,85 x 10 <sup>-5</sup>	240	1	1	78,4	
88	1	1	92,7	5,89 x 10 <sup>-5</sup>	241	1	1	82,4	4,30 x 10 <sup>-5</sup>
89	1	1	89,2		242	1	1	81,5	
90	1	1	90,3	6,10 x 10 <sup>-5</sup>	243	1	1	84	
91	1	1	90,8		244	1	1	81,8	
92	1	1	88,7	5,93 x 10 <sup>-5</sup>	245	1	1	85,4	4,50 x 10 <sup>-5</sup>
93	1	1	89,5	4,03 x 10 <sup>-5</sup>	246	1	1	86	
94	1	1	88,6		247	1	1	79,5	4,94 x 10 <sup>-5</sup>
95	1	1	90,9	4,01 x 10 <sup>-5</sup>	248	1	1	82,2	
96	1	1	88,7	1,12 x 10 <sup>-4</sup>	249	1	1	84,7	4,21 x 10 <sup>-5</sup>
97	1	1	89,4	7,86 x 10 <sup>-5</sup>	250	1	1	81,4	
98	1	1	93,4	5,24 x 10 <sup>-5</sup>	251	1	1	83,6	5,89 x 10 <sup>-5</sup>
99	1	1	88,9	4,04 x 10 <sup>-5</sup>	252	1	1	86,4	4,60 x 10 <sup>-5</sup>
100	1	1	89,9	5,48 x 10 <sup>-5</sup>	253	1	1	79,7	4,87 x 10 <sup>-5</sup>
101	1	1	90,3	4,90 x 10 <sup>-5</sup>	254	1	1s	80,8	
102	1	1	89,1	6,10 x 10 <sup>-5</sup>	255	1	1s	76,7	
103	1	1	91,2		256	1	1s	85,1	
104	1	1	91,5		257	1	1s	79,1	
105	1	1	88,6	5,78 x 10 <sup>-5</sup>	258	1	1s	77,6	
106	1	1	91,8	4,55 x 10 <sup>-5</sup>	259	1	1s	80,5	
107	1	1	89,4		260	1	1s	74,9	5,13 x 10 <sup>-5</sup>
108	1	1	88,5		261	1	1s	73,1	5,26 x 10 <sup>-5</sup>
109	1	1	91,7		262	1	1s	80,9	
110	1	1	94,4		263	1	1s	84,9	
111	1	1	88,7	3,66 x 10 <sup>-4</sup>	264	1	1s	81,8	



Nº	HCl (M)	flujo (mL/min)	% elu	% <sup>68</sup> Ge elu	Nº	HCl (M)	flujo (mL/min)	% elu	% <sup>68</sup> Ge elu
112	1	1	92,7		265	1	1s	75,8	
113	1	1	92,1		266	1	1s	77,1	
114	1	1	90	4,69 x 10 <sup>-5</sup>	267	1	1s	78,1	
115	1	1	91,9	4,65 x 10 <sup>-5</sup>	268	1	1s	79,3	
116	1	1	91,7		269	1	1s	76,2	7,16 x 10 <sup>-5</sup>
117	1	1	94,7	4,73 x 10 <sup>-5</sup>	270	1	1s	78,5	
118	1	1	90,2		271	1	1s	79,4	
119	1	1,5	87,9		272	1	1s	71,7	4,62 x 10 <sup>-5</sup>
120	1	1,5	87,3	4,38 x 10 <sup>-5</sup>	273	1	1s	75,5	6,45 x 10 <sup>-5</sup>
121	1	1,5	88,5		274	1	1s	74,7	2,70 x 10 <sup>-4</sup>
122	1	1,5	87,7		275	1	1s	76,1	4,62 x 10 <sup>-5</sup>
123	1	1,5	85,2	4,63 x 10 <sup>-5</sup>	276	1	1s	78,8	4,66 x 10 <sup>-5</sup>
124	1	1,5	89,8	6,36 x 10 <sup>-5</sup>	277	1	1s	73,1	4,13 x 10 <sup>-5</sup>
125	1	1,5	90,7		278	1	1s	76,9	
126	1	1,5	86,7	4,30 x 10 <sup>-5</sup>	279	1	1	74,2	4,16 x 10 <sup>-5</sup>
127	1	1,5	88,1	3,06 x 10 <sup>-5</sup>	280	1	1	74,9	4,69 x 10 <sup>-5</sup>
128	1	1,5	87,9		281	1	1	73,5	
129	1	1,5	89,1	4,43 x 10 <sup>-5</sup>	282	1	1	72,2	
130	1	1,5	86,8	8,11 x 10 <sup>-5</sup>	283	1	1	72,2	4,83 x 10 <sup>-5</sup>
131	1	1,5	88,9	4,85 x 10 <sup>-5</sup>	284	1	1	73,7	4,55 x 10 <sup>-5</sup>
132	1	1,5	91,7		285	1	1	77,4	
133	1	1,5	86,3		286	1	1	74,6	5,18 x 10 <sup>-5</sup>
134	1	1,5	88,1	5,28 x 10 <sup>-5</sup>	287	1	1	76,7	
135	1	1,5	86	5,45 x 10 <sup>-5</sup>	288	1	1	73,1	4,83 x 10 <sup>-5</sup>
136	1	1,5	88,5		289	1	1	74,3	
137	1	1,5	87,2		290	1	1	76	5,46 x 10 <sup>-5</sup>
138	1	1,5	85,2	6,09 x 10 <sup>-5</sup>	291	1	1	75,7	
139	1	1,5	86,7		292	1	1	74,9	
140	1	1,5	84,7	5,71 x 10 <sup>-5</sup>	293	1	1	75,4	
141	1	1,5	85,5		294	1	1	75,5	
142	1	1,5	85,3	4,85 x 10 <sup>-4</sup>	295	1	1	75,1	5,22 x 10 <sup>-5</sup>
143	1	1,5	88		296	1	1	74,7	
144	1	1,5	85,5		297	1	1	72,9	
145	1	1,5	85,8	6,85 x 10 <sup>-5</sup>	298	1	1	69,7	
146	1	1,5	82,4		299	1	1	72,8	
147	1	1,5	83,8	6,85 x 10 <sup>-5</sup>	300	1	1	70,1	
148	1	1,5	84,7	5,89 x 10 <sup>-5</sup>	301	1	1	70,3	



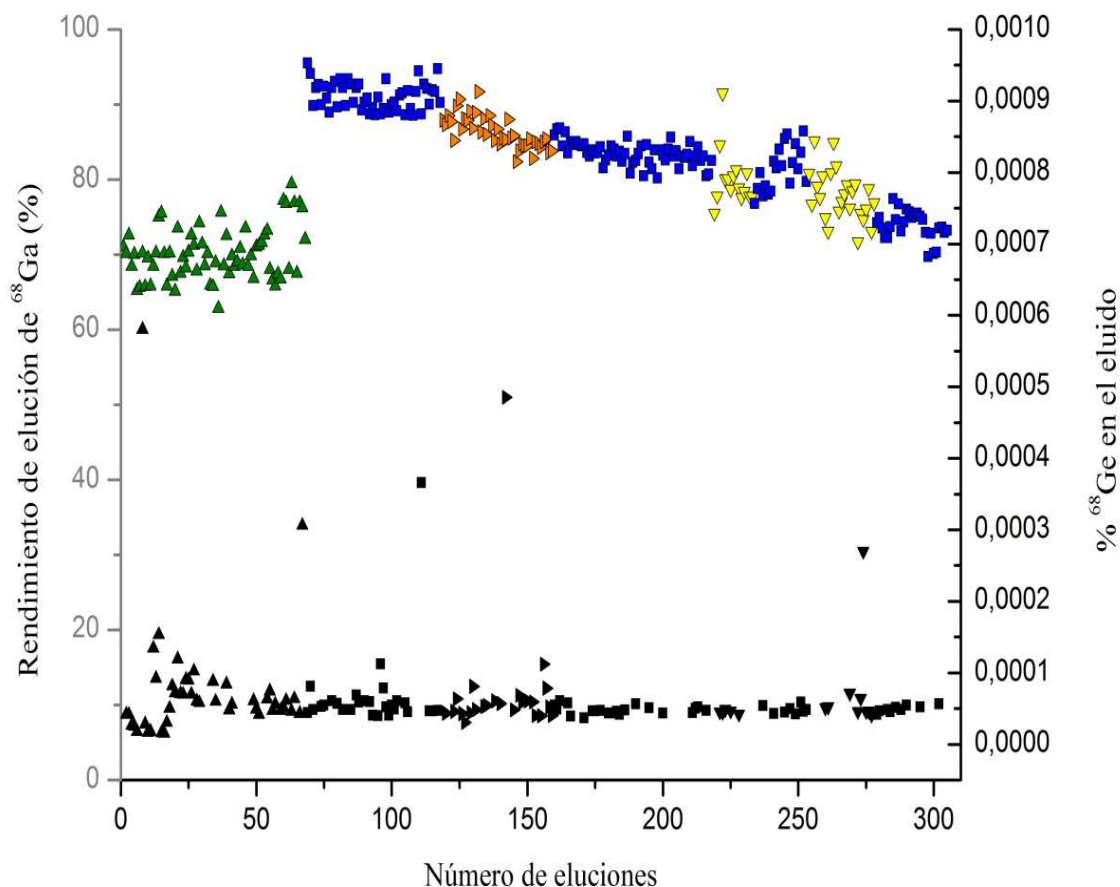
N°	HCl (M)	flujo (mL/min)	% elu	% <sup>68</sup> Ge elu	N°	HCl (M)	flujo (mL/min)	% elu	% <sup>68</sup> Ge elu
149	1	1,5	84,5		302	1	1	73,5	5,66 x 10 <sup>-5</sup>
150	1	1,5	84,5	6,10 x 10 <sup>-5</sup>	303	1	1	73,6	
151	1	1,5	85,4		304	1	1	72,9	
152	1	1,5	82,8	5,93 x 10 <sup>-5</sup>	305	1	1	73,2	
153	1	1,5	85	4,03 x 10 <sup>-5</sup>					

**Tabla 7.** Resultados correspondientes a la valoración del generador prototipo basado en SnO<sub>2</sub>-cal.

Siendo: N° = número de eluciones, % elu = rendimiento de <sup>68</sup>Ga en cada elución, % <sup>68</sup>Ge elu = el % de <sup>68</sup>Ge presente en cada elución y s = elución en forma seca.

Los rendimientos de elución obtenidos corroboran el hecho de que al aumentar la concentración de HCl se incrementa el porcentaje de <sup>68</sup>Ga eluido, no mostrando diferencias apreciables en el rendimiento cuando se eluyó en forma húmeda o seca. La eficiencia de elución del generador al inicio del estudio fue de  $\geq 90\%$ , aunque los rendimientos disminuyeron gradualmente hasta valores del orden del 70% debido al número de eluciones o al período de uso, hecho descrito comúnmente para los generadores basados en óxidos inorgánicos. Aunque la elución con HCl 2 M obtuvo mayores rendimientos de <sup>68</sup>Ga en los generadores pilotos (Tabla 5 y 6), se prefirió eluir el generador prototipo con menos acidez, máximo 1 M, con el fin de preservar la integridad de la columna del generador.

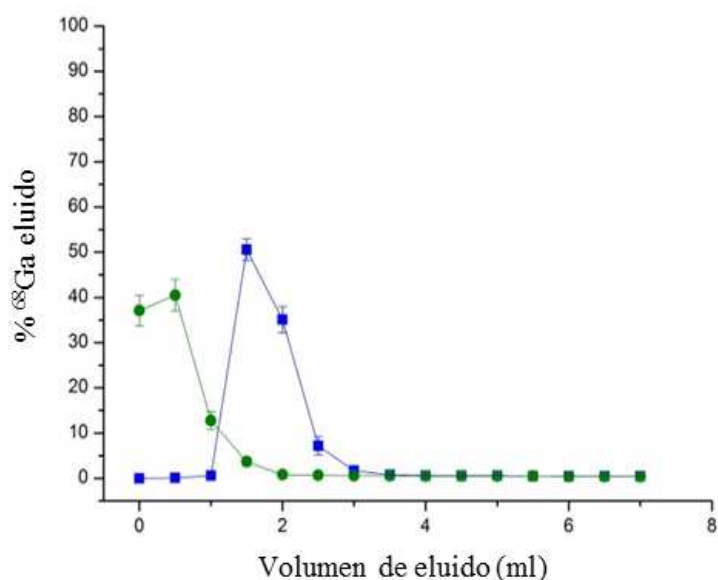
Por otra parte, los rendimientos de elución cuando el generador era nuevo y después de 1 año de uso, con más de 300 ciclos de elución, fueron ligeramente mejores que los que se citan en las especificaciones de los generadores comerciales (Tabla 1, capítulo 3, apartado 3.1, página 102). Además, otra gran ventaja frente a los generadores presentes actualmente en el mercado es la posibilidad de eluir en forma seca, disminuyendo de ese modo la posible degradación debida al eluyente ácido tan concentrado.



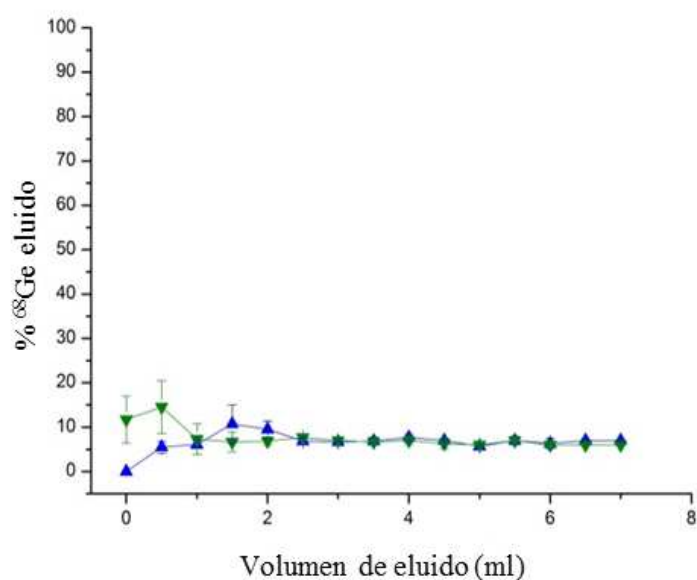
**Figura 14.** Resumen estudio del generador  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  prototipo basado en  $\text{SnO}_2\text{-cal}$  y eluido regularmente, para el  $^{68}\text{Ga}$ : HCl 0,5 M, flujo 1 mL/min ( $\blacktriangle$ ), HCl 1 M, flujo 1 mL/min ( $\blacksquare$ ), HCl 1 M, flujo 1,5 mL/min ( $\blacktriangleright$ ) y HCl 1 M, flujo 1 mL/min forma seca ( $\blacktriangledown$ ) y para el  $^{68}\text{Ge}$ : ( $\blacktriangle$ ), ( $\blacksquare$ ), ( $\blacktriangleright$ ), ( $\blacktriangledown$ ) en cada elución respectivamente.

Las características del perfil de elución, en fracciones de 0,5 mL, se muestran en la Figura 15; el 98% del  $^{68}\text{Ga}$  eluido puede ser obtenido en un volumen de 7 mL cuando es eluido de forma húmeda, perfiles similares a los obtenidos con los generadores comerciales (Figura 17). Por lo tanto, se sugiere que el volumen de eluyente empleado sea al menos 7 mL. El  $85 \pm 5,3\%$  de la actividad eluida puede obtenerse en un volumen de 1 mL en forma húmeda, mientras que el  $77 \pm 6,9\%$  de la actividad  $^{68}\text{Ga}$  puede obtenerse usando el mismo volumen del eluyente en forma seca, en ambos casos se puede emplear la fracción de máxima actividad directamente para la síntesis de radiofármacos. El perfil de elución del  $^{68}\text{Ge}$  tanto en forma seca como húmeda muestra que la cantidad de  $^{68}\text{Ge}$  es prácticamente constante en todas las fracciones (Figura 16).

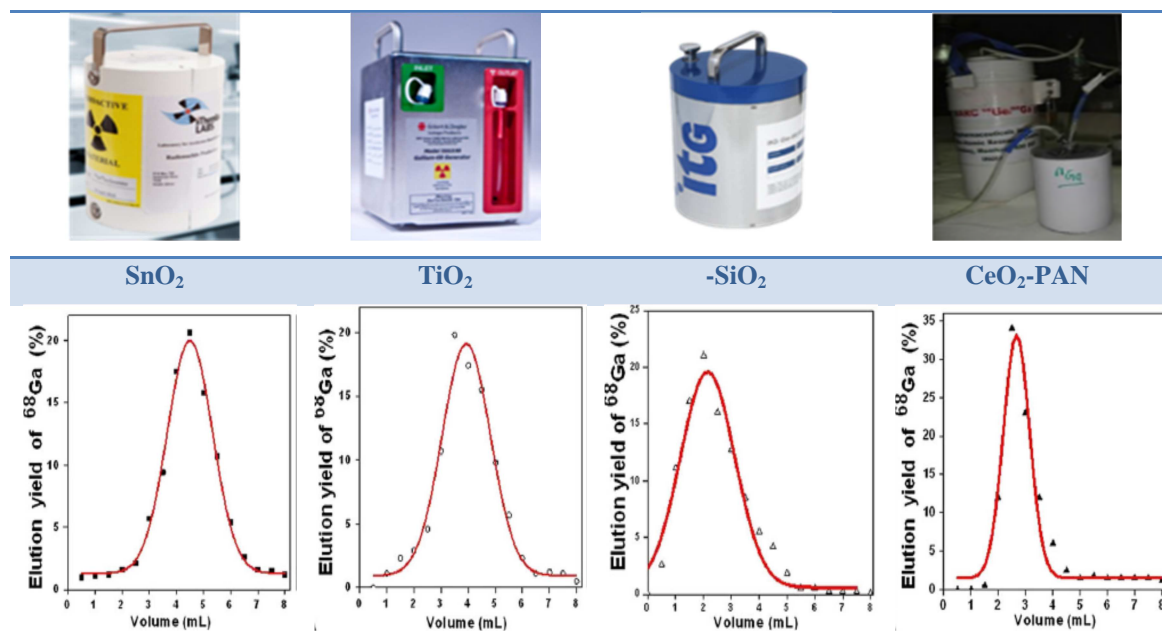
Los resultados del perfil de elución en forma húmeda fueron muy similares a los reportados por de Blois y cols. (2011), que describe el estudio detallado de un generador de SnO<sub>2</sub> comercial.



**Figura 15.** Perfil de elución del <sup>68</sup>Ga obtenido del generador prototipo en forma húmeda (■) y seca (●).  
Media ± desviación estándar (n = 3).



**Figura 16.** Perfil de elución del <sup>68</sup>Ge obtenido del generador prototipo en forma húmeda (▲) y seca (▼).  
Media ± desviación estándar (n = 3).

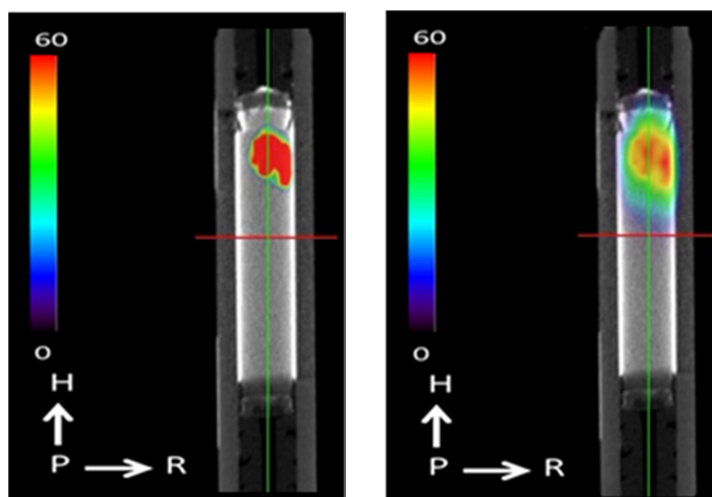


**Figura 17.** Comparativa del perfil de elución del <sup>68</sup>Ga en forma húmeda de distintos generadores comerciales. Tabla adaptada de Chakravarty y cols., (2016a).

El breakthrough en el eluido fue del orden de  $< 10^{-4}\%$ , siendo prácticamente constante durante todo el periodo del estudio y con valores inferiores a los que se requiere para este tipo de generadores de acuerdo con la monografía correspondiente de la Farmacopea Europea ( $\leq 10^{-3}\%$ ) (EDQM, 2011). Además, Velikyan y cols., (2013) han realizado un estudio sobre la biodistribución de <sup>68</sup>Ge, siendo la eliminación rápida con una vida media de  $\sim 0,6$  h y no observando acumulación en ningún órgano, incluyendo la médula ósea. Estos resultados implican que el límite <sup>68</sup>Ge actualmente recomendado por la monografía de la Farmacopea Europea podría ser aumentado al menos 100 veces sin exponer al paciente a un posible daño radiológico.

Ocasionalmente, y como ya ocurría en los generadores piloto pero de una forma menos pronunciada, el “breakthrough” aumentó ligeramente cuando los generadores no se eluyeron durante más de 2 días, pero siempre después de sucesivas eluciones se volvieron a alcanzar valores de  $10^{-4}\%$ . Por lo tanto, se recomiendan eluciones diarias para mantener el “breakthrough” constante en la elución. El contenido de <sup>68</sup>Ge en el eluido del generador descrito es prácticamente constante y más bajo que los obtenidos a

partir de generadores comerciales de  $\text{TiO}_2$  (Tabla 1, capítulo 3, apartado 3.1, página 102), en el que el breakthrough aumentó con el tiempo alrededor del 15% por mes (AIEA, 2013). Además, también es menor que el generador comercial de  $\text{SnO}_2$  (Tabla 1, capítulo 3, apartado 3.1, página 102) y con valores similares a los basados en  $\text{SiO}_2$  y  $\text{CeO}_2$ -PAN (Tabla 1, capítulo 3, apartado 3.1, página 102).



**Figura 18.** Imagen PET/CT de la columna del generador  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  prototipo al principio de su uso (izquierda) y después de 1 año y 305 eluciones (derecha).

La imagen PET de la columna del generador mostró que la actividad se encuentra en la parte superior de la columna después de 305 ciclos de elución y 1 año de uso (Figura 18), lo que demuestra que no hay difusión significativa de  $^{68}\text{Ge}$  a lo largo de la columna con el tiempo y uso del generador. Los mejores resultados obtenidos en el prototipo en comparación con el generador piloto, a pesar que ambos generadores están basados en  $\text{SnO}_2$ -cal, podrían ser debido al uso en la columna del prototipo una mayor cantidad de fase estacionaria en la columna: 4,5 frente a 1,5g.

El contenido total de iones metálicos en el eluido (Ag, Al, As, Ba, Bi, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, In, Mg, Mn, Ni, Pb, Sb, Sn, Ti, Zn) fue siempre  $< 1$  ppm en total, tanto cuando el generador era nuevo como después de 1 año y 305 ciclos de elución (Tabla 8). No se apreció un aumento de la concentración de metales traza en las primera elución con respecto a las siguientes eluciones diarias, como sí es descrito por Velikyan y cols., (2004), usando un generador comercial de  $\text{TiO}_2$ .

Elementos	Generador nuevo		1 año del generador	
	1ª elución día (µg/L)	2ª o 3ª elución día (µg/L)	1ª elución día (µg/L)	2ª o 3ª elución día (µg/L)
<b>Ag</b>	0,57 ± 0,14	0,58 ± 0,06	0,5 ± 0	0,5 ± 0
<b>Al</b>	1,89 ± 1,63	0,78 ± 0,16	0,55 ± 0,12	0,55 ± 0,06
<b>As</b>	0,87 ± 0,64	0,50 ± 0	0,83 ± 0,58	0,89 ± 0,46
<b>Ba</b>	69,0 ± 32,19	43,50 ± 9,68	65,67 ± 41,86	76,5 ± 61,51
<b>Bi</b>	0,5 ± 0	0,5 ± 0	0,5 ± 0	0,5 ± 0
<b>Ca</b>	169 ± 223,27	49,33 ± 20,26	47,67 ± 39,72	75,50 ± 53,03
<b>Cd</b>	0,54 ± 0,08	0,63 ± 0,25	0,5 ± 0	0,61 ± 0,10
<b>Co</b>	0,85 ± 0,19	0,92 ± 0,35	0,5 ± 0	0,5 ± 0
<b>Cr</b>	76 ± 22,65	114,75 ± 17,02	12,33 ± 1,53	23,67 ± 9,50
<b>Cu</b>	10,53 ± 9,22	4,77 ± 1,85	3,30 ± 1,27	8,47 ± 6,23
<b>Fe</b>	0,8 ± 0,87	0,44 ± 0,16	0,11 ± 0,11	0,23 ± 0,17
<b>In</b>	1,35 ± 0,42	1,07 ± 0,14	0,50 ± 0	0,5 ± 0
<b>Mg</b>	103 ± 123,35	41,67 ± 14,05	65,33 ± 46,76	127 ± 108,89
<b>Mn</b>	8,73 ± 2,41	11,23 ± 8,04	2,30 ± 2	6,30 ± 4,64
<b>Ni</b>	35 ± 10,42	53,25 ± 13,12	6,77 ± 4,55	10,27 ± 6,91
<b>Pb</b>	226,5 ± 43,66	365 ± 160,34	22 ± 11,31	94 ± 15,87
<b>Sb</b>	10,05 ± 1,12	3,78 ± 1,63	0,5 ± 0	1,37 ± 0,59
<b>Sn</b>	280 ± 92,05	218,25 ± 64,68	69,33 ± 15,28	20,67 ± 5,86
<b>Ti</b>	6,68 ± 3,66	7,53 ± 4,49	5,93 ± 1,46	9,23 ± 5,29

**Tabla 8.** Cuantificación de los metales presentes en la elución del generador  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  prototipo al principio de su uso y después de 1 año y 305 eluciones. Media (µg/L) ± desviación estándar (n = 3).

La concentración total de metales en el eluido mostró valores similares o más bajos que en los generadores comerciales (Tabla 1, capítulo 3, apartado 3.1, página 102) por lo que es presumible que pueda utilizarse directamente el  $^{68}\text{Ga}$  obtenido para el marcaje de moléculas sin necesidad de realizar ningún proceso adicional de purificación.

Las diferencias observadas en la eficiencia elución y el breakthrough entre el generador prototipo basado en  $\text{SnO}_2\text{-cal}$  desarrollado en este trabajo y todos los generadores descritos basados en  $\text{SnO}_2$ , presumiblemente podría ser debida a las diferencias en el grado de aglomeración y a la cantidad de agua presente en las partículas de óxido de estaño dependiendo a su vez de parámetros como del método de preparación y la temperatura de secado.

Por lo tanto, se puede afirmar que el  $\text{SnO}_2\text{-cal}$  es adecuado para la separación selectiva del  $^{68}\text{Ge}$  y del  $^{68}\text{Ga}$  con alto grado de pureza, usando ácido clorhídrico como eluyente. Además, otra ventaja del uso de  $\text{HCl}$ , es que proporciona un entorno muy desfavorable para el crecimiento de microorganismos. Este fenómeno ha sido probado recientemente (Petrik y cols., 2012), estudiando la supervivencia de varios microorganismos incluyendo esporas de hongos y bacterias resistentes a los ácidos, en una columna de generador que se eluyó con  $\text{HCl}$  0,1 M, resultando que no se detectaron microorganismos viables. El eluyente ácido ( $\text{HCl}$ ) utilizado en este tipo de generadores es altamente desfavorable para la supervivencia o el crecimiento de microorganismos, siendo, por lo tanto, los riesgos asociados a contaminaciones microbianas durante la vida útil de este tipo de generadores muy bajos (Petrik y cols., 2012).

### 3.4 Conclusiones

Todos los óxidos estudiados,  $\text{TiO}_2\text{-a}$ ,  $\text{TiO}_2\text{-na}$ ,  $\text{TiO}_2\text{-r}$ ,  $\text{SnO}_2\text{-ac}$ ,  $\text{SnO}_2\text{-la}$ ,  $\text{SnO}_2\text{-co}$  y  $\text{SnO}_2\text{-cal}$ , mostraron capacidad de separación del  $^{68}\text{Ge}$  y del  $^{68}\text{Ga}$ , aunque en diferente grado. Los mejores resultados se obtuvieron con  $\text{SnO}_2\text{-co}$  y  $\text{SnO}_2\text{-cal}$ , tal y como concluye el estudio de los coeficientes de distribución. Además, estos dos óxidos resultaron ser muy estables a la radiación, presentan forma tetragonal y la cristalinidad se aumentó con el

proceso de calcinación. Los dos generadores pilotos mostraron resultados satisfactorios, sin embargo, el basado en SnO<sub>2</sub>-cal mostró resultados mejores en cuanto a la eficiencia de elución del <sup>68</sup>Ga y al contenido de <sup>68</sup>Ge en el eluido, corroborando los resultados previamente obtenidos en la determinación de los coeficientes de distribución. En consecuencia, el SnO<sub>2</sub>-cal se usó como soporte de la columna para el escalado de un generador prototipo de <sup>68</sup>Ga/<sup>68</sup>Ge. Este generador prototipo se evaluó durante 305 eluciones. Los rendimientos de elución del <sup>68</sup>Ga fueron  $\geq 90\%$  en los primeros 7 mL cuando el generador era nuevo, disminuyendo posteriormente con el uso periódico hasta aproximadamente 70%, mientras que el contenido de <sup>68</sup>Ge en el eluido fue del orden de 10<sup>-4</sup>% permaneciendo prácticamente constante durante el estudio. El generador prototipo mostró ser altamente selectivo para la separación del par <sup>68</sup>Ge/<sup>68</sup>Ga y ser estable con resultados reproducibles durante un año de uso, obteniendo el eluido con un alto grado de pureza química y radionucleídica. Además, no se encontraron diferencias apreciables en el rendimiento de elución en forma húmeda y seca, y ante la posibilidad de que el óxido de estaño pueda ser degradado ligeramente por el HCl (Cheng y cols., 2000) es recomendable la elución en forma seca para alargar su vida útil.

La producción de radionucleidos vía generador disminuye la exposición del operador a la radiación y el posible riesgo de contaminación durante el proceso. El tiempo necesario para llevar a cabo el proceso de elución es de unos pocos minutos siendo un aspecto importante debido al relativamente corto periodo de semidesintegración del <sup>68</sup>Ga.

Además, su diseño sencillo y práctico permite ser fácilmente implementado en centros de investigación en los que se requieran estudios con <sup>68</sup>Ga mediante PET en animales de experimentación y con un grado de automatización adecuado permitiría ser usado en un entorno clínico.

### 3.5 Referencias bibliográficas

- Aardaneh, K., Van der Walt, TN. 2006. Ga<sub>2</sub>O for target, solvent extraction for radiochemical separation and SnO<sub>2</sub> for the preparation of a <sup>68</sup>Ge/<sup>68</sup>Ga generator. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*. 268(1): 25-32.
- Ambe, S. 1987. <sup>68</sup>Ge/<sup>68</sup>Ga, generator with alpha-ferric oxide support. *Appl. Radiat. Isot.* 39: 49-51.
- Asti, M., De Pietri, G., Fraternali, A., Grassi, E., Sghedoni, R., Fioroni, F. 2008. Validation of <sup>68</sup>Ge/<sup>68</sup>Ga generator processing by chemical purification for routine clinical application of <sup>68</sup>Ga-DOTATOC. *Nucl. Med. Biol.* 35: 721-724.
- ASTM, American Society for Testing and Materials. 1984. Method for using the Fricke Dosimeter to Measure Absorbed Dose in Water, ASTM Standard E.1026.
- Bai, XM., Voter, AF., Hoagland, RG., Nastasi, M., Uberuaga, BP. 2010. Efficient annealing of radiation damage near grain boundaries via interstitial emission. *Science*. 327: 1631-4.
- Bao, B., Song, M. 1996. A new <sup>68</sup>Ge/<sup>68</sup>Ga generator based on CeO<sub>2</sub>. *J. Radioanal. Nucl. Chem.* 213: 233-23.
- Buwa, S., 2014. Production and evaluation of a TiO<sub>2</sub> based <sup>68</sup>Ge/<sup>68</sup>Ga generator. Thesis, University of the Western Cape (Republic of South Africa).
- Cao, B., Li, Z., Wang, Y. 1998. <sup>68</sup>Ge/<sup>68</sup>Ga generator with alpha-ferric oxide support in trigonal structure. *J. Radioanal. Nucl. Chem.* 238(1-2): 175-178.
- Chakravarty, R., Shukla, R., Ram, R., Venkatesh, M., Dash, A., Tyagi, AK. 2010. Nanoceria-PAN composite-based advanced sorbent material: a major step forward in the field of clinical-grade <sup>68</sup>Ge/<sup>68</sup>Ga generator. *Appl. Mater. Interfaces*. 75: 2069.
- Chakravarty, R., Shukla, R., Ram, R., Tyagi, AK., Dash, A., Venkatesh, M.



2011. Development of a nano-zirconia based  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  generator for biomedical application. *Nucl. Med. Biol.* 38: 575.
- Chakravarty, R., Chakraborty, S., Ram, R., Vatsa, R., Bhusari, P., Shukla, J., Mittal, BR., Dash, A. 2016a. Detailed evaluation of different  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  generators: an attempt toward achieving efficient  $^{68}\text{Ga}$  radiopharmacy. *J Labelled Comp. Radiopharm.* Feb 2.
  - Chakravarty, R., Chakraborty, S., Shukla, R., Bahadur, J., Ram, R., Mazumder, S., Dev Sarma, H., Tyagi, AK., Dash, A. 2016b. Mechanochemical synthesis of mesoporous tin oxide: a new generation nanosorbent for  $(^{68}\text{Ge})/(^{68}\text{Ga})$  generator technology. *Dalton Trans.* 45(34): 13361-13372.
  - Chakravarty, R., Chakraborty, S., Radhakrishnan, ER., Kamaleshwaran, K., Shinto, A., Dash, A. 2016c. Clinical  $^{68}\text{Ga}$ -PET: Is radiosynthesis module an absolute necessity?. *Nucl. Med. Biol.* 46: 1–11.
  - Cheng, WL., Jao, Y., Lee, CS., Lo, AR. 2000. Preparation of  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  generator with binary Ga/Ag electrodepositions as solid target. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry.* 245(1): 25-30.
  - Dash, A., Chakravarty, R. 2016. Nanomaterial based adsorbents: promises, opportunities, and challenges to develop column chromatography radionuclide generators for nuclear medicine. *Sep. Purif. Rev.* Accepted Manuscript.
  - de Blois, E., Sze Chan, H., Naidoo, C., Prince, D., Krenning, EP., Breeman, WA. 2011. Characteristics of  $\text{SnO}_2$ -based  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  generator and aspects of radiolabelling DOTA-peptides. *Appl. Radiat. Isot.* 69(2): 308-15.
  - Egamediev, SKH., Khujaev, S., Mamatkazina, AKH. 2000. Influence of preliminary treatment of aluminum oxide on the separation of  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  radionuclide chain. *J. Radioanal. Nucl. Chem.* 246(3): 593-596.

- European Directorate for the Quality of Medicines & Healthcare (EDQM). 2011. Gallium ( $^{68}\text{Ga}$ ) chloride solution for radiolabeling. European Pharmacopoeia. 23: 310-313.
- Everest, DA., Salmon, J.E. 1954. Studies in the chemistry of quadrivalent germanium: ion-exchange studies of solutions of germinates. J. Chem. Soc. 2438-2443.
- Fazaeli, Y., Jalilian, AR., Amini, MM., Ardaneh, K., Rahiminejad, A., Bolourinovin, F., Moradkhani, S., Majdabadi, S. 2012. Development of a  $^{68}\text{Ga}$ -Fluorinated Porphyrin Complex as a Possible PET Imaging Agent. Nucl. Med. Mol. Imaging. 46(1): 20-26.
- Fricke, H., Morse, S., Röntgenol, AJ. 1927. Radium. Ther. Nucl. Med. 18, 430.
- Fricke, H., Hart, EJ. 1966. Chemical Dosimetry, Radiation Dosimetry (Edited by Attix F.H. and Roesch W.C.), Academic Press, New York.
- Girardi, F., Pietra, R., Sabbioni, E. 1970. Radiochemical separations by retention on ionic precipitate adsorption tests on 11 materials, J. Radioanal. Chem. 5: 141-171.
- GAMOS. 2011. GAMOS 3.0.0. User's Guide.  
[http://fismed.ciemat.es/GAMOS/gamos\\_userguide.php](http://fismed.ciemat.es/GAMOS/gamos_userguide.php)
- Gleason, GI. 1960. A positron cow. Int. J. Appl. Radiat. Isot. 8: 90-94.
- Greene, MW., Tucker, WD. 1961. An improved Gallium-68 cow. Int. J. Appl. Radiat. Isot. 12, 62.
- IAEA, 1985. High-dose Dosimetry, Proceedings of Symposium. International Atomic Energy Agency. STI/PUB/671.
- IAEA, 2013. Radiotracers generator for industrial applications. Radiations technology Series, 5. International Atomic Energy Agency. STI/PUB/1579.



- ICRU, 1969. Radiation Dosimetry: X Rays and Gamma Rays with Maximum Photon Energies Between 0.6 and 50 MeV, ICRU Report 14.
- Jun Young Lee, Chirag K. Vyas, Bo-Ram Kim, Hee Jung Kim, Min Goo Hur, Seung Dae Yang, Jeong Hoon Park, Sang Wook Kim. 2016. Acid resistant zirconium phosphate for the long term application of  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  generator system. *Appl. Radiat. Isot.* 118: 343–349.
- Kopecky, P., Mudrová, B., Svoboda, K. 1973. The study of conditions for the preparation and utilization of  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  generator. *Appl. Radiat. Isot.* 24: 73-80.
- Kopecky, P., Mudrová, B. 1974.  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  generator for the production of  $^{68}\text{Ga}$  in an ionic form. *Int. J. Appl. Radiat. Isot.* 25: 263-268.
- Langford, J.L. 1992. Accuracy in Powder Diffraction II. E. Prince, J.K. Stalick (Eds.) NIST Spec. Publ. 846: 110-126.
- Lin, M., Ranganathan, D., Mori, T., Hagooley, A., Rossin, R., Welch, M.J., Lapi, S.E. 2012. Long-term evaluation of  $\text{TiO}_2$ -based  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  generators and optimized automation of [ $^{68}\text{Ga}$ ]DOTATOC radiosynthesis. *Appl. Radiat. Isot.* 70(10): 2539-2544.
- Ločh, C., Maziere, B., Comar, D. 1980. A new generator for ionic Gallium-68, *J. Nucl. Med.* 21: 171-173.
- Malyshev, K.V., Smirnov, V.V. 1975. Gallium-68 yield from hydrated zirconium oxide based generators. *Sov. Radiochim.* 17: 137-140.
- McElvany, K.D., Hopkins, K.T., Welch, M.J. 1984. Comparison of  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  generator systems for radiopharmaceutical production. *Int. J. Appl. Radiat. Isot.* 35(6): 521-524.
- Meyer, G.J., Macke, H., Schumacher, J., Knapp, W.H., Hofmann, M. 2004.  $^{68}\text{Ga}$ -labelled DOTA-derivatised peptide ligands. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging.* 31: 1097-104.

- Nakayama, M., Haratake, M., Ono, M., Koiso, T., Harada, K., Nakayama, H., Yahara, S., Ohmomo, Y., Arano, Y. 2003. A new  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  generator system using an organic polymer containing N-methylglucamine groups as adsorbent for  $^{68}\text{Ge}$ . *Appl. Radiat. Isot.* 58(1): 9-14.
- Neirinckx, RD., Davis, MA. 1980. Potential Column Chromatography Generators for Ionic Ga-68. Inorganic Substrates. *J. Nuc. Med.* 20: 1075-1079.
- Neirinckx, RD., Layne, WW., Davis, MA., Sawan, SP. 1982. Development of an ionic  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  generator III. Chelate resins as chromatographic substrates for germanium. *Int. J. Appl. Radiat. Isot.* 33(4): 259-266.
- Ocak, M., Antretter, M., Knopp, R., Kunkel, F., Petrik, M., Bergisadi, N., Decristoforo, C. 2010. Full automation of ( $^{68}\text{Ga}$ ) labelling of DOTA-peptides including cation exchange prepurification. *Appl. Radiat. Isot.* 68: 297-302.
- Petrik, M., Knetsch, PA., Knopp, R., Imperato, G., Ocak, M., von Guggenberg, E., Haubner, R., Silbernagl, R., Decristoforo, C. 2011. Radiolabelling of peptides for PET, SPECT and therapeutic applications using a fully automated disposable cassette system. *Nucl. Med. Commun.* 32: 887-95.
- Petrik, M., Schuessele, A., Perkhofer, S., Lass-Flörl, C., Becker, D., Decristoforo, C. 2012. Microbial challenge tests on nonradioactive  $\text{TiO}_2$ -based  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  generator columns. *Nucl. Med. Commun.* 33(8): 819-23.
- Razbash, AA., 2003. A simple gallium-68 generator. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging.* 30(2): S318.
- Roesch, F., Baum, RP. 2011. Generator-based PET radiopharmaceuticals for molecular imaging of tumours: on the way to THERANOSTICS. *Dalton Trans.* 40(23): 6104.
- Roesch, F. 2013. Past, present and future of  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  generators. *Appl. Radiat. Isot.* 76: 24-30.
- Romero, E. 2013. Radiofarmacia PET sin ciclotrón:  $^{68}\text{Ga}$ , una realidad. XXXII



Congreso de la Sociedad Española de Medicina nuclear e Imagen Molecular. Ponencia mesa redonda radiofarmacia. Sociedad española de radiofarmacia. 5-7 junio. Murcia.

- Romero, E., Morcillo, MA. 2017. Inorganic oxides with potential application in the preparation of a  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  generator system. *Appl. Radiat. Isot.* 119: 28–35.
- Schumacher, J., Maier-Borst, W. 1981. A new  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  Radioisotope generator system for production of  $^{68}\text{Ga}$  in dilute HCl. *Int. J. Appl. Radiat. Isot.* 32: 31-36.
- Sing, KS., Everett, DH., Haul, RAW., Moscou, L., Pierotti, RA., Rouquerol, WJ., Siemieniewsha, T. 1985. Reporting physisorption data for gas/solid systems with special reference to the determination of surface area and porosity. *Pure & Appl. Chem.* 57: 603-619.
- Song, M., Bao, B. 1995. A new ( $^{68}\text{Ge}$ )-( $^{68}\text{Ga}$ ) generator based on  $\text{CeO}_2$ , *Nucl. Technol.* 18(7): 435-439.
- Tang, Q., Zhao, G., Luo, W., Li, D. 1997. Preparation and study of a  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  generator, *J. Nucl. Radiochem.* 19(2): 29-33.
- Velikyan, I., Beyer, GJ., Langstrom, B. 2004. Microwave-supported preparation of ( $^{68}\text{Ga}$ ) bioconjugates with high specific radioactivity. *Bioconjug. Chem.* 15: 554-60.
- Yano, Y., Anger, HO. 1964. A gallium-68 positron cow for medical use. *J. Nucl. Med.* 5: 484.
- Zhernosekov, K., Harfensteller. M., Moreno, J., Leib, O., Buck, O., Tuerler, A, 2010. Development of a novel metal-free  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  radionuclide generator system. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging.* 37(2): S251.



## Capítulo 4: Purificación de $^{68}\text{Ga}$

### 4.1 Introducción

Todos los generadores de  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  disponibles de forma comercial tiene una serie de inconvenientes (Roesch, 2013; Velikyan y cols., 2004), como son:

1. La presencia de impurezas metálicas presentes en el eluido junto al  $^{68}\text{Ga}$  obtenido, que aunque no son concentraciones tóxicas, pueden competir en las reacciones de síntesis con el propio  $^{68}\text{Ga}$ , disminuyendo de esta forma los rendimientos obtenidos y la actividad específica. Por ejemplo, la presencia de  $^{71}\text{Ga}$  estable generado por el decaimiento del  $^{71}\text{Ge}$  que puede aparecer como subproducto en el proceso de producción de  $^{68}\text{Ge}$ , pudiendo ser de hasta un orden de magnitud mayor que la cantidad de átomos de  $^{68}\text{Zn}$  generados. Además, también pueden aparecer en la elución metales como producto de la propia degradación de la columna del generador como pueden ser Ti o Sn, y el Fe presente en multitud de reactivos y enseres del laboratorio.
2. La presencia de  $^{68}\text{Ge}$  en niveles detectables en el eluido del generador, denominado con el término “breakthrough”, el cual es necesario eliminarlo o minimizarlo debido a su largo  $T_{1/2}$  de  $270,95 \pm 0,26$  d (DDEP, 2015), ya que estos generadores están pensados para poder ser usados de forma rutinaria en clínica.
3. La relativa alta concentración de  $\text{H}^+$ , ya que este tipo de generadores utilizan para su elución soluciones de ácido clorhídrico, que pueden protonar grupos funcionales de ligandos o agentes quelantes bifuncionales necesarios para el marcaje con  $^{68}\text{Ga}$ , además, controlar el pH y el volumen del eluido aumenta la reproducibilidad y mejora los rendimientos de síntesis.

Las diferentes estrategias que se siguen habitualmente para purificar el  $^{68}\text{Ga}$  eluido del generador se detallan a continuación:

- A. El método fraccionado (Breeman y cols., 2005), se basa en realizar una elución fraccionada del generador, aproximadamente 2/3 de la actividad se encuentran en 1-2 mL y de esta forma se minimiza el contenido en  $^{68}\text{Ge}$ , quedando el  $^{68}\text{Ga}$  más concentrado y disminuyendo la cantidad de impurezas metálicas (Figura 1). El  $^{68}\text{Ga}$  queda preparado para poder ser utilizado en reacciones de síntesis. Las posibles desventajas de este método son que debido al tiempo necesario para realizar el proceso y a no eliminar o minimizar en exceso las impurezas, los rendimientos descritos son entorno al 50% además de las grandes cantidades de precursor a usar durante la síntesis de radiofármacos. Un complemento a esta estrategia es introducir una etapa posterior de purificación por medio de extracción en fase sólida (SPE) al producto marcado, minimizando así en contenido de  $^{68}\text{Ge}$  en el producto final antes de ser inyectado al paciente (Decristoforo y cols., 2007).

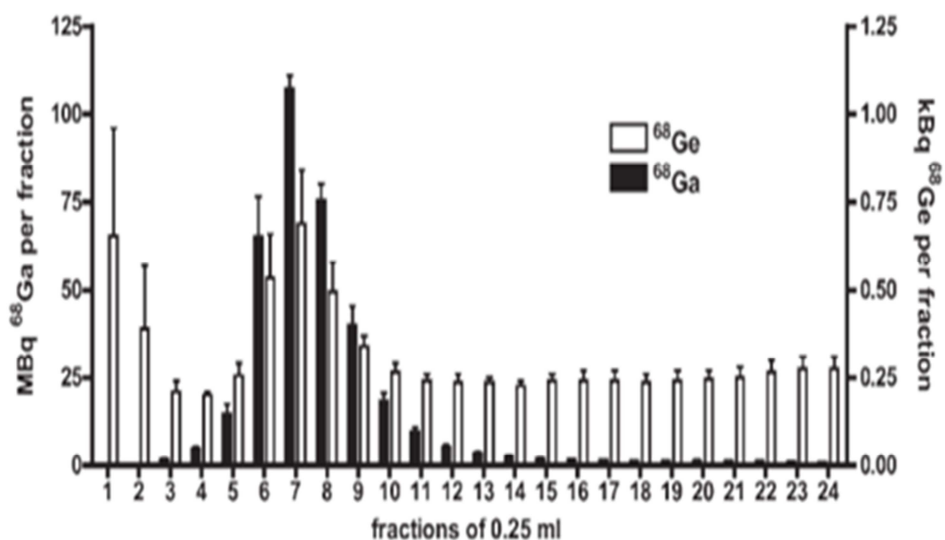


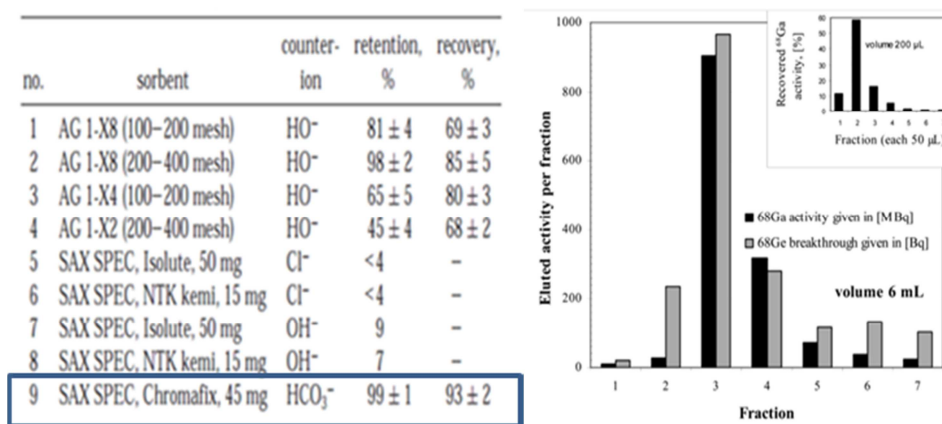
Figura 1. Método fraccionado (Breeman y cols., 2005).

B. La adsorción directa del  $^{68}\text{Ga}^{3+}$  en una resina de intercambio catiónico de 50 mg (Zhernosekov y cols., 2007) permite una separación selectiva del Ga y Ge de otros metales como Ti, Zn y Fe, debido a la diferente afinidad por la resina a diferentes concentraciones de acetona/HCl. Utilizando un pequeño volumen (0,4-1 mL) de una solución 97,6% acetona/HCl 0,005 M se recupera 97% de  $^{68}\text{Ga}$  (Tabla 1). Basándose en este método y con el objetivo de minimizar el proceso y simplificarlo existen otras variantes (Mueller y cols., 2012; Lokotnova y cols., 2011; Seemann y cols., 2015). El posible inconveniente de este método es que al recuperar el  $^{68}\text{Ga}$  en una concentración de HCl tan diluida limita el método a generadores que se eluyan con soluciones cercanas a HCl 0,1 M ya que si se utilizan concentraciones mayores, como ocurre en los generadores eluidos con HCl 1 M, al tener que diluir hasta HCl 0,05 M el volumen necesario para aplicar el método sería muy elevado y por lo tanto ralentizaría mucho el proceso, siendo el tiempo un parámetro crítico debido al  $T_{1/2}$  del  $^{68}\text{Ga}$ .

Volume	Step	Eluent (concentration)	Relative distribution (%)				
			Ge(III)	Ge(IV)	Zn(II)	Ti(IV)	Fe(III)
<b>Set 1</b>							
7 mL	Generator elution	0.10N HCl	0.19	98.14	0.61	5.34	0.45
5 mL	Purification	80% acetone/0.10N HCl	0.58	1.83	99.39	2.68	53.75
0.4 mL	Ga(III) elution	97.6% acetone/0.05N HCl	98.50	$2 \cdot 10^{-2}$	$5 \cdot 10^{-2}$	$5 \cdot 10^{-2}$	43.54
1 mL	Washing	4N HCl	0.53	$6 \cdot 10^{-3}$	$<10^{-3}$	90.92	2.01
1 mL	Washing	H <sub>2</sub> O	0.20	$5 \cdot 10^{-3}$	$<10^{-3}$	1.01	0.29
<b>Set 2</b>							
7 mL	Generator elution	0.10N HCl	0.16	97.08	0.77	7.30	0.13
0.6 mL	Purification	80% acetone/0.15N HCl	1.43	2.92	98.15	0.68	37.86
0.4 mL	Ga(III) elution	97.6% acetone/0.05N HCl	97.82	$3 \cdot 10^{-2}$	1.08	$7 \cdot 10^{-2}$	49.78
1 mL	Washing	4N HCl	0.41	$5 \cdot 10^{-3}$	$5 \cdot 10^{-3}$	72.15	11.61
1 mL	Washing	H <sub>2</sub> O	0.18	$3 \cdot 10^{-3}$	$<10^{-3}$	19.80	0.62
<b>Set 3</b>							
7 mL	Generator elution	0.10N HCl	0.11	97.68	0.43	7.18	0.73
5 mL	Purification	80% acetone/0.15N HCl	6.29	2.32	99.57	3.99	87.37
0.4 mL	Ga(III) elution	97.6% acetone/0.05N HCl	92.73	$5 \cdot 10^{-3}$	$<10^{-3}$	0.11	11.10
1 mL	Washing	4N HCl	0.77	$2 \cdot 10^{-3}$	$<10^{-3}$	86.54	0.71
1 mL	Washing	H <sub>2</sub> O	0.10	$2 \cdot 10^{-3}$	$<10^{-3}$	2.18	0.09
<b>Set 4</b>							
7 mL	Generator elution	0.10N HCl	0.29	98.08	0.92	6.33	0.4
0.6 mL	Purification	80% acetone/0.20N HCl	6.34	1.86	96.58	1.11	54.0
0.4 mL	Ga(III) elution	97.6% acetone/0.05N HCl	92.96	$5 \cdot 10^{-2}$	3.70	0.11	42.6
1 mL	Washing	4N HCl	0.28	$6 \cdot 10^{-3}$	$<10^{-3}$	87.37	2.9
1 mL	Washing	H <sub>2</sub> O	0.13	$6 \cdot 10^{-3}$	$<10^{-3}$	5.08	0.1

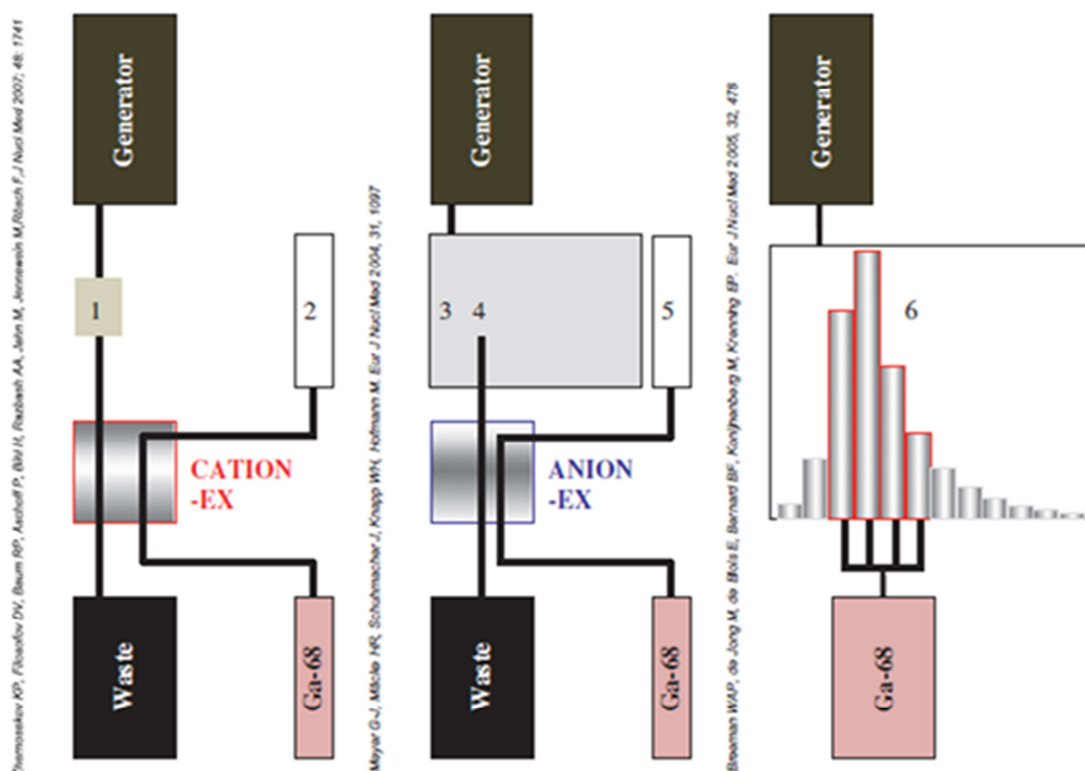
Tabla 1. Método intercambio catiónico (Zhernosekov y cols., 2007).

C. Otra alternativa es el método de intercambio aniónico, que se basa en el hecho de que  $\text{Ga}^{3+}$  a concentraciones superiores a 4 M de HCl forma cloruros ( $^{68}\text{GaCl}_4^-$ ) (Meyer y cols., 2004; Velikyan y cols., 2004); estos cloruros son adsorbidos fuertemente en una resina de intercambio aniónico mientras que el  $\text{Ge}^{4+}$  no se retiene en esta, lo que permite una separación eficiente. Posteriormente el  $^{68}\text{Ga}$  adsorbido en la resina de intercambio aniónico puede ser recuperado en un volumen pequeño de agua desionizada (Figura 2). Este último método ha sido modificado con el fin de eliminar el exceso de  $\text{H}^+$ , mediante la adición de una etapa de lavado utilizando una solución de cloruro de sodio 5 M (Velikyan y cols., 2012; Seemann y cols., 2015).



**Figura 2.** Método de intercambio aniónico (Velikyan y cols., 2004). Estudio de diferentes resinas de intercambio aniónico (izquierda). Perfil de elución del generador comercial de  $\text{TiO}_2$  y perfil del  $^{68}\text{Ga}$  recuperado con  $\text{H}_2\text{O}$  de la resina de intercambio (derecha).






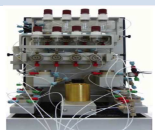



También existe la posibilidad de la combinación de los diversos métodos (Mueller y cols., 2011), inicialmente utilizando una resina de intercambio catiónico y luego una resina de intercambio aniónico debido a la formación de especies catiónicas y aniónicas del galio provocadas mediante cambios en pH y concentración de HCl. Los principales métodos para purificar el  $^{68}\text{Ga}$  eluido del generador quedan resumidos en la Figura 3 (Roesch, 2013).



**Figura 3.** Resumen métodos de purificación y concentración de  $^{68}\text{Ga}$  más usados: Intercambio catiónico (izquierda); intercambio aniónico (centro) y método fraccionado (derecha) (Roesch, 2013).

1. Elución del generador directamente a una resina de intercambio catiónico.
2. Recuperación del  $^{68}\text{Ga}$  usando mezcla de HCl/acetona.
3. Aumento de la concentración de HCl de la elución.
4. Carga en resina de intercambio aniónico.
5. Recuperación del  $^{68}\text{Ga}$  de la resina de intercambio aniónico usando agua.
6. Elución fraccionada obteniendo 2/3 de la actividad total eluida.

Las síntesis de  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-ligandos originalmente han sido realizadas mediante sistemas manuales o semiautomáticos. El aumento de la demanda clínica de estos radioligandos ha necesitado una amplia automatización del proceso de producción de radiofármacos con  $^{68}\text{Ga}$  con el fin de cumplir con aspectos referentes a radioprotección, así como el aumento de los requisitos reglamentarios para la preparación de base hospitalaria de radiofármacos PET.

	Nombre comercial	Compañía	Purificación	Observaciones
	iQS <sup>68</sup> Ga Fluidic Labelling Module	Isotopen Technologien (Alemania)	Directo	Autoblindado Manual
	Modular-Lab	Eckert & Ziegler (Alemania)	Fraccionado	Modular Extracción fase sólida
	GallElut	Scintomics (Alemania)	Aniónico y catiónico	Modular Extracción fase sólida
	EluSynthGa68	IASON (Austria)	Fraccionado	Compacto Automático
	SynChrom <sup>68</sup> Ga	Raytest isotopen (Alemania)	Aniónico	Compacto Automático
	Galigand	Veenstra Instrumenten (Holanda)	Aniónico	Compacto Automático
	Modular-Lab	Eckert & Ziegler (Alemania)	Catiónico	Compacto Automático
	Modular-Lab PharmTracer	Eckert & Ziegler (Alemania)	Versátil	Modular Automático, GMPs
	Scintomics GRPs	Scintomics (Alemania)	Versátil	Kits, Automatico Diseñable, GMPs

**Tabla 2.** Resumen de módulos comerciales para la purificación y concentración empleando los diferentes métodos y grado de automatización. Tabla adaptada de Boschi y cols., (2013).

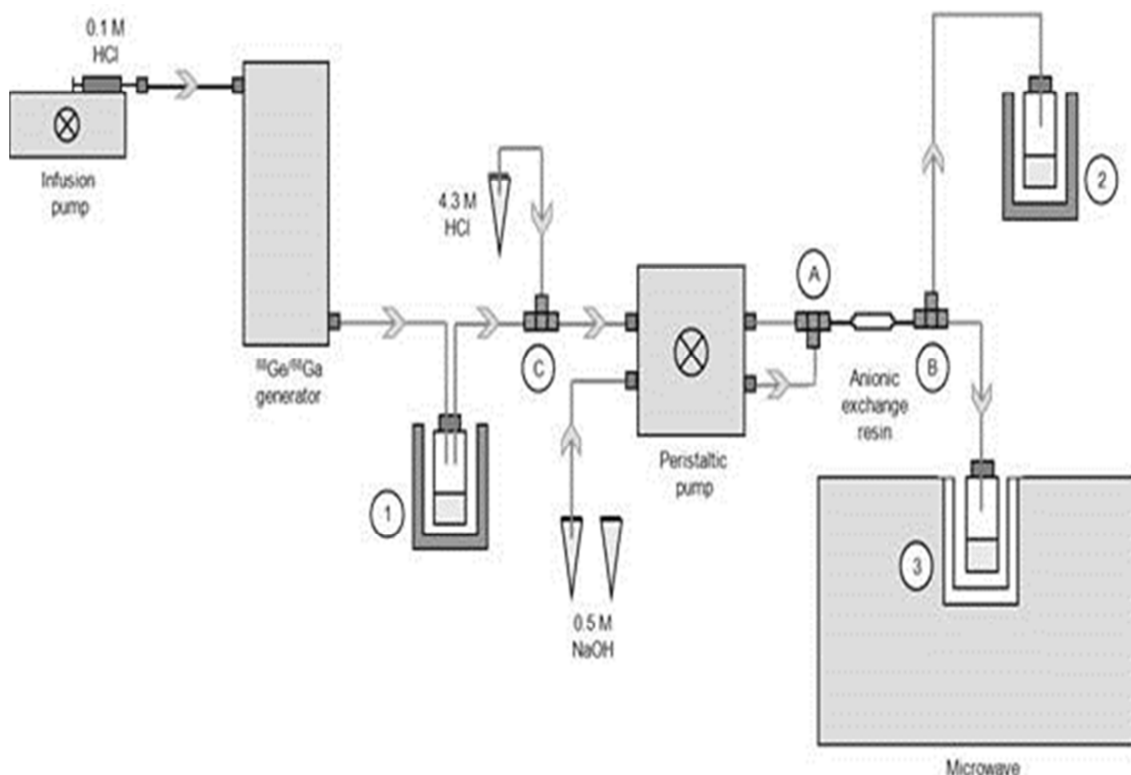
Se han puesto en práctica diferentes enfoques para la purificación previa del eluido del generador que conducen a un aumento de la pureza radioquímica y radionucleídica, así como una alta radiactividad específica del producto final y se han mejorado los métodos de síntesis, el rendimiento, la reproducibilidad, la radioprotección y todo ello en entornos compatibles con las normas de correcta fabricación (GMPs).

Todos estos métodos para purificar  $^{68}\text{Ga}$  se están implementando en el mercado de forma comercial mediante módulos automáticos para facilitar su manipulación, sin embargo impiden interactuar con el operador para el diseño de nuevas rutas o modificaciones de las ya existentes. Una comparación de los principales módulos disponibles en el mercado es simplificada en la Tabla 2 (Boschi y cols., 2013).

El objetivo de este capítulo es describir la implementación de un sistema manual para purificar y concentrar el  $^{68}\text{Ga}$  obtenido a partir de un generador de  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ , basándose en el uso de una resina de intercambio aniónico.

## 4.2 Materiales y Métodos

El galio se obtuvo en forma  $^{68}\text{Ga}^{3+}$  usando un generador comercial de  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  basado en  $\text{TiO}_2$  (Eckert y Ziegler) siguiendo las instrucciones del fabricante, utilizando como eluyente 7 mL de HCl 0,1 M preparada a partir de HCl al 30% (Trace SELECT Ultra, Fluka). La actividad eluida se midió experimentalmente mediante un activímetro VCC-405 (Veenstra Instruments), para calcular el rendimiento de elución. El  $^{68}\text{Ga}$  obtenido se purificó y se concentró utilizando un método manual (Figura 4) (Romero y cols., 2016) mediante una versión ligeramente modificada del método descrito por Meyer y cols., (2004) y Velikyan y cols., (2004).



**Figura 4.** Esquema del sistema manual para elución, purificación, concentración y síntesis de  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-péptidos (Romero y cols., 2016).

La elución se realizó empleando una solución de HCl 0,1 M mediante una jeringa acoplada a una bomba de infusión con un flujo de 2 mL/min. El volumen eluido se recogió en un vial (Figura 4, número 1), que se encuentra dentro de un recipiente de plomo blindado, el cual contiene HCl al 30% de para formar los correspondientes cloruros ( $^{68}\text{GaCl}_4^-$ ). La concentración final de la mezcla fue HCl 4,3 M, en un volumen final de 10,6 mL. Utilizando una bomba peristáltica multi-canal a un flujo de 3 mL/min, esta solución se pasó a través de un cartucho comercial que contiene la resina de intercambio aniónico Chromafix 30-PS- $\text{HCO}_3^-$  (Macherey Nagel), previamente equilibrada con 3 mL de HCl 5 M, 3 mL de  $\text{H}_2\text{O}$  desionizada y 3 mL de HCl 4,3 M. Los cloruros de galio formados se adsorben en la resina de intercambio mientras que el  $^{68}\text{Ge}$  y otros metales no se retienen y se recogen en un vial de residuos (Figura 4, número 2) mediante la apertura de las llaves de tres vías A y B, en ese orden. A continuación se realizó un proceso de lavado de la línea y la resina utilizada en esta etapa para prevenir cualquier pérdida de actividad mediante la apertura de la llave C usando 200 mL de una

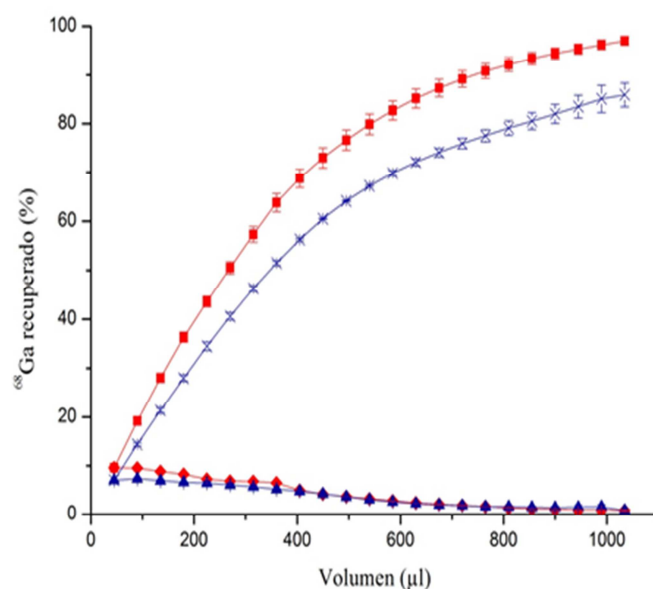
solución de HCl 4,3 M. Posteriormente, se realizó un estudio comparativo utilizando dos alternativas diferentes para recuperar el  $^{68}\text{Ga}$  de la resina: agua Milli-Q y NaOH. En la primera el  $^{68}\text{Ga}$  se eluyó en agua Milli-Q siguiendo el método descrito por Meyer y cols., (2004) y Velikyan y cols., (2004), y en la segunda se utilizó 0,5 M NaOH (Santos y cols., 2013), intentando de esta forma minimizar las concentraciones relativamente altas de  $\text{H}^+$ .

Ambas opciones (agua y NaOH) requieren la apertura de las llaves de tres vías A y B, en ese orden, recuperando el  $^{68}\text{Ga}$  de la resina en el vial de reacción (Figura 4, número 3) que se encuentra dentro de un horno de microondas de laboratorio, Discover Benchmate (CEM). El  $^{68}\text{Ga}$  se eluyó de la resina con agua o NaOH usando un volumen de 0,5 mL (mediante 11 alícuotas de 45  $\mu\text{L}$  cada uno) o mediante 1 mL (de forma no fraccionada) utilizando una bomba peristáltica a un flujo de 0,5 mL/min. Los perfiles de elución del  $^{68}\text{Ga}$  recuperado del cartucho de intercambio iónico (usando agua o NaOH, de forma continua o en las fracciones) se obtuvieron utilizando un colector de fracciones Foxy R1 (Teledyne Isco); las alícuotas recogidas de 45  $\mu\text{L}$  posteriormente se cuantificaron usando un activímetro. El rendimiento del proceso de purificación se expresó como el porcentaje de la actividad de  $^{68}\text{Ga}$  recuperado de la resina de intercambio aniónico, corregida por el decaimiento, respecto a la actividad total de  $^{68}\text{Ga}$  empleada (Romero y cols., 2016).

La cantidad de  $^{68}\text{Ge}$  en el eluido del generador y de las muestras procedentes de la etapa de purificación se calculó mediante espectrometría gamma utilizando un espectrómetro de germanio coaxial (Ortec). Todas las muestras se dejaron decaer durante más de 48 h para asegurar la desintegración radiactiva completa de  $^{68}\text{Ga}$ . En este momento, cuando ambos radionucleidos están en equilibrio radioquímico secular, el  $^{68}\text{Ge}$  se puede calcular mediante la cuantificación del pico de 511 keV correspondiente al  $^{68}\text{Ga}$  producido a partir del decaimiento del  $^{68}\text{Ge}$ .

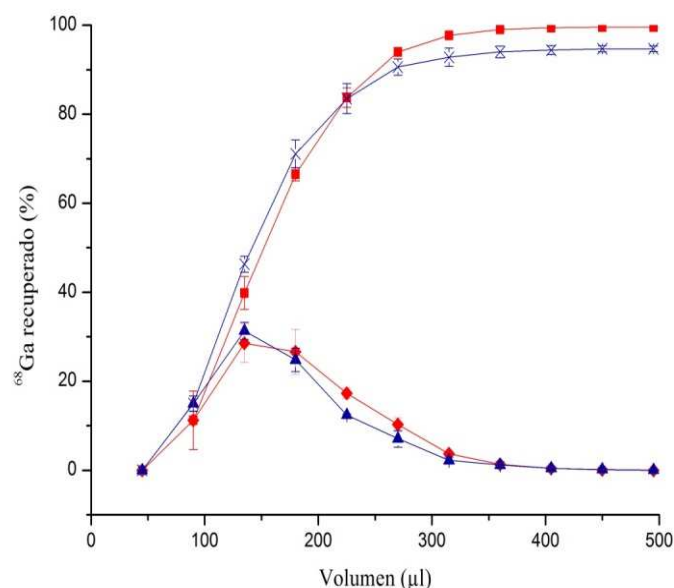
### 4.3 Resultados y Discusión

El rendimiento de  $^{68}\text{Ga}$  obtenido de la elución del generador comercial fue en torno a 70% durante todo el estudio, resultados de acuerdo a las especificaciones del fabricante. Los 10,6 mL de HCl 4,3M conteniendo  $^{68}\text{Ga}$  en forma de  $(\text{GaCl}_4)^-$  se adsorbieron casi por completo ( $99,8 \pm 0,1\%$ ,  $n = 32$ ) en el cartucho 30-PS- $\text{HCO}_3$  Chromafix. Un  $64 \pm 1\%$  de la actividad presente en la resina usando 0,5 mL y un  $85 \pm 3\%$  usando 1 mL se recuperó empleando agua Milli-Q de forma continua a través del cartucho (Figura 5) (Romero y cols., 2016).



**Figura 5.** Desorción de la actividad  $^{68}\text{Ga}$  respecto a la actividad total en el cartucho Chromafix. Perfil de elución por el método no fraccionado utilizando como eluyente: 1 mL de agua desionizada (▲) o NaOH, (◆) y curva acumulada (x), (■) respectivamente. Media  $\pm$  desviación estándar ( $n = 3$ ). (Romero y cols., 2016).

Un  $77 \pm 3\%$  de la actividad total de  $^{68}\text{Ga}$  en la resina se recuperó en 0,2 mL de agua Milli-Q y un  $95 \pm 1\%$  usando 0,5 mL (Figura 6) cuando se eluyó de forma fraccionada ( $45 \mu\text{l}$ ) (Romero y cols., 2016).



**Figura 6.** Desorción de la actividad  $^{68}\text{Ga}$  respecto a la actividad total en el cartucho Chromafix. Perfil de elución por el método fraccionado (alícuotas de 45  $\mu\text{L}$ ) utilizando como eluyente: agua desionizada ( $\blacktriangle$ ) o NaOH ( $\blacklozenge$ ) y la curva acumulada (x), ( $\blacksquare$ ) respectivamente. Media  $\pm$  desviación estándar ( $n = 3$ ). (Romero y cols., 2016).

Por lo tanto, el porcentaje de  $^{68}\text{Ga}$  recuperado de la resina fue significativamente mayor cuando el eluyente se pasó en fracciones. Los rendimientos obtenidos son más altos que los obtenidos por de Blois y cols., (2011); aunque ligeramente inferiores, presumiblemente debido a no disponer de la tecnología necesaria para hacer un eficiente proceso de secado de la columna como por ejemplo mediante aire o nitrógeno a presión, que los descritos por Velikyan y cols., (2004) y Vosjan y cols., (2011).

Los generadores comerciales  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  utilizan soluciones de ácido clorhídrico para eluir el  $^{68}\text{Ga}$  y se ha descrito que reducir al mínimo el pH y el volumen de obtención del  $^{68}\text{Ga}$  puede repercutir en un incremento de los rendimientos síntesis (Roesch, 2013). Con el fin de disminuir la acidez del eluido de la resina de intercambio, una solución de NaCl 5 M ha sido utilizado por algunos autores (de Blois y cols., 2011; Mueller y cols., 2012; Schultz y cols., 2013). En el presente trabajo, se ha optado por usar una solución

0,5 M de hidróxido sódico como agente para neutralizar el pH. Como puede observarse en la Figuras 5 y 6 (Romero y cols., 2016) el rendimiento más alto para recuperar el  $^{68}\text{Ga}$  de la resina se obtuvo usando NaOH como eluyente. Un  $75 \pm 2\%$  de la actividad total de la columna se obtuvo en los primeros 0,2 mL y un  $99 \pm 1\%$  cuando se empleó 0,5 mL usando para ello fracciones de 45  $\mu\text{L}$  de NaOH (Figura 6). Mientras que cuando el NaOH se hace pasar de forma continua a través del cartucho solo un  $73 \pm 2\%$  de la actividad es recuperada con 0,5 mL y  $96 \pm 1\%$  usando 1 mL (Figura 5) (Romero y cols., 2016).

Estos datos muestran que el porcentaje de actividad recuperada de  $^{68}\text{Ga}$  fue significativamente mayor con NaOH que con agua desionizada. Por lo tanto, se decidió que el mejor procedimiento para obtener el  $^{68}\text{Ga}$  de resina de intercambio aniónico fuese eluir con NaOH de forma fraccionada, para ello se utilizó 400  $\mu\text{L}$  de NaOH 0,5 M en dos veces (2 x 200  $\mu\text{L}$ ); mediante este método se recuperó un  $95 \pm 3\%$  (n = 20) de la actividad  $^{68}\text{Ga}$  cargada sobre la columna de intercambio aniónico.

Es interesante anotar que el uso de 400  $\mu\text{L}$  de NaOH 0,5 M para la recuperación de  $^{68}\text{Ga}$  tiene varias ventajas ya que concentra el eluido en 17,5 veces respecto al obtenido directamente del generador pudiendo mejorar de esta forma los rendimientos radioquímicos durante sus síntesis. Además, permite disponer de  $^{68}\text{Ga}$  altamente concentrado, requisito fundamental para por ejemplo obtener nanopartículas de aerosol  $^{68}\text{Ga}$  en carbono, utilizadas en estudios embolia pulmonar aguda (Borges y cols., 2012; Kotzerke y cols., 2010).

Por otra parte, este método minimiza las concentraciones relativamente altas de  $\text{H}^+$ , reduciendo así la cantidad de agente tampón requerido para la síntesis con  $^{68}\text{Ga}$ . Esto último puede ser importante ya que artículos recientemente publicados sugieren que tampones como HEPES o acetato sódico, pueden, en cierta medida, competir con AQB para la reacción de quelación con  $^{68}\text{Ga}$  (Clausén y cols., 2002; Martins y cols., 2013). Otra ventaja de este método es la versatilidad ya que puede ser implementado para cualquier tipo de generador que utilice HCl como eluyente, independientemente de su concentración y de su volumen.

Respecto al “breakthrough” de  $^{68}\text{Ge}$  en el eluido, se encontró que el contenido  $^{68}\text{Ge}$  con respecto a la actividad de  $^{68}\text{Ga}$  eluida del generador no era mayor a  $10^{-3}\%$  ( $n = 5$ ), resultados acorde con las especificaciones del fabricante. Como el  $^{68}\text{Ge}$  no se retiene en la resina aniónica, la etapa de concentración descrita anteriormente también puede ser vista como una purificación de  $^{68}\text{Ga}$  respecto del radionucleido padre, confirmándose con los resultados obtenidos ya que el contenido en  $^{68}\text{Ge}$  disminuyó a  $4,1 \pm 0,2 \times 10^{-6}\%$  ( $n = 5$ ) en las muestras obtenidas a partir de la resina de intercambio aniónico. Por lo tanto, la eliminación casi completa del contenido de  $^{68}\text{Ge}$ , además de una concentración del volumen unida a la neutralización de  $\text{H}^+$  del método descrito proporciona  $^{68}\text{Ga}$  en solución acuosa lista para poder usarse en las distintas reacciones de síntesis.

#### 4.4 Conclusiones

El método manual descrito para la purificación y concentración del eluido obtenido vía generador  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  permite disponer de  $^{68}\text{Ga}$  en un periodo de tiempo relativamente corto y con potencial aplicación de diferentes reacciones de síntesis. Además, la mínima inversión económica requerida y su sencillo y práctico diseño, hace que fácilmente pueda ser implementado en centros de investigación en el que se requiera hacer estudios PET con  $^{68}\text{Ga}$  en animales de experimentación.

#### 4.5 Referencias bibliográficas

- Borges, JB., Velikyan, I., Langstroem, B., Soorensen, J., Ulin, J., Maripuu, E., M., Widstroem, C., Hedenstierna, G. 2011. Ventilation distribution studies comparing Technegas and Gallgas using  $^{68}\text{GaCl}_3$  as the label. *Journal of Nuclear Medicine*. 52(2): 206-209.
- Boschi, S., Lodi, F., Malizia, C., Cicoria, G., Marengo, M. 2013. Automation synthesis modules review. *Appl. Radiat. Isot.* 76: 38-45.
- Breeman, WA., de Jong, M., de Blois, E., Bernard., B.F., Konijnenberg, M.,

- Krenning, EP. 2005. Radiolabelling DOTA-peptides with  $^{68}\text{Ga}$ . *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging.* 33: 478-485.
- Clausén, M., Ohman, LO., Kubicki, JD., Persson, P. 2002. Characterisation of gallium(III)-acetate complexes in aqueous solution: a potentiometric, EXAFS, IR and molecular orbital modelling study. *Dalton. Trans.* 12: 2559-2564.
  - DDEP (Decay Data Evaluation Project Data). 2015. Available from [http://www.nucleide.org/DDEP\\_WG/DDEPdata.htm](http://www.nucleide.org/DDEP_WG/DDEPdata.htm).
  - de Blois, E., Sze Chan, H., Naidoo, C., Prince, D., Krenning, EP., Breeman, WA. 2011. Characteristics of  $\text{SnO}_2$ -based  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  generator and aspects of radiolabelling DOTA-peptides. *Appl. Radiat. Isot.* 69(2): 308-315.
  - Decristoforo, C., Knopp, R., von Guggenberg, E., Rupprich, M., Dreger, T., Hess, A., Virgolini, I., Haubner, R. 2007. A fully automated synthesis for the preparation of  $^{68}\text{Ga}$ -labelled peptides. *Nucl. Med. Commun.* 28: 870-875.
  - Kotzerke, J., Andreeff, M., Wunderlich, G. 2010. PET aerosol lung scintigraphy using Galligas. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging.* 37: 175-177.
  - Loktionova, NS., Belozub, AN., Filosofov, DV., Zhernosekov, KP., Wagner, T., Tuerler, A., Roesch, F. 2011. Improved column-based radiochemical processing of the generator produced  $^{68}\text{Ga}$ . *Appl. Radiat. Isot.* 69(7): 942-946.
  - Martins, AF, Prata, MIM., Rodrigues, SPJ., Geraldes, CFGC., Riss, PJ., Amor-Coarasa, A., Burchardt, C., Kroll, C., Roesch, F. 2013. Spectroscopic, radiochemical, and theoretical studies of the  $\text{Ga}^{3+}$ -N-2-hydroxyethyl piperazine-N0-2-ethanesulfonic acid (HEPES buffer) system: evidence for the formation of  $\text{Ga}^{3+}$ -HEPES complexes in  $^{68}\text{Ga}$  labeling reactions. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging.* 8: 265-273.
  - Meyer, GJ., Maecke, HR., Schumacher, J., Knapp, HW., Hofmann, M. 2004.  $^{68}\text{Ga}$ - Labelled DOTA derivatised peptide ligands. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging.* 31: 1097-1104.



- Mueller, D., Klette, I., Baum, RP. 2011. The combined cationic-anionic purification of the  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  generator eluate for the labelling of fragile peptides. Abstracts of Poster Presentations (Chemistry). World. J. Nucl. Med. 10(P-008): 73-89.
- Mueller, D., Klette, I., Baum, RP., Gottschaldt, M., Schultz, MK., Breeman, WAP. 2012. Simplified NaCl based ( $^{68}\text{Ga}$ ) concentration and labeling procedure for rapid synthesis of ( $^{68}\text{Ga}$ ) radiopharmaceuticals in high radiochemical purity. *Bioconjug. Chem.* 23(8): 1712-1717.
- Roesch, F., 2013. Past, present and future of  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  generators. *Appl. Radiat. Isot.* 76: 24-30.
- Romero, E., Martínez, A., Oteo, M., García, A., Morcillo, MA. 2016. Preparation of  $^{68}\text{Ga}$ -labelled DOTA-peptides using a manual labelling approach for small-animal PET imaging. *Appl. Radiat. Isot.* 107: 113-120.
- Santos, B., Romero, E., Martínez de Miguel, B., Oteo, M., Martínez, A., de Gregorio, M., Puertas, G., Morcillo, MA. 2013. XXXII Congreso de la Sociedad Española de Medicina nuclear e Imagen Molecular. Purificación de Galio-68 por intercambio aniónico con NaOH. 5-7 junio. Murcia.
- Seemann, J., Eppard, E., Waldron, BP., Ross, TL., Roesch, F. 2015. Cation exchange-based post-processing of  $^{68}\text{Ga}$ -eluate: Acomparision of three solvent systems for labelling of DOTATOC,NO2APBP and DATAm. *Appl. Radiat. Isot.* 98: 54-59.
- Schultz, MK., Mueller, D., Baum, RP., Leonard Watkins, G., Breeman, WA. 2013. A new automated NaCl based robust method for routine production of gallium-68 labeled peptides. *Appl. Radiat. Isot.* 76: 46-54.
- Velikyan, I., Beyer, GJ., Langstroem, B. 2004. Microwave-supported preparation of  $^{68}\text{Ga}$  bioconjugates with high specific radioactivity. *Bioconjug. Chem.* 15: 554-560.

- Velikyan, I., Xu, H., Nair, M., Hall, H. 2012. Robust labeling and comparative preclinical characterization of DOTA-TOC and DOTA-TATE. *Nucl. Med. Biol.* 39: 628-659.
- Vosjan, MJ., Perk, LR., Roovers, RC., Visser, GW., Stigter-van Walsum, M., van Bergen En Henegouwen, PM., van Dongen, GA. 2011. Facile labelling of an anti-epidermal growth factor receptor Nanobody with  $^{68}\text{Ga}$  via a novel bifunctional desferal chelate for immuno-PET. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging.* 38(4): 753-763.
- Zhernosekov, KP., Filosofov, DV., Baum, RP., Aschoff, P., Bihl, H., Razbash AA., Jahn, M., Jennewein, M., Roesch, F. 2007. Processing of generator-produced  $^{68}\text{Ga}$  for medical application. *J. Nucl. Med.* 10: 1741-1748.



## Capítulo 5: Aplicaciones con $^{68}\text{Ga}$

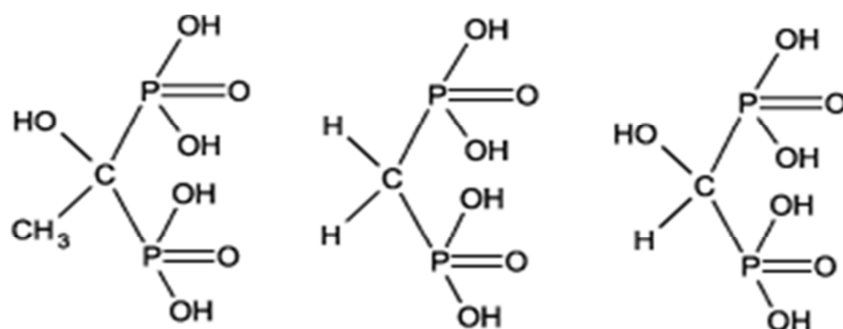
### 5.1 Radiotrazadores óseos marcados con $^{68}\text{Ga}$

#### 5.1.1 Introducción

En los últimos años se ha puesto de manifiesto la aplicación de PET en estudios óseos destacando las enfermedades óseas malignas, metabólicas, degenerativas, traumáticas e inflamatorias, así como, un interés particular en la evaluación de las metástasis óseas, las cuales tienen un impacto significativo en la calidad de vida de pacientes con cáncer. La metástasis de neoplasia maligna de hueso son mucho más frecuentes que los tumores malignos primarios de hueso (Cuccurullo y col., 2013). Sin embargo, las metástasis óseas pueden ocurrir como consecuencia de cualquier tipo de tumor primario, alrededor del 60-80% de estas metástasis son causados por carcinoma de mama o de próstata. Sin embargo, los síntomas que provocan, como dolor óseo, fracturas patológicas, compresión de la médula espinal, hipercalcemia y supresión de la médula ósea, son diagnosticados de forma tardía (Rubens, 1998; Greenlee y cols., 2001). Por esta razón el diagnóstico prematuro de estas metástasis permite una oportuna planificación terapéutica, siendo de gran importancia para mejorar la calidad de vida de los pacientes. (Choi y Raghavan, 2012; Rajarubendra y cols., 2010).

Las técnicas de imagen médica más importantes para el diagnóstico de estas metástasis se basan en el uso de radiotrazadores específicos, con alta afinidad por el tejido óseo, marcados con diversos radionucleidos (Love y cols., 2003). Los trazadores más utilizados son agentes con capacidad osteotrópica, estos agentes se acumulan en las regiones de producción ósea, independientemente de si la patología es benigna o maligna (O'Sullivan y cols., 2015). Los métodos más utilizados hoy en día con este propósito, son la gammagrafía planar y la tomografía computarizada de emisión de fotón único usando bifosfonatos (BPs) o polifosfonatos (PPs) generalmente marcados con  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  ya que presentan una rápida y alta afinidad de unión a la apatita que constituye el hueso (Papapoulos, 2008). Estos compuestos son empleados desde los años 70 en medicina nuclear tanto para diagnóstico como para terapia, siendo los más

comunes: ácido metilen-difosfónico (MDP), ácido dicarboxipropano-difosfonato (DPD), ácido 1-hidroxi-etilideno-difosfónico (HDP) (Figura 1) y ácido etilendiamina-tetra-metileno fosfónico (EDTMP) (Figura 2), siendo el  $^{99m}\text{Tc}$ -MDP el más comúnmente empleado debido a su eficacia, bajo costo, amplia disponibilidad y dosimetría favorable (Papapoulos, 2008).



**Figura 1.** Estructura química de: HDP (izquierda); MDP (centro) y HMDP (derecha).

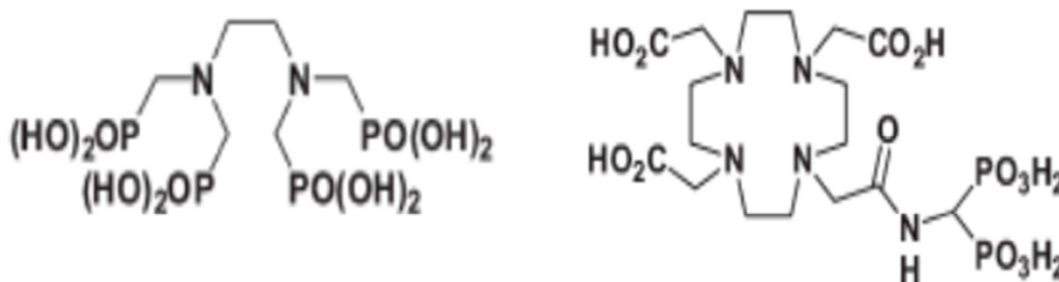
Aunque los compuestos con grupos fosfonatos son actualmente el estándar para evaluar las metástasis óseas en pacientes con sarcomas óseos primarios, estudios recientes plantean el debate respecto a la utilidad y la sensibilidad en comparación con el PET/CT (Walter y cols., 2012). Por otra parte, la baja resolución espacial y una baja sensibilidad a la respuesta al tratamiento restringen el uso de la gammagrafía (Liu y cols., 2013).

Debido a la reciente escasez en el suministro de generadores  $^{99}\text{Mo}/^{99m}\text{Tc}$ , provocada por las dificultades en la producción mundial de  $^{99}\text{Mo}$  en los diferentes reactores nucleares, y unido a la mayor resolución espacial del PET frente a técnicas como el SPECT (Fellner y cols., 2012), ha provocado que trazadores óseos marcados con radionucleidos emisores de positrones tengan un gran interés para el diagnóstico de metástasis óseas. Como es el caso del  $^{18}\text{F}$ -NaF, este radiotrazador ya está siendo utilizado clínicamente en PET en la actualidad, y las imágenes con  $^{18}\text{F}$ -NaF han demostrado mejores resultados diagnósticos que los compuestos con grupos fosfonatos marcados con  $^{99m}\text{Tc}$  (Schirrmeyer y cols., 1999a; Schirrmeyer y cols., 2001; Hetzel y cols., 2003; Even-Sapir y cols., 2006; Kruger y cols., 2009), destacando en el diagnóstico de metástasis óseas comprendidas en la región espinal (Schirrmeyer y cols., 1999b). Sin embargo, su

uso está limitado debido a la necesidad de un ciclotrón para la producción de  $^{18}\text{F}$ , con todos los requerimientos tecnológicos y altos costes económicos que esto conlleva.

En contraste con los radiotrazadores osteotrópicos, los cuales muestran alta afinidad por el calcio, compuestos oncotrópicos muestran absorción en las células malignas. El más común de ellos es el análogo de la glucosa  $^{18}\text{F}$ -FDG, mostrando un valor diagnóstico de metástasis óseas malignas diferente al de  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -MDP, no existe actualmente un consenso sobre los dos métodos en relación con el diagnóstico de metástasis óseas (Zhang y cols., 2015). Además como se ha mencionado anteriormente, la producción  $^{18}\text{F}$ -FDG requiere de un ciclotrón.

Una alternativa para la producción de radionucleidos emisores de positrones es el uso de sistemas generadores de radionucleidos, tales como el generador de  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ . Estudios recientes han mostrado resultados prometedores utilizando  $^{68}\text{Ga}$  para obtener imágenes PET de metástasis óseas en animales de experimentación, bien con un agente quelante lineal como el EDTMP (Dewanjee y cols., 1976; Mitterhauser y cols., 2007; Toegel y cols., 2008) el cual, marcado con un radionucleido  $\beta^-$  ( $^{153}\text{Sm}$ ) es ampliamente utilizado en clínica como paliativo al dolor producido por metástasis óseas (Bai y cols., 1998), o bien, con un agente quelante macrocíclico como es el ácido 1,4,7,10-tetraazaciclododecano-1,4,7-triacético (BPAMD) (Fellner y cols., 2011; Fellner y cols., 2012). La estructura química de ambos puede observarse en la Figura 2. La captación de estos radiotrazadores se produce en las regiones de remodelación ósea, que se originan en la metástasis, además, la capacidad de  $^{68}\text{Ga}$ -BPAMD para detectar este tipo de metástasis en clínica también ha sido demostrada (Fellner y cols., 2010).



**Figura 2.** Estructura química de: EDTMP (izquierda) y BPAMD (derecha).

El objetivo de este capítulo es realizar un estudio *in vivo* comparativo de los radiotrazadores óseos,  $^{68}\text{Ga}$ -EDTMP,  $^{68}\text{Ga}$ -BPAMD y  $^{18}\text{F}$ -NaF mediante la cuantificación de las imágenes PET en animales de experimentación sanos.

## 5.1.2 Materiales y Métodos

### 5.1.2.1 Radiomarcaje

Para el marcate del EDTMP, en el vial de reacción se añadieron 300  $\mu\text{g}$  de HEPES sódico (Sigma) disuelto en 300  $\mu\text{l}$  de agua desionizada, a continuación se añadieron 400  $\mu\text{l}$  de la solución de  $^{68}\text{Ga}$  obtenida a partir del generador prototipo descrito en el capítulo 3 y sometida a un proceso de concentración y purificación como se ha descrito en el capítulo 4. Posteriormente se añadió 0,1 mL de una solución stock 3,6 mg/mL de EDTMP, preparada previamente disolviendo el EDTMP (Sigma) en agua desionizada y adicionando NaOH 0,5 M bajo continua agitación hasta su completa disolución. El pH de la mezcla de reacción fue 3-4, empleando usando tiras de papel indicador (Merck). La mezcla resultante se incubó a temperatura ambiente durante 30 minutos para llevar a cabo la síntesis (Romero y cols, 2011).

Para el marcate del BPAMD, se utilizó un vial de microondas con 700  $\mu\text{l}$  de una solución de 0,5 M de HEPES no iónico y se añadieron 400  $\mu\text{l}$  de  $^{68}\text{Ga}$  obtenido a partir del generador prototipo descrito en el capítulo 3 y sometido a un proceso de concentración y purificación como se ha descrito en el capítulo 4. Posteriormente se adicionaron 28,8  $\mu\text{l}$  BPAMD procedentes de una solución stock 0,6 mg/ml preparada previamente disolviendo el BPAMD liofilizado (ABX) en agua desionizada. El pH final de la mezcla fue 3-4. A continuación, la mezcla de reacción se calentó a 90 °C durante 5 min en un microondas de laboratorio con radiación monomodal, Discover Benchmate (CEM), y posteriormente se enfrió hasta temperatura ambiente con nitrógeno.

Con el fin de eliminar el  $^{68}\text{Ga}$  que no ha reaccionado con el EDTMP y con el BPAMD, las mezclas de reacción se purificaron mediante una resina de intercambio catiónico. El galio libre, presente como forma catiónica  $^{68}\text{Ga}^{3+}$ , quedó retenido en la resina mientras que el  $^{68}\text{Ga}$ -EDTMP o  $^{68}\text{Ga}$ -BPAMD, no interaccionaron con esta, siendo recogidos en un vial.

La resina de intercambio catiónico empleada fue Strata-XC 60 mg en formato de cartucho (Phenomenex) previamente acondicionada con 1 mL de HCl 4 M y 1 mL de agua. El rendimiento de síntesis se determinó como el porcentaje de actividad no retenida en la resina de intercambio catiónico respecto a la actividad total utilizada. Las medidas se corrigieron por decaimiento.

Finalmente, el pH del producto final se ajustó lo más próximo a 7 mediante la adición de alícuotas de una solución de HEPES sódico 100 mg/mL y se filtró usando un filtro de jeringa de 0,22 micras Dyna Gard (Microgon), quedando de esta forma los radiotrazadores listos para su administración.

### 5.1.2.3 Control de Calidad

La pureza radioquímica del  $^{68}\text{Ga}$ -EDTMP y del  $^{68}\text{Ga}$ -BPAMD, se determinó por Cromatografía Líquida en Capa Fina (TLC) de acuerdo con el método descrito por Fellner y cols., (2012). Una alícuota de las soluciones de  $^{68}\text{Ga}$ -EDTMP y de  $^{68}\text{Ga}$ -BPAMD se aplicó en una placa vertical compuesta de celulosa TLC Polygram Cel 300, 0,1 mm (Macherey Nagel) utilizada como fase estacionaria, y como fase móvil una mezcla 2: 1 de A: B. Siendo A = 9 mL de agua desionizada, 0,6 mL HCl (37%), 88 mL de acetona y B = acetilacetona. El análisis se realizó bajo estas condiciones para ambos radiotrazadores, las impurezas radioquímicas así como el  $^{68}\text{Ga}$  libre avanzaron con el frente de solvente mientras que el  $^{68}\text{Ga}$ -EDTMP y el  $^{68}\text{Ga}$ -BPAMD quedaron retenidas en la zona de aplicación de la muestra. Con el fin de detectar la radiactividad en las placas, estas se pusieron en contacto con una pantalla pantalla-K (Bio-Rad) compuesta de cristales de fluorobromuro de bario dopado con europio ( $\text{BaFBr:Eu}^{2+}$ ). Estos cristales

son capaces de almacenar la energía liberada durante la emisión de partículas beta o rayos gamma convirtiéndola en luminiscencia. Esta luminiscencia se detectó usando un tubo fotomultiplicador y convirtiéndose posteriormente en señal eléctrica, generando así una imagen cuantitativa que representa la distribución de la radiactividad en la placa, utilizando para ello un Molecular Imager FX (Bio-Rad).

La pureza radionucleídica se calculó mediante espectrometría gamma utilizando un espectrómetro de germanio coaxial (Ortec). Todas las muestras se dejaron decaer durante más de 48 h para asegurar la desintegración radiactiva completa de  $^{68}\text{Ga}$ . En este momento, cuando ambos radionucleidos están en equilibrio radioquímico secular, el  $^{68}\text{Ge}$  se puede calcular mediante la cuantificación del pico de 511 keV correspondiente al  $^{68}\text{Ga}$  producido a partir del decaimiento del  $^{68}\text{Ge}$ .

#### 5.1.2.4 Imagen PET/CT

Los estudios de imagen PET se llevaron a cabo en estricta conformidad con la legislación vigente sobre el uso de animales de experimentación (RD 1201/2005 and Ley 32/2007). Se usaron ratones hembras, jóvenes y sanos de las cepas FVB/N y C57BL/6 alojados en los animalarios pertenecientes al CIEMAT y al Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas (CNIO) respectivamente.

Los radiotrazadores  $^{68}\text{Ga}$ -EDTMP y  $^{68}\text{Ga}$ -BPAMD se sintetizaron como se ha descrito anteriormente y  $^{18}\text{F}$ -NaF se obtuvo en solución comercial estéril (Instituto Tecnológico Pet, Madrid). Dos grupos de 6 ratones hembras FVB/N y un grupo de 6 ratones C57BL/6 se inyectaron de forma intravenosa en la cola del animal, siendo la actividad inyectada  $5 \pm 3$  MBq para  $^{68}\text{Ga}$ -EDTMP o  $^{68}\text{Ga}$ -BPAMD y  $13 \pm 1$  MBq para  $^{18}\text{F}$ -NaF respectivamente, medidas realizadas en un activímetro VDC-405 (Veenstra Instruments) calibrado previamente para  $^{68}\text{Ga}$ . Para la realización de los estudios de imagen se utilizó un equipo PET/CT para animales de experimentación, Argus PET/CT (SEDECAL). Las imágenes se adquirieron durante 30-60 minutos después de la

administración de los radiotrazadores, estando los ratones anestesiados con 2-2,5% isoflurano en 5% de O<sub>2</sub> usando para ello un inhalador Fluovac (Harvard Apparatus). Los parámetros PET fueron los siguientes: ventana de energía 250-700 keV y 20-30 min, adquisición estática. Para la imagen CT: Tensión de 45 KV, corriente 150 ma, 360 proyecciones y resolución estándar.

Las imágenes PET se corrigieron para eventos aleatorios y de dispersión y sin corrección de atenuación, y posteriormente reconstruidas mediante el programa 2D-OSEM, usando 2 iteraciones para las imágenes realizadas con <sup>68</sup>Ga y 3 en el caso del <sup>18</sup>F. Finalmente, las imágenes PET fueron se fusionaron con las imágenes CT correspondientes, para obtener una referencia anatómica, quedando las imágenes corregistradas.

La cuantificación de las imágenes PET se realizó utilizando el software Argus PET, definiéndose como regiones de interés (ROI) las regiones de hueso en crecimiento como hombros, codos y como zona en no crecimiento los antebrazos. La captación de los radiotrazadores en diferentes regiones se estimó mediante el cálculo de su Valor de Captación Estandarizado (SUV), de acuerdo con la siguiente expresión:

$$SUV = \frac{\text{concentración actividad } \left(\frac{KBq}{mL}\right) \times \text{peso ratón (g)}}{\text{actividad inyectada (KBq)}} \quad [1]$$

El SUV<sub>medio</sub> y SUV<sub>máximo</sub> se determinaron para cada ROI.

### 5.1.2.5 Análisis estadístico

La comparación de los tres radiotrazadores se realizó mediante un análisis de la varianza (ANOVA) de un factor utilizando el software SPSS. Las diferencias se consideraron significativas cuando el nivel de significación fue menor a 0,05. El test a posteriori empleado para ver diferencias significativas entre grupos fue el de Tukey.

## 5.1.3 Resultados y Discusión

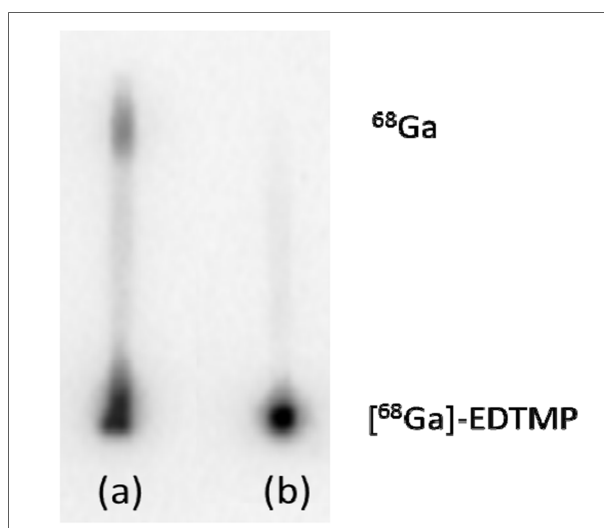
### 5.1.3.1 Radiomarcaje

Los rendimientos radioquímicos de las síntesis de  $^{68}\text{Ga}$ -EDTMP y  $^{68}\text{Ga}$ -BPAMD fueron  $88,1 \pm 5,5\%$  ( $n = 4$ ) y  $89,8 \pm 7,7\%$  ( $n = 4$ ) respectivamente, resultados similares a los reportados por Fellner y cols., (2011).

### 5.1.3.2 Control de Calidad

Las placas de TLC muestran el  $^{68}\text{Ga}$ -EDTMP y  $^{68}\text{Ga}$ -BPAMD ( $R_f = 0,0$ ) y  $^{68}\text{Ga}$ -libre ( $R_f = 0,8$ ), los resultados verifican que el método empleado es válido para cuantificar las posibles impurezas radioquímicas y el rendimiento de marcaje (Figura 3).

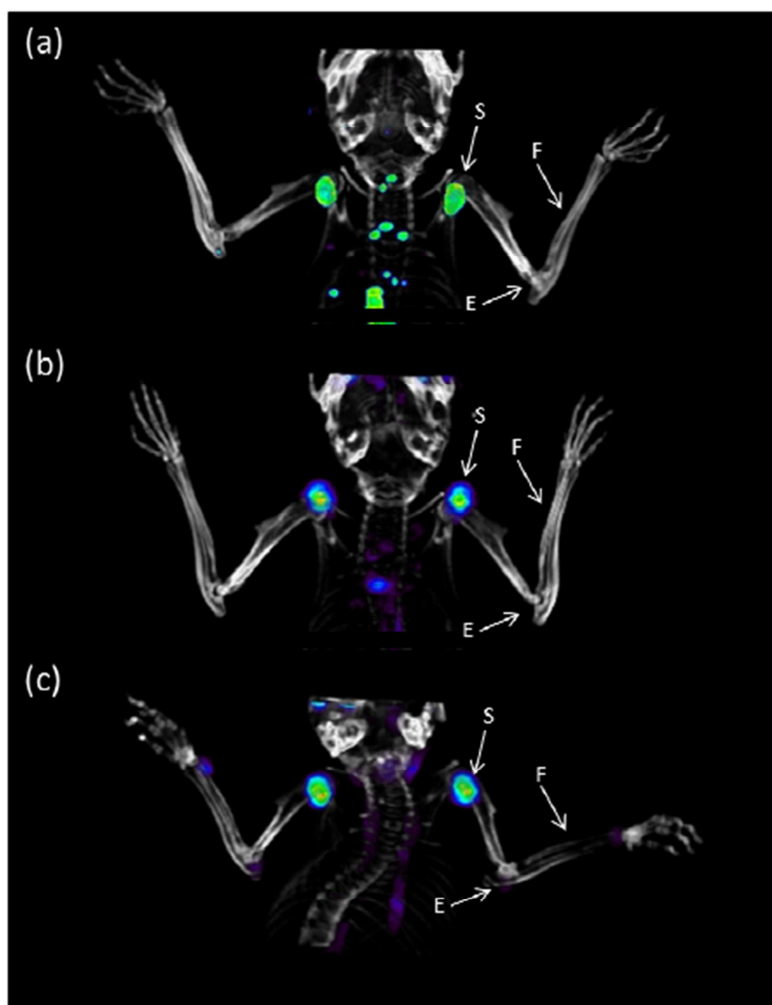
La PRQ obtenida por TLC fue  $\geq 95\%$  en todos los experimentos. La PRN en los radiotrazadores fue del orden de  $10^{-6}\%$  en todos los casos, disminuyendo en dos órdenes de magnitud respecto al contenido en  $^{68}\text{Ge}$  al eluido del generador prototipo.



**Figura 3.** Placas de TLC:  $^{68}\text{Ga}$ -EDTMP o  $^{68}\text{Ga}$ -BPAMD; antes purificar (a); después purificar mediante resina de intercambio catiónico (b).  $R_f$   $^{68}\text{Ga}$ -EDTMP o  $^{68}\text{Ga}$ -BPAMD (0,0) y  $R_f$   $^{68}\text{Ga}$  (0,8).

### 5.1.3.3 Imagen PET/CT

En las imágenes *in vivo* mediante PET en animales sanos, usando  $^{68}\text{Ga}$ -EDTMP,  $^{68}\text{Ga}$ -BPAMD y  $^{18}\text{F}$ -FNa puede apreciarse una captación fisiológica en el esqueleto destacando una mayor acumulación en las regiones metabólicamente activas, en particular, en las regiones de las epífisis de los huesos cercanas a las articulaciones y en la columna vertebral (Figura 4).



**Figura 4.** Imágenes PET/CT mostrando captación ósea  $^{68}\text{Ga}$ -EDTMP (a),  $^{68}\text{Ga}$ -BPAMD (b) y  $^{18}\text{F}$ -NaF (c) en ratones sanos 30 min postinyección. Zonas de cuantificación: S = hombro, E = codo y F = antebrazo.

Radiotrazador	Región	SUV <sub>medio</sub>		SUV <sub>máximo</sub>	
		Valor	%CV	Valor	%CV
<sup>18</sup> F-NaF	Hombros	5,110	18,2	14,362	15,1
	Codos	2,727	23,9	6,084	23,6
	Antebrazos	0,461	50,0	3,387	69,0
<sup>68</sup> Ga-EDTMP	Hombros	0,946	12,1	1,924	9,9
	Codos	0,304	14,4	0,766	13,1
	Antebrazos	0,177	33,0	0,427	28,8
<sup>68</sup> Ga-BPAMD	Hombros	0,255	24,2	0,559	28,4
	Codos	0,090	30,6	0,303	26,4
	Antebrazos	0,045	31,2	0,160	21,1

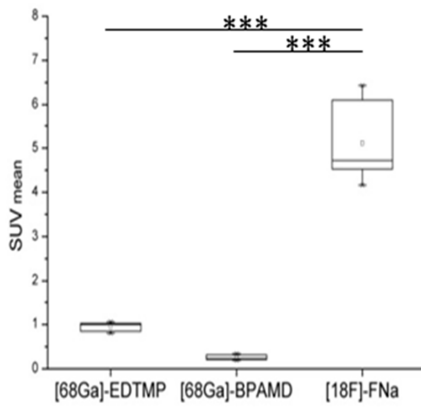
**Tabla 1.** Cuantificación mediante SUV de las imágenes PET de los tres radiotrazadores. Porcentaje del coeficiente de variación (% CV).

Los hombros mostraron el mayor grado de captación para los tres radiotrazadores en valores SUV<sub>máximo</sub> como SUV<sub>medio</sub> así como las relaciones hombros-SUV<sub>máximo</sub>/antebrazos-SUV<sub>medio</sub> (Tabla 1).

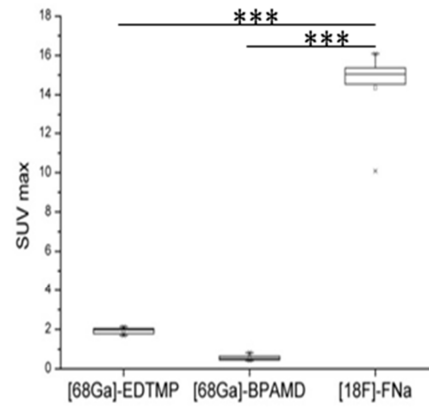
El <sup>18</sup>F-NaF presentó los valores más altos de SUV, un SUV<sub>medio</sub> de  $5,11 \pm 0,93$ , y  $2,73 \pm 0,65$  y  $0,46 \pm 0,23$  para hombros, codos y antebrazos respectivamente y SUV<sub>máximo</sub>  $14,36 \pm 2,16$ ;  $6,08 \pm 1,44$  y  $3,39 \pm 2,34$  para hombros codos y antebrazos respectivamente (Tabla 1). Mientras que el <sup>68</sup>Ga-EDTMP y el <sup>68</sup>Ga-EDTMP mostraron una menor captación para todas las regiones estudiadas. El <sup>68</sup>Ga-EDTMP mostró mayor acumulación que el <sup>68</sup>Ga-BPAMD, sin embargo no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ellos (Figura 5 a-f). SUV<sub>medio</sub> de  $0,94 \pm 0,11$  vs  $0,25 \pm 0,07$  en hombros,  $0,3 \pm 0,04$  vs  $0,09 \pm 0,03$  en codos y  $0,18 \pm 0,06$  vs  $0,04 \pm 0,01$  en antebrazos y los valores de SUV<sub>máximo</sub>  $1,92 \pm 0,19$  vs  $0,56 \pm 0,16$  en hombros,  $0,77 \pm 0,10$  vs  $0,30 \pm 0,08$  en codos y  $0,43 \pm 0,12$  vs  $0,16 \pm 0,03$  en antebrazos. Las relaciones de SUV<sub>máximo</sub>/SUV<sub>medio</sub> en antebrazos no mostraron diferencias estadísticamente significativas y además fueron valores más bajos que los obtenidos para el <sup>18</sup>F-NaF (Figura 5 g).



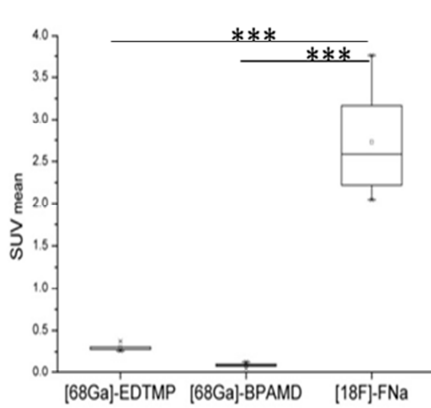
a)  $SUV_{medio}$  hombros



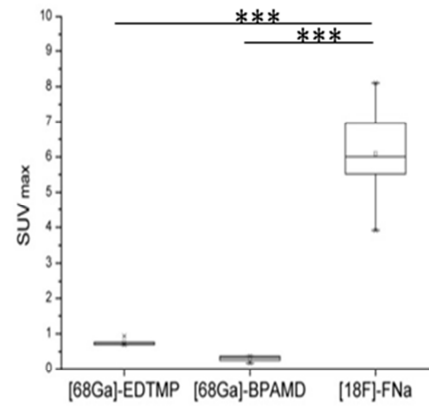
b)  $SUV_{máximo}$  hombros



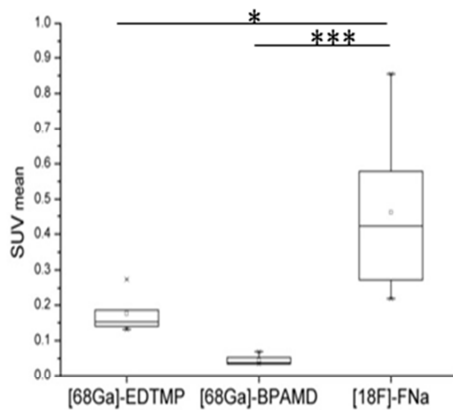
c)  $SUV_{medio}$  codos



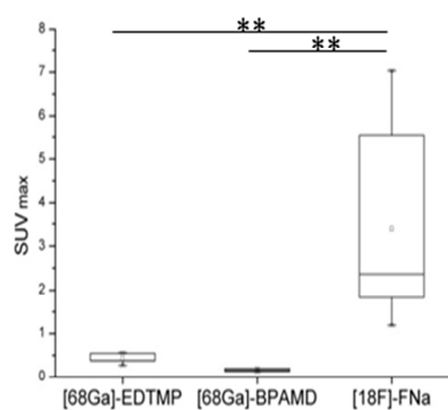
d)  $SUV_{máximo}$  codos

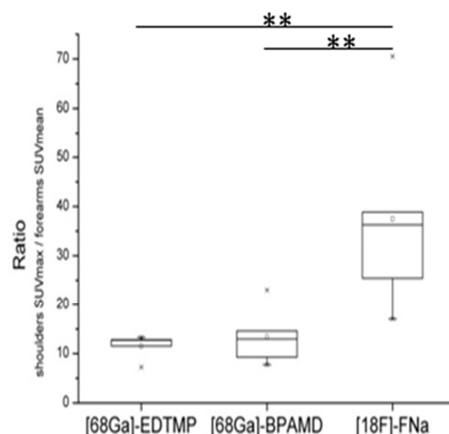


e)  $SUV_{medio}$  antebrazos



f)  $SUV_{máximo}$  antebrazos



g) ratio de  $SUV_{\text{máximo}}$  hombros y  $SUV_{\text{medio}}$  antebrazos

**Figura 5.** Gráficas de distribución de los valores de SUV entre  $^{68}\text{Ga}$ -EDTMP,  $^{68}\text{Ga}$ -BPAMD y  $^{18}\text{F}$ -NaF en ratones sanos: (a)  $SUV_{\text{medio}}$  hombros, (b)  $SUV_{\text{máximo}}$  hombros, (c)  $SUV_{\text{medio}}$  codos, (d)  $SUV_{\text{máximo}}$  codos, (e)  $SUV_{\text{medio}}$  antebrazos y (f)  $SUV_{\text{máximo}}$  antebrazos. Las diferencias en los valores de la relación ( $SUV_{\text{máximo}}$  hombros y  $SUV_{\text{medio}}$  antebrazos) también se muestran (g). Las líneas horizontales en las gráficas representan los valores de la mediana. Las diferencias significativas están marcados con un (\*), dos (\*\*), tres asteriscos (\*\*\*) si  $p < 0,05$ ,  $p < 0,01$  o  $p < 0,001$ , respectivamente.

Finalmente, el porcentaje de variabilidad entre los valores de captación interindividual fueron también menores para  $SUV_{\text{máximo}}$  en comparación con el  $SUV_{\text{medio}}$  para todas las regiones analizadas (Tabla 1). Los valores de captación para  $^{68}\text{Ga}$ -BPAMD y  $^{18}\text{F}$ -NaF en hombros fueron la única excepción, donde la variabilidad  $SUV_{\text{medio}}$  fue menor que la de la  $SUV_{\text{máximo}}$ . Para regiones de remodelado óseo (hombros y codos) el porcentaje de variabilidad fue menor en  $^{68}\text{Ga}$ -EDTMP que en  $^{68}\text{Ga}$ -BPAMD y  $^{18}\text{F}$ -NaF; 12,1 vs 24,2 y 18,2 para el  $SUV_{\text{medio}}$  respectivamente y 9,9 vs 28,4 y 15,1 de  $SUV_{\text{máximo}}$  respectivamente para el hombro, mientras que en el caso de los codos los valores fueron 17,4 vs 29,9 y 30,6 de  $SUV_{\text{medio}}$  respectivamente y 13,1 vs 23,6 y 26,4 de  $SUV_{\text{máximo}}$  respectivamente.

La amplia disponibilidad de escáneres PET permite obtener imágenes de hueso de alta calidad empleando  $^{18}\text{F}$ -NaF, el cual posee captación ósea altamente específica, rápido aclaramiento sanguíneo debido a la mínima unión a proteínas y la dosimetría similar al

de  $^{99m}\text{Tc}$ -MDP (Grant y cols., 2008).

Además, el sistema eficiente de distribución comercial utilizado para  $^{18}\text{F}$ -FDG podría ser utilizado para el suministro de otros radiofármacos marcados con  $^{18}\text{F}$ , como es el caso de  $^{18}\text{F}$ -NaF. Recientemente se han comparado estudios PET mediante  $^{18}\text{F}$ -NaF con estudios de gammagrafía mediante  $^{99m}\text{Tc}$ -MDP, demostrando que la imagen con  $^{18}\text{F}$ -NaF es más precisa que la imagen obtenida mediante gammagrafía o SPECT con  $^{99m}\text{Tc}$ -MDP, para la localización y caracterización de lesiones óseas tanto malignas como benignas (Iagaru y cols., 2012; Mick y cols., 2014). En la actualidad los radiofármacos  $^{18}\text{F}$ -FDG como  $^{18}\text{F}$ -NaF son los más utilizados (Choi y Raghavan 2012). El  $^{18}\text{F}$ -NaF es acumulado en hueso debido a que los aniones fluoruro son intercambiados con los grupos hidroxilo presentes en la hidroxiapatita, dando lugar a fluoroapatita (Love y cols, 2003). La captación del  $^{18}\text{F}$ -NaF es dependiente del flujo sanguíneo, siendo casi todos los aniones fluoruro captados por el hueso después de un ciclo de circulación sanguíneo (Czernin y cols, 2010).

En este estudio, los huesos mostraron una alta captación de  $^{18}\text{F}$ -NaF en hombros y codos, zonas con un alto grado de remodelación ósea, mientras que la captación en antebrazos fue más baja. Con el objetivo de desarrollar nuevos radiotrazadores óseos para PET, diversos compuestos basados en grupos fosfonatos y marcados con  $^{68}\text{Ga}$  han sido descritos, mostrando una alta afinidad por la hidroxiapatita, la cual se encuentra presente en el hueso, la acumulación se debe a la unión de los grupos fosfonato con el  $\text{Ca}^{2+}$  presente en los cristales de hidroxiapatita.

Estudios anteriores han indicado que la afinidad de EDTMP por el tejido óseo, usando hidroxiapatita como medio de unión, puede depender del tipo de radionucleido incorporado (Mitterhauser y cols., 2004), mostrando una baja afinidad para el compuesto  $^{68}\text{Ga}$ -EDTMP (Mitterhauser y cols., 2007; Toegel y cols., 2008). Sin embargo, Fellner, y cols., (2011) ha obtenido recientemente rendimientos  $> 95\%$  para la unión de  $^{68}\text{Ga}$ -EDTMP a hidroxiapatita simplemente mediante la modificación de las condiciones experimentales. Los fosfonatos no sólo se unen a la estructura de la hidroxiapatita del hueso, sino que también están interactuando en la vía de la HMG CoA reductasa y son la inhibición de la farnesil difosfato sintasa (FPP).

Los grupos fosfonatos imitan pirofosfatos y así inhiben la FPPS, por lo tanto los fosfonatos muestran un papel bioquímico además del físico-químico en la unión a estructuras de hidroxapatita de la matriz ósea (Fellner y cols., 2012). Este grupo de investigación ha estudiado el  $^{68}\text{Ga}$ -BPAMD, un bifosfonato conjugado-DOTA y marcado con  $^{68}\text{Ga}$ , presentando una alta acumulación en lesiones óseas metastásicas en ratas así como en seres humanos (Fellner y cols., 2012; Fellner y cols., 2010).

En el presente estudio, las imágenes de la captación  $^{68}\text{Ga}$ -EDTMP y  $^{68}\text{Ga}$ -BPAMD en ratones sanos mostró que ambos trazadores se acumularon en los huesos, principalmente en las secciones con una relativamente alta remodelación de la matriz ósea, tales como los hombros y los codos (Figura 5). Aunque la absorción de  $^{68}\text{Ga}$ -EDTMP en las regiones analizadas fue mayor que la de  $^{68}\text{Ga}$ -BPAMD, no se encontraron diferencias significativas. La relación entre las regiones con una relativamente alta remodelación de la matriz ósea, como hombros, y las regiones con baja remodelación, como antebrazos, fue similar para ambos fosfonatos y menores que para  $^{18}\text{F}$ -NaF (12/13 veces vs 37 veces, respectivamente) (Figura 5 g).

La captación de  $^{18}\text{F}$ -NaF fue significativamente mayor que la de  $^{68}\text{Ga}$ -EDTMP y  $^{68}\text{Ga}$ -BPAMD al considerar tanto  $\text{SUV}_{\text{medio}}$  como  $\text{SUV}_{\text{máximo}}$ . Los valores de SUV para  $^{68}\text{Ga}$ -EDTMP y  $^{18}\text{F}$ -NaF están acorde con los resultados en microPET mostrados por Mitterhauser y cols., (2007), corroborando el hecho de que el  $^{18}\text{F}$ -NaF es el radiotrazador más adecuado en PET. Aunque el  $^{18}\text{F}$ -NaF muestra los mejores resultados para las imágenes de hueso, el principal inconveniente es el alto coste asociado con su producción basada en ciclotrón en comparación con la producción de basada en generadores de radionucleidos.

Por otro lado, se observa una menor variabilidad interindividual para el  $\text{SUV}_{\text{medio}}$  y  $\text{SUV}_{\text{máximo}}$  en regiones con alta actividad de remodelación después de la administración  $^{68}\text{Ga}$ -EDTMP, en comparación con  $^{68}\text{Ga}$ -BPAMD y  $^{18}\text{F}$ -NaF. Por lo tanto, como el radionucleido  $^{68}\text{Ga}$  no requiere de un ciclotrón y debido número limitado de animales permitidos en estudios experimentales, el  $^{68}\text{Ga}$ -EDTMP es un candidato a utilizarse en

estudios preclínicos óseos mediante imagen PET.

### 5.1.4 Conclusiones

En los estudios PET realizados en ratones sanos el  $^{18}\text{F}$ -FNa mostró los mejores resultados de captación ósea, el principal inconveniente es el alto coste económico asociado con su producción, ya que es necesario de un ciclotrón, en comparación con la producción de  $^{68}\text{Ga}$  basada en generador. En este contexto de coste/beneficio, los radiotrazadores basados en  $^{68}\text{Ga}$  podrían desempeñar un papel importante. Por otro lado, la mayor captación de los compuestos con grupos fosfonatos en comparación con el  $^{18}\text{F}$ -FNa en lesiones osteoclásticas, descrita por Fellner y cols. (2011), evidencia el potencial de estos  $^{68}\text{Ga}$ -radiotrazadores. Además la mayor afinidad del  $^{68}\text{Ga}$ -EDTMP respecto al  $^{68}\text{Ga}$ -BPAMD por el tejido óseo ha sido demostrada *in vivo* mediante imágenes PET, mostrando mayor captación en las regiones de crecimiento y proliferación ósea. Así como la pureza radioquímica y radionucleídica obtenidas junto con la baja inversión económica requerida para llevar a cabo este procedimiento y su rápida y sencilla síntesis, le confieren la posibilidad de ser transferida fácilmente a un kit comercial. Por lo tanto,  $^{68}\text{Ga}$ -EDTMP debe ser tomado en consideración para realizar los estudios de imagen PET, de caracterización y cuantificación en los que estén involucrados procesos de remodelado, tales como metástasis óseas. Por otra parte, la misma molécula (EDTMP) puede ser utilizado tanto para fines diagnósticos como terapéuticos ("theranostics"), dependiendo de la radionucleido elegido como ocurre en el caso del  $^{68}\text{Ga}$  y  $^{153}\text{Sm}$  respectivamente.

### 5.1.5 Referencias bibliográficas

- Bai, H., Jin, H., Fan, H., Du, J., Wang, F., Chen, D., Cheng, Z. 1998. Study on analysis of  $^{153}\text{Sm}$ -EDTMP stability in vitro and vivo by HPLC. J. Radioanal. Nucl. Chem. 236: 287.
- Cuccurullo, V., Cascini, GL., Tamburrini, O., Rotondo, A., Mansi, L. 2013. Bone metastases radiopharmaceuticals: an overview. Curr. Radiopharm. 6(1): 41-55.

- Choi, J., Raghavan, M. 2012. Diagnostic imaging and image-guided therapy of skeletal metastases. *Cancer Control*. 19(2): 102-112.
- Czernin, J., Satyamurthy, N., Schiepers, C. 2010. Molecular mechanisms of bone  $^{18}\text{F}$ -NaF deposition. *J. Nucl. Med.* 51(12): 1826-1829.
- Dewanjee, MK., Hnatowich, DJ., Beh, R. 1976. New  $^{68}\text{Ga}$ -labeled skeletal-imaging agents for positron scintigraphy. *J. Nucl. Med.* 17: 1003.
- Even-Sapir, E., Metser, U., Mishani, E., Lievshitz, G., Lerman, H., Leibovitch, I. 2006. The detection of bone metastases in patients with highrisk prostate cancer:  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -MDP planar bone scintigraphy, single- and multi-field-of-view SPECT,  $^{18}\text{F}$ -fluoride PET, and  $^{18}\text{F}$ -fluoride PET/CT. *J. Nucl. Med.* 47: 287-297.
- Fellner, M., Baum, RP., Kubíček, V., Hermann, P., Lukes, I., Prasad, V., Roesch, F. 2010. PET/CT imaging of osteoblastic bone metastases with  $^{68}\text{Ga}$ -bisphosphonates: first human study. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging*. 37: 834.
- Fellner, M., Riss, P., Loktionova, N., Zhernosekov, KP., Thews, O., Geraldes, CFGC., Kovacs, Z., Luke, I., Roesch, F. 2011. Comparison of different phosphorus-containing ligands complexing  $^{68}\text{Ga}$  for PET imaging of bone metabolism. *Radiochim. Acta*. 99: 43-51.
- Fellner, M., Biesalski, B., Bausbacher, N., Kubíček, V., Hermann, P., Roesch, F., Thews, O. 2012. ( $^{68}\text{Ga}$ )-BPAMD: PET-imaging of bone metastases with a generator based positron emitter. *Nucl. Med. Biol.* 39(7): 993-999.
- Grant, FD., Fahey, FH., Packard, AB., David, RT., Alavi, A., Treves, ST. 2008. Skeletal PET with  $^{18}\text{F}$ -Fluoride: applying new technology to an old tracer. *J. Nucl. Med.* 49(1): 68-78.
- Greenlee, RT., Hill-Harmon, MB., Murray, T., Thun, M. 2001. Cancer Statistics. *C.A. Cancer J. Clin.* 51: 15.
- Hetzel, M., Arslanemir, C., König, HH., Buck, AK., Nussle, K., Glatting, G., Gabelmann, A., Hetzel, J., Hombach, V., Schirrmeyer, H. 2003. F-18 NaF PET



for detection of bone metastases in lung cancer: accuracy, cost-effectiveness, and impact on patient management. *J. Bone Miner. Res.* 18: 2206-2214.

- Iagaru, A., Mittra, E., Dick, DW., Gambhir, SS. 2012. Prospective evaluation of ( $^{99m}\text{Tc}$ ) MDP scintigraphy, ( $^{18}\text{F}$ ) NaF PET/CT, and ( $^{18}\text{F}$ ) FDG PET/CT for detection of skeletal metastases. *Mol. Imaging Bio.* 14(2): 252-259.
- Kruger, S., Buck, AK., Mottaghy, FM., Hasenkamp, E., Pauls, S., Schumann, C., Wibmer, T., Merk, T., Hombach, V., Reske, SN. 2009. Detection of bone metastases in patients with lung cancer:  $^{99m}\text{Tc}$ -MDP planar bone scintigraphy,  $^{18}\text{F}$ -fluoride PET or  $^{18}\text{F}$ -FDG PET/CT. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging.* 36: 1807-1812.
- Liu, NB., Zhu, L., Li, MH., Sun, XR., Hu, M., Huo, ZW., Xu, WG., Yu, JM. 2013. Diagnostic value of  $^{18}\text{F}$ -FDG PET/CT in comparison to bone scintigraphy, CT and  $^{18}\text{F}$ -FDG PET for the detection of bone metastasis. *Asian Pac. J. Cancer. Prev.* (6): 3647-36452.
- Love, C., Din, AS., Tomas, MB., Kalapparambath, TP., Palestro, CJ. 2003. Radionuclide bone imaging: an illustrative review. *Radiographics.* 23: 341-358.
- Mick, CG., James, T., Hill, JD., Williams, P., Perry, M. 2014. Molecular imaging in oncology: ( $^{18}\text{F}$ )-sodium fluoride PET imaging of osseous metastatic disease. *AJR Am. J. Roentgenol.* 203(2): 263-271.
- Mitterhauser, M., Toegel, S., Wadsak, W., Mien, LK., Eidherr, H., Wiesner, K., Viernstein H, Kletter K, Dudczak R. 2004. Binding studies of [ $^{18}\text{F}$ ]-fluoride and polyphosphonates radiolabelled with [ $^{111}\text{In}$ ], [ $^{99m}\text{Tc}$ ], [ $^{153}\text{Sm}$ ] and [ $^{188}\text{Re}$ ] on bone compartments: a new model for the pre vivo evaluation of bone seekers?. *Bone.* 34: 835-844.
- Mitterhauser, M., Toegel, S., Wadsak, W., Lanzenberger, RR., Mien, LK., Kuntner, C., Wanek, T., Eidherr, H., Ettliger, D. E., Viernstein, H., Kluger, R., Dudczak, R., Kletter, K. 2007. Pre vivo, ex vivo and in vivo evaluations of [ $^{68}\text{Ga}$ ]-EDTMP. *Nucl. Med. Biol.* 34: 391.

- O'Sullivan, GJ., Carty, FL., Cronin, CG. 2015. Imaging of bone metastasis: An update. *World J. Radiol.* 7(8): 202-11.
- Papapoulos, SE. 2008. Bisphosphonates: how do they work?. *Best. Pract. Res. Cl. En.* 22: 831-847.
- Rajarubendra, N., Bolton, D., Lawrentschuk, N. 2010. Diagnosis of bone metastases in urological malignancies-an update. *Urology.* 76(4): 782-90.
- Romero, E., Grande, MT., Oteo, M., Castañera, R., García-Toraño, E., Morcillo, MA. 2011. Marcaje de EDTMP con el emisor positrónico  $^{68}\text{Ga}$ . XXXI Congreso de la Sociedad Española de Medicina nuclear e Imagen Molecular. 22-24 junio. Bilbao.
- Rubens, RD. 1998. Bone metastases - the clinical problem. *Eur. J. Cancer.* 34: 210.
- Schirrmeister, H., Guhlmann, A., Kotzerke, J., Santjohanser, C., Kuhn, T., Kreienberg R., Messer, P., Nüssle, K., Elsner, K., Glatting, G., Träger, H., Neumaier, B., Diederichs, C., Reske, SN. 1999a. Early detection and accurate description of extent of metastatic bone disease in breast cancer with fluoride ion and positron emission tomography. *J. Clin. Oncol.* 17: 2381-2389.
- Schirrmeister, H., Guhlmann, A., Elsner, K., Kotzerke, J., Glatting, G., Rentschler, M., Neumaier, B., Träger, H., Nüssle, K., Reske, SN. 1999b. Sensitivity in detecting osseous lesions depends on anatomic localization: planar bone scintigraphy versus  $^{18}\text{F}$  PET. *J. Nucl. Med.* 40: 1623-1629.
- Schirrmeister, H., Glatting, G., Hetzel, J., Nussle, K., Arslanemir, C., Buck, A.K., Dziuk, K., Gabelmann, A., Reske, SN., Hetzel, M. 2001. Prospective evaluation of the clinical value of planar bone scans, SPECT, and  $^{18}\text{F}$ -labeled NaF PET in newly diagnosed lung cancer. *J. Nucl. Med.* 42: 1800-1804.
- Toegel, S., Wadsak, W., Mien, LK., Viernstein, H., Kluger, R., Eiherr, H., Haeusler, D., Kletter, K., Dudczak, R., Mitterhauser, M. 2008. Preparation and pre-vivo evaluation of no-carrier-added, carrier-added and cross-complexed



[<sup>68</sup>Ga]-EDTMP formulations. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 68: 406.

- Walter, F., Czernin, J., Hall, T., Allen-Auerbach, M., Walter, MA., Dunkelmann, S., Federman, N. 2012. Is there a need for dedicated bone imaging in addition to <sup>18</sup>F-FDG PET/CT imaging in pediatric sarcoma patients. *J. Pediatr. Hematol. Oncol.* 34(2): 131-136.
- Zhang, L., Chen, L., Xie, Q., Zhang, Y., Cheng, L., Li, H., Wang, J. 2015. A comparative study of <sup>18</sup>F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography/computed tomography and (<sup>99m</sup>Tc)-MDP whole-body bone scanning for imaging osteolytic bone metastases. *BMC Med. Imaging.* 15: 7.



## 5.2 Análogo de $\alpha$ -MSH marcado con $^{68}\text{Ga}$

### 5.2.1 Introducción

El melanoma es uno de los cánceres más agresivos, así como las metástasis que pueden ocasionar, las cuales suelen aparecer en estadios muy tempranos del tumor primario siendo una gran amenaza para la supervivencia del paciente (Chin y cols., 2006). La cirugía puede ser efectiva en el tratamiento del tumor primario, sin embargo en el caso de melanomas metastásicos suelen ser altamente refractivos al tratamiento por radio, quimio, o inmunoterapia teniendo una supervivencia media de vida menor a 9 meses desde su diagnóstico. El hecho de que el melanoma sea tan altamente peligroso, incluso en comparación con otros tipos de cáncer, no está del todo comprendido (Hoek y Godin, 2010).

La medicina nuclear desempeña un papel esencial en el diagnóstico y tratamiento de los pacientes que sufren de melanoma, siendo hoy en día la biopsia de ganglio centinela y la tomografía por emisión de positrones las herramientas de diagnóstico más utilizadas.

El diagnóstico mediante PET usando  $^{18}\text{F}$ -FDG proporciona información clínica de gran relevancia para el diagnóstico de metástasis en diferentes órganos y para evaluar el estadiaje del melanoma. Siendo de gran utilidad en pacientes con un estado avanzado de la enfermedad (estadios III y IV) (Wagner, 2004) pero no está demostrado que tenga un impacto significativo para diagnóstico de pacientes que padecen melanoma en estadios I y II (Jiménez-Requena y cols., 2010).

La  $^{18}\text{F}$ -FDG es el radiofármaco más utilizado en oncología, sin embargo no resulta muy específico en el diagnóstico de melanomas y tampoco es eficaz para el diagnóstico de melanomas que utilizan como sustrato de energía fuentes diferentes a la glucosa (Nabi, y Zubeldia, 2002; Dimitrakopoulou-Strauss y cols., 2001). El diseño de nuevos radiofármacos PET siguen siendo en gran desafío para poder estudiar procesos específicos asociados a melanoma y el diagnóstico de micrometástasis asociadas (Ren y cols., 2009; Rbah-Vidal y cols., 2012).

El receptor de melanocortina de tipo 1 (MC1R) es un receptor acoplado a proteína G que se sobreexpresa en células melanocíticas y amelanocíticas de melanoma tanto humanas como de ratón (Bagutti y cols., 1995; Ghanem y cols., 1988; Jiang y cols., 1996; Siegrist y cols., 1989; Siegrist y cols., 1994), sobreexpresándose este receptor en un 80% de los tumores de melanoma metastásicos humanos (Tatro y cols., 1992).

La hormona estimulante de melanocitos alfa ( $\alpha$ -MSH) es una hormona peptídica endógena agonista no selectiva de todos los subtipos de receptores de melanocortina, excepto para el receptor de melanocortina humano 2 (MC2R). Por este motivo, una estrategia para el diagnóstico de melanomas y metástasis producidas por estos, después de la resección del tumor primario, es utilizar  $\alpha$ -MSH y sus análogos debido a la sobreexpresión de MC1R. Péptidos análogos a  $\alpha$ -MSH marcados con distintos radionucleidos, pueden ser potenciales radioligandos para el diagnóstico y la terapia de melanomas. Esta estrategia podría suponer un avance significativo en el diagnóstico *in vivo*, realizándose por lo tanto, diversos estudios en esta línea (Fani y cols., 2008; Koopmans y Glaudemans, 2012; Laverman y cols., 2012).

Se han sintetizado diferentes análogos de  $\alpha$ -MSH marcados con diferentes radionucleidos, mostrando alta afinidad por el melanoma debido a su alta especificidad de unión a MC1R, obteniendo resultados prometedores para el diagnóstico y terapia de melanomas (Bagutti y cols., 1994; Miao y Quinn, 2007; Miao y Thomas, 2008; Eberle, y cols., 2010). Dos análogos de  $\alpha$ -MSH han mostrado los mejores resultados para el diagnóstico *in vivo*. El primero es un péptido ciclado, el cual incorpora para su estabilidad renio,  $\alpha$ -MSH<sub>3-13</sub> ReO(Cys<sup>3,4,10</sup>,D-Phe<sup>7</sup>, arg<sup>11</sup>) (conocido como ReCCMSH (Arg<sup>11</sup>)). El otro es lineal, Ac-Nle-Asp-His-D-Phe-Arg-Trp-Gly-Lys-NH<sub>2</sub> (conocido como NAPamida). Estos péptidos están conjugados con un AQB, DOTA, en la cadena lateral del residuo de lisina (es decir, en el NH<sub>2</sub>-terminal de la molécula), permitiendo ser marcados con <sup>111</sup>In o <sup>67</sup>Ga para SPECT y con <sup>68</sup>Ga o <sup>64</sup>Cu para PET, mostrando alta afinidad por MC1R y con buenas propiedades farmacocinéticas en modelos tumorales de ratón (Froidevaux y cols., 2004; Froidevaux y cols., 2005; Cheng y cols., 2007a). Existen variantes de los análogos anteriores marcados con <sup>18</sup>F, como es el caso de <sup>18</sup>F-FB-NAPamida para diagnóstico mediante PET (Cheng y cols., 2007b).



El rango de expresión MC1R para diferentes células de melanoma humano y murino, oscila desde varios cientos hasta alrededor de 10000 receptores por célula, Tabla 2 (Miao y cols., 2003).

Densidad de receptores en células humanas de melanoma	
Densidad de receptor MC1R en cada línea celular (Nº receptores/célula)	
TXM13	5700
3M	5000
UACC257	2800
M14	1500
UACC62	1000
LOX	1000
SKMEL5	1000
SKMEL28	900

**Tabla 2.** Densidad de receptores MC1R en diferentes líneas celulares humanas de melanoma. Tabla adaptada de Miao y cols., (2003).

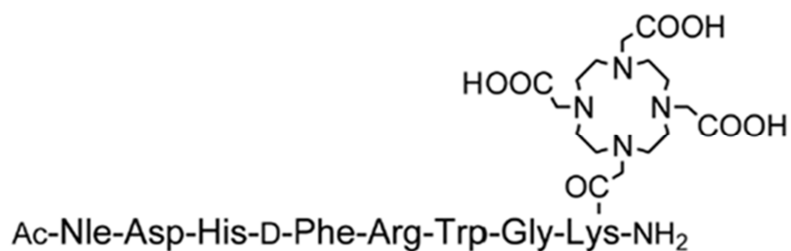
La captación tumoral de los péptidos análogos de  $\alpha$ -MSH marcados con radionucleidos se ha relacionado con la expresión de MC1R, como se observa tanto con  $^{18}\text{F}$ -FB-NAPamida (Cheng y cols., 2007b) como con  $^{64}\text{Cu}$ -DOTA-NAPamida (Cheng y cols., 2007a). Estos péptidos tienen una alta captación tumoral en un modelo murino usando en la línea celular tumoral de melanoma B16F10 (con una alta expresión MC1R) y una menor captación en la línea celular tumoral humana de melanoma A375M (con baja expresión de MC1R). Diversos estudios han estudiado la posible aplicación de diferentes radioligandos para diagnosticar mediante PET y SPECT melanomas primarios en ratones (Ren y cols., 2009; Rbah-Vidal y cols., 2012), sin embargo, se ha prestado muy poca atención en utilizar análogos de  $\alpha$ -MSH marcados para el diagnóstico de metástasis mediante PET, sobre todo cuando un diagnóstico temprano de estas puede resultar esencial para planificar un tratamiento.

El objetivo principal de este capítulo es evaluar el uso directo del  $^{68}\text{Ga}$  obtenido de la elución del generador prototipo desarrollado anteriormente, sin necesidad de realizar un proceso adicional de purificación, mediante el marcaje de DOTA-péptidos para ello se utilizó un análogo de  $\alpha$ -MSH, DOTA-NAPamida. Además, se evaluó el  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-NAPamida como potencial radioligando PET en el diagnóstico de melanoma, utilizando para ello un modelo de ratón con xenoinjerto con una línea celular tumoral humana de melanoma.

## 5.2.2 Material y métodos

### 5.2.2.1 Radiomarcaje

Debido al bajo contenido en metales obtenidos en el eluido del generador ( $< 1$  ppm en total), a la baja concentración de  $^{68}\text{Ge}$  ( $10^{-4}\%$ ) y a la relativamente alta concentración del  $^{68}\text{Ga}$  obtenido ( $\approx 85\%$  en 1 ml) se empleó directamente el eluido del generador prototipo desarrollado en el capítulo 3 para la reacción de marcaje. El péptido DOTA-NAPamida, sintetizado a demanda y posteriormente liofilizado (Bachem), cuya estructura química puede ser observada en la Figura 6 (Romero y cols., 2010), se reconstituyó con agua hasta llegar a una concentración final de  $0,1$  nmol/ $\mu\text{L}$ .  $210$  mg ( $\pm 5$  mg) de HEPES (Sigma-Aldrich) se adicionaron al vial de reacción junto a DOTA-NAPamida (2-20 nanomoles), posteriormente se añadió 1 ml correspondiente a la fracción 4 y 5 de la elución fraccionada del generador prototipo de  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  (HCl 1M, 1 mL/min). El pH final de la mezcla de reacción fue 3-4; medidas realizadas con tiras de papel indicador (Merck). Inmediatamente después, la mezcla de reacción se calentó usando un microondas de laboratorio con radiación monomodal, Discover Benchmate (CEM), a  $90 \pm 5$  °C durante 5 min y finalmente enfriada, hasta temperatura ambiente, utilizando nitrógeno gas.



**Figura 6.** Estructura química del análogo de  $\alpha$ -MSH conjugado con DOTA, DOTA-NAPamida.

### 5.2.2.2 Purificación del compuesto marcado

Con el objetivo de poder eliminar el  $^{68}\text{Ga}$  que no ha reaccionado con la DOTA-NAPamida durante la síntesis de  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-NAPamida, es decir el  $^{68}\text{Ga}$  libre, se realizó una etapa adicional de purificación del compuesto marcado basada en su hidrofobicidad, utilizando una cromatografía de extracción en fase sólida mediante un cartucho Sep Pak light (Waters). El  $^{68}\text{Ga}$  libre no interacciona con la fase estacionaria utilizando una fase móvil acuosa, mientras que en el caso del  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-NAPamida y el posible  $^{68}\text{Ga}$  coloidal (Bauwens y cols., 2010) sí que sufren interacción y permanecen retenidos en la fase estacionaria, pudiendo recuperar el  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-NAPamida empleando un solvente orgánico como etanol.

La mezcla de reacción se purificó empleando un cartucho Sep Pak light, previamente acondicionado y equilibrado con 4 mL de etanol puro y 4 mL de agua desionizada respectivamente. Una vez transferida la mezcla al Sep Pak, se realizó un proceso de lavado con 4 mL de agua desionizada, para asegurarse la separación completa del  $^{68}\text{Ga}$  libre. Posteriormente, el  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-NAPamida se recuperó eluyendo el Sep Pak de forma inversa usando 0,5 mL de etanol 96% (v/v). Finalmente, el etanol se evaporó hasta sequedad usando un Speed Vac (Savant) y  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-NAPamida se disolvió en solución salina (solución de NaCl 0,9%). Se analizó una alícuota por Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC), para estimar la pureza radioquímica del producto final. El rendimiento de síntesis se determinó como el porcentaje de la actividad eluida del cartucho con etanol respecto al total de actividad de  $^{68}\text{Ga}$  utilizada durante el proceso, corrigiendo las medidas por su decaimiento en el tiempo.

### 5.2.2.3 Control de calidad

La pureza radioquímica del  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-NAPamida se determinó mediante radio-HPLC, Alliance 2695 (Waters) controlado por software Millennium, equipado con un detector UV (996 Waters) y un detector de radiactividad LB 507A (Berthold) acoplados on-line. Los cromatogramas UV se registraron a 220 nm bajo las siguientes condiciones:

- Fase estacionaria: columna de fase reversa, Júpiter Proteo 90 Å (Phenomenex), con dimensiones 4 m, 250 x 4,6 mm.
- Fase móvil: 0,1% de TFA, 5% de acetonitrilo (solvente A) y 0,1% de TFA en 95% de acetonitrilo (solvente B).
- Gradiente (1 mL/min): 0-2 min, isocrático 5% de B; 2-10 min, gradiente lineal 5-75% de B; 10-12 min, isocrático 75% de B y 12-20 min, gradiente lineal 75-5% de B y 5 min, isocrático 5% de B.

### 5.2.2.4 Imagen PET/CT

La línea celular de melanoma de ratón, B16V5, se suministró por la Dra. Soengas del Grupo de Melanoma del Departamento de Oncología Molecular perteneciente al Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas (CNIO).

Las células se cultivaron en medio Eagle modificado Dulbecco's (Dulbecco's Modified Eagle Medium (DEMEM+ GlutaMAX<sup>TM</sup>-I; Invitrogene, GIBCO) suplementado con 10% de suero fetal bovino inactivo (FBS; Sigma), 2 mM L-glutamina (Invitrogene, GIBCO), 50  $\mu\text{I}/\text{mL}$  Penicillinand y 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$  Strelptomycin (Invitrogene, GIBCO) en una atmósfera humidificada al 95% y un 5% de  $\text{CO}_2$  a 37 °C. Las monocapas se separaron con tripsina y se dissociaron en una suspensión de células individuales para su posterior cultivo celular.

Los experimentos con animales se aprobaron por el Comité Ético de Experimentación Animal y se llevaron a cabo de acuerdo a las directrices del CIEMAT. Se utilizaron ratones C57BL6 procedentes del Servicio de Animalario del CIEMAT. Los animales se inocularon por vía subcutánea en el flanco superior izquierdo con un millón de células de las líneas tumorales anteriormente descritas.

Se realizaron estudios de PET 25 días después de la inoculación del tumor usando para ello un equipo Argus PET/CT (SEDECAL) (Figura 7). Durante el estudio PET/CT los ratones permanecieron anestesiados con una mezcla de 2-2,5% isoflurano en 5% de oxígeno utilizando un inhalador Fluovac (Harvard Aparatus). Una solución comercial estéril de  $^{18}\text{F}$ -FDG de 5 MBq (Instituto Tecnológico Pet, Madrid) se inyectó a los ratones en la vena caudal y transcurridos 3 días se les inyectó 0,7-3,7 MBq de  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-NAPamida. Las imágenes PET se adquirieron 45 min después de la administración de cada compuesto marcado. Los parámetros de adquisición fueron: ventana de energía 250 a 700 keV y 45 min de adquisición estática; para la imagen CT los parámetros fueron: tensión de 40 KV, corriente 150  $\mu\text{A}$ , 2 disparos, 360 proyecciones y resolución estándar. Las imágenes PET obtenidas se corrigieron para eventos aleatorios, de dispersión y de atenuación, y posteriormente se reconstruyeron utilizando un software 2D-OSEM mediante algoritmos de 16 subconjuntos y dos iteraciones. Las imágenes PET se fusionaron con las imágenes de CT correspondientes obteniéndose imágenes corregistradas. Las imágenes no se cuantificaron ya que el principal objetivo fue evaluar el uso directo del  $^{68}\text{Ga}$  obtenido del generador marcando para ello DOTA-NAPamida.



**Figura 7.** Equipo Argus PET/CT para animales de experimentación.

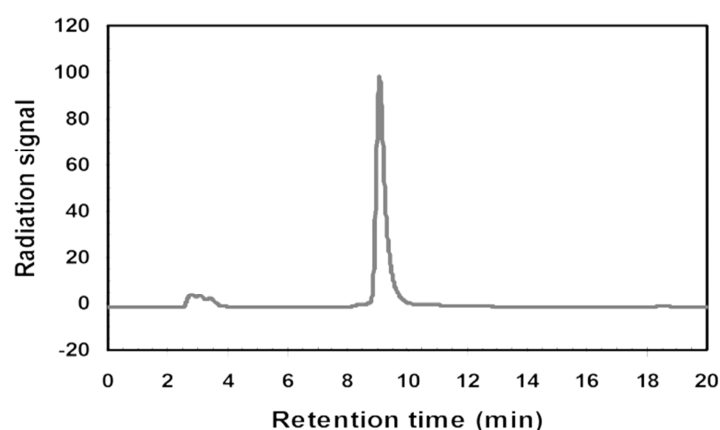
## 5.2.3 Resultados y discusión

### 5.2.3.1 Radiomarcaje

El rendimiento de reacción varió en función de la cantidad del precursor utilizado en la reacción, cuando se utilizaron 2-4 nanomoles ( $n = 20$ ) de DOTA-NAPamida fue de  $27,51 \pm 14,93\%$  y para 5-20 nanomoles ( $n = 6$ ) de  $60,37 \pm 28,56\%$ . Por lo tanto, el  $^{68}\text{Ga}$  obtenido directamente del generador puede ser empleado en el marcaje de este tipo de péptidos. Los rendimientos son similares a los descritos por los generadores comerciales en el marcaje de DOTA-péptidos empleando la elución sin purificar (Sudbrock y cols., 2014).

### 5.2.3.2 Control de Calidad

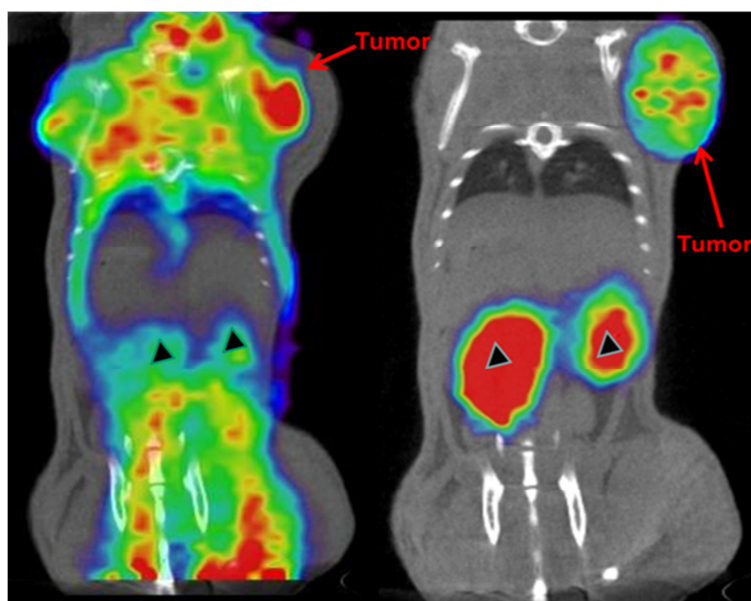
La pureza radioquímica del  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-NAPamida se calculó mediante radio-HPLC con los parámetros descritos previamente. El radiocromatograma puede observarse en la Figura 8 (Romero y cols., 2010), mostrando un pico para el  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-NAPamida con un tiempo de retención de 9,3 min mientras que el  $^{68}\text{Ga}$  libre mostró un tiempo de retención de 3 min. La pureza radioquímica del compuesto final fue  $\geq 90\%$ .



**Figura 8.** Radiocromatograma del  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-NAPamida,  $t_r = 9,3$  min (Romero y cols., 2010).

### 5.2.3.3 Imagen PET/CT

Como puede apreciarse en la imagen PET (Figura 9) los tumores muestran captación tanto para  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-NAPamida como para  $^{18}\text{F}$ -FDG, siendo la imagen de  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-NAPamida más limpia debido a la inespecificidad de  $^{18}\text{F}$ -FDG. En la imagen con  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-NAPamida también se aprecia captación en los riñones debido a que el radiopéptido al tener un peso molecular menor de 1485,65 g/mol es excretado por vía urinaria.



**Figura 9.** Imágenes PET/CT en modelo de ratón con xenoinjerto de melanoma: imagen con  $^{18}\text{F}$ -FDG (izquierda); imagen con  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-NAPamida (derecha) (Oteo y cols., 2011).

### 5.2.4 Conclusiones

El  $^{68}\text{Ga}$  obtenido directamente de la elución del generador prototipo ha sido empleado en el marcaje de DOTA-NAPamida, mostrando rendimientos satisfactorios para la obtención de imágenes mediante PET, presumiblemente debido a la alta actividad de  $^{68}\text{Ga}$  presente en 1 mL y al bajo contenido en metales del eluido. La utilización directa del eluido del generador permite realizar la síntesis de DOTA-péptidos en un corto periodo de tiempo, siendo esto de gran importancia debido al  $T_{1/2}$  del  $^{68}\text{Ga}$ .

Por otro lado, el análogo de la hormona estimulante de melanocitos DOTA-NAPamida marcado con  $^{68}\text{Ga}$  resulta ser útil para la detección de melanomas primarios, tal como se demuestra en los estudios PET realizados en ratón con xenoinjerto subcutáneo de una línea celular tumoral de melanoma, permitiendo su visualización, y caracterización.

Por tanto, aunque la captación en riñones de este radiopéptido es elevada con la consiguiente irradiación de órganos no deseados, los resultados obtenidos permiten iniciar en animales de experimentación una línea de trabajo de interés para el diagnóstico mediante PET de melanomas.

### 5.2.5 Referencias bibliográficas

- Bagutti, C., Stolz, B., Albert, R., Bruns, C., Pless, J., Eberle AN. 1994. [111In]-DTPA-labeled analogues of alpha-melanocyte-stimulating hormone for melanoma targeting: receptor binding in vitro and in vivo. *Int. J. Cancer*. 58(5): 749-55.
- Bagutti, C., Oestreicher, M., Siegrist, W., Oberholzer, M., Eberle, AN. 1995. alpha-MSH receptor autoradiography on mouse and human melanoma tissue sections and biopsies. *J. Recept. Signal Transduct. Res.* 15(1-4): 427-42.
- Bauwens, M., Chekol, R., Vanbilloen, H., Bormans, G., Verbruggen, A. 2010. Optimal buffer choice of the radiosynthesis of ( $^{68}\text{Ga}$ )-Dotatoc for clinical application. *Nucl. Med. Commun.* 31(8): 753-758.
- Cheng, Z., Xiong, Z., Subbarayan, M., Chen, X., Gambhir, SS. 2007a.  $^{64}\text{Cu}$ -labeled alpha-melanocyte-stimulating hormone analog for microPET imaging of melanocortin 1 receptor expression. *Bioconjug. Chem.* 18(3): 765-772.
- Cheng, Z., Zhang, L., Graves, E., Xiong, Z., Dandekar, M., Chen, X., Gambhir, SS. 2007b. Small-animal PET melanocortin 1 receptor expression using a  $^{18}\text{F}$ -labeled  $\alpha$ -melanocyte-stimulating hormone analog. *J. Nucl. Med.* 48: 987-994.



- Chin, L., Garraway, LA., Fisher, DE. 2006. Malignant melanoma: genetics and therapeutics in the genomic era. *Genes. Dev.* 20: 2149-2182.
- Dimitrakopoulou-Strauss, A., Strauss, LG., Burger, C. 2001. Quantitative PET studies in pretreated melanoma patients: a comparison of 6-[<sup>18</sup>F]fluoro-L-dopa with <sup>18</sup>F-FDG and <sup>15</sup>O-water using compartment and noncompartment analysis. *J. Nucl. Med.* 42: 248-256.
- Eberle, AN., Bapst, JP., Calame, M., Tanner, H., Froidevaux, S. 2010. MSH Radiopeptides for Targeting Melanoma Metastases. *Adv. Exp. Med. Biol.* 681: 133-142.
- Fani, M., Andre, JP., Maecke, HR. 2008. <sup>68</sup>Ga-PET: a powerful generatorbased alternative to cyclotron-based PET radiopharmaceuticals. *Contrast Media Mol. Imaging.* 3: 67-77.
- Froidevaux, S., Calame-Christe, M., Schumacher, J., Tanner, H., Saffrich, R., Henze, M., Eberle, AN. 2004. A gallium-labeled DOTA-alpha-melanocyte-stimulating hormone analog for PET imaging of melanoma metastases. *J. Nucl. Med.* 45(1): 116-123.
- Froidevaux, S., Calame-Christe, M., Tanner, H., Eberle, AN. 2005. Melanoma targeting with DOTA-alpha-melanocyte-stimulating hormone analogs: structural parameters affecting tumor uptake and kidney uptake. *J. Nucl. Med.* 46(5): 887-895.
- Ghanem, GE., Comunale, G., Libert, A., Vercammen-Grandjean, A., Lejeune, FJ. 1988. Evidence for alpha-melanocyte-stimulating hormone (alpha-MSH) receptors on human malignant melanoma cells. *Int. J. Cancer.* 41: 248-255.
- Hoek, KS., Goding, CR. 2010. Cancer stem cells versus phenotype-switching in melanoma. *Pigment Cell Melanoma Res.* 23(6): 746-59.
- Jiang, J., Sharma, SD., Fink, JL., Hadley, ME., Hruby, VJ. 1996. Melanotropic peptide receptors: membrane markers of human melanoma cells. *Exp. Dermatol.* 5: 325-333.

- Jiménez-Requena, F., Delgado-Bolton, RC., Fernández-Pérez, C., Gambhir, SS., Schwimmer, J., Pérez-Vázquez, JM., Carreras-Delgado, JL. 2010. Meta-analysis of the performance of  $^{18}\text{F}$ -FDG PET in cutaneous melanoma. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*, 37(2): 284-300.
- Koopmans, KP., Glaudemans, AW. 2012. Rationale for the use of radiolabelled peptides in diagnosis and therapy. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging*. 39(1):S4-10.
- Laverman, P., Sosabowski, JK., Boerman, OC., Oyen, WJ. 2012. Radiolabelled peptides for oncological diagnosis. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging*. 39 (1): S78-92.
- Miao, Y., Whitener, D., Feng, W., Owen, NK., Chen, JQ., Quinn, TP. 2003. Evaluation of the human melanoma targeting properties of radiolabeled  $\alpha$ -melanocyte stimulating hormone peptide analogues. *Bioconjugate Chem.*14: 1177-1184.
- Miao, Y., Quinn, TP. 2007. Alpha-melanocyte stimulating hormone peptide-targeted melanoma imaging. *Frontiers in Bioscience*. 12: 4514-4524.
- Miao, Y., Thomas, PQ. 2008. Peptide-Targeted Radionuclide Therapy for Melanoma. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* 67(3): 213-228.
- Nabi, HA., Zubeldia, JM. 2002. Clinical applications of ( $^{18}\text{F}$ )-FDG in oncology. *J. Nucl. Med. Technol.* 30(1): 3-9.
- Oteo, M., Romero, E., Camara, J., Soengas, MS., Mulero, F., Morcillo, MA. 2011. World Molecular Imaging Congress.  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-NAPamide for PET imaging of melanoma metastases. 7-10 septiembre. San Diego (EEUU).
- Rbah-Vidal, L., Vidal, A., Besse, S., Cachin, F., Bonnet, M., Audin, L., Askienazy, S., Dollé, F., Degoul, F., Miot-Noirault, E., Moins, N., Auzeloux, P., Chezal, JM. 2012. Early detection and longitudinal monitoring of experimental primary and disseminated melanoma using [ $^{18}\text{F}$ ]ICF01006, a highly promising



- melanoma PET tracer. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging.* 39(9): 1449-14461.
- Ren, G., Liu, Z., Miao, Z., Liu, H., Subbarayan, M., Chin, FT., Zhang, L., Gambhir, SS., Cheng, Z. 2009. PET of malignant melanoma using  $^{18}\text{F}$ -labeled metallopeptides. *J. Nucl. Med.* 50(11): 1865-72.
  - Romero, E., Oteo, M., Castañera, R., Alberti, A., Roncal, F., Tormo, D., Grande, MT., Mulero, F., Soengas, MS., Morcillo, MA. 2010. XV European Symposium on Radiopharmacy and Radiopharmaceuticals. Labeling of a DOTA- $\alpha$ -MSH analog with  $^{68}\text{Ga}$  for PET imaging of malignant melanoma. 8-11 abril, 2010. Edimburgo (Escocia).
  - Siegrist, W., Solca, F., Stats, S., Giuffre, L., Carrel, S., Girard, J., Eberle, AN. 1989. Characterization of receptors for  $\alpha$ -melanocyte-stimulating hormone on human melanoma cells. *Cancer Res.* 49: 6352-6358.
  - Siegrist, W., Stutz, S., Eberle, AN. 1994. Homologous and heterologous regulation of  $\alpha$ -melanocyte-stimulating hormone receptors in human and mouse melanoma cell lines. *Cancer Res.*, 54: 2604-2610.
  - Sudbrock, F., Fischer, T., Zimmermanns, B., Guliyev, M., Dietlein, M., Drzezga, A., Schomaecker, K. 2014. Characterization of  $\text{SnO}_2$ -based ( $^{68}\text{Ge}$ )/( $^{68}\text{Ga}$ ) generators and ( $^{68}\text{Ga}$ ) -DOTATATE preparations: radionuclide purity, radiochemical yield and long-term constancy. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging.* 4(1): 36.
  - Tatro, JB., Wen, Z., Entwistle, ML., Atkins, MB., Smith, TJ., Reichlin, S., Murphy, JR. 1992. Interaction on an R-melanocyte stimulating hormone-diphtheria toxin fusion protein with melanotropin receptors in human metastases. *Cancer Res.* 52: 2545-2548.
  - Wagner, JD. 2004. A role for FDG-PET in the surgical management of stage IV melanoma. *Ann. Surg. Oncol.* 11: 721-722.



## 5.3 Análogos de SST marcados con $^{68}\text{Ga}$

### 5.3.1 Introducción

La  $^{18}\text{F}$ -FDG, un análogo de la glucosa marcado con  $^{18}\text{F}$  (Figura 13, capítulo 1, apartado 1.5.1.1, página 53) es el radiofármaco PET más utilizado en oncología mostrando una alta captación en tumores con bajo grado de diferenciación y por lo tanto, alta capacidad de proliferación. La captación de  $^{18}\text{F}$ -FDG en las lesiones tumorales es proporcional a la cantidad de glucosa que estas consumen. El elevado consumo de glucosa es una característica de la mayoría de los tumores, y está relacionado con la sobreexpresión de receptores GLUT-1 de membrana y con el aumento de actividad de una enzima llamada hexoquinasa en las células tumorales. Sin embargo, la  $^{18}\text{F}$ -FDG presenta una serie de limitaciones para el diagnóstico por ejemplo de tumores con alto grado de diferenciación y lenta proliferación, los cuales no suelen presentar alta avidéz por la glucosa.

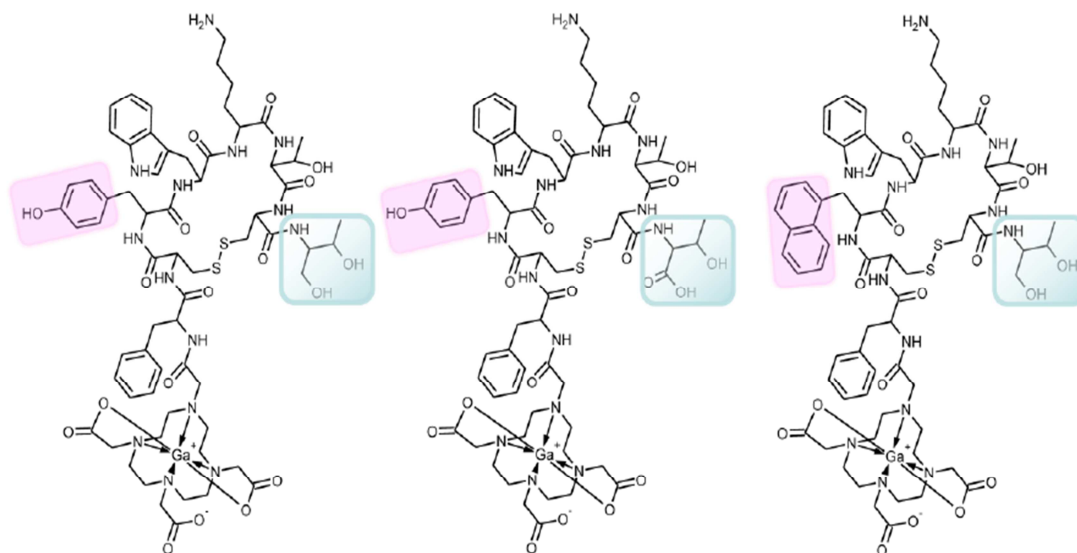
No obstante, existen diversos tipos de tumores: cáncer de pulmón, linfomas, meningiomas y tumores de origen neuroendocrino (NET) que se caracterizan por sobreexpresar receptores de somatostatina (SSTR) (Win y cols., 2007; Maurice y cols, 2012; Naji y AL-Nahas, 2012). Debido a esto, recientemente se han desarrollado nuevos trazadores PET para el diagnóstico de estos tipos de tumores usando análogos de somatostatina marcados con  $^{68}\text{Ga}$ . Sin embargo, hasta el momento, su uso está limitado a ensayos clínicos en centros médicos especializados de Europa. Las ventajas que ofrecen respecto a las técnicas habituales son las siguientes:

- Desde el punto de vista técnico, presentan la ventaja de que su síntesis y proceso de marcaje es sencillo. El  $^{68}\text{Ga}$  puede ser obtenido de forma fácil y económica a partir de un generador de  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ , lo que hace que se pueda disponer de forma continuada del mismo.
- La adquisición del estudio PET/TC consume menos tiempo que otras técnicas como puede ser la gammagrafía basada en estos tipos de receptores. La técnica

PET aporta información sobre la densidad y distribución de los receptores de somatostatina, lo cual tiene impacto clínico directo en la terapia de los pacientes.

- Estos estudios permiten, mediante el cálculo del índice (SUV), realizar una valoración semicuantitativa de la actividad en regiones de interés que ha demostrado tener gran valor pronóstico.
- Además, la mayor resolución espacial del Tomógrafo PET en comparación con la gammagrafía convencional, proporciona mejor diagnóstico de lesiones pequeñas.

Los radiofármacos más ampliamente utilizados en imagen funcional mediante PET son:  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TOC,  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-NOC y  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TATE (Romero y cols., 2010; López-Sánchez y cols., 2012) cuya estructura química puede observarse en la Figura 10 (Velikyan, 2014), además, estos DOTA-péptidos presentan diferente afinidad por los diferentes subtipos de receptores de somatostatina (SST), como puede apreciarse en la Tabla 3 (Antunes y col., 2007).



**Figura 10.** Estructura química de los análogos de somatostatina: DOTA-TOC (izquierda); DOTA-TATE (centro); DOTA-NOC (derecha) marcados con  $^{68}\text{Ga}$  (Velikyan, 2014).

Ligando	hsst1	hsst2	hsst3	hsst4	hsst5
<b>Somatostatina-28</b>	3,8 ± 0,3 (10)	2,5 ± 0,3 (11)	5,7 ± 0,6 (10)	4,2 ± 0,3 (11)	3,7 ± 0,4 (11)
<b>Ga-DOTA-NOC</b>	> 10000 (3)	1,9 ± 0,4 (3)	40 ± 5,8 (3)	260 ± 74 (3)	7,2 ± 1,6 (3)
<b>In-DOTA-NOC</b>	> 10000 (3)	2,9 ± 0,1 (3) <sup>b</sup>	8 ± 2 (3) <sup>b</sup>	227 ± 18 (3)	11,2 ± 3,5 (3)
<b>Lu-DOTA-NOC</b>	> 10000 (3)	3,4 ± 0,4 (3) <sup>b</sup>	12 ± 3,3 (3) <sup>b</sup>	747 ± 47 (3) <sup>b</sup>	14 ± 3,5 (3) <sup>b</sup>
<b>In-DOTA-BOC</b>	> 1000 (2)	4,4 ± 0,4 (3) <sup>b</sup>	6,8 ± 0,3 (3) <sup>b</sup>	ND	10,5 ± 1,5 (3) <sup>b</sup>
<b>Lu-DOTA-BOC</b>	> 1000 (2)	4 ± 0,4 (3) <sup>b</sup>	6,3 ± 0,2 (3) <sup>b</sup>	591 ± 88 (2)	6,5 ± 0,1 (3) <sup>b</sup>
<b>Ga-DOTA-BOC</b>	700 ± 300 (2)	1,7 ± 0,2 (3)	10,5 ± 0,5 (3)	ND	4,4 ± 1,2 (3)
<b>Y-DOTA-NOC-ATE</b>	> 1000 (2)	4,2 ± 2 (3)	47 ± 1 (3)	ND	12 ± 1 (3) <sup>b</sup>
<b>Lu-DOTA-NOC-ATE</b>	> 1000 (2)	3,6 ± 0,3 (3) <sup>b</sup>	30 ± 2 (3)	ND	15 ± 1 (3) <sup>b</sup>
<b>Ga-DOTA-NOC-ATE</b>	> 1000 (2)	2,6 ± 0,3 (3)	113 ± 80 (2)	53 ± 30 (2)	25 ± 4 (3)
<b>Y-DOTA-BOC-ATE</b>	> 1000 (2)	2,9 ± 0,3 (3) <sup>b</sup>	23 ± 1 (3)	ND	7,8 ± 2 (3)
<b>Ga-DOTA-BOC-ATE</b>	> 1000 (2)	2,0 ± 0,2 (3)	33 ± 23 (2)	35 ± 24 (2)	19,5 ± 13 (2)
<b>Somatostatina-28<sup>a</sup></b>	5,2 ± 0,3 (19)	2,7 ± 0,3 (19)	7,7 ± 0,9 (15)	5,6 ± 0,4 (19)	4,0 ± 0,3 (19)
<b>Ga-DOTA-NOC<sup>a</sup></b>	> 10000	2,5 ± 0,5	613 ± 140	> 1000	73 ± 21
<b>Y-DOTA-TOC<sup>a</sup></b>	> 10000	11 ± 1,7 <sup>b</sup>	389 ± 135	> 10000	114 ± 29
<b>Ga-DOTA-OC<sup>a</sup></b>	> 10000	7,3 ± 1,9	120 ± 45	> 1000	60 ± 14
<b>Y-DOTA-OC<sup>a</sup></b>	> 10000	20 ± 2 <sup>b</sup>	27 ± 8 <sup>b</sup>	> 10000	57 ± 22
<b>Ga-DOTA-TATE<sup>a</sup></b>	> 10000	0,2 ± 0,04	> 1000	300 ± 140	377 ± 18
<b>Y-DOTA-TATE<sup>a</sup></b>	> 10000	1,6 ± 0,4 <sup>b</sup>	> 1000	523 ± 239	187 ± 50 <sup>b</sup>

**Tabla 3.** Afinidad de los diferentes análogos de somatostatina para los diferentes subtipos de receptores de somatostatina. Valores de IC50 expresados en nmol/L (media ± desviación estándar). Número de estudios realizados entre paréntesis. Somatostatina-28 se usó como péptido control. ND = valor no determinado. <sup>a</sup> = Valores incluyen el péptido control somatostatina-28 según Reubi y cols., (2000). <sup>b</sup> = diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) de Ga<sup>3+</sup>-péptidos vs otros metalopéptidos. Tabla adaptada de Antunes y cols., (2007).

Los análogos de somatostatina conjugados con DOTA y marcados  $^{68}\text{Ga}$  son radiotrazadores que han mostrado una alta afinidad específica a SSTR, concretamente para el subtipo 2, SSTR2, que es uno de los más comunes en este tipo de tumores (Poeppel y cols., 2013). El  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-NOC muestra afinidad a un mayor número de subtipos de los receptores de somatostatina, incluyendo SSTR2, SSTR3, y SSTR5 (Wild y cols., 2003). Estudios recientes en humanos sugieren que este radiopéptido identifica con mayor claridad las metástasis en comparación con los otros radiotrazadores más específicos para SSTR2 demostrando ser útil para su planificación terapéutica posterior (Wild y cols., 2005).

- Feocromocitoma

Los feocromocitomas (PCC) son tumores secretores de catecolaminas de origen neuroendocrino que se originan en las células cromafines de las glándulas suprarrenales. La secreción de catecolaminas por PCC puede dar lugar a hipertensión, siendo esta potencialmente peligrosa para la vida de los pacientes. Aproximadamente el 10% de los feocromocitomas suelen producir diseminación metastásica principalmente a los huesos y el hígado (John y cols., 1999; Tischler, 2008). Una vez metastatizado, no existe ningún tratamiento eficaz por lo que un diagnóstico temprano es fundamental. El diagnóstico de feocromocitomas, por lo general, implica la cuantificación a nivel bioquímico del contenido de catecolaminas y sus metabolitos en plasma y/o orina, y a nivel morfológico mediante imágenes radiológicas, como la tomografía computarizada y la resonancia magnética (MR). Recientemente, la imagen funcional mediante PET basada en ligandos específicos para la captación de catecolaminas, rutas de síntesis/secreción y análogos de somatostatina ha aumentado la sensibilidad y precisión para la detección de feocromocitomas (Shulkin y cols., 2006).

El objetivo de este estudio es evaluar el proceso manual de purificación y concentración del  $^{68}\text{Ga}$  eluido de un generador descrito en el capítulo 4, mediante la síntesis de  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TATE y estudiar su posible aplicación mediante PET empleando para ello un modelo de ratón con xenoinjerto subcutáneo de una línea celular tumoral de PCC.

- Meningioma

Los meningiomas surgen de las membranas aracnoideas de las células meningoeliales, que se adjuntan a la capa interna de la duramadre (Mawrin y Perry, 2010). Tienen una incidencia anual de aproximadamente 7,44/100.000, representando el 35% de los tumores intracraneales primarios (Ostrom y cols., 2013). Los meningiomas se diagnostican generalmente usando métodos de imagen morfológica/anatómica como la tomografía computarizada y resonancia magnética. Sin embargo, los meningiomas situados cerca de la base del cráneo pueden ser difíciles de distinguir de otras lesiones, tales como linfomas, metástasis, o neurinomas. En consecuencia, el diagnóstico de meningiomas en estos sitios requiere un enfoque terapéutico específico (Guermazi y cols., 2005). Las técnicas de imagen funcionales, como el caso del PET, podrían tener un papel potencial en el diagnóstico de meningiomas sobre todo en los casos en los que la biopsia es un riesgo, por ejemplo, aquellos con ubicación cerca de estructuras intracraneales críticas y para los tumores localizados en la base del cráneo con posible infiltración de estructuras óseas.

Los meningiomas, expresan en su superficie una gran variedad de receptores: de progesterona, andrógenos, factor de crecimiento, prolactina, dopamina, y receptores de somatostatina subtipo 2 (Dutour y cols., 1998; Schulz y cols., 2000). La relativamente alta sobreexpresión de niveles del SSTR2 es una de las estrategias empleadas para su diagnóstico mediante imágenes funcionales y también para terapia basándose en el uso de análogos de somatostatina marcados con radionucleidos  $\beta^-$  (Schulz y cols., 2000; Arena y cols., 2004). Sin embargo, todavía no está claro cuál de estos análogos de somatostatina proporciona mejores resultados en el caso de meningiomas. En la actualidad, no existe un estudio comparativo de  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TOC,  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-NOC, y  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TATE en términos de captación tumoral y capacidad para detectar meningiomas. Por lo tanto, el objetivo de este estudio es realizar un estudio comparativo de los análogos de somatostatina marcados con  $^{68}\text{Ga}$ ,  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TOC,  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-NOC, y  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TATE, utilizando un modelo de ratón con xenoinjerto subcutáneo de una línea celular tumoral de meningioma humano.

- Tumor pulmonar de origen neuroendocrino

El cáncer de pulmón continua siendo la principal causa mundial de mortalidad por cáncer, 1,6 millones de muertes en 2012, 19,4% del total, lo que representa uno de cada cinco fallecimientos por cáncer (Ferlay y cols., 2013), siendo el tipo de cáncer con mayor incidencia y que con más frecuencia se diagnostica en todo el mundo, 1,8 millones en 2012, 12.9% del total de nuevos casos diagnosticados (Ferlay y cols., 2015). Es destacable el mal pronóstico y baja supervivencia de estos tumores, la relación mortalidad/incidencia es de 0,87. En España la situación no es muy diferente siendo las muertes por cáncer de pulmón en varones, con diferencia, la causa más frecuente de mortalidad por cáncer, con unos datos de incidencia mucho mayor que en los países del norte de Europa (Steliarova-Foucher y cols., 2012). Aunque se han realizado ciertos progresos en su diagnóstico y terapia, la supervivencia del cáncer de pulmón no ha mejorado sustancialmente en los últimos 30 años (Siegel y cols., 2011). La mejora del pronóstico, reducción de la incidencia y mortalidad vendrán de la mano de la investigación de los mecanismos moleculares y celulares que proporcionarán nuevos descubrimientos en la prevención, detección temprana y tratamiento.

Basándose en criterios histopatológicos los distintos tipos de cáncer de pulmón se clasifican en carcinoma microcítico (20%) y no microcítico (80%) en el que se distinguen 3 subtipos: carcinomas de células escamosas o epidermoide (30%), adenocarcinomas (50%) y carcinomas de células grandes (20%) (Wang y cols., 2012). Este último, es un término descriptivo que incluye los tumores que no pertenecen a ninguno de los otros subgrupos.

Los tumores de pulmón que muestran propiedades neuroendocrinas suman el 20-25% del total de casos y según sus características morfológicas y grado de proliferación se pueden clasificar según la Organización Mundial de la Salud en: carcinoides típicos (de bajo grado), carcinoides atípicos (de grado intermedio), carcinomas neuroendocrinos de célula grande y carcinomas neuroendocrinos de célula pequeña (siendo estos dos últimos de alto grado de proliferación y potencial metastásico) (Travis, 2009; Travis y cols., 2011).

Los tumores murinos de pulmón presentan características morfológicas, histopatológicas y moleculares prácticamente indistinguibles a las de los humanos (Wikis y cols., 2013).

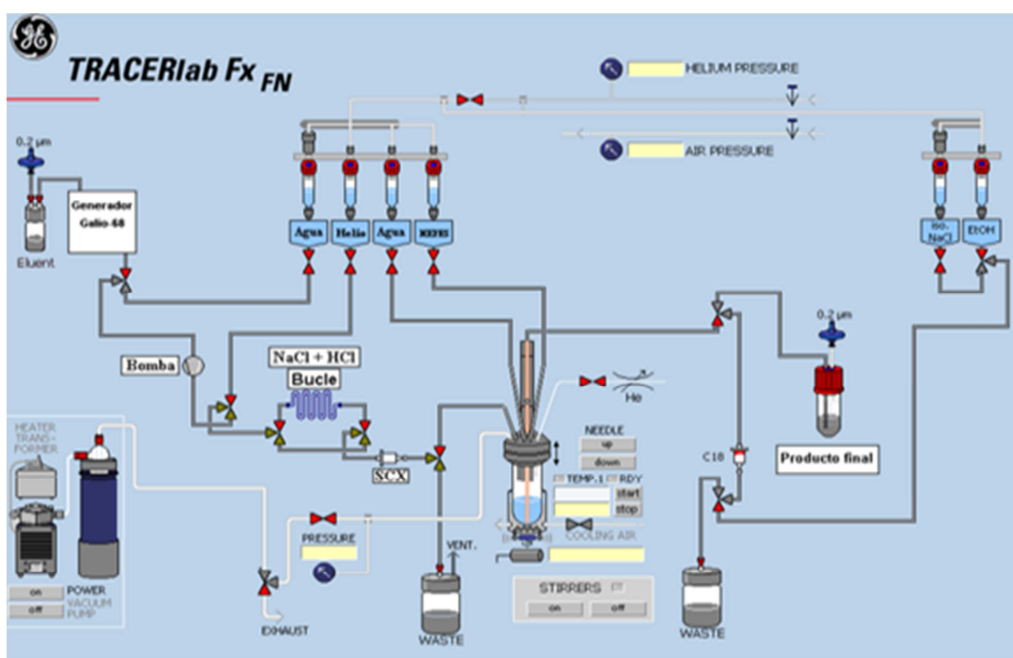
Se puede decir, que investigar a fondo una enfermedad humana es virtualmente imposible sin un modelo animal que la emule en todos sus detalles, en particular si se trata de cáncer. Las técnicas de manipulación genética de ratón permiten obtener modelos con aplicación preclínica cada vez más similares a sus homólogos humanos (Frese y Tuveson, 2007; Gopinathan y Tuveson, 2008). Varios laboratorios han dedicado su esfuerzo a generar ratones genéticamente modificados que recapitulan los rasgos genéticos e histopatológicos del cáncer de pulmón (Meuwissen y Berns 2005; Kwon y Berns, 2013).

La naturaleza no invasiva de las técnicas de imagen molecular permite la realización de estudios longitudinales, lo que implica que cualquier avance pueda transferirse en un corto periodo de tiempo a la práctica clínica suponiendo un claro beneficio. Otro aspecto igualmente relevante en el diagnóstico temprano del cáncer de pulmón mediante las técnicas de imagen *in vivo*, es la identificación de este tipo de tumores de forma temprana, reduciendo de esta forma su mortalidad (Aberle y cols., 2011a; Aberle y cols., 2011b). En este sentido, los modelos animales son herramientas indispensables en la puesta a punto de sistemas de análisis de imagen *in vivo* para conseguir un diagnóstico temprano de las alteraciones así como su seguimiento y evolución durante la terapia. El PET es una modalidad de imagen médica ampliamente utilizada en oncología para el estadiaje, monitorización de eficacia del tratamiento y seguimiento de las recurrencias de un tumor dado que ofrece la posibilidad de una evaluación semicuantitativa funcional a nivel molecular *in vivo* y de alta sensibilidad en comparación con otras técnicas de imagen, lo que permite la detección de tumores muy pequeños. Debido a que algunos de estos tumores son de naturaleza neuroendocrina y sobreexpresan en su superficie receptores de somatostatina, una estrategia para su diagnóstico es el uso de análogos de somatostatina marcados con  $^{68}\text{Ga}$ , como es el caso de  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TOC.

El objetivo de este trabajo fue evaluar la captación tumoral de  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TOC en un modelo de ratón genéticamente modificado, K5CKO (cuádruple Knock out), de tumores pulmonares de origen neuroendocrino, desarrollado por la Unidad de Oncología Molecular del CIEMAT.

- Caso clínico

Como consecuencia de la experiencia obtenida en la manipulación y uso de generadores de  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  y en el marcaje de péptidos con  $^{68}\text{Ga}$ , se estableció una colaboración con el Centro de Investigaciones Médico Sanitarias (CIMES) de Málaga (España) para implementar el proceso automatizado de síntesis de DOTA-péptidos con  $^{68}\text{Ga}$  en un módulo de síntesis Tracerlab (General Electric) (Figura 11) el cual estaba diseñado para realizar síntesis de  $^{18}\text{F}$ -FDG.



**Figura 11.** Esquema módulo de síntesis Tracerlab (General Electric), modificado para realizar la síntesis con  $^{68}\text{Ga}$  (García y cols., 2012; García y cols., 2013a; García y cols., 2013b; Romero, 2013).

La purificación del  $^{68}\text{Ga}$  obtenido de generador comercial (Eckert and Ziegler) se basó en el método descrito por Mueller y cols., 2012, el cual utiliza una resina de intercambio catiónico, realizando una serie de modificaciones como utilizar HEPES como tampón e introducir una etapa de purificación del compuesto marcado mediante un cartucho de extracción en fase sólida (García y cols., 2012; García y cols., 2013a; García y cols., 2013b; Romero, 2013).

## 5.3.2 Materiales y Métodos

### 5.3.2.1 Radiomarcaje

- Feocromocitoma

Un generador comercial de  $\text{TiO}_2$  (Eckert and Ziegler) se utilizó para producir  $^{68}\text{Ga}$ . El  $^{68}\text{Ga}$  se purificó y concentró mediante una resina de intercambio aniónico, como se ha descrito en el capítulo 4, y a continuación se adicionó directamente en el vial de reacción que contenía previamente 25 nanomoles de DOTA-TATE (ABX) disueltos previamente en 12,5  $\mu\text{L}$  de  $\text{H}_2\text{O}$  desionizada y 1 mL de HEPES no iónico (Sigma) 0,31 M. El pH de la mezcla de reacción fue de 3,5-4 medido mediante tiras de papel indicador (Merck). A continuación, la mezcla se calentó a  $90 \pm 5$  °C durante 5 min usando un microondas de laboratorio, Discover Benchmate (CEM), con radiación monomodal y después se enfrió a temperatura ambiente con nitrógeno.

El producto resultante se purificó mediante un cartucho de extracción en fase sólida Sep Pak light (Waters) previamente acondicionado y equilibrado con 4 mL de etanol puro y 4 mL de agua desionizada respectivamente. La mezcla se transfirió al Sep Pak donde permanece retenido el  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TATE además del posible  $^{68}\text{Ga}$  coloidal, mientras que el  $^{68}\text{Ga}$  libre, que no ha reaccionado, no interacciona con el cartucho (Bauwens y cols., 2010) y por tanto podrá separarse. A continuación, el cartucho se lavó con 4 mL de agua desionizada para eliminar los posibles restos del  $^{68}\text{Ga}$  libre.

Posteriormente el  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TATE se recuperó eluyendo el cartucho Sep Pak de forma inversa usando 0,5 mL de etanol 96% (v/v). Durante este proceso, el  $^{68}\text{Ga}$  coloidal quedó retenido en el cartucho Sep Pak. Finalmente, el etanol que contenía los  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-péptidos, se eliminó mediante un proceso de evaporación hasta sequedad usando un Speed Vac (Savant) y a continuación el  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TATE se disolvió en solución salina (NaCl 0,9%).

- Meningioma

Para la obtención de  $^{68}\text{Ga}$  se utilizó un generador comercial basado en  $\text{TiO}_2$  (Eckert and Ziegler) 1850 MBq. La síntesis de  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TATE,  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-NOC y  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TOC se realizó utilizando un módulo automático de síntesis FastLab (General Electric) perteneciente a la Unidad de Medicina y Cirugía Experimental del Instituto de Investigación Sanitaria Gregorio Marañón, (Madrid, Spain). El procedimiento para la purificación y concentración de  $^{68}\text{Ga}$  fue similar al descrito en el capítulo 4, empleando una resina de intercambio aniónico y a continuación se adicionó directamente en el vial de reacción que contenía previamente 11,3, 11 y 11,4 nanomoles de DOTA-TATE (ABX),  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-NOC (ABX) y  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TOC (BCN Peptides) y HEPES como tampón. El pH de la mezcla de reacción fue de 4-4,5, medido mediante tiras de papel indicador (Merck). A continuación, la mezcla se calentó a  $95 \pm 5$  °C durante 10 min usando un microondas perteneciente al módulo y después se enfrió a temperatura ambiente con nitrógeno.

La mezcla de reacción resultante se purificó mediante un cartucho de extracción en fase sólida Sep Pak light (Waters) previamente acondicionado y equilibrado con 4 mL de etanol puro y 4 mL de agua desionizada respectivamente. La mezcla se transfirió al Sep Pak donde permanecen retenidos los  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-péptidos, mientras que el  $^{68}\text{Ga}$  libre no interacciona con el cartucho. A continuación, el cartucho se lavó con 4 mL de agua desionizada para eliminar los posibles restos del  $^{68}\text{Ga}$  libre. Posteriormente el  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TATE,  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-NOC y  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TOC se recuperaron eluyendo el cartucho Sep Pak de forma inversa usando 0,5 mL de etanol 96% (v/v). Finalmente, el

etanol que contenía los  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-péptidos, se eliminó mediante un proceso de evaporación hasta sequedad mediante calentamiento a 120 °C y a continuación los  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-péptidos se disolvieron en solución compuesta de tampón fosfato y solución salina (1/3).

- Tumor pulmonar de origen neuroendocrino

Para los estudios de tumor pulmonar neuroendocrino se utilizó el generador prototipo descrito en el capítulo 3 para la obtención de  $^{68}\text{Ga}$ . El protocolo diseñado para la síntesis de  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-NOC se detalla a continuación. El  $^{68}\text{Ga}$  purificado y concentrado mediante una resina de intercambio aniónico, como se ha descrito en el capítulo 4, se adicionó directamente en el vial de reacción que contenía previamente 2-12 nanomoles de DOTA-NOC (ABX) disueltos en  $\text{H}_2\text{O}$  desionizada a una concentración final de 0,1 nmol/ $\mu\text{L}$  y 1 mL de HEPES no iónico (Sigma) 0,31 M. El pH de la mezcla de reacción fue de 3-4, medido mediante tiras de papel indicador (Merck). A continuación, la mezcla se calentó a  $90 \pm 5$  °C durante 5 min usando un microondas de laboratorio con radiación monomodal Discover Benchmate (CEM) y después se enfrió a temperatura ambiente con nitrógeno.

Finalmente la mezcla de reacción se purificó utilizando un cartucho basado en hidrofobicidad Sep Pak light (Waters) de la misma manera que en el caso del  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TATE empleado para el estudio de feocromocitomas

- Caso clínico

En la colaboración con el CIMES, se utilizó una celda plomada (Comecer) en la que se encontraba el módulo de síntesis y se introdujo un generador comercial de  $\text{TiO}_2$  (Eckert and Ziegler) de 1850 MBq de actividad, acoplado a una bomba peristáltica, la cual era accionada de forma manual. La elución del generador se realizó a un flujo de 2 mL/min utilizando una solución de HCl 0,1 M, y se pasó directamente por la resina de

intercambio de 100mg Strata SCX (Phenomenex). Posteriormente, el  $^{68}\text{Ga}$  se recuperó de la resina mediante una solución NaCl 5 M/HCl 5 M y se condujo mediante helio a un vial reactor en el cual se había adicionado previamente 40 nanomoles de DOTATA-NOC (piCHEM) en una solución tamponada de HEPES, pH 3-4. La mezcla de reacción se calentó a 90 °C durante 10 min mediante una placa de calentamiento convencional, y se dejó enfriar hasta alcanzar temperatura ambiente. La purificación del producto marcado se realizó mediante un cartucho C-18 Sep Pak light (Waters) haciendo pasar la mezcla por medio de helio, posteriormente se realizó un lavado del cartucho para eliminar la solución tampón empleada y el  $^{68}\text{Ga}$  que no había reaccionado con el DOTA-NOC. Finalmente el  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-NOC se recuperó del cartucho de purificación con 2 mL de etanol puro (Merck), el cual se diluyó con suero fisiológico quedando de esta forma el radioligando listo para ser inyectado.

Se determinó el rendimiento de marcaje, la pureza radioquímica del producto final marcado y la pureza radionucleídica de todas las síntesis realizadas ( $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TATE,  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-NOC y  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TOC).

El rendimiento de marcaje se calculó como el porcentaje de la actividad recuperada ( $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-péptidos) en etanol del cartucho Sep Pak respecto a la actividad no retenida en el cartucho durante la carga y el lavado ( $^{68}\text{Ga}$  libre no marcado) y la actividad final retenida en el cartucho el ( $^{68}\text{Ga}$  coloidal).

La pureza radioquímica así como el posible daño del péptido por radiólisis se estimaron analizando una alícuota de cada síntesis mediante HPLC, utilizando para ello una columna de fase reversa de forma similar a la descrita anteriormente (capítulo 5, apartado 5.2.2.3, página 196).

La pureza radionucleídica se calculó mediante espectrometría gamma de forma similar a la descrita anteriormente (capítulo 5, apartado 5.1.2.3, página 176).

### 5.3.2.2 Imagen PET/CT

Todos los experimentos con animales se aprobaron por un Comité Ético de Experimentación Animal. Para el estudio de feocromocitomas se utilizaron 2 ratones machos Swiss nude (Charles River). Los animales se inocularon por vía subcutánea, en ambos flancos, con un millón de células de una línea celular de feocromocitoma de rata (PC 12) proporcionada por el Dr. Rodríguez, Laboratorio de Biología de Membranas y Reparación Axonal de (Hospital Nacional de Parapléjicos, Toledo, España).

Para el estudio de meningiomas se utilizaron 16 ratones machos NUDE NU/NU (Charles River) procedentes del estabulario del CIEMAT y de la Unidad de Medicina y Cirugía Experimental del Instituto de Investigación Sanitaria Gregorio Marañón. Los ratones se inocularon por vía subcutánea, en ambos flancos, con un millón de células de una línea celular humana de meningioma (CH-157MN) proporcionada por el Dr. Randy Jensen, del Departamento de Neurocirugía de la Universidad de Utah.

Para los estudios de tumores pulmonares se utilizaron 7 ratones de un modelo de ratón genéticamente modificado de tumor pulmonar de origen neuroendocrino desarrollado y proporcionados por la Dra. Mirentxu Santos Lafuente perteneciente a la Unidad de Oncología Molecular del CIEMAT.

Los estudios PET se realizaron 25 días después de la inoculación de las células en el caso de los feocromocitomas, 7-28 días en el estudio de meningiomas y con 45 días de vida en el caso de los ratones con tumores pulmonares, usando para ello un equipo Argus PET/CT (SEDECAL). Las imágenes se adquirieron con los ratones anestesiados (1.5-3% isoflurano en 5% de oxígeno utilizando un dispositivo Fluovac) 30-90 min después de la inyección iv en la vena caudal de la cola de 2-2,5 MBq de  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TATE en el caso de feocromocitomas, 9-20 MBq de  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TATE,  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TOC o  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-NOC en el caso de meningiomas y de 1,1-2,6 MBq de  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-NOC en el caso de los tumores pulmonares, todos los radiotrazadores en un volumen de 0,15-0,2 mL y pH 6. En el caso de los estudios realizados con  $^{18}\text{F}$ -FDG se inyectó 3,7-7,4 MBq solución comercial estéril (ITP, Madrid). Todas las medidas se realizaron empleando un activímetro VDC-405 (Veenstra Instruments).

La obtención de imágenes PET se realizaron mediante los siguientes parámetros: ventana de energía 250 a 700 keV y 45-60 min adquisición estática, mientras que para las imágenes CT: Tensión de 40 kV, corriente 150  $\mu$ A, 2 disparos, 360 proyecciones y resolución estándar. Las imágenes PET obtenidas se corrigieron para eventos aleatorios, de dispersión y con y sin corrección de atenuación, posteriormente se reconstruyeron utilizando 2D-OSEM, mediante algoritmo de 16 subconjuntos y dos iteraciones. Finalmente, las imágenes PET obtenidas se fusionaron con las imágenes de CT correspondientes obteniéndose imágenes corregistradas.

La cuantificación de la captación de  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TATE,  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TOC,  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-NOC y de  $^{18}\text{F}$ -FDG se realizó calculando la actividad media se corregida por la dosis inyectada y el peso de los animales para obtener el SUV, mediante la siguiente ecuación descrita anteriormente (ecuación 1, capítulo 5, apartado 5.1.2.4, página 177). A continuación, se calculó la relación  $\text{SUV}_{\text{máximo}}$  de los tumores y el  $\text{SUV}_{\text{medio}}$  del músculo ( $\text{SUV}_{\text{TM}}$ ), utilizando el músculo como tejido no tumoral ya que es una zona con baja expresión de receptores de somatostatina (Poeppel y cols., 2011).

En la colaboración con el CIMES, el servicio de Medicina Nuclear identificó un paciente candidato: mujer de 49 años que desde 2011 presentaba fosfatemia, mientras que los niveles de calcio, magnesio y vitamina D eran normales y además, padecía dolores musculares incapacitantes en la vida diaria, síndrome constitucional y síndrome ansioso-depresivo. Se le realizaron estudios por densitometría ósea con resultados normales, la gammagrafía ósea presentó posibles fracturas por estrés en el fémur, la resonancia magnética lumbosacra mostró hemangiomas en vértebras D11, L1, S2, se le realizó SPECT con  $^{111}\text{In}$  marcado con un análogo de somatostatina (Octreoscan) y PET con  $^{18}\text{F}$ -FDG sin hallazgos patológicos en ninguno de los dos estudios.

El servicio de Medicina Nuclear del CIMES sospechó que podía padecer un tumor productor de FGF23 inductor de osteomalacia, por lo cual se realizó una petición a la Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios (AEMPS) para poder usar  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-NOC como uso compasivo.

### 5.3.2.3 El análisis estadístico

Todos los valores se expresaron como media  $\pm$  desviación estándar. Para el estudio de feocromocitoma y tumor pulmonar de origen neuroendocrino, la significación estadística se realizó usando la *t* de Student (disponible en línea: <http://www.graphpad.com/quickcalcs/>). Las diferencias se consideraron significativas cuando el nivel de significación fue menor a 0,05

En el caso del estudio de meningiomas se realizó el análisis de la varianza (ANOVA) de un factor mediante el software SPSS. Las diferencias se consideraron significativas cuando el nivel de significación fue menor a 0,05. El test a posteriori empleado para ver diferencias significativas entre grupos fue el de Tukey.

## 5.3.3 Resultados y Discusión

### 5.3.3.1 Radiomarcaje

- Feocromocitoma

El rendimiento de síntesis del  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TATE fue de  $95,6 \pm 2,3\%$ ,  $n = 20$ . El  $^{68}\text{Ga}$ -coloidal durante la síntesis, se estimó a partir de la actividad retenida durante el proceso de purificación mediante extracción en fase sólida (Sep Pak light) siguiendo el procedimiento descrito por Bauwens y cols., (2010), obteniéndose que el porcentaje era extremadamente bajo ( $1,41 \pm 1,13\%$ ;  $n = 20$ ) y siendo posible que incluso esta retención pudiera ser debida a unión no específica. Por lo que se estimó que la presencia de  $^{68}\text{Ga}$ -coloidal fue prácticamente despreciable.

- Meningioma

Los rendimientos de síntesis fueron  $67,81 \pm 3,12\%$ ;  $n = 4$ ,  $54,03 \pm 2,45\%$ ;  $n = 8$  y  $66,13 \pm 3,35\%$ ;  $n = 4$  para  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TATE,  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TOC y  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-NOC respectivamente.

- Tumor pulmonar de origen neuroendocrino

En el rendimiento de marcaje con  $^{68}\text{Ga}$  con DOTA-NOC, se apreció una variación en función de la cantidad de precursor utilizada, cuando se utilizaron 10-12 nanomoles fue de  $62,65 \pm 7,51\%$ ,  $n = 20$  y cuando se utilizaron 2 nanomoles de  $40,56 \pm 22,14\%$ ,  $n = 13$ .

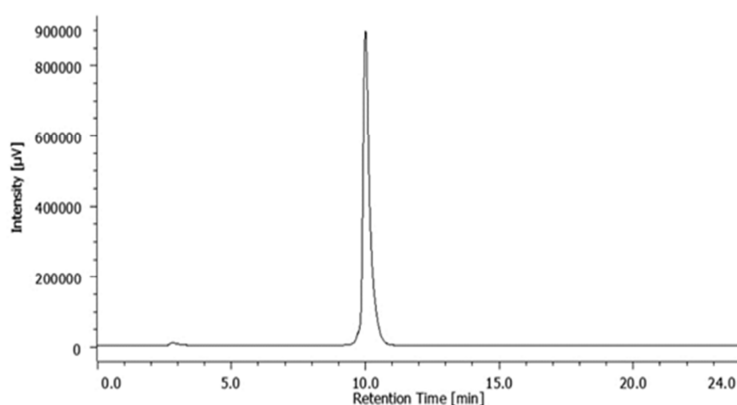
Los rendimientos de síntesis cuando se usaron 2 nanomoles de DOTA-péptido como precursor fueron prácticamente el doble que en el caso del marcaje de DOTA-NAPamida con la elución directa del generador (apartado 5.3.3.1 del capítulo 5), aunque es el mismo AQB no se trata del mismo péptido y pueden influir factores como el impedimento estérico durante la reacción de quelación. Estos mejores rendimientos presumiblemente pueden ser debidos al proceso de purificación que disminuye la cantidad de metales favoreciendo de esta forma la síntesis. Sin embargo, debido al tiempo necesario para realizar este proceso de concentración y purificación unido al  $T_{1/2}$  del  $^{68}\text{Ga}$  hace que el aumento de rendimiento de síntesis se vea compensado con el tiempo en realizar el proceso, resultando entonces la actividad del producto final marcado muy similar cuando no se realiza la purificación que cuando se realiza, pudiendo implementarse en función de las necesidades del experimento a realizar.

- Caso clínico

En la síntesis de  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-NOC para su aplicación clínica en CIMES, el  $^{68}\text{Ga}$  adsorbido en la resina de intercambio catiónico fue  $\geq 99,9\%$ , recuperando del proceso de purificación y concentración un  $99,5\%$ . El rendimiento de reacción fue superior al  $95\%$ .

La PRQ de las síntesis de  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TATE,  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TOC o  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-NOC se cuantificó mediante radio-HPLC con los parámetros descritos previamente, siendo  $\geq 95\%$  en todos los casos. En la Figura 12, se muestra un cromatograma típico de radio-HPLC de  $^{68}\text{Ga}$ -DOTATATE. El cromatograma de radio-HPLC muestra un pico para el

$^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TATE con un tiempo de retención de 10,02 min; el resultado RCP de HPLC fue  $\geq 95\%$ . Observándose un pico relativamente limpio con un posible hombro delantero sin identificar, 9,65 min, estimándose que es  $< 2\%$  de la cantidad total de actividad. Esta radioimpureza podría atribuirse a la parcial oxidación radiolítica de  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TATE, lo cual es consistente con los resultados previos (Breeman y cols., 2009; Mu y cols., 2013). La adición de agentes secuestrantes de radicales libres, tales como ácido ascórbico, podría suprimir significativamente la formación de estos subproductos (Mu y cols., 2013).



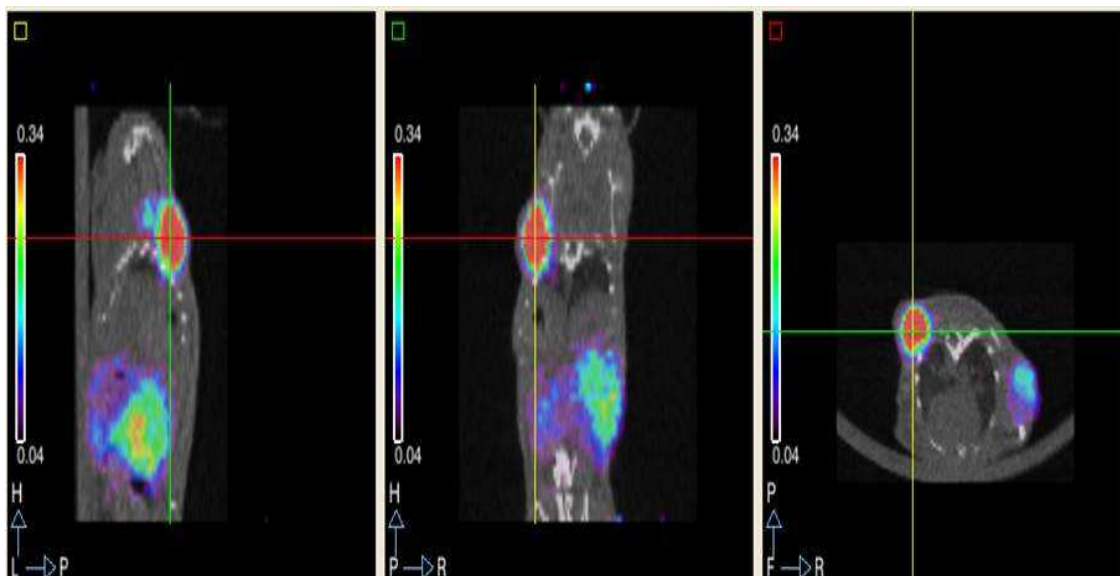
**Figura 12.** Radiocromatograma  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TATE,  $t_r = 10,02$  min, RCP = 95%. Radioimpurezas,  $t_r = 9,65$  min,  $< 2\%$  (Romero y cols., 2016).

La pureza radionucleídica en el eluido de los generadores comerciales basados en  $\text{TiO}_2$  (Eckert y Ziegler) fue del orden de  $10^{-3}\%$  y en el caso del prototipo del orden de  $10^{-4}\%$ . Como el  $^{68}\text{Ge}$  no se retiene en la resina de intercambio aniónico, la etapa de concentración descrita anteriormente también puede ser vista como una purificación de  $^{68}\text{Ga}$  respecto del radionucleido padre, confirmándose con los resultados obtenidos ya que el contenido en  $^{68}\text{Ge}$  disminuyó hasta  $10^{-6}\%$  para ambos generadores en las muestras obtenidas a partir de la resina de intercambio aniónico. Por lo tanto, la eliminación casi completa del contenido de  $^{68}\text{Ge}$ , además de una concentración del volumen, unida a la neutralización de  $\text{H}^+$  mediante este método proporciona  $^{68}\text{Ga}$  en solución acuosa lista para poder usarse en las distintas reacciones de síntesis.

### 5.3.3.2 Imagen PET/CT

- Feocromocitoma

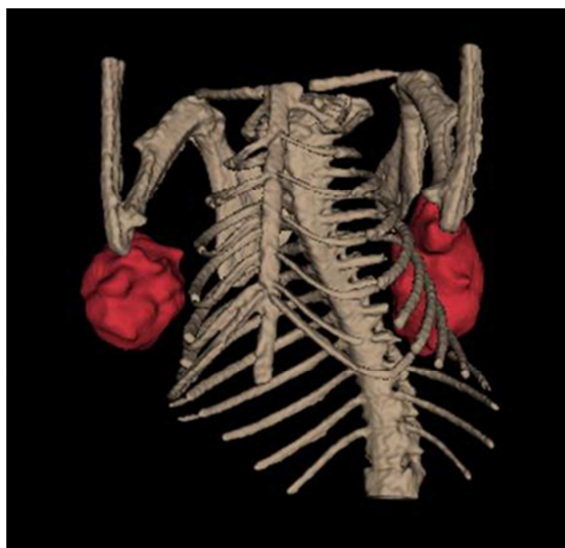
El  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TATE obtenido se inyectó a un modelo de ratón con un xenoinjerto de feocromocitoma con el fin de confirmar que el  $^{68}\text{Ga}$  obtenido a partir del proceso de purificación y concentración, usando 0,5 M de NaOH, era adecuado para las reacciones de síntesis de DOTA-péptidos y su aplicación en PET. Como puede apreciarse en la imagen PET/CT de la Figura 13 y la imagen segmentada siguiendo el método descrito por Yushkevich y cols., (2006) ITK-SNAP de la Figura 14, los tumores y los riñones mostraron intensa captación de  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TATE. Los valores  $\text{SUV}_{\text{máximo}}$  en el tumor en las imágenes no corregidos por atenuación oscilaron entre 0,26 y 0,63 ( $\text{SUV}_{\text{medio}}$ ,  $0,37 \pm 0,17$ ) y la relación media  $\text{SUV}_{\text{TM}}$  fue de  $31,2 \pm 17,7$  (rango 19-57).



**Figura 13.** Imágenes PET/CT en modelo de ratón con xenoinjertos de feocromocitoma con  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TATE: sagital (izquierda); coronal (centro) y axial (derecha).

Para evaluar el efecto de la atenuación en la cuantificación, se realizó el mismo análisis sobre los tumores y musculo. Aunque algunos autores han sugerido que la corrección de atenuación con CT se debe aplicar para la imagen cuantitativa en PET (El Ali y cols.,

2012) no se encontraron diferencias, siendo los valores  $SUV_{\text{máximo}}$  en tumor 0,24-0,63 (media,  $0,37 \pm 0,18$ ) y relación media  $SUV_{T/M}$  de  $26,4 \pm 13,2$  (rango 17-46) en las imágenes de atenuación corregida. Por otro lado, el carácter hidrófilo del  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TATE hace que se excrete principalmente a través de los riñones, esto contribuyó a su alta captación presente en la imagen.

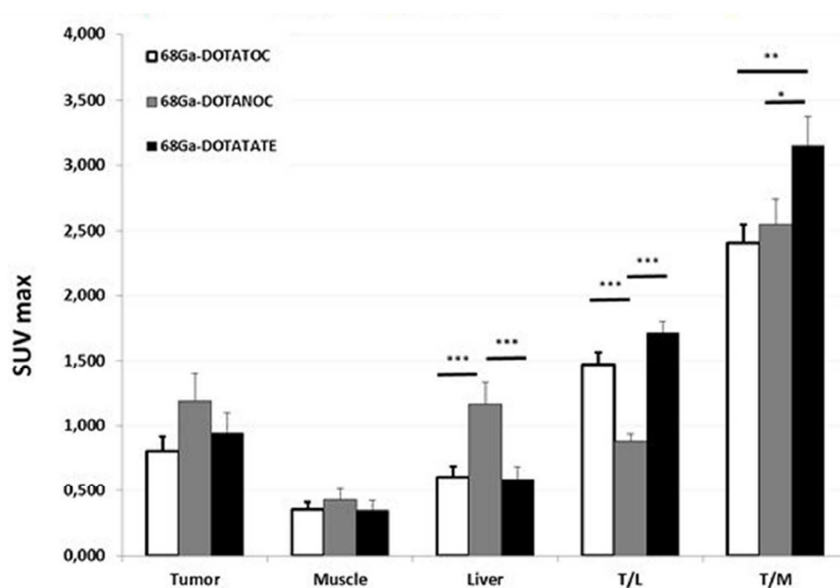


**Figura 14.** Imagen segmentada usando ITK-SNAP.

- Meningioma

La captación de las imágenes PET con  $^{68}\text{Ga}$  obtenidas de meningioma, Figura 15 muestra los valores de  $SUV_{\text{máximo}}$  en los tumores, el músculo y el hígado, así como las relaciones  $SUV_{T/L}$  y  $SUV_{T/M}$  para cada radiotrazador. Los estudios estadísticos mediante ANOVA mostraron diferencias significativas en la captación hepática  $SUV_{\text{máximo}}$  entre radiotrazadores ( $p < 0,001$ ;  $F = 9,164$ ), siendo la del  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-NOC mayor que la de  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TOC y  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TATE ( $p < 0,001$ ). La captación de  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-NOC en el hígado fue mayor que la de los otros trazadores, probablemente porque este es más lipófilo que  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TATE y  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TOC (Wild y cols., 2003). Además, no se encontraron diferencias significativas entre los trazadores para  $SUV_{\text{máximo}}$  en el tejido tumoral y el músculo. El estudio estadístico reveló también diferencias significativas en el ratio  $SUV_{T/L}$  entre radiotrazadores ( $p < 0,001$ ;  $F = 19,646$ ), mostrando el  $^{68}\text{Ga}$ -

DOTA-NOC una captación inferior a  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TOC y  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TATE ( $p < 0,001$ ), no encontrándose diferencias entre  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TATE y  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TOC. En cuanto a las diferencias en el ratio  $\text{SUV}_{\text{T/M}}$ , el test de ANOVA mostró diferencias significativas entre los radiotrazadores ( $p < 0,01$ ;  $F = 5,560$ ), siendo la captación del  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TATE más alta que la de  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TOC ( $p < 0,01$ ) y  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-NOC ( $p < 0,05$ ) (Soto-Montenegro y cols., 2014).

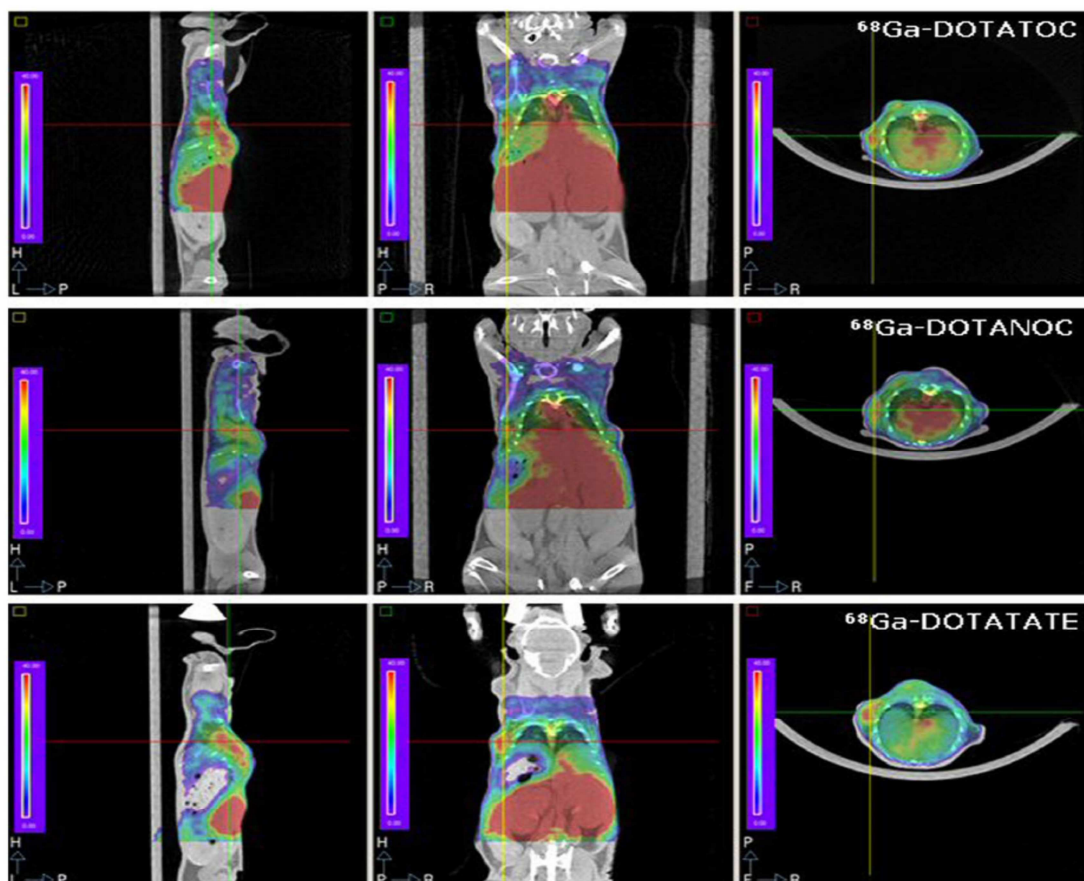


**Figura 15.** Cuantificación mediante SUV de las imágenes obtenidas de meningiomas (Soto-Montenegro y cols., 2014).

La Figura 16 (Soto-Montenegro y cols., 2014) muestra una comparativa de las imágenes PET/CT en un mismo animal para los tres radiotrazadores. Los tumores en el flanco eran mejor visualizados con  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TOC y  $^{68}\text{Ga}$ -DOTATATE que con  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-NOC.

Existen pocos trabajos que han comparado los valores de  $\text{SUV}_{\text{máximo}}$  de los análogos de somatostatina marcados con  $^{68}\text{Ga}$  y ninguno en meningiomas. En los artículos Poeppel y cols., (2011) y Poeppel y cols., (2013) se mostró que el  $\text{SUV}_{\text{máximo}}$  de  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TOC tendió a ser mayor que el del  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TATE. Por otra parte, en el estudio realizado por Velikyan y cols., (2014) no encontraron diferencias estadísticamente significativas en la captación tumoral entre  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TOC y  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TATE, pero se

apreciaron pequeñas diferencias en su biodistribución siendo presumiblemente el  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TATE preferible para la planificación de la terapia con radionucleidos  $\beta^-$  (Velikyan y cols., 2014; Sandstrom y cols., 2013). El estudio realizado por Yang y cols., (2013) sugirió que  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TATE puede ser más sensible y específico que  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TOC.



**Figura 16.** Imágenes PET/CT en modelo de ratón con xenoinjertos de meningiomas con  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TOC,  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-NOC y  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TATE: sagital (izquierda); coronal (centro) y axial (derecha) (Soto-Montenegro y cols., 2014).

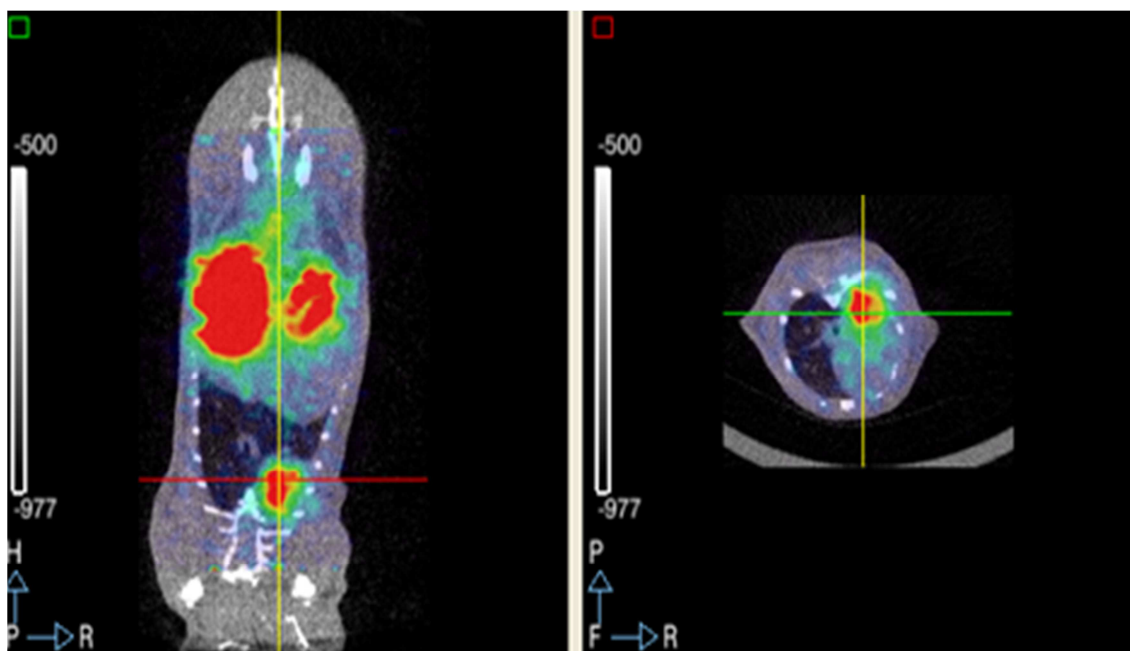
Los resultados obtenidos en este estudio están en la misma línea que los trabajos mencionados anteriormente publicados, obteniendo también resultados de biodistribución para el  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TATE y el  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TOC muy similares. Sólo dos estudios han comparado las relaciones de SUV en el diagnóstico de pacientes con tumores neuroendocrinos usando  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TATE y  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-NOC (Kabasakal y cols., 2012; Wild y cols., 2013). En el realizado por Wild y cols., (2013) se detectaron

significativamente más lesiones con  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-NOC que con  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TATE, probablemente debido al perfil más amplio de unión de este radiotrazador a los diferentes subtipos de receptores de somatostatina (Antunes y cols., 2007). Por el contrario, Kabasakal y cols., (2012) demostraron que las imágenes obtenidas con  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TATE y  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-NOC podrían tener precisión diagnóstica comparable para los tumores de origen neuroendocrino, aunque  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TATE mostró una captación superior pudiendo ser una potencial ventaja sobre  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-NOC.

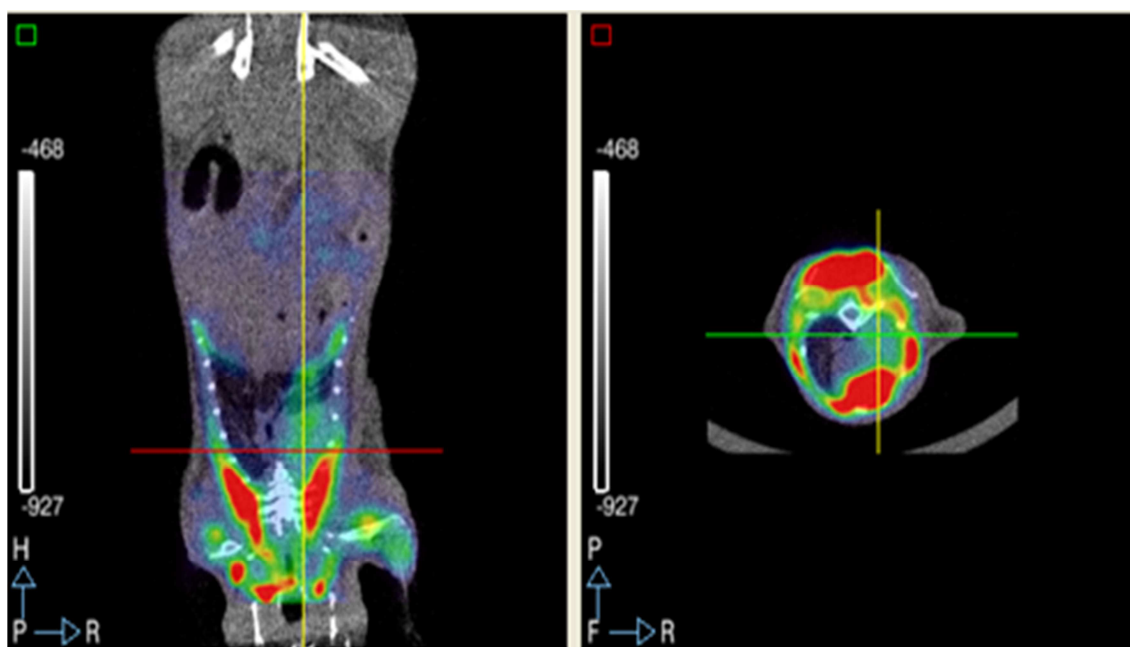
Estos resultados están en concordancia con los de Kabasakal y cols., (2012) y proporcionan una prueba más a favor de que el  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TATE sea el radiotrazador de primera elección y el  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TOC sea utilizado como segunda opción en el caso de diagnóstico de meningiomas mediante PET.

- Tumor pulmonar de origen neuroendocrino

Las imágenes PET/CT obtenidas con  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TOC de tumores pulmonares de origen neuroendocrino, como puede apreciarse en la Figura 17, muestra captación intensa en el pulmón izquierdo correspondiente a un tumor de origen neuroendocrino debido a que este tipo de tumores sobreexpresan receptores de somatostatina, también hay captación en los riñones ya que el carácter hidrófilo del  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TATE hace que se excrete principalmente por vía urinaria. Los valores de cuantificación de  $\text{SUV}_{\text{máximo}}$  para el tumor fueron de 2,74-0,72 (media;  $1,79 \pm 0,62$ ) y relación respecto al músculo de  $\text{SUV}_{\text{T/M}}$  de 25,79-6,74 (media;  $16,79 \pm 5,85$ ). Mientras que la imagen PET/CT obtenida con  $^{18}\text{F}$ -FDG (Figura 18) no se aprecia captación tumoral, las zonas de captación corresponden al corazón y a los músculos intercostales, las cuales muestran captación debido al alto consumo de glucosa de forma endógena. Por lo tanto, el empleo de  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TOC resulta de gran utilidad en el diagnóstico prematuro y posterior planificación del tratamiento en este tipo de tumores. Los resultados obtenidos en este estudio están acorde con los trabajos publicados en clínica por Kayani y cols., (2009) y Jindal y cols., (2011), en los cuales comparan el valor diagnóstico de análogos de somatostatina marcados con  $^{68}\text{Ga}$  y  $^{18}\text{F}$ -FDG.



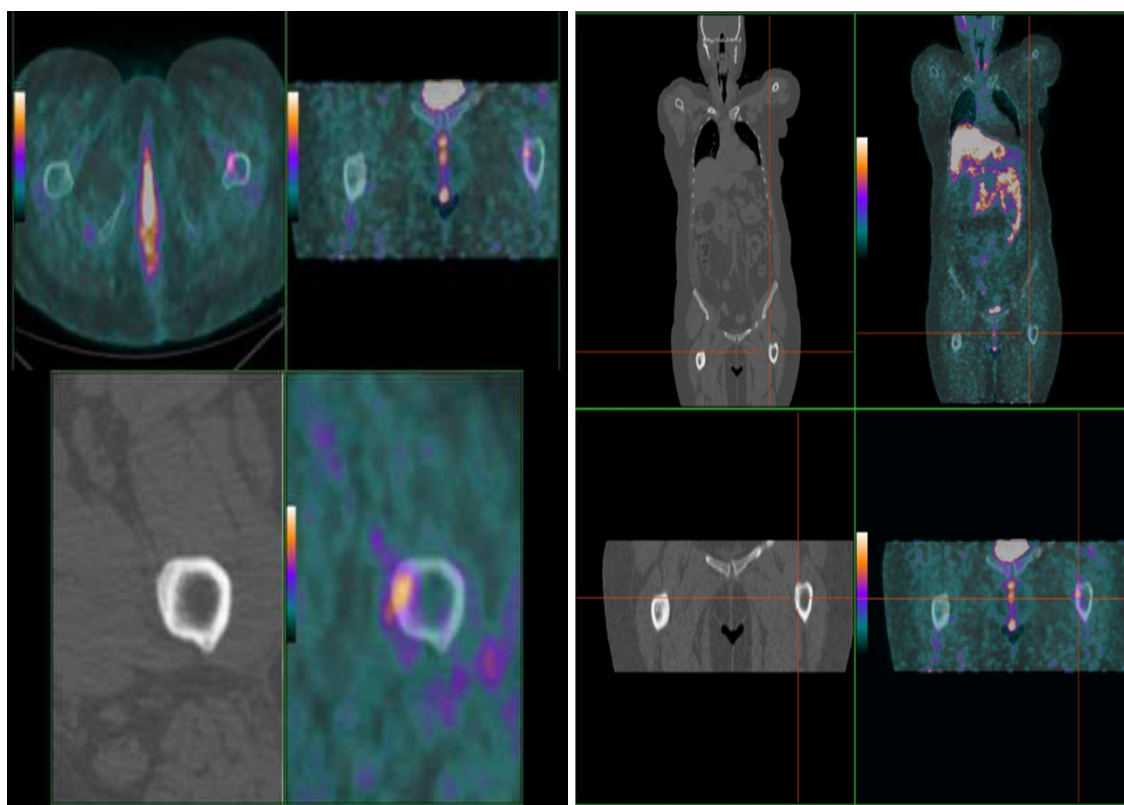
**Figura 17.** Imagen PET/CT tumor pulmonar de origen neuroendocrino con  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TOC: coronal (izquierda) y axial (derecha).



**Figura 18.** Imagen PET/CT tumor pulmonar de origen neuroendocrino con  $^{18}\text{F}$ -FDG: coronal (izquierda) y axial (derecha).

- Caso clínico

Las imágenes clínicas PET/CT (Figura 19) (García y cols., 2013a; García y cols., 2013b y Romero, 2013) muestran la distribución de  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-NOC (148 MBq) 60 min postinyección, apreciándose captación fisiológica en hígado, páncreas, bazo, pituitaria, tiroides, riñones, glándulas adrenales, glándulas salivales, intestino y pared estomacal. Existiendo captación patológica en la región proximal del fémur izquierdo. Las imágenes PET/CT ampliadas (Figura 19) (García y cols., 2013a; García y cols., 2013b; Romero, 2013) correspondientes a 2 h postinyección, mostraban un aumento de captación en el fémur izquierdo. Quedando de esta forma confirmado el diagnóstico de un tumor productor de FGF23 inductor de osteomalacia.



**Figura 19.** Imagen clínica PET/CT de  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-NOC, corte axial, de tumor productor de FGF23 inductor de osteomalacia (izquierda) y 2 h postinyección (derecha) (García y cols., 2013a; García y cols., 2013b; Romero, 2013).

### 5.3.4 Conclusiones

El  $^{68}\text{Ga}$  obtenido del proceso de purificación y concentración mediante un método manual y síntesis de  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TATE ha demostrado rendimientos de síntesis fueron mayores a los obtenidos empleando la elución directa del generador, permitiendo ser de gran utilidad para el diagnóstico de tumores neuroendocrinos tales como feocromocitomas en un modelo de xenoinjerto de ratón. Además, debido a su simplicidad permite ser fácilmente implementado en centros de investigación en el que se requiera hacer estudios PET de este tipo en animales de experimentación.

La captación tumoral del  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TATE en PET en un modelo de xenoinjerto de ratón con una línea celular tumoral de meningioma fue mayor que la de los otros dos radiotrazadores, lo que sugiere que  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TATE podría ser considerado como el radiotrazador de elección para el diagnóstico de meningiomas mediante PET, pudiendo tener una repercusión directa para su uso en clínica.

En el estudio realizado en los ratones genéticamente modificados para el diagnóstico de tumores de origen neuroendocrino mediante PET comparando  $^{18}\text{F}$ -FDG y  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TOC se ha demostrado el gran valor diagnóstico de los radiotrazadores basados en  $^{68}\text{Ga}$  para el estudio de visualización, cuantificación y caracterización de tumores que no consumen de forma elevada glucosa como sustrato y teniendo una repercusión directa en clínica para el diagnóstico de este tipo de tumores. Además, permite trabajar en una nueva línea de investigación valorando posibles tratamientos. La misma molécula (DOTA-TOC) puede ser utilizada tanto para fines diagnósticos como terapéuticos ("theranostics") dependiendo del radionucleido elegido como ocurre en el caso del  $^{68}\text{Ga}$  y el  $^{177}\text{Lu}$  respectivamente.

El caso clínico presentado es de gran relevancia ya que supone ser el primer paciente inyectado y diagnosticado utilizando  $^{68}\text{Ga}$  en España, quedando demostrando la potencial aplicación del  $^{68}\text{Ga}$  y superioridad para el diagnóstico de determinados tumores, los cuales no han podido ser diagnosticados mediante otras técnicas como SPECT. Iniciando e impulsando de esta forma el uso en clínica del  $^{68}\text{Ga}$  en España.

### 5.3.5 Referencias bibliográficas

- Aberle, DR., Berg, CD., Black, WC., Church, TR., Fagerstrom, RM., Galen, B., Gareen, IF., Gatsonis, C., Goldin, J., Gohagan, JK., Hillman, B., Jaffe, C., Kramer, BS., Lynch, D., Marcus, PM., Schnall, M., Sullivan, DC., Sullivan, D., Zylak, CJ. 2011. The National Lung Screening Trial: overview and study design. *Radiology*. 258: 243-253.
- Aberle, DR., Adams, AM., Berg, CD., Black, WC., Clapp, JD., Fagerstrom, RM., Gareen, IF., Gatsonis, C., Marcus, PM., Sicks, JD. 2011. National Lung Screening Trial Research Team, Reduced lung-cancer mortality with low-dose computed tomographic screening. *N. Engl. J. Med.* 365: 395-409.
- Antunes, P., Ginja, M., Zhang, H., Waser, B., Baum, RP., Reubi, JC., Maecke, H. 2007. Are radiogallium-labelled DOTA-conjugated somatostatin analogues superior to those labelled with other radiometals?. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging*. 34: 982- 993.
- Arena, S., Barbieri, F., Thellung, S., Pirani, P., Corsaro, A., Villa, V., Dadati, P., Dorcaratto, A., Lapertosa, G., Ravetti, JL., Spaziante, R., Schettini, G., Florio, T. 2004. Expression of somatostatin receptor mRNA in human meningiomas and their implication in in vitro antiproliferative activity. *J. Neurooncol.* 66: 155-166.
- Bauwens, M., Chekol, R., Vanbilloen, H., Bormans, G., Verbruggen, A. 2010. Optimal buffer choice of the radiosynthesis of (<sup>68</sup>Ga)-Dotatoc for clinical application. *Nucl. Med. Commun.* 31(8): 753-758.
- Breeman, WA., de Blois, E., Chan, HS., Krenning, EP. 2009. Maintaining radiochemical purity of peptides for receptor-targeting. *J. Labelled Compd. Radiopharm.* 52(1), S270.
- de Gregorio, M., Costa, S., Malizia, C., Martínez de Miguel, B., Puertas, G., Pérez, D., Pérez, R., Romero, E., Lodi, F. 2014. Evaluación de un método de síntesis y control de calidad puesto a punto de <sup>68</sup>Ga-DOTANOC para uso



clínico. XXXIV Congreso de la Sociedad Española de Medicina nuclear e Imagen Molecular. 28-30 mayo. Madrid.

- Dutour, A., Kumar, U., Panetta, R., Ouafik, L., Fina, F., Sasi, R., Patel, YC. 1998. Expression of somatostatin receptor subtypes in human brain tumors. *Int. J. Cancer*. 76: 620-627.
- El Ali, H., Bodholdt, RP., Jørgensen, JT., Myschetzky, R., Kjaer, A. 2012. Importance of Attenuation Correction (AC) for Small Animal PET Imaging. *Diagnostics* 2, 42-51.
- Ferlay, J., Steliarova-Foucher, E., Lortet-Tieulent, J., Rosso, S., Coebergh, JW., Comber, H., Forman, D., Bray, F. 2013. Cancer incidence and mortality patterns in Europe: estimates for 40 countries in 2012. *Eur. J. Cancer*. 49(6): 1374-403.
- Ferlay, J., Soerjomataram, I., Dikshit, R., Eser, S., Mathers, C., Rebelo, M., Parkin, DM., Forman, D., Bray, F. 2015. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int. J. Cancer*. 136(5): 359-386.
- Frese, KK., Tuveson, DA. 2007. Maximizing mouse cancer models. *Nat. Rev. Cancer*. 7(9): 645-58.
- García, F., Romero, E., García, D., Lillo, ME., Gutiérrez, A. 2012. XXXII Congreso de la Sociedad Española de Medicina nuclear e Imagen Molecular. Síntesis automatizada de (<sup>68</sup>Ga)DOTA-TOC, (<sup>68</sup>Ga)DOTA-NOC, (<sup>68</sup>Ga)DOTA-TATE para la visualización de tumores neuroendocrinos con PET. 13-15 junio. Cádiz.
- García, F., Romero, E., López, B., Gutiérrez, A., Lillo, ME. 2013a. Síntesis automatizada de (<sup>68</sup>Ga)DOTA-péptidos en un módulo tracerlab FX-FN utilizando cartuchos de intercambio iónico. XXXII Congreso de la Sociedad Española de Medicina nuclear e Imagen Molecular. 5-7 junio. Murcia.
- García, F., Romero, E., Gutiérrez, A., Morcillo, MA., Lillo, ME. 2013b. Automated production of (<sup>68</sup>Ga)DOTA-peptides using Tracerlab FX-FN

- module. 20th International Symposium on Radiopharmaceutical Sciences. 12-17 mayo. Isla de Jeju (Korea del Sur).
- Gopinathan, A., Tuveson, DA. 2008. The use of GEM models for experimental cancer therapeutics. *Dis. Model. Mech.* 1(2-3): 83-6.
  - Guermazi, A., Lafitte, F., Miaux, Y., Adem, C., Bonneville, JF., Chiras, J. 2005. The duraltail sign-beyond meningioma. *Clin. Radiol.* 60: 171-188.
  - John, H., Ziegler, WH., Hauri, D., Jaeger, P. 1999. Pheochromocytomas: can malignant potential be predicted?. *Urology.* 53(4): 679-683.
  - Jindal, T., Kumar, A., Venkitaraman, B., Meena, M., Kumar, R., Malhotra, A., Dutta, R. 2011. Evaluation of the role of [<sup>18</sup>F]FDG-PET/CT and [<sup>68</sup>Ga]DOTATOC-PET/CT in differentiating typical and atypical pulmonary carcinoids. *Cancer Imaging.* 15;11: 70-75.
  - Kayani, I., Conry, BG., Groves, AM., Win, T., Dickson, J., Caplin, M., Bomanji, JB. 2009. A comparison of <sup>68</sup>Ga-DOTATATE and <sup>18</sup>F-FDG PET/CT in pulmonary neuroendocrine tumors. *J. Nucl. Med.* 50(12): 1927-1932.
  - Kabasakal, L., Demirci, E., Ocak, M., Decristoforo, C., Araman, A., Ozsoy, Y., Uslu, I., Kanmaz, B. 2012. Comparison of <sup>68</sup>Ga-DOTATATE and <sup>68</sup>Ga-DOTANOC PET/CT imaging in the same patient group with neuroendocrine tumours. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging.* 39: 1271-1277.
  - Kwon, MC., Berns, A. 2013. Mouse models for lung cancer. *Mol. Oncol.* 7(2): 165-77.
  - López-Sánchez, LM., Soto-Montenegro, ML., Vaquero, JJ., Romero, E., Desco M. 2012. Generadores de <sup>68</sup>Ge/<sup>68</sup>Ga “agotados”: Utilidad en la preparación automática de <sup>68</sup>Ga DOTA-TOC para investigación en pequeño animal. XXXII Congreso de la Sociedad Española de Medicina nuclear e Imagen Molecular. 13-15 junio. Cádiz.
  - Maurice, JB., Troke, R., Win, Z., Ramachandran, R., Al-Nahhas, A., Najji, M.,



- Dhillon, W., Meeran, K., Goldstone, AP., Martin, NM., Todd, JF., Palazzo, F., Tan, T. 2012. A comparison of the performance of  $^{68}\text{Ga}$ -DOTATATE PET/CT and  $^{123}\text{I}$ -MIBG SPECT in the diagnosis and follow-up of pheochromocytoma and paraganglioma. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging.* 39(8): 1266-1270.
- Mawrin, C., Perry, A. 2010. Pathological classification and molecular genetics of meningiomas. *J. Neurooncol.* 99: 379-391.
  - Meuwissen, R., Berns, A. 2005. Mouse models for human lung cancer. *Genes Dev.* 19(6): 643-64.
  - Mu, L., Hesselmann, R., Oezdemir, U., Bertschi, L., Blanc, A., Dragic, M., Loeffler, D., Smuda, C., Johayem, A., Schibli, R. 2013. Identification, characterization and suppression of side-products formed during the synthesis of high dose  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TATE. *Appl. Radiat. Isot.* 76: 63-69.
  - Mueller, D., Klette, I., Baum, RP., Gottschaldt, M., Schultz, MK., Breeman, WA. 2012. Simplified NaCl based ( $^{68}\text{Ga}$ ) concentration and labeling procedure for rapid synthesis of ( $^{68}\text{Ga}$ ) radiopharmaceuticals in high radiochemical purity. *Bioconjug. Chem.* 23(8): 1712-1717.
  - Naji, M., AL-Nahhas, A. 2012.  $^{68}\text{Ga}$ -labelled peptides in the management of neuroectodermal tumours. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging.* 39(1): 61-67.
  - Ostrom, QT., Gittleman, H., Farah, P., Ondracek, A., Chen, Y., Wolinsky, Y., Stroup, NE., Kruchko, C., Barnholtz-Sloan, JS. 2013. CBTRUS statistical report: Primary brain and central nervous system tumors diagnosed in the United States in 2006-2010. *Neuro. Oncol.* 15, Suppl 2: ii1-56.
  - Poeppel, TD., Binse, I., Petersenn, S., Lahner, H., Schott, M., Antoch, G., Brandau, W., Bockisch, A., Boy, C. 2011.  $^{68}\text{Ga}$ -DOTATOC versus  $^{68}\text{Ga}$ -DOTATATE PET/CT in functional imaging of neuroendocrine tumours. *J. Nucl. Med.* 52, 1864-1870.
  - Poeppel, TD., Binse, I., Petersenn, S., Lahner, H., Schott, M., Antoch, G., Brandau, W., Bockisch, A., Boy, C. 2013. Differential uptake of ( $^{68}\text{Ga}$ )-

DOTATOC and ( $^{68}\text{Ga}$ )-DOTATATE in PET/CT of gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors. *Recent. Results Cancer. Res.* 194: 353-371.

- Reubi, JC., Schar, JC., Waser, B., Wenger, S., Heppeler, A., Schmitt, JS., Maecke, HR. 2000. Affinity profiles for human somatostatin receptor subtypes SST1-SST5 of somatostatin radiotracers selected for scintigraphic and radiotherapeutic use. *Eur. J. Nucl. Med.* 27: 273-282.
- Roesch, F. 2013. Past, present and future of  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  generators. *Appl. Radiat. Isot.* 76: 24-30.
- Romero, E., Oteo, M., Castañera, R., Grande, MT., Morcillo, MA. 2010. Marcaje de DOTA-(Tyr3, Thr8)-Octreotide con  $^{68}\text{Ga}$ . XXX Congreso de la Sociedad Española de Medicina Nuclear e Imagen Molecular. 16-18 junio. A Coruña.
- Romero, E. 2013. Radiofarmacia PET sin ciclotrón:  $^{68}\text{Ga}$ , una realidad. XXXII Congreso de la Sociedad Española de Medicina Nuclear e Imagen Molecular. Ponencia mesa redonda radiofarmacia. Sociedad española de radiofarmacia. 5-7 junio. Murcia.
- Romero, E., Martínez, A., Oteo, M., García, A., Morcillo, MA. 2016. Preparation of  $^{68}\text{Ga}$ -labelled DOTA-peptides using a manual labelling approach for small-animal PET imaging. *Appl. Radiat. Isot.* 107: 113-120.
- Sandstrom, M., Velikyan, I., Garske-Roman, U., Sorensen, J., Eriksson, B., Granberg, D., Lundqvist, H., Sundin, A., Lubberink, M. 2013. Comparative biodistribution and radiation dosimetry of  $^{68}\text{Ga}$ -DOTATOC and  $^{68}\text{Ga}$ -DOTATATE in patients with neuroendocrine tumors. *J. Nucl. Med.* 54: 1755-1759.
- Siegel, R., Ward, E., Brawley, O., Jemal, A. 2011. Cancer statistics, 2011: the impact of eliminating socioeconomic and racial disparities on premature cancer deaths. *C.A. Cancer J. Clin.* 61(4): 212-236.



- Shulkin, BL., Ilias, I., Sisson, JC., Pacak, K. 2006. Current trends in functional imaging of pheochromocytomas and paragangliomas. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1073: 374-382.
- Schulz, S., Pauli, SU., Handel, M., Dietzmann, K., Firsching R, Hoell, V. 2000. Immunohistochemical determination of five somatostatin receptors in meningioma reveals frequent overexpression of somatostatin receptor subtype sst2A. *Clin. Cancer. Res.* 6: 1865-1874.
- Soto-Montenegro, ML., Peña-Zalbidea, S., Mateos-Pérez, JM., Oteo, M., Romero, E., Morcillo, MA., Desco, D. 2014. Meningiomas: a comparative study of  $^{68}\text{Ga}$ -DOTATOC,  $^{68}\text{Ga}$ -DOTANOC and  $^{68}\text{Ga}$ -DOTATATE for molecular imaging in mice. *PLoS One*. 4: 9(11).
- Steliarova-Foucher, E., O'Callaghan, M., Ferlay, J., Masuyer, E., Comber, H., Bray, F. 2012. European cancer observatory: cancer incidence, mortality, prevalence and survival in Europe. Version 1.0., European Network of Cancer Registries, International Agency for Research on Cancer.
- Tischler., AS. 2008. Pheochromocytoma and extra-adrenal paraganglioma: updates. *Archives of Pathology and Laboratory Medicine*. 132(8): 1272-1284.
- Travis, WD. 2009. Lung tumours with neuroendocrine differentiation. *Eur. J. Cancer*. 2009. 45(1): 251-66.
- Travis, WD., Brambilla, E., Noguchi, M., Nicholson, AG., Geisinger, KR., Yatabe, Y., Beer, DG., Powell, CA., Riely, GJ., Van Schil, PE., Garg, K., Austin, JH., Asamura, H., Rusch, VW., Hirsch, FR., Scagliotti, G., Mitsudomi, T., Huber, RM., Ishikawa, Y., Jett, J., Sánchez-Céspedes, M., Sculier, JP., Takahashi, T., Tsuboi, M., Vansteenkiste, J., Wistuba, I., Yang, PC., Aberle, D., Brambilla, C., Flieder, D., Franklin, W., Gazdar, A., Gould, M., Hasleton, P., Henderson, D., Johnson, B., Johnson, D., Kerr, K., Kuriyama, K., Lee, JS., Miller, VA., Petersen, I., Roggli, V., Rosell, R., Saijo, N., Thunnissen, E., Tsao, M., Yankelewitz, D. 2011. International association for the study of lung

- cancer/american thoracic society/european respiratory society international multidisciplinary classification of lung adenocarcinoma. *J. Thorac. Oncol.* 6(2): 244-285.
- Velikyan, I., Beyer, GJ., Langstroem, B. 2004. Microwave-supported preparation of  $^{68}\text{Ga}$  bioconjugates with high specific radioactivity. *Bioconjug. Chem.* 15: 554-560.
  - Velikyan, I. 2014. Prospective of  $^{68}\text{Ga}$ -Radiopharmaceutical Development. *Theranostics.* 4(1): 47-80.
  - Velikyan, I., Sundin, A., Sorensen, J., Lubberink, M., Sandstroem, M., Garske-Román, U., Lundqvist, H., Granberg, D., Eriksson, B. 2014. Quantitative and Qualitative Inpatient Comparison of  $^{68}\text{Ga}$ -DOTATOC and  $^{68}\text{Ga}$ -DOTATATE: Net Uptake Rate for Accurate Quantification. *J. Nucl. Med.* 55: 204-210.
  - Vikis, HG., Rymaszewski, AL., Tichelaar, JW. 2013. Mouse models of chemically-induced lung carcinogenesis. *Front. Biosci.* 1(5): 939-46.
  - Wang, Y., Rougly, L., You, M., Lubet, R. 2012. Animal models of lung cancer characterization and use for chemoprevention research. *Prog. Mol. Biol. Transl. Sci.* 105: 211-226.
  - Wild, D., Schmitt, JS., Ginj, M., Macke, HR., Bernard, BF., Krenning, E., Wenger, S., Reubi, JC. 2003. DOTANOC, a high-affinity ligand of somatostatin receptor subtypes 2, 3 and 5 for labelling with various radiometals. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging.* 30: 1338-1347.
  - Wild, D., Macke, HR., Waser, B., Reubi, JC., Ginj, M., Rasch, H., Mueller-Brand, J., Hofmann, M. 2005.  $^{68}\text{Ga}$ -DOTANOC: a first compound for PET imaging with high affinity for somatostatin receptor subtypes 2 and 5. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging.* 32: 724.
  - Wild, D., Bomanji, JB., Benkert, P., Maecke, H., Ell, PJ., Reubi, JC., Caplin,



- ME. 2013. Comparison of  $^{68}\text{Ga}$ -DOTANOC and  $^{68}\text{Ga}$ -DOTATATE PET/CT within patients with gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors. *J. Nucl. Med.* 54: 364-372.
- Win, Z., Al-Nahhas, A., Towey, D., Todd, J.F., Rubello, D., Lewington, V., Gishen, P. 2007.  $^{68}\text{Ga}$ -DOTATATE PET in neuroectodermal tumours: first experience. *Nucl. Med. Commun.* 28: 359-363.
  - Yang, J., Kan, Y., Ge, BH., Yuan, L., Li, C., Zhao, W. 2013. Diagnostic role of Gallium-68 DOTATOC and Gallium-68 DOTATATE PET in patients with neuroendocrine tumors: a meta-analysis. *Acta. Radiol.* 55(4): 389-398.
  - Yushkevich, PA., Piven, J., Hazlett, HC., Smith, RG., Ho, S., Gee, JC., Gerig, G. 2006. User-guided 3D active contour segmentation of anatomical structures: significantly improved efficiency and reliability. *Neuroimage.* 31(3): 1116-28.



## Capítulo 6: Figuras, leyendas y tablas

### Capítulo 1: Introducción

- Figura 1.** Naturaleza ondulatoria de la radiación (CIEMAT, 2014).
- Figura 2.** Espectro de ondas electromagnéticas (CIEMAT, 2014).
- Figura 3.** Esquema simplificado: efecto fotoeléctrico (CIEMAT, 2014).
- Figura 4.** Esquema simplificado: efecto compton (CIEMAT, 2014).
- Figura 5.** Esquema simplificado: creación de pares (CIEMAT, 2014).
- Figura 6.** Principales tipos de desintegración radiactiva (CIEMAT, 2014).
- Figura 7.** Decaimiento de una fuente radiactiva en función de sus periodos de semidesintegración (CIEMAT, 2014).
- Figura 8.** Esquema simplificado del colimador, cristal de centelleo y fotomultiplicador (CIEMAT, 2014).
- Figura 9.** Esquema simplificado del funcionamiento de la gammacámara (CIEMAT, 2014).
- Figura 10.** Esquema simplificado de la reacción de aniquilación entre un positrón y un electrón (Velikyan, 2014).
- Figura 11.** Eventos detectados en coincidencia en PET (Velikyan, 2014).
- Figura 12.** Esquema simplificado del funcionamiento del PET (CIEMAT, 2014).
- Figura 13.** Estructura química y síntesis por sustitución nucleófila de  $^{18}\text{F}$ -Fluorodesoxiglucosa (Yu, 2006).
- Figura 14.** Simulación dosimétrica de la relación entre la tasa de dosis absorbida en el tumor y el tejido normal (TND) en relación con la energía de la partícula emitida y el tamaño del tumor para varios emisores  $\beta^-$  (Uusijärvi y cols., 2006).
- Figura 15.** Fotografía de un reactor nuclear. JEN-1, Junta de Energía Nuclear, Madrid (CIEMAT, 2014).

**Figura 16.** Esquema simplificado del funcionamiento de un ciclotrón (CIEMAT, 2014).

**Figura 17.** Fotografía de un ciclotrón comercial (CIEMAT, 2014).

**Figura 18.** Esquema simplificado de un generador de radionucleidos (izquierda) y fotografía de un generador de radionucleidos comercial (derecha).

**Figura 19.** Porcentaje de las publicaciones relacionadas con  $^{68}\text{Ga}$  desde 1950 hasta 2015, búsqueda realizada en Scencedirect.

**Figura 20.** Esquema simplificado de la desintegración radiactiva del  $^{68}\text{Ge}$  y del  $^{68}\text{Ga}$ , basado de DDEP, (2015).

**Figura 21.** Fórmula estructural de los agentes quelantes bifuncionales lineales más utilizados en la actualidad: EDTA (izquierda) y DTPA (derecha).

**Figura 22.** Fórmula estructural de los agentes quelantes bifuncionales macrocíclicos más utilizados para  $^{68}\text{Ga}$  en la actualidad: Ga-NOTA( izquierda) y Ga-DOTA (derecha).

**Figura 23.** Esquema de las reacciones de  $^{68}\text{Ga}$  con DOTA (arriba) a  $90^\circ$  y NOTA (abajo) a temperatura ambiente.

**Tabla 1.** Principales características de los radionucleidos más utilizados en imagen: SPECT. Tabla adaptada de Chakravarty, (2011).

**Tabla 2.** Principales características de los radionucleidos más utilizados en imagen: PET. Tabla adaptada de Chakravarty, (2011).

**Tabla 3.** Características físicas de los principales radionucleidos utilizados en terapia. Principal modo decaimiento; para la emisión  $\beta^-$  solo la energía máxima es mencionada. Tabla adaptada de Chakravarty, (2011).

**Tabla 4.** Características físicas de los principales radionucleidos producidos en reactor nuclear, adaptada de Chakravarty, (2011). *\*Solo es mencionado el principal modo de decaimiento; Sección eficaz = magnitud proporcional a la probabilidad de que un neutrón incidente interactione con un núcleo en un medio material y según una reacción nuclear específica,  $b = \text{barnio}$  ( $1b = 10^{-28} \text{ m}^2$ );  $Y = \text{rendimientos de fisión}$ .*

**Tabla 5.** Características físicas de los principales radionucleidos producidos en ciclotrón (Chakravarty, 2011).

**Tabla 6.** Características físicas de los principales radionucleidos producidos vía generador de radionucleidos. Tabla adaptada de IAEA, (2010). *A = acelerador, CD = cadena de decaimiento, R = reactor, captura de neutrones, R(f) = fisión en reactor, CE = captura electrónica.*

**Tabla 7.** Calcificación de los principales tipos de generadores en función del tipo de equilibrio radioquímico. Tabla adaptada de IAEA, (2010).

**Tabla 8.** Pérdida de resolución intrínseca en PET en función de la energía del positrón emitido de los radionucleidos más utilizados. Tabla adaptada de Pagani y cols., (1997).

## Capítulo 2: Generador de $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$

**Figura 1.** Resumen de los principales generadores descritos de  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  (IAEA, 2013).

**Figura 2.** Planta de irradiación Nayade perteneciente al CIEMAT.

**Figura 3.** Espectro gamma del  $^{68}\text{Ga}$ .

**Figura 4.** Columna del generador  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  prototipo: sin blindaje (izquierda) y blindada con plomo (derecha).

**Figura 5.** Coeficientes de distribución (Kd) para  $\text{Ge}^{4+}$  (●) y  $\text{Ga}^{3+}$  (■) a diferentes concentraciones de HCl para:  $\text{TiO}_2\text{-a}$  (arriba, izquierda),  $\text{TiO}_2\text{-na}$  (arriba, derecha) y  $\text{TiO}_2\text{-r}$  (abajo, centro). Media  $\pm$  desviación estándar ( $n = 3$ ).

**Figura 6.** Coeficientes de distribución (Kd) para  $\text{Ge}^{4+}$  (●) y  $\text{Ga}^{3+}$  (■) a diferentes concentraciones de HCl para:  $\text{SnO}_2\text{-ac}$  (arriba, izquierda),  $\text{SnO}_2\text{-la}$  (arriba, derecha),  $\text{SnO}_2\text{-co}$  (abajo, izquierda) y  $\text{SnO}_2\text{-cal}$  (abajo, derecha). Media  $\pm$  desviación estándar ( $n = 3$ ).

**Figura 7.** Difractogramas, fase mayoritaria tetragonal, correspondientes a  $\text{SnO}_2\text{-co}$  (izquierda) y  $\text{SnO}_2\text{-cal}$  (derecha).

- Figura 8.** Imágenes SEM, SnO<sub>2</sub>-co (izquierda) y SnO<sub>2</sub>-cal (derecha).
- Figura 9.** Isotermas BET de adsorción y desorción de N<sub>2</sub>, para SnO<sub>2</sub>-co (línea continua) y desorción (línea discontinua).
- Figura 10.** Coeficientes de distribución (Kd) para Ge<sup>4+</sup> (●) y Ga<sup>3+</sup> (■) a diferentes concentraciones de HCl para: SnO<sub>2</sub>-co-irra (izquierda), SnO<sub>2</sub>-cal-irra (derecha). Media ± desviación estándar (n = 3).
- Figura 11.** Difractogramas, fase mayoritaria tetragonal, correspondientes a SnO<sub>2</sub>-co-irra (izquierda) y SnO<sub>2</sub>-cal-irra (derecha).
- Figura 12.** Resumen estudio generador <sup>68</sup>Ge/<sup>68</sup>Ga piloto basado en SnO<sub>2</sub>-co eluido regularmente, <sup>68</sup>Ga eluido: HCl 0,5 M, flujo 1 mL/min (▲), HCl 1 M, flujo 1 mL/min (■), HCl 2 M, flujo 1 mL/min (●), HCl 1 M, flujo 1,5 mL/min, HCl 1 M, flujo 1 mL/min forma seca (▼) y el contenido de <sup>68</sup>Ge: (▲), (■), (●), (▼) en cada elución respectivamente.
- Figura 13.** Resumen estudio generador <sup>68</sup>Ge/<sup>68</sup>Ga piloto basado en SnO<sub>2</sub>-cal y eluido regularmente, para el <sup>68</sup>Ga: HCl 0,5 M, flujo 1 mL/min (▲), HCl 1 M, flujo 1 mL/min (■), HCl 2 M, flujo 1 mL/min (●), HCl 1 M, flujo 1,5 mL/min (▶), HCl 1 M, flujo 0,5 mL/min (◀) y HCl 1 M, flujo 1 mL/min forma seca (▼) y para el contenido de <sup>68</sup>Ge: (▲), (■), (●), (▶), (◀), (▼) en cada elución respectivamente.
- Figura 14.** Resumen estudio del generador <sup>68</sup>Ge/<sup>68</sup>Ga prototipo basado en SnO<sub>2</sub>-cal y eluido regularmente, para el <sup>68</sup>Ga: HCl 0,5 M, flujo 1 mL/min (▲), HCl 1 M, flujo 1 mL/min (■), HCl 1 M, flujo 1,5 mL/min (▶) y HCl 1 M, flujo 1 mL/min forma seca (▼) y para el <sup>68</sup>Ge: (▲), (■), (▶), (▼) en cada elución respectivamente.
- Figura 15.** Perfil de elución del <sup>68</sup>Ga obtenido del generador prototipo en forma húmeda (■) y seca (●). Media ± desviación estándar (n = 3).
- Figura 16.** Perfil de elución del <sup>68</sup>Ge obtenido del generador prototipo en forma húmeda (▲) y seca (▼). Media ± desviación estándar (n = 3).
- Figura 17.** Comparativa del perfil de elución del <sup>68</sup>Ga en forma húmeda de distintos

generadores comerciales. Tabla adaptada de Chakravarty y cols., (2016).

**Figura 18.** Imagen PET/CT de la columna del generador  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  prototipo al principio de su uso (izquierda) y después de 1 año y 305 eluciones (derecha).

**Tabla 1.** Resumen de los generadores comerciales de  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ .

**Tabla 2.** Coeficientes de distribución (Kd) para  $\text{Ge}^{4+}$  y  $\text{Ga}^{3+}$  a diferentes concentraciones de HCl para:  $\text{TiO}_2\text{-a}$ ,  $\text{TiO}_2\text{-na}$  y  $\text{TiO}_2\text{-r}$ . Media  $\pm$  desviación estándar (n = 3).

**Tabla 3.** Coeficientes de distribución (Kd) para  $\text{Ge}^{4+}$  y  $\text{Ga}^{3+}$  a diferentes concentraciones de HCl para:  $\text{SnO}_2\text{-ac}$ ,  $\text{SnO}_2\text{-la}$ ,  $\text{SnO}_2\text{-co}$  y  $\text{SnO}_2\text{-cal}$ . Media  $\pm$  desviación estándar (n = 3).

**Tabla 4.** Coeficientes de distribución (Kd) para  $\text{Ge}^{4+}$  y  $\text{Ga}^{3+}$  a diferentes concentraciones de HCl para:  $\text{SnO}_2\text{-co-irra}$ ,  $\text{SnO}_2\text{-cal-irra}$ . Media  $\pm$  desviación estándar (n = 3).

**Tabla 5.** Resultados correspondientes a la valoración del generador basado en  $\text{SnO}_2\text{-co}$ . Siendo:  $N^\circ$  = número de eluciones, % elu = rendimiento de  $^{68}\text{Ga}$  en cada elución, %  $^{68}\text{Ge}$  elu = el % en  $^{68}\text{Ge}$  presente en cada elución y s = elución en forma seca.

**Tabla 6.** Resultados correspondientes a la valoración del generador piloto basado en  $\text{SnO}_2\text{-cal}$ . Siendo:  $N^\circ$  = número de eluciones, % elu = rendimiento de  $^{68}\text{Ga}$  en cada elución, %  $^{68}\text{Ge}$  elu = el % en  $^{68}\text{Ge}$  presente en cada elución y s = elución en forma seca.

**Tabla 7.** Resultados correspondientes a la valoración del generador prototipo basado en  $\text{SnO}_2\text{-cal}$ . Siendo:  $N^\circ$  = número de eluciones, % elu = rendimiento de  $^{68}\text{Ga}$  en cada elución, %  $^{68}\text{Ge}$  elu = el % de  $^{68}\text{Ge}$  presente en cada elución y s = elución en forma seca.

**Tabla 8.** Cuantificación de los metales presentes en la elución del generador  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  prototipo al principio de su uso y después de 1 año y 305 eluciones. Media ( $\mu\text{g/L}$ )  $\pm$  desviación estándar (n = 3).

### Capítulo 3: Purificación de $^{68}\text{Ga}$

**Figura 1.** Método fraccionado (Breeman y cols., 2005).

**Figura 2.** Método de intercambio aniónico (Velikyan y cols., 2004). Estudio de diferentes resinas de intercambio aniónico (izquierda). Perfil de elución del generador comercial de  $\text{TiO}_2$  y perfil del  $^{68}\text{Ga}$  recuperado con  $\text{H}_2\text{O}$  de la resina de intercambio (derecha).

**Figura 3.** Resumen métodos de purificación y concentración de  $^{68}\text{Ga}$  más usados: Intercambio catiónico (izquierda); intercambio aniónico (centro) y método fraccionado (derecha) (Roesch, 2013).

1. Elución del generador directamente a una resina de intercambio catiónico.
2. Recuperación del  $^{68}\text{Ga}$  usando mezcla de  $\text{HCl}$ /acetona.
3. Aumento de la concentración de  $\text{HCl}$  de la elución.
4. Carga en resina de intercambio aniónico.
5. Recuperación del  $^{68}\text{Ga}$  de la resina de intercambio aniónico usando agua.
6. Elución fraccionada obteniendo 2/3 de la actividad total eluida.

**Figura 4.** Esquema del sistema manual para elución, purificación, concentración y síntesis de  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-péptidos (Romero y cols., 2016).

**Figura 5.** Desorción de la actividad  $^{68}\text{Ga}$  respecto a la actividad total en el cartucho Chromafix. Perfil de elución por el método no fraccionado utilizando como eluyente: 1 mL de agua desionizada ( $\blacktriangle$ ) o  $\text{NaOH}$ , ( $\blacklozenge$ ) y curva acumulada ( $\times$ ), ( $\blacksquare$ ) respectivamente. Media  $\pm$  desviación estándar ( $n = 3$ ). (Romero y cols., 2016).

**Figura 6.** Desorción de la actividad  $^{68}\text{Ga}$  respecto a la actividad total en el cartucho Chromafix. Perfil de elución por el método fraccionado (alícuotas de 45  $\mu\text{L}$ ) utilizando como eluyente: agua desionizada ( $\blacktriangle$ ) o  $\text{NaOH}$  ( $\blacklozenge$ ) y la curva acumulada ( $\times$ ), ( $\blacksquare$ ) respectivamente. Media  $\pm$  desviación estándar ( $n = 3$ ). (Romero y cols., 2016).

**Tabla 1.** Método intercambio catiónico (Zhernosekov y cols., 2007).

**Tabla 2.** Resumen de módulos comerciales para la purificación y concentración empleando los diferentes métodos y grado de automatización. Tabla adaptada de Boschi y cols., (2013).

## Capítulo 4: Aplicaciones con $^{68}\text{Ga}$

**Figura 1.** Estructura química de: HEDP (izquierda); MDP (centro) y HMDP (derecha).

**Figura 2.** Estructura química de: EDTMP (izquierda) y BPAMD (derecha).

**Figura 3.** Placas de TLC:  $^{68}\text{Ga}$ -EDTMP o  $^{68}\text{Ga}$ -BPAMD; antes purificar (a); después purificar mediante resina de intercambio catiónico (b). Rf  $^{68}\text{Ga}$ -EDTMP o  $^{68}\text{Ga}$ -BPAMD (0,0) y Rf  $^{68}\text{Ga}$  (0,8).

**Figura 4.** Imágenes PET/CT mostrando captación ósea  $^{68}\text{Ga}$ -EDTMP (a),  $^{68}\text{Ga}$ -BPAMD (b) y  $^{18}\text{F}$ -NaF (c) en ratones sanos 30 min postinyección. Zonas de cuantificación: S = hombro, E = codo y F = antebrazo.

**Figura 5.** Gráficas de distribución de los valores de SUV entre  $^{68}\text{Ga}$ -EDTMP,  $^{68}\text{Ga}$ -BPAMD y  $^{18}\text{F}$ -NaF en ratones sanos: (a)  $\text{SUV}_{\text{medio}}$  hombros, (b)  $\text{SUV}_{\text{máximo}}$  hombros, (c)  $\text{SUV}_{\text{medio}}$  codos, (d)  $\text{SUV}_{\text{máximo}}$  codos, (e)  $\text{SUV}_{\text{medio}}$  antebrazos y (f)  $\text{SUV}_{\text{máximo}}$  antebrazos. Las diferencias en los valores de la relación ( $\text{SUV}_{\text{máximo}}$  hombros y  $\text{SUV}_{\text{medio}}$  antebrazos) también se muestran (g). Las líneas horizontales en las gráficas representan los valores de la mediana. Las diferencias significativas están marcados con un (\*), dos (\*\*), tres asteriscos (\*\*\*) si  $p < 0,05$ ,  $p < 0,01$  o  $p < 0,001$ , respectivamente, empleando Tukey test.

**Figura 6.** Estructura química del análogo de  $\alpha$ -MSH conjugado con DOTA, DOTA-NAPamida.

**Figura 7.** Equipo Argus PET/CT para animales de experimentación.

**Figura 8.** Radiocromatograma del  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-NAPamida,  $t_r = 9,3$  min (Romero y cols., 2010).

**Figura 9.** Imágenes PET/CT en modelo de ratón con xenoinjerto de melanoma: imagen

con  $^{18}\text{F}$ -FDG (izquierda); imagen con  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-NAPamida (derecha) (Oteo y cols., 2011).

**Figura 10.** Estructura química de los análogos de somatostatina: DOTA-TOC (izquierda); DOTA-TATE (centro); DOTA-NOC (derecha) marcados con  $^{68}\text{Ga}$  (Velikyan, 2014).

**Figura 11.** Esquema módulo de síntesis Tracerlab (General Electric) modificado para realizar la síntesis con  $^{68}\text{Ga}$  (García y cols., 2012; García y cols., 2013a; García y cols., 2013b; Romero, 2013).

**Figura 12.** Radiocromatograma  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TATE,  $t_r = 10,02$  min, RCP = 95%. Radioimpurezas,  $t_r = 9,65$  min, < 2% (Romero y cols., 2016).

**Figura 13.** Imágenes PET/CT en modelo de ratón con xenoinjertos de feocromocitoma con  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TATE: sagital (izquierda); coronal (centro) y axial (derecha).

**Figura 14.** Imagen segmentada usando ITK-SNAP.

**Figura 15.** Cuantificación mediante SUV de las imágenes obtenidas de meningiomas (Soto-Montenegro y cols., 2014).

**Figura 16.** Imágenes PET/CT en modelo de ratón con xenoinjertos de meningiomas con  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TOC,  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-NOC y  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TATE: sagital (izquierda); coronal (centro) y axial (derecha) (Soto-Montenegro y cols., 2014).

**Figura 17.** Imagen PET/CT tumor pulmonar de origen neuroendocrino con  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TOC: coronal (izquierda) y axial (derecha).

**Figura 18.** Imagen PET/CT tumor pulmonar de origen neuroendocrino con  $^{18}\text{F}$ -FDG: coronal (izquierda) y axial (derecha).

**Figura 19.** Imagen clínica PET/CT de  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-NOC, corte axial, de tumor productor de FGF23 inductor de osteomalacia (izquierda) y 2 h postinyección (derecha) (García y cols., 2013a; García y cols., 2013b; Romero, 2013).

**Tabla 1.** Cuantificación mediante SUV de las imágenes PET de los tres radiotrazadores. Porcentaje del coeficiente de variación (% CV).

**Tabla 2.** Densidad de receptores MC1R en diferentes líneas celulares humanas de melanoma. Tabla adaptada de Miao y cols., (2003).

**Tabla 3.** Afinidad de los diferentes análogos de somatostatina para los diferentes subtipos de receptores de somatostatina. Valores de IC50 expresados en nmol/L (media  $\pm$  desviación estándar). Número de estudios realizados entre paréntesis. Somatostatina-28 se usó como péptido control. ND = valor no determinado. a = Valores incluyen el péptido control somatostatina-28. b = diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) de Ga<sup>3+</sup>-péptidos vs otros metalopéptidos. Tabla adaptada de Antunes y cols., (2007).



## Capítulo 7: Publicaciones y congresos derivados de esta tesis

### 7.1 Publicaciones

- Romero, E., Morcillo, MA. 2017. **Inorganic oxides with potential application in the preparation of a  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  generator system.** Appl. Radiat. Isot. 119: 28–35.
- Romero, E., Martínez, A., Oteo, M., García, A., Morcillo, MA. 2016. **Preparation of  $^{68}\text{Ga}$ -labelled DOTA-peptides using a manual labelling approach for small-animal PET imaging.** Appl. Radiat. Isot. 107: 113-120.
- García-Toraño, E., Peyres, V., Romero, E., Roteta, M. 2014. **Measurement of the half-life of  $^{68}\text{Ga}$ .** Appl. Radiat. Isot. 87: 122-125.
- Soto-Montenegro, ML., Peña-Zalbidea, S., Mateos-Pérez, JM., Oteo, M., Romero, E., Morcillo, MA., Desco, M. 2014. **Meningiomas: a comparative study of  $^{68}\text{Ga}$ -DOTATOC,  $^{68}\text{Ga}$ -DOTANOC and  $^{68}\text{Ga}$ -DOTATATE for molecular imaging in mice.** PLOS One. 4: 9(11).

### 7.2 Congresos

- XXXIV Congreso de la Sociedad Española de Medicina nuclear e Imagen Molecular. **Evaluación de un método de síntesis y control de calidad puesto a punto de  $^{68}\text{Ga}$ -DOTANOC para uso clínico.** de Gregorio, M., Costa, S., Malizia, C., Martínez de Miguel, B., Puertas, G., Pérez, D., Pérez, R., Romero, E., Lodi, F. 28-30 mayo, 2014. Madrid (España).
- XXXII Congreso de la Sociedad Española de Medicina nuclear e Imagen Molecular. Ponencia mesa redonda radiofarmacia. Sociedad española de radiofarmacia. **Radiofarmacia PET sin ciclotrón:  $^{68}\text{Ga}$ , una realidad.** E. Romero. 5-7 junio, 2013. Murcia (España).

- XXXII Congreso de la Sociedad Española de Medicina nuclear e Imagen Molecular. **Síntesis automatizada de (<sup>68</sup>Ga)DOTA-péptidos en un módulo tracerlab FX-FN utilizando cartuchos de intercambio iónico.** García, F., Romero, E., López, B., Gutiérrez, A., Lillo, ME. 5-7 junio, 2013. Murcia (España).
- XXXII Congreso de la Sociedad Española de Medicina nuclear e Imagen Molecular. **Purificación de Galio-68 por intercambio aniónico con NaOH.** Santos, B., Romero, E., Martínez de Miguel, B., Oteo, M., Martínez, A., de Gregorio, M., Puertas, G., Morcillo, MA. 5-7 junio, 2013. Murcia (España).
- 20th International Symposium on Radiopharmaceutical Sciences. **Automated production of (<sup>68</sup>Ga)DOTA-peptides using Tracerlab FX-FN module.** García-Argüello, F., Romero, E., Gutiérrez, A., Morcillo, MA., Lillo, ME. 12-17 mayo, 2013. Isla de Jeju (Corea del Sur).
- 19th International Conference on Radionuclide Metrology and its Applications. **Measurement of the Half-life of Ga-68.** García-Toraño, E., Peyres, V., Romero, E., Roteta, M. 17-21 junio 2013. Amberes (Bélgica).
- XXXII Congreso de la Sociedad Española de Medicina nuclear e Imagen Molecular. **Síntesis automatizada de (<sup>68</sup>Ga)DOTA-TOC, (<sup>68</sup>Ga)DOTA-NOC, (<sup>68</sup>Ga)DOTA-TATE para la visualización de tumores neuroendocrinos con PET.** García-Argüello, F., Romero, E., García, D., Lillo, ME., Gutiérrez, A. 13-15 junio, 2012. Cádiz (España).
- XXXII Congreso de la Sociedad Española de Medicina nuclear e Imagen Molecular. **Generadores de <sup>68</sup>Ge/<sup>68</sup>Ga “agotados”: Utilidad en la preparación automática de <sup>68</sup>Ga DOTA-TOC para investigación en pequeño animal.** López-Sánchez, LM., Soto-Montenegro, ML., Vaquero, JJ., Romero, E., Desco, D. 13-15 junio, 2012. Cádiz (España).
- Aula virtual radiofarmacia. **Seminario avances en radiofarmacia: Nuevos Radiofármacos PET: ¿Dónde estamos?.** Romero, E., Morcillo, MA. Actividad docente acreditada por la Comisión de Formación Continuada de las profesiones

Sanitarias de la Comunidad de Madrid- Sistema Nacional de Salud. 5-9 marzo, 2012.

- XXXI Congreso de la Sociedad Española de Medicina nuclear e Imagen Molecular. **Marcaje de EDTMP con el emisor positrónico  $^{68}\text{Ga}$** . Romero, E., Grande, MT., Oteo, M., Castañera, R., García-Toraño, E., Morcillo, MA. 22-24 junio, 2011. Bilbao (España).
- World Molecular Imaging Congress.  **$^{68}\text{Ga}$ -DOTA-NAPamide for PET imaging of melanoma metastases**. Oteo, M., Romero, E., Camara, J., Soengas, MS., Mulero, F., Morcillo, MA. 7-10 septiembre, 2011. San Diego (EEUU).
- Nuclear Science Symposium and Medical Imaging. **Performance Evaluation for  $^{68}\text{Ga}$  and  $^{18}\text{F}$  of the ARGUS Small-Animal PET Scanner based on the NEMA NU-4 Standard**. Cañadas, M., Romero, E., Vaquero, JJ., Vicente, E., Udías, JM., Romero, L. 30 octubre - 6 noviembre, 2010. Knoxville (EEUU).
- XXX Congreso de la Sociedad Española de Medicina Nuclear e Imagen Molecular. **Marcaje de DOTA-(Tyr3, Thr8)-Octreotide con  $^{68}\text{Ga}$** . Romero, E., Oteo, M., Castañera, R., Grande, MT., Morcillo, MA. 16-18 junio, 2010. A Coruña (España).
- XV European Symposium on Radiopharmacy and Radiopharmaceuticals. **Labeling of a DOTA- $\alpha$ -MSH analog with  $^{68}\text{Ga}$  for PET imaging of malignant melanoma**. Romero, E., Oteo, M., Castañera, R., Alberti, A., Roncal, F., Tormo, D., Grande, MT., Mulero, F., Soengas, MS., Morcillo, MA. 8-11 abril, 2010. Edimburgo (Escocia).

