

## IMAGING FUNZIONALE E RADIOFARMACI



## TERAPIA NON INIETTIVA DI TUMORI CUTANEI CON SORGENTI BETA EMITTENTI NON SIGILLATE

Antioco Franco Sedda<sup>1</sup>, Gabriele Rossi<sup>1</sup>, Cesidio Cipriani<sup>2</sup>, Annamaria Carrozzo<sup>3</sup>, Francesca Francesconi<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Reattore TRIGA, FIS ION, ENEA Casaccia, Roma,  
<sup>2</sup>Reparto di Medicina Nucleare, Ospedale S. Eugenio, Roma,  
<sup>3</sup>Reparto di Dermatologia, Ospedale S. Eugenio, Roma  
e-mail: antioco.sedda@casaccia.enea.it

Il cancro della pelle è la più comune patologia oncologica nell'uomo; i trattamenti comunemente usati includono la chirurgia, la crioterapia, la termoterapia, la ablazione laser, la radioterapia.

La radioterapia consiste essenzialmente nella somministrazione di raggi X, di fasci elettronici, o l'uso di brachiterapia con sorgenti gamma emittenti in forma di aghi, grani o stampi.

L'uso di nuclidi gamma emittenti in tali patologie rappresenta raramente un trattamento terapeutico ottimale, a causa della difficoltà nel risparmiare il tessuto sano, somministrando nel contempo una dose realmente efficace al tumore.

Recentemente è stato proposto un trattamento che fa uso di un cerotto impregnato con l'isotopo beta emittente <sup>166</sup>Ho, con risultati incoraggianti nel trattamento del morbo di Bowen.

Lo svantaggio di tale approccio consiste nella necessità di tagliare cerotti di differente forma per ogni lesione, e nella difficoltà d'uso in tumori con morfologia irregolare (tumori papillari con bordi irregolari o prominenti, tumori su superfici irregolari quali dita, naso, palpebre o padiglione auricolare), e nella difficoltà di assicurare una distribuzione uniforme delle particelle radioattive sulla superficie del cerotto.

La distribuzione di dose delle particelle beta nel tessuto è ben descritta da una funzione esponenziale complessa, e la distribuzione rispetto alla profondità dipende dalla energia della emissione beta, dalla attività dell'isotopo e dal tempo di applicazione.

Per ovviare agli svantaggi sopradetti è stato da noi realizzato e brevettato un multistrato, contenente un isotopo beta emittente, capace di adattarsi a tutte le superfici della pelle, impartendo una accurata distribuzione di dose senza contaminazione della cute.

Il multistrato viene lasciato in situ sulla pelle del paziente per il tempo necessario a depositare la dose sufficiente, di solito tra 30 e 70 Gy.

Sei pazienti con diagnosi istologica di carcinoma spinocellulare (3), carcinoma delle cellule basali (4) e Paget cutaneo (1) sono stati arruolati, e trattati con il multistrato su descritto, usando <sup>32</sup>P come isotopo attivo, somministrando alle lesioni dosi di 40-70 Gy.

In tutti i casi, dopo una lenta desquamazione, è stata osservata una apparente guarigione clinica.

Nessun segno di patologia residua o recidiva sono presenti dopo un periodo tra 6 e 18 mesi.

### Bibliografia

- 1) Loevinger R. The dosimetry of beta sources in tissue. The point source function. *Radiology*; 1956;66:55-62
- 2) Cross WG. Tables of beta distribution. Report AECL-2793,(1967).
- 3) Berger MJ. MIRD pamphlet n°7 Complete distribution of absorbed dose around point sources of electrons and beta particles in water and other media. *J Nucl. Med.* 1971; 12 suppl: 1-23.
- 4) Valley JF, Kurshelevsky AP, Lerch P. A method for calculation of beta ray dose *Health Phys* 1974; 26:295-300.
- 5) Vynckier S, Wambersie A. Dosimetry of beta sources in radiotherapy: absorbed distributions around plane sources. *Radat. Protect Dosim* 1986; 14(2):169-173
- 6) Wilder RB, Kittelson JM, Shimm DS. Basal Cell Carcinoma treated with radiation therapy. *Cancer* 1991; 68:2134-37.
- 7) Sedda AF, Rossi G, Desantis M, Cipriani C, Atzei G, Argirò G, Shukla SK, Boemi S, **DOBBIN** (*Distribution Optimization for Beta Brachitherapy Intratumor*): a program for geometrical optimization of beta brachitherapy interstitial administration. V Italian Congress of Nuclear Medicine, Pesaro (Italy) 17-20 / & / 2000.
- 8) Chung JL, Lee JD, Bang D, Lee JB, Park KB, Lee MG. Treatment of Bowen's disease with a specially designed radioactive skin patch. *Europ J Nucl Med* 2000; 27(7): 842-846.
- 9) Shimm DS, Wilder RB. Radiation therapy for squamous cell carcinoma of the skin. *Am J Clin Oncol* 1991; 14: 383-386.

## LA CHIMICA RADIOFARMACEUTICA PER L'IMAGING MOLECOLARE

Luca Menichetti, Debora Petroni, Letizia Guiducci, Oreste Sorace, Patrizia Pisani, Gian Mario Sambuceti, Danilo Neglia, Piero A. Salvadori

*Istituto di Fisiologia Clinica, CNR, Pisa*

La teoria dei traccianti ha costituito la base concettuale su cui si è sviluppata, nell'arco di trenta anni la Medicina nucleare. Fino all'inizio degli anni ottanta la diretta correlazione tra natura del tracciante e tipo di interazione, per quanto sottintesa, difficilmente riusciva a spingersi fino ad una piena comprensione del modello farmacologico sottostante. La complessità della natura dei traccianti, soprattutto basati sul tecnezio, e l'assenza di una rispondenza facilmente deducibile tra struttura ed attività biologica costituivano i limiti principali. Lo sviluppo della Tomografia ad Emissione di Positroni (PET) e con essa la possibilità di poter utilizzare traccianti biologicamente indistinguibili dalle molecole da tracciare o riconducibili a specifici processi biochimici ha drammaticamente spostato l'attenzione verso le proprietà biochimiche intrinseche dei radiotraccianti e come queste potevano modulare e/o regolare l'interazione con un bersaglio biochimico piuttosto che, come nel passato della Medicina nucleare, verso un organo bersaglio.

Per quanto l'intuizione dell'eccezionalità delle nuove prospettive applicative sia stata quasi immediata, sono stati necessari oltre dieci anni perché la tecnologia di base, in termini di sistemi di rilevazione, capacità di elaborazione di dati e produzione di radiotraccianti, raggiungesse un livello adeguato alla complessità e difficoltà dell'obiettivo. Da circa dieci anni, nel campo strumentale, più che di nuova tecnologia si può parlare di consolidamento tecnologico e maturazione metodologica di analisi. Nel campo dei radiotraccianti la considerevole diffusione della PET, soprattutto con [<sup>18</sup>F]-2-Fluoro-2-desossiglucosio, ha consentito il raccordo tra le attività di ricerca di base e l'universo dell'applicazione clinica. In questo stesso momento è stato coniato il termine "molecular imaging" proprio per sottolineare il carattere di molecularità dell'interazione tracciante-bersaglio. Purtroppo la piena percorribilità dell'intero percorso che muove dalla preparazione del tracciante fino al suo impiego nell'uomo è rimasta a lungo confinata in pochi centri di ricerca. Un effetto di questa situazione è rappresentato dall'elevatissimo numero di radiotraccianti esistenti, per i quali è stata approntata una procedura di preparazione e controllo di qualità, rispetto al numero di quelli effettivamente impiegati.

## PRODUZIONE DI <sup>13</sup>N AMMONIA E <sup>15</sup>O H<sub>2</sub>O

Alberto Fini, Marco Marcolin e Franca Chierichetti

*U.O. Medicina Nucleare Centro PET, Castelfranco Veneto (TV)*

Sotto il profilo delle condizioni operative, l'approccio metodologico alla formulazione dei radiofarmaci a emissione di positroni e dei radiotraccianti impiegati nella diagnostica medico-nucleare convenzionale è sostanzialmente identico.

In entrambi i casi, infatti, i prodotti finali (galenici magistrali) sono soggetti alle norme di "Buona Fabbricazione dei Medicinali" atte a garantirne la qualità (purezza radionuclidica, radiochimica, chimica e farmaceutica).

Pertanto anche la "semplice" reazione Redox (one-step), mediante ricostituzione di un kit "sterile" con una soluzione "sterile" di <sup>99m</sup>TcO<sub>4</sub><sup>-</sup> deve essere convalidata dal punto di vista chimico e farmaceutico.

La breve emivita dei radionuclidi impiegati nella diagnostica P.E.T. non è compatibile con il tempo necessario per la valutazione di alcuni importanti parametri indicativi della qualità del prodotto.

Alcuni di questi tests sono effettuati dopo la somministrazione del radiofarmaco rendendo necessaria la messa a punto di tutto il sistema coinvolto nella preparazione farmaceutica (verifica e convalida del processo produttivo).

Nel presente lavoro sono riportate le condizioni operative del ciclotrone e le caratteristiche dei target in cui avvengono le reazioni: <sup>15</sup>N(p,n)<sup>15</sup>O e <sup>16</sup>O(p,alfa)<sup>13</sup>N. L'irraggiamento rappresenta uno degli aspetti più delicati della preparazione radiofarmaceutica in quanto è proprio durante questa fase che possono formarsi specie radionuclidiche e radiochimiche quali <sup>18</sup>F, <sup>48</sup>V, <sup>13</sup>NO<sub>x</sub> e <sup>11</sup>C che, con valori di emivita superiori a quelli di <sup>13</sup>N (9,07 min) e <sup>15</sup>O (2,03

min), potrebbero inficiare la qualità del radiofarmaco e del conseguente imaging clinico. E' ipotizzabile, per esempio, una riduzione della quota di radiofarmaco utile con conseguente bassa qualità di immagine a scapito, peraltro, di una immutata irradiazione globale del paziente. Vengono inoltre evidenziate le fasi del processo "ON-LINE" che porta alla formulazione finale di  $^{15}\text{O-H}_2\text{O}$  e del processo "IN-TARGET" relativo a  $^{13}\text{N}$  AMMONIA. Sono riportate le caratteristiche chimiche dei precursori, il range ottimale dell'energia incidente, la struttura dei targets e i principali parametri operativi coinvolti nella produzione dei due radionuclidi (pressione, intensità del fascio, beamline transmission etc.). Sono inoltre discusse le variabili chimico-fisiche che possono interferire con una corretta formulazione di  $^{13}\text{N}$  ammoniacale e  $^{15}\text{O H}_2\text{O}$  e i relativi sistemi normalmente impiegati per contenerli (trapping cartridges, resine a scambio ionico, scavengers radicalici etc.). Nel lavoro vengono infine analizzati i controlli di qualità strumentali per la valutazione della purezza radionuclidica, radiochimica, chimica e qualità farmaceutica in accordo con la Farmacopea Europea.

### Bibliografia

- 1) Improved  $^{13}\text{N}$  ammonia yield from the proton irradiation of water using methane gas. Applied Radiation and Isotopes R. N. Krasikova et al. 51(1999) 395-401.
- 3) K.Suzuki  $^{13}\text{N}$  ammonia with ultra high specific activity. Applied Radiation and isotopes 50 (1999) 497-503.

### HA-BUT: UN PROMETTENTE AGENTE ANTINEOPLASTICO MARCATURA CON $^{99\text{m}}\text{Tc}$ E APPLICAZIONI *IN VITRO* E *IN VIVO*

M.Riondato<sup>1</sup>, R.Rossin<sup>1</sup>, D.Camporese<sup>1</sup>, S.Zorzet<sup>2</sup>, C.Turrin<sup>2</sup>, G.Sava<sup>2,3</sup>, M.C.Giron<sup>4</sup>, C.Pellizzari<sup>5</sup>,  
D.Corradini<sup>5</sup>, I.Scarlata<sup>6</sup>, A.Perbellini<sup>7</sup>, S.Cantoni<sup>8</sup>, U.Mazzi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Scienze Farmaceutiche, Padova, <sup>2</sup>Dipartimento di Scienze Biomediche, Trieste,  
<sup>3</sup>Fondazione Onlus Callerio, Trieste, <sup>4</sup>Dipartimento di Farmacologia e Anestesiologia, Padova,  
<sup>5</sup>Dipartimento di Oncologia Sperimentale, Istituto Tumori, Milano, <sup>6</sup>Dipartimento B.B.C.M., Trieste,  
<sup>7</sup>Coimex srl, Reggio Emilia, <sup>8</sup>Sintofarm spa, Guastalla  
e-mail: mattia.riondato@unipd.it

Il sodio butirrato, un inibitore dell'enzima istonedeacetilasi, presenta una rilevante attività farmacologica in un'ampia varietà di linee cellulari di tumori umani. Sfortunatamente però, l'applicazione clinica del butirrato è limitata dalla sua breve emivita plasmatica. Per superare questo inconveniente, e aumentare la specificità sulle cellule neoplastiche, è stato progettato un bioconiugato (HA-But) costituito dall'acido ialuronico (HA) esterificato con residui di acido butirrico (HBut). HA è un polisaccaride ubiquitario nei tessuti umani ad alta affinità per i recettori di membrana specifici, i CD44, che sono sovraespressi in molti tumori solidi ed in particolare nei carcinomi epatici<sup>1,2</sup>. Per interazioni con tali recettori HA viene internalizzato nella cellula e quindi metabolizzato. HA-But è dunque un pro-farmaco costituito da un agente di *targeting* recettore specifico (HA) e un farmaco antitumorale (HBut) che viene liberato nel citoplasma<sup>3,4</sup>.

Studi effettuati *in vitro* hanno dimostrato un'elevata attività antiproliferativa nell'HA-But con grado di sostituzione DS = 0.2, ma esperimenti effettuati *in vivo* tramite somministrazione sottocutanea non hanno avuto un riscontro positivo. Per spiegare questa mancanza di attività antitumorale è stata ipotizzata una scarsa diffusione delle soluzioni polimeriche viscosi all'interno dei tessuti, e quindi uno scarso accumulo di butirrato nelle cellule neoplastiche.

Per confermare tale ipotesi è stato marcato HA-But con  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  ed è stato somministrato *in vivo*, per poterne seguire la biodistribuzione all'interno dell'organismo, verificarne la capacità di accumulo su topi sani e topi con tumore e valutare la via di somministrazione più opportuna.

La scelta del tecnezio-99m come tracciante deriva dalla possibilità di sfruttare strumentazioni scintigrafiche per uno studio di biodistribuzione del profarmaco *in vivo*. A tale scopo la YAP camera risulta particolarmente adatta per la sua elevata risoluzione e per un nuovo *software* di elaborazione delle immagini, che permette di realizzare studi farmacocinetici<sup>5</sup>.

La presenza nella struttura chimica dell'HA di gruppi carbossilici, ossidrilici e ammidici, adatti alla stabilizzazione della specie  $^{99\text{m}}\text{Tc(V)-oxo}$ , ha permesso di sfruttare il metodo della marcatura diretta per introdurre il radionuclide nel polimero.

Il protocollo di marcatura è stato ottimizzato fino ad ottenere rese di 90-95%, rilevate mediante analisi della miscela di reazione con cromatografia ad esclusione dimensionale (*cut-off*: 1000-5000 Da). Tale tecnica ha permesso inol-

tre una veloce ed efficace separazione delle specie polimeriche marcate dal pertecnetato residuo, fornendo soluzioni acquose pronte per la somministrazione *in vivo*. Quindi sono stati condotti studi di stabilità del prodotto marcato in siero e nella miscela di reazione. Preliminarmente agli studi di biodistribuzione sono stati eseguiti studi di *binding* per valutare il mantenimento della specificità dell'HA-But marcato per i recettori CD44 sovraespressi dalle cellule tumorali.

A tale scopo sono state impiegate due linee cellulari derivanti da epatocarcinoma umano: una linea HepB3 che sovraesprime il recettore (CD44 positiva) e una linea HepG2 che non lo sovraesprime (CD44 negativa). Campioni di linee cellulari sono stati incubati a 37 °C per un tempo variabile (0-6 ore) in presenza di una soluzione salina di HA-But 5 mg/ml contenente <sup>99m</sup>Tc-HA-But. La concentrazione della specie polimerica è stata scelta in modo da raggiungere la saturazione dei siti recettoriali.

I risultati dell'esperimento hanno evidenziato una maggiore fissazione di radioattività sulla linea tumorale CD44 positiva rispetto a quella sulla linea CD44 negativa. Il parziale e temporaneo accumulo di radioattività sulla linea cellulare tumorale HepG2 è dovuto in parte alla bassa percentuale di CD44 espressa sulla membrana (~10%) ed in parte alla presenza di altri recettori, che hanno però un'affinità minore per l'HA (ICAM-1, HARE, RHAMM).

Si è proseguito con studi *in vivo*, somministrando <sup>99m</sup>TcHA-But su topi sani e con tumore indotto, e acquisendo immagini con YAP-Camera per monitorare la biodistribuzione dopo somministrazione ev, ip, sc, os e rettale. Gli studi di biodistribuzione sono stati effettuati per valutare la via di somministrazione più opportuna, per confermare la capacità del potenziale agente chemioterapico di accumularsi a livello delle cellule tumorali *in vivo*, per valutare un possibile uso dell'HA per la produzione di radiofarmaci recettore-specifici.

Negli esperimenti effettuati sono state utilizzate soluzioni di polimero ~30 mg/ml, ottenute diluendo una soluzione salina di HA-But nativo con le frazioni purificate contenenti la specie marcata <sup>99m</sup>Tc-HA-But.

La biodistribuzione del polimero somministrato è stata monitorata tramite YAP camera, variando di volta in volta il tempo di acquisizione in funzione della distribuzione osservata.

Al termine degli esperimenti gli animali sono stati sacrificati ed i principali organi espuntati. La radioattività accumulata su organi, campioni di fluidi e di tessuti è stata quindi conteggiata tramite contatore di dose, in modo da avere un confronto diretto tra dati ottenuti *in vivo* ed *ex vivo*. Per le somministrazioni ev., ip. e sc è stato rilevato un generale accumulo al fegato (organo responsabile dell'eliminazione insieme ai reni) anche se è stata osservata una cinetica diversa: molto rapida per via endovenosa, lenta per via intraperitoneale e molto lenta per via sottocutanea. In ogni caso viene confermata la possibilità di applicazione di HA-But per il trattamento di carcinomi epatici.

I risultati ottenuti per somministrazione orale e rettale, dato lo scarso assorbimento, suggeriscono una potenziale applicazione per la cura di tumori loco-regionale.

Risultati positivi dopo trattamento del profarmaco somministrato via ip su topi con metastasi epatiche del carcinoma polmonare di Lewis (eliminazione completa nell'87% degli animali trattati), hanno incrementato l'interesse per questo promettente nuovo agente antineoplastico.

### Bibliografia

- 1) Entwistle J., Hall C.L., Turley E.A., J.Cell Biochem. 61, 569-577 (1996)
- 2) Knudson W., Chow G., Knudson C.B., Matrix Biology 21, 15-23 (2002)
- 3) Pellizzaro C., Coradini D., Daniotti A., Abolalfio G., Daidone M.G., Int. J. Cancer, 91, 654-657 (2001)
- 4) Prestwich G.D., Marekac D.M., Marecek J.F., Verkruysse K.P., Ziebell M.R., Chemistry, Biology and Medical Applications of Hyaluronan and its Derivatives, T.C. Laurent Ed., London; pp.43-45 (1998)
- 5) M.C. Giron, M. Bello, P. Caliceti, U. Mazzi, G. Moschini, R. Rossin, R. Visentin, D. Bollini, F. De Notaristefani, M. Nicolini, in *Technetium, Rhenium and Other Metals in Chemistry and Nuclear Medicine 6*, M. Nicolini, U. Mazzi (eds), SGEEditoriali, Padova, Italy, 2002, 555-557.

### DISTRIBUZIONE ETEROGENEA DEL RADIOFARMACO A LIVELLO MULTI-CELLULARE: EFFETTO SUL DOSE-RATE E SULLA SURVIVAL FRACTION

Alessandra Malaroda, Glenn D Flux, Robert J Ott

*Joint Department of Physics, Institute of Cancer Research and Royal Marsden Hospital, London (UK)*

e-mail: Alessandra.Malaroda@icr.ac.uk

Al giorno d'oggi, per il trattamento dei tumori tramite l'uso di radiazioni, vengono largamente usate sorgenti non sigillate. Al Royal Marsden Hospital, ad esempio, radiofarmaci come lo <sup>131</sup>I-mIBG ed il <sup>186</sup>Re-HEDP vengono utilizzati giornalmente, rispettivamente, per il trattamento di neuroblastomi o come palliativo per le metastasi ossee. La terapia radiometabolica sfrutta la presenza nelle cellule tumorali di alcuni recettori specifici al farmaco usato.

La manifestazione eterogenea dei recettori nel tessuto tumorale, però, può provocare una distribuzione non uniforme del radiofarmaco a livello multi-cellulare. Ciò implica una distribuzione eterogenea della dose depositata che, in ultima analisi, può influire sull'efficacia stessa del trattamento.

Dall'esperienza della terapia con *external beam*, si sa che è molto importante poter pianificare la dose depositata, essendo questa strettamente legata all'efficacia della cura. Purtroppo nella terapia con radionuclidi la pianificazione della dose depositata non è semplice anche se, quando possibile, calcoli dosimetrici vengono comunque effettuati prima del trattamento per determinare l'attività da somministrare oppure durante il trattamento per verificare la dose depositata. La precisione nei calcoli dosimetrici dipende anche dalla precisione con cui è possibile quantificare l'attività nei tessuti e quindi dalla risoluzione spaziale relativa alla tecnica di immagine usata. Anche nel caso in cui si utilizzino strumenti come PET o SPECT, la risoluzione spaziale tipica raggiungibile varia fra i 2 ed i 7 mm. Quindi, in assenza di informazioni più precise, la distribuzione all'interno di ciascun voxel dell'immagine viene assunta essere omogenea.

Lo scopo di questo studio era di investigare l'arbitrarietà dell'assunzione che in ciascun voxel l'attività fosse distribuita uniformemente. È stato considerato, quindi, un volume cubico di 3 mm di lato (VOI), le cui dimensioni sono state suggerite dagli S-values pubblicati in MIRD 17<sup>1</sup> per voxel cubici. I radioisotopi considerati sono stati lo <sup>131</sup>I ed l'<sup>90</sup>Y, entrambi usati in trattamenti radioterapici poiché decadono con emissione  $\beta$ . La VOI è stata suddivisa in sotto-regioni anch'esse cubiche di 20 mm di lato, ciascuna rappresentante una cellula, ed in essa una distribuzione omogenea di attività è stata confrontata con attività distribuita in una struttura cubica regolare, nella zona centrale oppure sulle pareti esterne della regione di interesse. La quantità totale di attività nella VOI è stata mantenuta costante in ogni configurazione. Da queste distribuzioni di attività sono stati calcolati dose-rate al tempo zero in ciascuna cellula. I calcoli dosimetrici sono stati eseguiti usando un software prodotto *in-house*, DOVE<sup>2</sup>, basato su una geometria a voxel e su rappresentazioni analitiche di point-dose kernel pubblicate in letteratura<sup>3</sup>. Sono state analizzate diverse concentrazioni iniziali di attività, da 0.01 MBq/cc a 1 MBq/cc, e, per ciascuna cellula, è stata calcolata la Survival Fraction (SF) usando il Linear Quadratic Model. È stato considerato solo il decadimento fisico dei due radionuclidi, mentre i parametri di radiosensibilità  $\alpha$  e  $\beta$  sono stati posti rispettivamente uguali a 0.56 Gy<sup>-1</sup> e 0.056 Gy<sup>-2</sup>. Il fattore di Lea-Catchside è stato calcolato considerando un tempo di riparazione pari a 1.5 hr<sup>4</sup>.

Le informazioni contenute nelle distribuzioni tri-dimensionali di dose-rate sono state analizzate tramite dose-rate volume histograms (DrVH). Al variare della distribuzione iniziale dell'attività il valore medio del dose-rate al tempo iniziale rimane pressoché costante per ciascun radionuclide, mentre la distribuzione dei singoli valori del dose-rate cambia attorno ad esso. Perciò c'è sempre un numero, in alcune configurazioni un numero significativo, di cellule che ricevono un dose-rate inferiore al valore medio calcolato. L'uniformità, definita come il rapporto fra il valore minimo ed il valore massimo, indica che la differenza fra il valore minimo e quello massimo della distribuzione di dose-rate può variare da uno a ben cinque ordini di grandezza. La maggiore uniformità nei valori assunti dal dose-rate è stata riscontrata nel caso dello <sup>90</sup>Y; questo perché rispetto allo <sup>131</sup>I, l'<sup>90</sup>Y emette raggi  $\beta$  di energia maggiore.

La distribuzione eterogenea del dose-rate e quindi della dose in ciascuna configurazione porta un numero significativo di voxels, o cellule, ad avere una probabilità di sopravvivere, data dalla SF, diversa a seconda della distribuzione spaziale del radiofarmaco. L'importanza di questo fenomeno dipende, oltre che dal radionuclide considerato, dalla concentrazione iniziale dell'attività. Infatti c'è una zona sensibile nel calcolo della SF, in dipendenza dell'attività amministrata, in cui una piccola variazione nel dose-rate implica una variazione significativa nella probabilità di sopravvivere o Survival Fraction.

Questo studio sottolinea l'importanza di descrivere il complesso legame tra la distribuzione del dose-rate e la morfologia del tessuto, oltre all'importanza del contributo da cross-fire alla dose depositata in presenza di eterogeneità. Assumere una distribuzione omogenea dell'attività a livello multi-cellulare può portare a sovrastimare l'esito finale del trattamento, non evidenziando il fatto che alcune parti del tessuto tumorale potrebbero essere sottoirradiate.

## Bibliografia

- 1) Bolch, WE; Bouchet, LG; Robertson, JS; Wessles, BW; Siegel, JA; Howell, RW; Erdi, AK; Aydogan, B; Costes, S; Watson, EE. 1999. MIRD Pamphlet No.17: The dosimetry of non uniform activity distributions - Radionuclide S values at the voxel level. J. Nucl. Med. 40:11S-36S.
- 2) Malaroda, A; Flux, GD; Ott, RJ. 2003. Multicellular dosimetry in voxel geometry for Targeted Radionuclide Therapy. Cancer Biother. and Radiophar. 18:451-461.
- 3) Prestwich, WV; Nunes, J; Kwok, CS. 1989. Beta dose point kernels for radionuclides of potential use in radioimmunotherapy. J. Nucl. Med. 30:1036-1046.
- 4) Howell, RW; Goddu, SM; Rao, DV. Proliferation and advantage of longer-lived radionuclides in radioimmunotherapy. 1998. Med. Phys. 25:37-42.



**TERAPIA ANTINEOPLASTICA CON IL RADIOISOTOPO Re-188  
ESEMPIO DI APPLICAZIONE AL TRATTAMENTO DEL CARCINOMA EPATICO**

Alessandra Boschi, Licia Uccelli, Emiliano Cazzola, Adriano Duatti, Paolo Colamussi,  
Corrado Cittanti, Melchiorre Giganti

*Laboratorio di Medicina Nucleare, Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale,  
Università di Ferrara, Ferrara*

e-mail: czzmln@unife.it

**Introduzione**

Fra le varie patologie neoplastiche, il carcinoma epatico (CE) costituisce la malattia degenerativa più frequente nell'area asiatica, mentre essa mostra un'incidenza in costante aumento nei paesi occidentali e in quelli africani. In questo lavoro, la sostanza che va sotto il nome di 'lipiodol', costituita da un derivato iodurato ed esterificato estratto dal seme di papavero, è stata marcata con il radioisotopo Re-188, isotopo che possiede caratteristiche fisiche che lo rendono adatto a questo tipo di trattamento ( $E_{\beta} = 2.1 \text{ MeV}$ ,  $E_{\gamma} = 155 \text{ KeV}$ ,  $T_{1/2} = 17 \text{ ore}$ ). A causa del suo elevato carattere lipofilo e della sua alta viscosità, il lipiodol si accumula selettivamente nelle cellule neoplastiche del CE e costituisce, quindi, un conveniente veicolo per il trasporto di radionuclidi nel sito della lesione. La soluzione di Re-188 nel lipiodol ( $^{188}\text{Re}$ -lipiodol) è stata, quindi, utilizzata per il trattamento di alcuni pazienti affetti da CE.

**Parte sperimentale**

La marcatura del lipiodol è stata ottenuta estraendo il complesso di Re(V)-nitruro [ $^{188}\text{Re}(\text{N})(\text{DEDC})_2$ ] (DEDC=diethyl-ditiocarbammato) (Figura 1), altamente lipofilico, nel lipiodol. La preparazione del complesso [ $^{188}\text{Re}(\text{N})(\text{DEDC})_2$ ], schematizzata in Figura 2, coinvolge essenzialmente due steps di reazione. Nel primo step il [ $^{188}\text{ReO}_4$ ]<sup>-</sup>, eluito da generatore, viene fatto reagire, a pH acido, con: SnCl<sub>2</sub>, ossalato di sodio e ditiocarbazato (DTC), per la formazione di una miscela di complessi intermedi contenenti il "core" Re≡N. La sintesi del complesso finale avviene nel secondo step in seguito all'aggiunta a pH neutro, del legante DEDC. E' stato sviluppato un kit che ha portato, quindi, ad una formulazione liofilizzata a due vials. Alla prima vial, contenente SnCl<sub>2</sub>, ossalato di sodio, DTC, vengono aggiunti 0,1 mL di acido acetico glaciale e 0,9 mL di [ $^{188}\text{ReO}_4$ ]<sup>-</sup>, per preparare la miscela di composti intermedi contenente il gruppo Re≡N. La seconda vial contenente DEDC e tampone carbonato, viene ricostituita aggiungendo 1,5 mL di soluzione fisiologica. Successivamente viene prelevato 1 mL di questa soluzione e aggiunto alla prima vial. La soluzione risultante viene poi scaldata per 20 minuti a 80°C per preparare il complesso finale [ $^{188}\text{Re}(\text{N})(\text{DEDC})_2$ ]. La purezza radiochimica del complesso risulta sempre maggiore del 95%. Il composto radioattivo [ $^{188}\text{Re}(\text{N})(\text{DEDC})_2$ ] viene poi aggiunto ad un test tube contenente il lipiodol. La soluzione viene agitata per 5 minuti e quindi centrifugata. La fase acquosa e quella idrofobica vengono separate e contaminate. Il 98 ± 1% dell'attività viene estratta nella fase lipofila del lipiodol. Il lipiodol marcato è stabile in siero fino a 72 ore.

**Studi Biologici**

Gli studi di biodistribuzione sono stati effettuati nell'ospedale di Fremantle in Western Australia. In Tabella 1 sono riportati i risultati di biodistribuzione in ratti "normali" di tipo Winstar, dopo iniezione intraepatica per via portale di  $^{188}\text{Re}$ -lipiodol. I risultati mostrano che l'attività è accumulata principalmente nel fegato e decresce in maniera

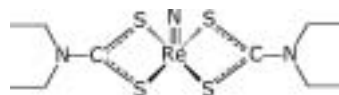


Figura 1  
 $^{188}\text{Re}(\text{N})(\text{DEDC})_2$

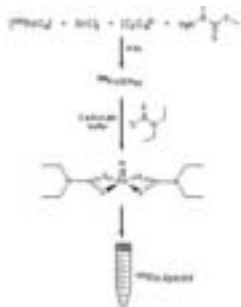


Figura 2  
Marcatura del Lipiodol con  $^{188}\text{Re}$

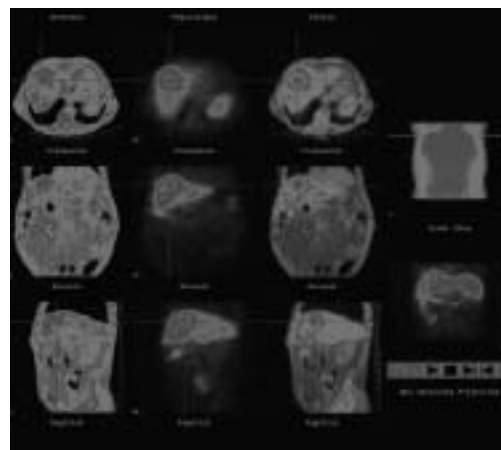


Figura 3 - Immagini CT SPECT, ottenute dopo 1 ora dalla somministrazione di  $^{188}\text{Re}$ lipiodol



ORGANI	6 Hr	24 Hr	48 Hr	72 Hr
Sangue	0.053 (0.015)	0.026 (0.006)	0.012 (0.002)	0.007 (0)
Cuore	0.350 (0.048)	0.100 (0.026)	0.044 (0.011)	0.014 (0.004)
Polmoni	0.165 (0.046)	0.085 (0.023)	0.038 (0.007)	0.015 (0.004)
Reni	0.850 (0.217)	0.539 (0.038)	0.316 (0.068)	0.120(0.034)
Milza	0.428 (0.065)	0.123 (0.024)	0.068 (0.018)	0.027 (0.005)
Stomaco	0.233 (0.043)	0.216 (0.073)	0.155 (0.016)	0.072 (0.109)
S. Intestino	0.668 (0.252)	0.163 (0.052)	0.052 (0.042)	0.015 (0.005)
L. Intestino	0.170 (0.036)	0.544 (0.267)	0.252 (0.466)	0.024 (0.016)
Fegato	2.294 (0.906)	0.664 (0.157)	0.319 (0.081)	0.145 (0.026)
Gonadi	0.039 (0.005)	0.129 (0.083)	0.036 (0.004)	0.023 (0.005)
Muscoli	0.030 (0.010)	0.012 (0.004)	0.005 (0.005)	0.002 (0)
M. Osseo	0.017 (0.014)	0.060 (0.059)	0.061 (0.009)	0.029 (0.006)

Tabella 3

Biodistribuzione in ratti di  $^{188}\text{Re}$ -Lipiodol. L'uptake nei tessuti è rappresentato come %ID/gr (SD) ed è la media calcolata di tre ratti per ciascun punto.

continua nel tempo. Il valore minimo è raggiunto dopo 72 ore. Il  $^{188}\text{Re}$ -lipiodol è stato, quindi, utilizzato per il trattamento di alcuni pazienti affetti da CE. Il radiofarmaco è stato introdotto attraverso l'arteria epatica, per mezzo di un catetere e sotto controllo fluoroscopico, fino a raggiungere il sito della lesione. Immagini planari e SPECT, ottenute dopo 1 e 20 ore dalla somministrazione (Figura 3) e sovrapposte con immagini CT, hanno rivelato che la specie  $^{188}\text{Re}$ -lipiodol si localizza selettivamente nell'area tumorale, mentre gli altri tessuti non mostrano alcun accumulo non specifico della radioattività.

### Conclusioni

In questo lavoro è stata riportata la preparazione del complesso altamente lipofilo  $^{188}\text{Re}(\text{N})(\text{DEDC})_2$  ottenuto partendo da  $^{188}\text{ReO}_4^-$ . Questo complesso, se miscelato con Lipiodol viene selettivamente e stabilmente ritenuto in esso per un tempo prolungato. E' stato sviluppata una formulazione liofilizzata (Kit) per preparare rapidamente, facilmente e in alte rese il  $^{188}\text{Re}$ -lipiodol. Questo radiofarmaco è stabile *in vivo* e ha mostrato localizzarsi selettivamente nel carcinoma epatico, con uptake relativamente basso nell'intestino, nei polmoni e nei reni. Questo kit è attualmente in corso di valutazione in un trial clinico multicentrico per la terapia del carcinoma epatico non asportabile chirurgicamente.

### Bibliografia

- 1) C. Bolzati, A. Boschi, L. Uccelli, A. Duatti, R. Franceschini, A. Piffanelli, *Nucl. Med. Biol.*, **27** :309-314 (2000).
- 2) A. Boschi, C. Bolzati, L. Uccelli, A. Duatti, *Nucl. Med. Biol.*, **30**, 381-387, (2003).

## FUSIONE DI IMMAGINI TC-RM-SPECT PER LA DEFINIZIONE DEI VOLUMI DI INTERESSE NELLA ELABORAZIONE DEL PIANO DI TRATTAMENTO RADIOTERAPICO

Krengli M.<sup>1</sup>, Loi G<sup>2</sup>, Manfreda I.<sup>1</sup>, Sacchetti G.<sup>3</sup>, Gambaro G.<sup>1</sup>, Secco C.<sup>2</sup>, Carriero A.<sup>4</sup>, Inglese E<sup>4</sup>.

<sup>1</sup>Radioterapia, <sup>2</sup>Fisica Sanitaria, <sup>3</sup>Radiodiagnostica, <sup>4</sup>Medicina Nucleare,  
Università del Piemonte Orientale - Ospedale Maggiore della Carità, Novara

La definizione dei volumi di interesse per radioterapia è generalmente basata sull'impiego di indagini morfologiche TC e in taluni casi RM. L'impiego di immagini funzionali (PET e SPECT) aggiunge informazioni su importanti aspetti biologici del tessuto tumorale. Sulla base di queste considerazioni abbiamo iniziato uno studio sulla fusione di immagini TC-RM-SPECT per la elaborazione del piano di cura radioterapico.

Sono stati finora studiati 35 casi: 15 tumori cerebrali e 4 rinofaringei con TC-RM-SPECT e 16 tumori polmonari non a piccole cellule con TC-SPECT. Le immagini sono state ottenute con il paziente in posizione di trattamento. La TC è stata acquisita con tecnica spirale senza mdc e la RM con sequenze T1 pesate con gadolinio con scansioni contigue di 3 mm sul distretto cervico-cefalico e di 5 mm sul torace. Lo studio SPECT è stato eseguito dopo somministrazione di 740 MBq di  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -methoxy-isobutyl.isonitrile (MIBI) acquisendo le immagini dopo 8 minuti con una gamma-camera a due teste e collimatori ad alta risoluzione. Gli studi sono stati impostati con FOV 25 cm e matrice di 512x512 per TC e RM e 128x128 per la SPECT. I tre set di immagini sono stati integrati usando il software del TPS Pinnacle (Philips). Per ogni paziente l'accuratezza della sovrapposizione delle immagini è stata verificata con riferimenti anatomici e reperi esterni. Il GTV è stato quindi disegnato su TC, TC-RM e su RM-SPECT per il distretto cervico-cefalico e su TC e TC-SPECT per il polmone.

Nei casi studiati la SPECT ha portato a modificare sensibilmente il GTV sia a livello cerebrale dove ha consentito di includere aree non evidenziate da TC-RM e in misura ancor maggiore nel distretto polmonare dove ha consentito di discriminare fra tessuto tumorale e atelettasia e di evidenziare una positività in linfonodi dubbi o negativi alla TC.

Alla luce dei risultati preliminari ottenuti la fusione di immagini con SPECT appare una metodica utile, riproducibile e di relativamente facile accesso e merita pertanto un ulteriore approfondimento con ampliamento della casistica ed eventuale confronto con altre indagini funzionali fra cui la PET.

### RISONANZA MAGNETICA (RM) E DIFFUSIONE MOLECOLARE: BASI FISICHE ED APPLICAZIONI IN CAMPO BIOMEDICO

M.Giannelli - M.Lazzeri

U.O. Fisica Medica - Azienda Ospedaliera Universitaria Pisana  
e-mail: m.giannelli@ao-pisa.toscana.it

Una delle principali applicazioni della Risonanza Magnetica (RM) in campo biomedico è sicuramente l'*imaging* diagnostico o MRI (*Magnetic Resonance Imaging*). I vantaggi dell'*imaging* diagnostico mediante RM sono l'utilizzo di radiazioni non ionizzanti, la multiplanarità e la multiparametricità che permette di evidenziare le singole strutture anatomiche con un'ampia gamma di contrasto<sup>1</sup>. L'MRI consente non solo indagini morfologiche ma anche funzionali come la spettroscopia (H, P), gli studi di attivazione cerebrale (fMRI), perfusione sanguigna e diffusione molecolare (H<sub>2</sub>O) con rilevanti applicazioni nel campo della neuroradiologia e delle neuroscienze<sup>2</sup>.

La *diffusione* rappresenta il moto caotico e disordinato delle molecole di un mezzo dovuto all'agitazione termica. Studi di diffusione mediante RM possono essere effettuati *in vivo* e in maniera non invasiva. La potenzialità di tali studi risiede nel fatto che le molecole di acqua, durante il loro moto diffusivo, sono in grado di sondare la struttura dei tessuti biologici a livello microscopico. Alterazioni funzionali a livello cellulare comportano una modifica dei processi diffusivi all'interno dei tessuti biologici e possono essere evidenziate con analisi RM di diffusione molecolare. Studi di diffusione mediante Risonanza Magnetica rappresentano al momento l'unico mezzo per la diagnosi precoce dell'ischemia cerebrale in fase iperacuta e forniscono uno strumento insostituibile per lo studio dei fasci di fibre di sostanza bianca che connettono i centri funzionali del sistema nervoso centrale.

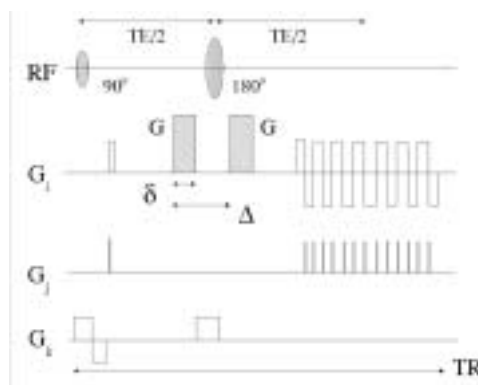


Fig.1: Sequenza EPI pesata in diffusione con gradiente bipolare di Stejskal-Tanner.

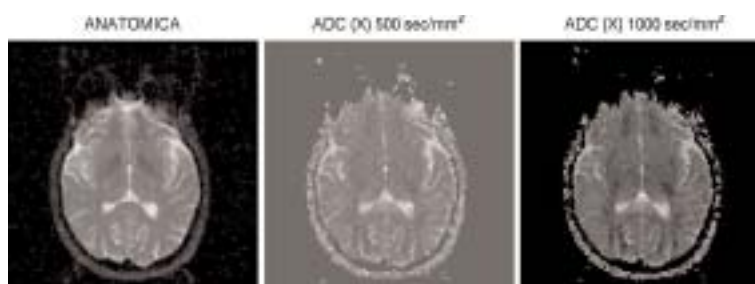


Fig.2: Immagine anatomica T<sub>2</sub> e mappe ADC a differenti bvalue (500 sec/mm<sup>2</sup>, 1000 sec/mm<sup>2</sup>) con pesatura in diffusione lungo la direzione RL. Valori tipici di ADC del parenchima cerebrale sono dell'ordine di 1 x 10<sup>-3</sup> mm<sup>2</sup>/sec.

Le analisi RM di diffusione molecolare sfruttano l'effetto IVIM (*Intra Voxel Incoherent Motion*) e si basano sull'acquisizione di immagini pesate in diffusione e denominate DWI (*Diffusion Weighted Images*). Tali immagini sono ottenute applicando un gradiente bipolare di Stejskal-Tanner<sup>3</sup> all'interno di sequenze veloci EPI<sup>4</sup> (*Echo Planar Imaging*) di acquisizione dati (fig.1). L'effetto prodotto dal gradiente bipolare è uno sfasamento degli *spin* in movimento e un'attenuazione di segnale ( $S/S_0$ ) nelle regioni a maggiore diffusione molecolare<sup>5</sup>:

$$S/S_0 = \exp(-bD) \quad (1)$$

dove  $D$  è il coefficiente di diffusione e  $b$  un parametro denominato *bvalue* che quantifica il grado di pesatura in diffusione e dipende dalle caratteristiche del gradiente bipolare applicato:

$$b = (\gamma G \delta)^2 (\Delta - \delta/3) \quad (2)$$

con  $\gamma$  rapporto giromagnetico<sup>6</sup> dell'atomo di Idrogeno ( $\gamma/2\pi = 42.58 \text{ MHz/Tesla}$ ) e  $G, \Delta, \delta$  rispettivamente l'ampiezza di gradiente, la distanza e la durata temporale dei due impulsi del gradiente bipolare.

I processi diffusivi all'interno dei tessuti biologici risultano complessi. La diffusione può essere ristretta, ostacolata o anisotropa. Per questo motivo il coefficiente di diffusione nei tessuti biologici viene indicato come ADC (*Apparent Diffusion Coefficient*). Mappe ADC (fig.2) possono essere ottenute elaborando due DWI acquisite a *bvalue* differenti:

$$ADC = [1/(b_1 - b_2)] \ln(S_2 / S_1) \quad (3)$$

dove ( $b_1, b_2$ ) e ( $S_1, S_2$ ) sono rispettivamente i *bvalue* e i segnali delle due DWI acquisite. Qualitativamente le mappe ADC appaiono come il negativo delle DWI. Le mappe ADC non risentono di alcuna pesatura residua in T2 e contengono una precisa informazione quantitativa relativa alla misura del grado di diffusione molecolare all'interno dei singoli tessuti.

Le mappe ADC di mezzi anisotropi hanno il limite di dipendere dalla direzione del gradiente bipolare di diffusione applicato. Una descrizione completa dei processi diffusivi all'interno di mezzi anisotropi richiede la conoscenza del tensore di diffusione  $D_{ij}$ . In base all'equazione di Bloch per mezzi diffusivi<sup>7</sup> l'attenuazione di segnale ( $S/S_0$ ) in un'immagine DWI di un mezzo anisotropo risulta:

$$\ln(S/S_0) = - \sum_{ij} b_{ij} D_{ij} \quad (4)$$

dove  $b_{ij}$  sono gli elementi della matrice denominata *b-matrix*<sup>8</sup>. Tale matrice è funzione dei gradienti di diffusione e di *imaging* della sequenza di diffusione di acquisizione dati utilizzata. Il metodo per ottenere il tensore di diffusione si basa sull'acquisizione di un minimo di 6 DWI pesate in diffusione lungo direzioni non collineari e di un'immagine a *bvalue* nullo. I 6 elementi indipendenti di  $D_{ij}$  possono essere ricavati risolvendo l'equazione (4) mediante metodi di regressione multipla<sup>9</sup>.

Le informazioni contenute nel tensore di diffusione in termini di autovalori e autovettori possono essere visualizzate in 2D o 3D mediante metodi DTI (*Diffusion Tensor Imaging*). Tra le visualizzazioni 2D rientrano le mappe di Traccia e le mappe di indici di diffusione anisotropa come l'Anisotropia Frazionaria (FA) e l'Indice di Reticolo (LI) (fig.3). La Traccia è proporzionale alla diffusione media lungo gli assi principali dell'ellissoide di rotazione associato al tensore di diffusione e non presenta i limiti di direzionalità delle mappe ADC in quanto è invariante per rotazione. Gli indici di diffusione anisotropa misurano il grado di anisotropia dei tessuti biologici e sono impiegati prevalentemente per lo studio dei fasci di fibre di sostanza bianca del parenchima cerebrale. La FA e il LI sono adimensionali, invarianti per rotazione e variano fra 0 (isotropia) e 1 (anisotropia). Il FA è un indice *intra voxel* che misura la parte antisimmetrica del tensore di diffusione mentre il LI è un indice *inter voxel* che misura il grado di coerenza direzionale dell'ellissoide di rotazione del tensore di diffusione di un *voxel* di riferimento rispetto a quello dei *voxel* vicini. Le visualizzazioni 3D DTI sono inerenti agli studi di *Fiber Tracking* dei fasci di fibre che connettono i centri funzionali del sistema nervoso centrale. Il cammino di ogni singola fibra può essere ricostruito in 3D seguendo, *voxel a voxel*, la direzione dell'autovettore del tensore di diffusione relativo all'autovalore massimo.

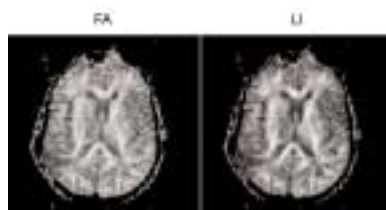


Fig.3: Mappe di Anisotropia Frazionaria (FA) e Indice di Reticolo (LI). I valori di FA e LI variano fra 0 (isotropia) e 1 (anisotropia). I valori massimi di anisotropia sono riscontrabili nei grossi fasci di fibre come lo splenio del corpo calloso (0.70-0.75).

**Bibliografia**

- 1) S.W.Atlas. *Magnetic Resonance Imaging of the brain and spine*. Raven Press – New York.
- 2) G. Dal Pozzo. *Compendio di Risonanza magnetica*. Utet 2001.
- 3) E.Stejskal, J.E.Tanner. *Spin diffusion measurements: spin echoes in the presence of time dependent field gradient*. J. Chem. Phys. 42, 288-292 (1954).
- 4) R.Turner, M.K.Stehling, F.Schmitt. *Echo-Planar Imaging: theory, technique and application*. Springer 1998.
- 5) D.Le Bihan. *Molecular Diffusion Nuclear Magnetic Resonance Imaging*. Magnetic resonance Quarterly: vol 7 No. 1: 1-30 (1991).
- 6) D.G. Gadian. *NMR and its applications to living systems*. Oxford University Press (1995).
- 7) H.C.Torrey. *Bloch equations with diffusion terms*. Physical Review 104: 563-565 (1956).
- 8) D.Le Bihan. *Diffusion and perfusion magnetic resonance imaging. Applications to functional MRI*. Raven Press – New York 1995.
- 9) P.J.Basser. *Inferring microstructural features and the physiological state of tissues from diffusion-weighted images*. NMR in Biomedicine, vol 8: 333-344 (1995).
- 10) C.Pierpaoli, P.J.Basser. *Toward a quantitative assessment of diffusion anisotropy*. Magnetic Resonance in Medicine 36: 893-906 (1996).
- 11) P.J.Basser et al. *In vivo fiber tractography using DT-MRI data*. Magnetic Resonance in Medicine 44: 625-632 (2000).

**IL PROGETTO: STUDIO PER L'OTTIMIZZAZIONE DELLA TERAPIA METABOLICA  
CON RADIOFARMACI PER LA PALLIAZIONE DEL DOLORE OSSEO**

Claudia Carbonini, Sandro Ridone, Claudio Birattari - Per la Collaborazione RATERMET

*Università degli Studi di Milano e Scuola di Specializzazione in Fisica Sanitaria*

e-mail: claudia.carboni@mi.infn.it

Il progetto RATERMET è stato approvato e finanziato nell'ambito dei Programmi Speciali del Ministero della Salute, con il contributo della Regione Lombardia, Direzione Generale Sanità. Al progetto, coordinato dall'Università degli Studi di Milano, Dipartimento di Fisica, partecipano unità operative del Servizio Sanitario Nazionale operanti sul territorio regionale.

In particolare i partecipanti al progetto sono:

- 1) Università degli Studi di Milano, Dipartimento di Fisica (C. Birattari, M. Bonardi, F. Groppi, M.C. Cantone, A.Giussani, C. Carbonini, S. Ridone)
- 2) Azienda Ospedaliera Ospedali Riuniti di Bergamo (U. Guerra, G. Virota, G. Poli, R. Moretti)
- 3) Istituto Nazionale per la cura e la prevenzione dei tumori (E. Bombardieri, G. Savelli, C. Chiesa, A. Coliva)
- 4) Azienda Ospedaliera Ospedale di Lecco (L. Maffioli, I. Butti)
- 5) Istituto Clinico Humanitas (A. Chiti, G. Tosi, E. Malagò)
- 6) Ospedale di Circolo e Fondazione Macchi di Varese (De Palma, L. Conte, F. Tanzi)
- 7) Spedali Civili di Brescia (C. Pizzocaro, A. De Agostini)

Scopo: Il progetto intende studiare le problematiche dosimetriche nella terapia metabolica con radiofarmaci in vista di una ottimizzazione e personalizzazione della terapia in pazienti con metastasi scheletriche dolorose. Uno studio pilota è attivato per l'analisi dei risultati che si possono ottenere con farmaci marcati con renio e samario quali Re-186-HEDP e Sm-153-EDTMP.

Obiettivi specifici che si intendono raggiungere:

- Determinazione della biodistribuzione dei radiofarmaci .
- Identificazione di un modello dosimetrico semplificato che permetta la determinazione della dose alle metastasi e agli organi critici, dopo somministrazione del radiofarmaco.
- Sviluppo di opportuni modelli biocinetici con struttura compartimentale.
- Stesura di linee guida per la determinazione semplice della stima dosimetria in pazienti con metastasi scheletriche captanti i difosfonati.

**Metodi:**

- a) Clinica: sono state definite le caratteristiche patologiche che saranno analizzate e stabiliti i protocolli per le indagini radiologiche e radiografiche e per i prelievi di fluidi biologici.
- b) Modellistica: le misure in vivo e sui campioni biologici forniscono le informazioni di partenza per l'elaborazione dei modelli biocinetici e per le valutazioni dosimetriche.
- c) Radiochimica: la stabilità *in vivo* del radiofarmaco verrà monitorata conducendo misure di cromatografia su aliquote dei campioni biologici. Controlli di Qualità Chimica, Radiochimica e Radionuclidica saranno eseguiti anche direttamente sugli stessi radiofarmaci.

### Stato di avanzamento

Allo stato attuale tutte le unità operative hanno ottenuto l'approvazione da parte dei rispettivi Comitati etici per iniziare la sperimentazione, la stesura dei protocolli è già stata approvata e sono già state effettuate misure preliminari per la loro validazione.

### Conclusioni

L'attività di ricerca si prospetta come realmente interdisciplinare, oltre che per gli scopi proposti, per la composizione stessa dei gruppi coinvolti la cui collaborazione ha mostrato già il suo potenziale valore aggiunto nella formazione professionale, nella stesura dei protocolli operativi comuni e nella esecuzione di alcune misure preliminari.

## STUDIO DEL C<sub>2</sub>H<sub>4</sub> ESPIRATO DA PAZIENTI ONCOLOGICI IN TERAPIA RADIOMETABOLICA CON <sup>131</sup>I

G. Giubileo<sup>(1)</sup>, A. Puiu<sup>(2)</sup>, G. Argirò<sup>(3)</sup>, E. Borra<sup>(4)</sup>

<sup>(1)</sup>ENEA, Frascati (RM)

<sup>(2)</sup>NILPRP, 111 Atomistilor St., Bucharest (Romania)

<sup>(3)</sup>ENEA, Ospedale S. Eugenio, Roma

<sup>(4)</sup>Università di Roma I "La Sapienza", Roma

e-mail: giubileo@frascati.enea.it

### Introduzione

L'interazione tra radiazioni ionizzanti e materia biologica provoca la radiolisi dell'acqua. I radicali liberi acquosi danno luogo al fenomeno noto come Perossidazione Lipidica (LP), una degradazione dei fosfolipidi costituenti le membrane cellulari, che libera etilene (C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>). Parte dell'etilene prodotto da processi di LP viene espulso dall'organismo umano a bassissima concentrazione (parti per miliardo, ppb) attraverso il fiato espirato. Disponendo di una tecnica opportuna di misura delle tracce di etilene, si potrebbe in un modo semplice e rapido determinare la vastità del danno tissutale radioindotto. Allo scopo di valutare la possibilità del monitoraggio del danno radioindotto attraverso una misura dell'etilene espirato, nel Laboratorio di Spettroscopia Molecolare del Centro Ricerche ENEA a Frascati è iniziato uno studio di fattibilità basato sull'analisi della concentrazione di etilene in campioni di fiato esalato da pazienti oncologici nel corso di un radio-trattamento.

### Metodi

L'analisi dei campioni di fiato è stata eseguita tramite Spettroscopia fotoacustica, una tecnica di spettroscopia molecolare ad alta risoluzione in grado di rivelare tracce di etilene in aria a pressione atmosferica con una sensibilità inferiore al ppb. Il sistema fotoacustico sperimentale realizzato a Frascati fa uso di un laser IR a CO<sub>2</sub> c.w. da 10 W con emissione altamente stabilizzata a 10.532 μm sulla riga laser 10P<sub>14</sub> in risonanza con una transizione molecolare dell'etilene, ed asservito a PC via GPIB in ambiente LABVIEW. La raccolta dei campioni di fiato è avvenuta chiedendo al paziente di esalare senza una preventiva inspirazione in una sacca alluminata di raccolta del fiato provvista di boccaglio con valvola di ritegno e meccanismo di scarto della componente bronchiale. I campioni sono stati successivamente trasferiti nella cella fotoacustica per l'analisi del contenuto di etilene.

### Risultati

Negli esperimenti riportati i pazienti erano affetti da cancro della tiroide. Ciascun paziente aveva ingerito una certa dose di <sup>131</sup>I compresa tra 100 e 250 mCi. Campioni di fiato esalato sono stati prelevati da ciascun paziente prima del trattamento e dopo la somministrazione del radio-isotopo, a tempi prestabiliti variabili da pochi minuti a diverse ore dall'inizio della terapia antitumorale. Nei casi analizzati non risulta evidente alcun aumento della concentrazione dell'etilene esalato correlabile con la terapia radiometabolica alle concentrazioni terapeutiche del radiofarmaco. In particolare i valori misurati non superano i valori ritenuti normali in letteratura (ppb), ed in aggiunta si osserva un calo della concentrazione al di sotto dei valori iniziali. Si potrebbe ipotizzare che la dose assorbita sia troppo bassa per produrre un effetto rivelabile e stiamo osservando mere fluttuazioni di misura. E' certo evidente come la mole dei dati riportati sia insufficiente per una analisi statistica affidabile, pur tuttavia la generale diminuzione della concentrazione di etilene nelle ore seguenti la somministrazione potrebbe essere interpretata non come una fluttuazione statistica, ma piuttosto verso un andamento caratteristico dei dati. Conseguentemente potrebbe essere ragionevole fare l'ipotesi che l'osservato calo iniziale sia il segno di una risposta sistemica dei meccanismi antiossidanti dell'organismo, determinata dall'elevata dose assorbita localmente, causante uno sbilanciamento temporaneo dello stato di stress ossidativo.



## ESPERIENZA PRATICA NELLA SINTESI DI F-18 FLUORODESOSSIGLUCOSIO CON SISTEMI AUTOMATIZZATI

Fabio R. Colombo, Rosangela Casati, Alfio S. Cascio e Paolo Gerundini.

*Dipartimento Immagini, U.O. Medicina Nucleare, Ospedale Maggiore di Milano, I.R.C.C.S.*

e-mail: colombo@policlinico.mi.it

A partire dal Gennaio del 2001 sono stati preparati oltre 400 lotti di [<sup>18</sup>F] FDG impiegando alternativamente tre moduli di sintesi a controllo remoto basati sulla chimica sviluppata da Hamaker e coll. [K.H.Hamaker, G.Blessing, B.Nebeling, Appl.Radiat.Isot. 41:49-55, (1990)]. Tutte le preparazioni sono state analizzate in accordo con le indicazioni della Farmacopea Europea. Facendo uso di un Ciclotrone PETtrace (GE Medical System) ed in funzione del numero di degli esami programmati, sono stati tipicamente irradiati 1.6 ml di [<sup>18</sup>O] H<sub>2</sub>O (arricchimento > 95%) nelle seguenti condizioni: 50 minuti con una corrente di fascio di 25 microA, 60 minuti con 30 microA, 60 minuti con 35 microA o 70 minuti con 35 microA. Dopo irraggiamento con protoni il materiale bersaglio, 1.6 ml di [<sup>18</sup>O] H<sub>2</sub>O, è stato trasferito sotto pressione di Elio mediante un tubo in Tefzel (lunghezza 10 metri, 1/16" diametro esterno) ai moduli di sintesi automatici (Nuclear Interface). Queste apparecchiature producono il radiofarmaco [<sup>18</sup>F] FDG dopo 32 minuti dall'arrivo [<sup>18</sup>F] F<sup>-</sup>; sono necessari 4 minuti per completare lo svuotamento del bersaglio e ne sono necessari altri 4 per trasferire il prodotto finale in tre vial sterili ed apirogene mediante filtrazione a 0.22m e per misurare l'attività finale di [<sup>18</sup>F] FDG. L'attività di [<sup>18</sup>F] F<sup>-</sup> prodotta è stata calcolata basandosi sulla resa alla saturazione misurata sperimentalmente dopo ogni ricostruzione del bersaglio. In queste condizioni la resa media di produzione di [<sup>18</sup>F] FDG raccolta nelle tre vial finali è stata del 51.22 % ± 7.85 EOB. Inoltre il 6.10% del totale di [<sup>18</sup>F] FDG prodotto, viene perso nella vial di raccolta, nei tubi di connessione, nei filtri e negli aghi. Il numero di insuccessi nella produzione (dovuti a problemi meccanici come perdite nelle connessioni, tubi o valvole o a problemi di software/hardware) non inclusi nella resa sopra riportata è stato di 18 (< 5 %) di cui 6 senza attività e 12 con una resa inferiore al 25 %.

In accordo con la nostra esperienza, la qualità di [<sup>18</sup>F] FDG prodotta mediante moduli di sintesi automatici mediante un singolo irraggiamento è più che sufficiente a soddisfare le esigenze di un tomografo PET durante un giorno di lavoro (media di 11.6 pazienti al giorno, esami di tipo total body, dose 7 MBq/Kg per paziente). Questo livello di produzione non genera un significativo livello di esposizione alle radiazioni per il personale addetto.

## MARCATURA DEL LEGANTE PN<sub>2</sub>S-PEG<sub>5000</sub> CON <sup>99m</sup>TECNEZIO IN PRESENZA O IN ASSENZA DI STAGNO(II)

R. Visentin<sup>1</sup>, G. Pasut<sup>1</sup>, M.C. Giron<sup>2</sup>, M. Bello<sup>3</sup>, F.M. Veronese<sup>1</sup>, U. Mazzi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Scienze Farmaceutiche, 35131 Padova;

<sup>2</sup>Dipartimento di Farmacologia e Anestesiologia, 35131 Padova;

<sup>3</sup>LNL-INFN, Viale dell'Università 2, 35020 Legnaro (Padova)

e-mail: roberta.visentin@unipd.it

Il legante N-(N-(3-difenilfosfinopropionil)glicil)-S-tritilcisteina PN<sub>2</sub>S(Trt)-OH marcato via <sup>99m</sup>Tc-gluconato a pH 7 ha portato ad una singola specie, isomero anti del complesso pentacoordinato <sup>99m</sup>TcO[PN<sub>2</sub>S]-OH.<sup>1</sup> Il marcato ha dimostrato un'elevata stabilità sia *in vitro* (plasma umano) che *in vivo* (topi Swisse), indicando nel PN<sub>2</sub>S un possibile set per la marcatura di biomolecole attraverso il metodo del coniugato. La notevole lipofilia del complesso ha però comportato un'eliminazione prevalentemente epatobiliare, indesiderata in quanto può impedire la visualizzazione di targets addominali.

In questo studio il legante PN<sub>2</sub>S è stato quindi coniugato al polietilenglicole m-PEG-NH<sub>2</sub> (MW = 5000) per aumentare l'idrofilia del marcato e per valutare l'uso di PEG bifunzionali come linkers per la marcatura di biomolecole attraverso il set PN<sub>2</sub>S.

Il coniugato PN<sub>2</sub>S-PEG<sub>5000</sub>, ottenuto in alte rese (>95%) e completamente caratterizzato, è stato detritilato con TFA e trietilsilano prima della marcatura (PN<sub>2</sub>S-PEG<sub>5000</sub>, resa >90%). Durante studi preliminari, per valutare interazioni del PEG con <sup>99m</sup>TcO<sub>4</sub><sup>-</sup> o specie derivanti dalla sua riduzione, è stato osservato che aggiungendo una soluzione di

$^{99m}\text{TcO}_4^-$  a pH acido (2-4) al  $\text{PN}_2\text{S-PEG}_{5000}$  allo stato solido (conc. finale 20 mg/mL) si ottiene la scomparsa del  $^{99m}\text{TcO}_4^-$  e la formazione di una specie con un tempo di ritenzione (RP-HPLC) analogo a quello del  $\text{PN}_2\text{S-PEG}_{5000}$ . La reazione risulta quantitativa a temperatura ambiente in meno di 15 minuti. E' stato, inoltre, dimostrato che la reazione avviene solo quando legante e PEG sono covalentemente legati, non avviene quando il fosforo del set  $\text{PN}_2\text{S}$  è ossidato e risulta solo parziale quando il  $^{99m}\text{TcO}_4^-$  è aggiunto al  $\text{PN}_2\text{S-PEG}_{5000}$  previamente solubilizzato in salina. Queste osservazioni hanno portato ad ipotizzare che il prodotto marcato derivi dalla riduzione e coordinazione del  $^{99m}\text{TcO}_4^-$  in seguito ad un potenziamento delle proprietà ossido-riduttive del fosforo fosfinico dovuto ad un arrangiamento sopramolecolare in soluzione acquosa del  $\text{PN}_2\text{S-PEG}_{5000}$  che possiede carattere anfifilico. Studi di light scattering hanno dimostrato che le miscele di marcatura contengono aggregati micellari e che il  $\text{PN}_2\text{S-PEG}$  tende a formare tali aggregati a pH acido, neutro e basico. La riduzione e la coordinazione del metallo possono essere, quindi, attribuite ad una catalisi micellare<sup>2</sup> che potenzia le proprietà riducenti del fosforo e favorisce la coordinazione, ad opera del set  $\text{PN}_2\text{S}$  di un legante non coinvolto nella reazione redox o del nuovo set (P)ON<sub>2</sub>S. La marcatura del derivato PON<sub>2</sub>S-PEG via  $^{99m}\text{Tc}$ -gluconato ha infatti dimostrato che anche il set (P)ON<sub>2</sub>S è in grado di coordinare il  $[\text{}^{99m}\text{TcO}]^{3+}$ : il complesso  $^{99m}\text{TcO}[(\text{P})\text{ON}_2\text{S}]\text{-PEG}$  è stabile e presenta un tempo di ritenzione analogo a quello del composto ottenuto "via  $\text{TcO}_4^-$ " e al  $^{99m}\text{TcO}[\text{PN}_2\text{S}]\text{-PEG}$  ottenuto via  $^{99m}\text{Tc}$ -gluconato. Studi *in vitro* hanno indicato per il  $^{99m}\text{TcO}[\text{PN}_2\text{S}]\text{-PEG}$  ottenuto "via  $\text{TcO}_4^-$ " una stabilità analoga a quella del  $^{99m}\text{TcO}[\text{PN}_2\text{S}]\text{-OH}$ , confermata anche dagli studi *in vivo* (prodotto recuperato immodificato nelle urine, bassa attività in stomaco e tiroide). La biodistribuzione coincide, inoltre, con quella del corrispondente PEG non coniugato con rapida eliminazione soprattutto per via renale. La marcatura proposta, semplice ed efficiente, e l'uso di PEGs come linkers modulatori della farmacocinetica forniscono validi strumenti nella marcatura di molecole direzionatrici per la diagnostica clinica per immagini.

### Bibliografia

- 1) Visentin, R.; Basso, S.; Giron, M. C.; Rossin, R.; Mazzi, U. *11th European Symposium on Radiopharmacy and Radiopharmaceuticals*, 15-18 March, 2003, Innsbruck, Austria, Book of Abstracts: p. 86.
- 2) Tascioglou, S. *Tetrahedron*, **1996**, 52, 11113-11152.

## QUALITÀ DELL'ELUATO E PUREZZA RADIOCHIMICA DI RADIOFARMACI PREPARATI CON L'IMPIEGO DI ELUIZIONI DA GENERATORI DI $^{99m}\text{Tc}$ NON ELUITI DA OLTRE 24 ORE

N. Urbano\*, S. Modoni\*, M. Guerra\*, S. Papi\*\*, V. Frusciante\*

\*Unità Operativa di Medicina Nucleare Ospedale "Casa Sollievo della Sofferenza",  
San Giovanni Rotondo

\*\*Divisione di Medicina Nucleare, Istituto Europeo di Oncologia, Milano  
e-mail: n.urbano@virgilio.it

### Introduzione

Il  $^{99m}\text{Tc}$  (tecnezio ( $^{99m}\text{Tc}$ )), prodotto di eluizione del generatore  $^{99}\text{Mo}/^{99m}\text{Tc}$ , è responsabile, unitamente alla corretta ricostituzione di un radiofarmaco, della qualità dello stesso. Oggetto del presente studio è stato quello di valutare e confrontare le qualità di differenti eluizioni eseguite in tempi diversi come, ad esempio, subito dopo l'arrivo del generatore nella nostra unità operativa e dopo 72 ore o più dall'ultima sua eluizione.

Queste eluizioni hanno un più alto contenuto di  $^{99}\text{Tc}$  carrier e di agenti ossidanti, che potrebbe compromettere le successive procedure di radiomarcatura, rispetto a quello presente nelle eluizioni effettuate 24 ore dopo una precedente eluizione. Pertanto, abbiamo anche valutato se queste eluizioni, che abbiamo definito "a rischio", potessero essere convenientemente adoperate per la marcatura di vari farmaci in caso di necessità, quando la radioattività eluita disponibile non copre la richiesta programmata.

### Materiali e Metodi

Settimanalmente, al lunedì e al mercoledì, riceviamo presso la nostra Unità, due generatori del tecnezio (Ultra-Technekow FM, Mallinckrodt), caricati rispettivamente con 10.75 GBq (generatore A) e 17.20 GBq (generatore B) di  $^{99}\text{Mo}$ .

Durante un arco temporale di sette mesi, per ciascun generatore abbiamo analizzato le seguenti eluizioni:

- 40 prime (I) eluizioni (20 dal generatore A e 20 dal B), compiute subito dopo l'arrivo del generatore;



- 40 "sicure" (II) eluizioni (20 dal A e 20 dal B), eseguite 24 ore dopo la prima;
- 22 (III) eluizioni (11 dal A e 11 dal B) ottenute dopo 72 ore o più dall'ultima eluizione ( $89.45 \pm 14.6$  ore per il generatore A e  $110 \pm 41$  ore per il generatore B).

Di ciascuna di queste eluizioni abbiamo valutati i seguenti parametri:

a) Attività teorica dell'eluato; b) Resa di eluizione; c) Purezza radionuclidica; d) pH; e) Contenuto in allumina; f) Rapporto  $^{99}\text{Tc}/^{99\text{m}}\text{Tc}$ ; g) Agenti ossidanti; e) Purezza radiochimica (RCP), effettuata mediante TLC (ITLC-SG e metanolo/acqua 80:20 v/v).

Le diverse eluizioni sono state poi usate per marcare differenti farmaci comunemente impiegati come Albures, DMSA, DTPA, HMPAO, MAG3, MDP, MIBI, Leukoscan; ECD e TTR sono stati marcati solo con le eluizioni di tipo I e II a causa della insufficiente radioattività ottenuta dalle eluizioni di tipo III. Ciascun agente è stato marcato per otto volte con ciascuna specifica eluizione (I, II, III) e le rispettive purezze radiochimiche (RCPs) sono state determinate secondo le indicazioni della casa farmaceutica produttrice.

### Risultati

Il contenuto degli agenti ossidanti ed il rapporto  $^{99}\text{Tc}/^{99\text{m}}\text{Tc}$  sono state le più importanti differenze riscontrate tra le diverse eluizioni effettuate. Anche se differenze significative sono state trovate tra le purezze radiochimiche di radiofarmaci ricostituiti con differenti eluizioni, i loro risultati sono stati comunque superiori al limite fissato dalle rispettive case farmaceutiche.

### Conclusioni

Le quantità di  $^{99}\text{Tc}$  carrier e degli agenti ossidanti non hanno sottratto potere riducente al sistema di reazione né hanno interferito con le reazioni di chelazione compromettendo conseguentemente la purezza radiochimica dei radiofarmaci. Le prime eluizioni e quelle effettuate dopo più di 72 ore dall'ultima eluizione, possono essere usate, in caso di necessità, anche se il controllo della purezza radiochimica deve essere sempre eseguito prima della somministrazione al paziente.

## VALUTAZIONE DEI PARAMETRI CHE INFLUENZANO L'EFFICIENZA DI MARCATURA DEI LEUCOCITI MARCATI CON $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -HmPAO

N. Urbano\*, S. Modoni\*, F. Barbano\*, L. Palladino\*, G. Tesoriere\*\*, V. Frusciante\*

\*Unità Operativa di Medicina Nucleare Ospedale "Casa Sollievo della Sofferenza",  
San Giovanni Rotondo

\*\*Divisione di Medicina Nucleare, Istituto Europeo di Oncologia, Milano

e-mail: n.urbano@virgilio.it

### Introduzione

Oggetto del seguente studio è stato quello di valutare le variabili che influenzano l'efficienza di marcatura dei leucociti marcati con  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -HmPAO e, attraverso le loro variazioni, migliorare la marcatura dei leucociti.

### Materiali e metodi

25 pazienti (15M, 10F, range età 30-70 aa.), affetti da differenti malattie infiammatorie (4 malattie infiammatorie intestinali, 14 osteomieli, 6 ascessi, 1 infezione di protesi vascolare) sono stati prospettivamente inclusi nello studio. Tutti i Pazienti sono stati sottoposti preliminarmente a valutazione clinica ed esami di laboratorio (emocromo, formula leucocitaria, VES). Sono stati esclusi quei Pazienti sottoposti a terapie (cefalosporine, cortisonici, ciclofosfamide) che avrebbero potuto influenzare la funzione leucocitaria e la marcatura. I leucociti misti, ottenuti da un prelievo di 30 ml di sangue autologo, sono stati marcati con differenti attività di  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  HmPAO, modificando il protocollo proposto da Peters. In particolare, i Pazienti sono stati suddivisi in due gruppi. Nel gruppo I, che includeva 7 pazienti, ogni vial di HmPAO è stato marcato con 1.11 GBq/5ml di  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ , seguendo la procedura consigliata dal Produttore. Il prodotto ottenuto è stato utilizzato per un solo paziente. Nel gruppo II, formato da 18 pazienti, il HmPAO è stato marcato con 2.22 GBq/5ml di  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ . Il contenuto di ogni vial è stato suddiviso in parti eguali e circa 1.11 GBq/2.5ml sono stati utilizzati per marcare la miscela leucocitaria di ciascuno di due Pazienti.

Sono stati calcolati i seguenti parametri:

A - attività di  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ HmPAO aggiunto alla sospensione leucocitaria;

- B - attività del prodotto finale, cioè la quantità di  $^{99m}\text{Tc}$ -HmPAO incorporato dai neutrofili;  
 C - efficienza di marcatura (LE%): il rapporto tra le attività dei precedenti punti B e A;  
 D - numero complessivo di neutrofili nel prelievo effettuato;  
 E - volume di distribuzione della marcatura;  
 F - radioattività utilizzata in modo efficace, calcolata come attività aggiunta alla sospensione leucocitaria, corretta per la purezza radiochimica, e sottratta del residuo rimasto in siringa.  
 La valutazione statistica è stata effettuata con il t-test di Student ed il coefficiente di Pearson.

### Risultati

L'aggiunta di un'attività doppia di  $^{99m}\text{Tc}$  non ha penalizzato la purezza radiochimica (I:  $88\% \pm 7$  vs. II:  $88\% \pm 3$ ) del  $^{99m}\text{Tc}$ -HMPAO. Nei gruppi I e II, rispettivamente, il numero assoluto di neutrofili ( $159 \pm 106$  vs.  $177 \pm 79$  milioni), l'attività aggiunta alla sospensione leucocitaria calcolata come detto sopra ( $958 \pm 138$  vs.  $910 \pm 77$  MBq) non erano significativamente differenti. Nel gruppo I, l'efficienza di marcatura è risultata  $35.3\% \pm 11$  mentre nel gruppo II è risultata  $51.9\% \pm 10.4$ . Questi valori erano significativamente differenti ( $p < 0.002$ ). Inoltre, l'efficienza di marcatura correlava con il numero assoluto di neutrofili in entrambi i gruppi (gr. I:  $r = 0.5$ ,  $p < 0.001$ ; gr.2:  $r = 0.7$ ,  $p < 0.002$ ).

### Conclusioni

I nostri risultati indicano che:

- HmPAO può essere ricostituito con una attività di  $^{99m}\text{Tc}$  doppia rispetto a quella consigliata dal Produttore, senza compromettere la purezza radiochimica del prodotto finale;
- l'efficienza di marcatura (LE%) correla con il numero di neutrofili, ma è indipendente dalla purezza radiochimica del  $^{99m}\text{Tc}$ -HmPAO;
- l'impiego di un volume di distribuzione più piccolo, praticamente dimezzato (2.5 ml), permette di ottenere più elevate efficienze di marcatura;
- tra un'attività più elevata ed un minor volume di distribuzione, quest'ultima opzione sembra preferibile per ottenere una più alta efficienza di marcatura.

### DATI PRELIMINARI SULLA BIODISTRIBUZIONE E DANNO AL DNA DEL $^{99m}\text{Tc}$ -HA IN SISTEMI "IN VITRO" ED "IN VIVO"

A. Antoccia<sup>1</sup>, A. Banzato<sup>2</sup>, M. Bello<sup>3</sup>, D. Bollini<sup>4</sup>, D. Camporese<sup>5</sup>, F. De Notaristefani<sup>6</sup>,  
 U. Mazzi<sup>5</sup>, G. Moschini<sup>3</sup>, F. Navarria<sup>4</sup>, M. Riondato<sup>5</sup>, A. Rosato<sup>2</sup>, A. Sgura<sup>1</sup>, C. Tanzarella<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dip. Biologia, "Roma Tre"; <sup>2</sup>Dip. Sc. Oncologiche e Chirurgiche, Padova; <sup>3</sup>LNL, Padova; <sup>4</sup>INFN, Bologna;  
<sup>5</sup>Dip. Scienze Farmaceutiche, Padova; <sup>6</sup>INFN "Roma Tre"

e-mail: antoccia@uniroma3.it

Il Programma BIORET si pone l'obiettivo di determinare, in organismi routinariamente utilizzati quali il topo, la biodistribuzione *in vivo* di radiofarmaci marcati con  $^{99m}\text{Tc}$  e  $^{188}\text{Re}$ , di definirne l'attività relativa depositata sui diversi organi, la radio-risposta cellulare e successivamente l'effetto terapeutico su tumori epatici indotti nel topo mediante inoculo di cellule di fibrosarcoma murino.

Vengono qui riportati dati ottenuti durante una prima fase di sperimentazione utilizzando polimeri marcati con  $^{99m}\text{Tc}$ . È importante infatti acquisire dati circa la biodistribuzione di questo radioisotopo che ha proprietà chimiche molto simili a quelle del  $^{188}\text{Re}$ ; infatti si prevede di utilizzare una miscela di peptidi biospecifici o polimeri marcati sia con il  $^{99m}\text{Tc}$  che con il  $^{188}\text{Re}$  da inocularsi nei topi. Il contributo del  $^{99m}\text{Tc}$  sarà infatti quello di consentire l'imaging, in virtù della sua capacità di  $\gamma$ -emettitore, mentre il  $^{188}\text{Re}$ , un  $\gamma$ - e  $\beta$ -emettitore, contribuirà nel determinare danno al DNA e la morte delle cellule tumorali.

L'acido ialuronico (HA) è stato marcato con  $^{99m}\text{Tc}$  ed utilizzato sia per trattare *in vitro* cellule di fibrosarcoma murino M5076 sia per studiare la biodistribuzione nel ceppo murino C57/Bl.

Le cellule M5076 sono state innanzitutto caratterizzate per la presenza di recettori per HA utilizzando HA coniugato con il fluorocromo FITC. Per la valutazione dello stato funzionale della proteina oncosoppressore p53, le cellule sono trattate con 10 Gy di radiazioni di raggi-X e osservare che questa possa essere mutata nelle cellule M5076, similmente a quanto osservato in molti tipi di tumore. È stata inoltre valutata l'induzione di danno al DNA sottoforma di micronuclei: le cellule M5076 risultavano altamente sensibili ai raggi-X (0,25-2 Gy) mentre non si

osservava effetto con  $^{99m}\text{Tc}$ -HA (184-834 mCi). Un saggio di sopravvivenza a 24, 48 e 72 ore in cellule trattate con 10 Gy di radiazioni conferma che tali cellule sono sensibili ai raggi-X.

Nella sperimentazione *in vivo* l'analisi scintigrafica condotta mediante YAP camera ha evidenziato un rapidissimo accumulo e la ritenzione del tracciante radioattivo a livello epatico. Con il progredire del tempo un debole segnale scintigrafico si evidenzia anche a livello vescicale ed è verosimilmente dovuto alla degradazione dell'HA ed alla formazione di oligomeri che passano il filtro renale. I risultati scintigrafici indicano che un potenziale radiofarmaco costituito da HA legato al  $^{188}\text{Re}$  potrebbe avere interessanti risvolti terapeutici verso tumori a prevalente localizzazione epatica.

Programma BIRET- Finanziato INFN.

### AUMENTO DELL'ATTIVITA' SPECIFICA E PROVE DI STABILITA' DI $^{90}\text{Y}$ -DOTATOC

Cristina Puggioni, Marco Chinol, Stefano Papi, Giovanni Tesoriere, Giovanni Paganelli

*Istituto Europeo di Oncologia, Divisione di Medicina Nucleare, Milano*

e-mail: cristinapuggioni@libero.it

Nella terapia radionuclidica mediata da recettori il composto di riferimento è il DOTATOC, peptide analogo della somatostatina, marcato con  $^{90}\text{Y}$ . La marcatura dev'essere effettuata con alta attività specifica, al fine di portare una elevata dose anche nei tumori con una bassa densità recettoriale, e minimizzare la quantità di peptide somministrata, onde limitarne gli effetti biologici. La degradazione radiolitica del composto marcato è il pericolo principale in cui si incorre quando si vada ad aumentarne l'attività specifica; pertanto viene aggiunto alla miscela di reazione uno stabilizzatore, l'acido genticico, atto a prevenire questo fenomeno. Nel caso in cui la resa di marcatura risultasse inferiore al 98%, la quantità di  $^{90}\text{Y}$  libero sarebbe tale da provocare effetti collaterali dannosi dopo la somministrazione. Per complessare quindi il radionuclide eventualmente rimasto libero viene aggiunto DTPA alla soluzione.

Il primo punto del nostro studio si è rivolto all'aumento dell'attività specifica del radiofarmaco. Routinariamente la marcatura del DOTATOC con  $^{90}\text{Y}$  viene condotta con attività specifica di 52 MBq/nmole di peptide, con resa di marcatura intorno al 99%. Nel nostro esperimento abbiamo spinto la marcatura fino a rapporti di 104, 520, 1040 MBq/nmole. I campioni sono stati incubati a T ambiente in soluzione salina, in presenza o assenza di acido genticico, in modo da poter valutare l'effettiva efficacia di questa sostanza nel prevenire la degradazione radiolitica del farmaco nelle 48 ore. La seconda parte dello studio si è rivolta alla valutazione della competizione del DTPA, aggiunto dopo la marcatura per chelare l'eventuale  $^{90}\text{Y}$  libero, nei confronti dell' $^{90}\text{Y}$ -DOTATOC. Campioni di radiofarmaco marcato ad attività specifica 52 MBq/nmole sono stati incubati in diversi rapporti molari DTPA:DOTATOC (0,1,1,10,100) a 37°C ed analizzati dopo 24 e 48 ore, per verificare le quantità relative di  $^{90}\text{Y}$ -DOTATOC e  $^{90}\text{Y}$ -DTPA eventualmente formatosi. Le rese di marcatura sono state valutate con cromatografia solido-liquido mediante colonna cromatografica Sep-Pak Cartridge C18 a fase inversa (eluenti metanolo e tampone acetato a pH 5,5); la stabilità del radiofarmaco nel tempo e la competizione con DTPA sono state monitorate mediante FPLC con colonna in fase inversa (Resource RPC 1 ml, dimensione delle particelle 15  $\mu\text{m}$ ) collegata con radiodetector (Flow scintillation analyzer, Radiomatic 150). E' stato usato un metodo a gradiente lineare usando una soluzione di acqua distillata con 0,1% TFA (solvente A) e acetonitrile (solvente B). Gli eluenti sono distribuiti con un flusso di 3 ml/min partendo da 0% di solvente A al 100% di solvente B in 37 minuti.

I risultati ottenuti dalla prima parte dello studio hanno mostrato per quanto riguarda il campione con rapporto di marcatura 104 MBq/nmole una resa del 99%; il campione con rapporto di marcatura 520 MBq/nmole ha avuto una resa dell'80%, mentre il campione con rapporto 1040 MBq/nmole si è marcato solo per il 16,5% ed è quindi stato scartato. I campioni considerati sono rimasti stabili nelle 48 ore ed in quelli incubati con acido genticico non si sono riscontrati prodotti di degradazione. E' quindi stato dimostrato che, previa aggiunta di acido genticico, efficace come radical scavenger nel prevenire o comunque limitare la formazione di prodotti di degradazione, la marcatura del DOTATOC con  $^{90}\text{Y}$  può essere spinta fino ad un'attività specifica di 104 MBq/nmole. Nella seconda parte dello studio si è appurato che un eccesso di DTPA può essere aggiunto dopo la marcatura come chelante nei confronti di  $^{90}\text{Y}$  libero senza compromettere la stabilità del radiofarmaco: infatti il DTPA non è in grado di transchelare l' $^{90}\text{Y}$  già coniugato col DOTATOC.

Questi risultati apportano un miglioramento all'utilizzo di  $^{90}\text{Y}$ -DOTATOC in terapia.

## SINTESI "ON-COLUMN" DI [<sup>18</sup>F]FLUOROCOLINA: MIGLIORAMENTI E IMPLEMENTAZIONE DEL METODO SU UN MODULO COMMERCIALE

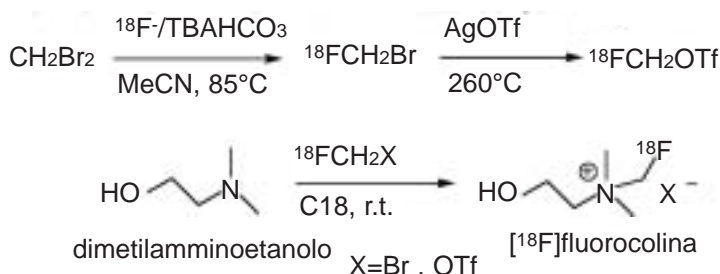
Claudio Pascali, Anna Bogni, Emilio Bombardieri

Istituto Nazionale dei Tumori – Milano

e-mail: claudio.pascali@istitutotumori.mi.it

Nella seconda metà degli anni '90 la Tomografia ad Emissione di Positroni (PET) con [<sup>11</sup>C]colina ha evidenziato la notevole potenzialità di questo tracciante per lo studio dei tumori cerebrali e della prostata. Alla luce dei positivi risultati ottenuti si cercò ben presto di superare i limiti imposti dal breve tempo di emivita T<sub>1/2</sub> del <sup>11</sup>C (20.3 min) creando analoghi della colina marcati con <sup>18</sup>F (T<sub>1/2</sub> = 109.8 min). Recentemente è stata sviluppata una sintesi di [<sup>18</sup>F]fluorocolina che combina i vantaggi della sintesi "on-column" di [<sup>11</sup>C]colina<sup>1</sup> con l'impiego del nuovo agente alchilante [<sup>18</sup>F]FCH<sub>2</sub>OTf.<sup>2</sup>

L'uso di uno ione "triflato" come gruppo uscente, ben più reattivo di un alogenuro, permette di far fluire più velocemente <sup>18</sup>FCH<sub>2</sub>X attraverso il precursore



precursore <sup>18</sup>FCH<sub>2</sub>X attraverso il precursore dimetilamminoetanolo precedentemente caricato su un Sep-Pak C18. Il guadagno in termini di durata del processo si traduce in un miglioramento della resa radiochimica. Nel caso del <sup>18</sup>F, un risparmio di 8-10 min equivale a circa un 5-6% di attività non persa per decadimento. La colonna di AgOTf supportata su grafite comporta però una maggior complessità del sistema in quanto deve esse-

re preparata *ad hoc* in laboratorio e richiede anche una certa attenzione per un suo corretto impiego ripetuto nel tempo.

Alla luce di questo fatto si è cercato di migliorare la reazione a partire da [<sup>18</sup>F]FCH<sub>2</sub>Br allo scopo di rendere la sintesi più facile da gestire da un punto di vista routinario. Per la stessa ragione, l'intero processo è stato adattato ed implementato su un modulo di sintesi commerciale. Comunque, per ragioni di flessibilità operativa, il sistema è stato costruito in maniera tale da lasciare aperta la possibilità di operare a partire [<sup>18</sup>F]FCH<sub>2</sub>OTf.

Le modifiche apportate, che includono: a) impiego di reattori in vetro trattati con agente siliconizzante;<sup>3</sup> b) sostituzione del K<sub>2</sub>.2.2./K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> con TBAHCO<sub>3</sub>; c) ottimizzazione del processo di drying del [<sup>18</sup>F]fluoruro e delle temperature dell'intero processo in generale; d) aumento della quantità di CH<sub>2</sub>Br<sub>2</sub>; e) diminuzione del flusso di distillazione del [<sup>18</sup>F]FCH<sub>2</sub>Br, e f) sostituzione dei Sep-Paks di silica con una colonnina 50x6mm di silica gel per cromatografia flash (0.015-0.040mm), hanno permesso di svolgere l'intera sintesi di [<sup>18</sup>F]fluorocolina a partire da [<sup>18</sup>F]fluoruro in 39 min con una resa radiochimica, corretta per il decadimento a SOS, di 21%. La purezza radiochimica è risultata >99% ed il prodotto è risultato esente da CH<sub>2</sub>Br<sub>2</sub>. Il grado di incorporazione del [<sup>18</sup>F]FCH<sub>2</sub>Br nel prodotto è stato pari al 50%.

### Bibliografia

- 1) Pascali C. et al. *J. Labelled Cpd. Radiopharm.* **43**, 195-203 (2000).
- 2) Iwata R. et al. *Appl. Radiat. Isot.* **57**, 347-352 (2002).
- 3) Bogni A. et al. *J. Radioanalytical Nucl. Chem.* **230**, 45-50 (1998).

**IMAGING FUNZIONALE CARDIACO: SINTESI E VALUTAZIONE BIOLOGICA DI UN TRACCIANTE DI PERFUSIONE IDEALE**

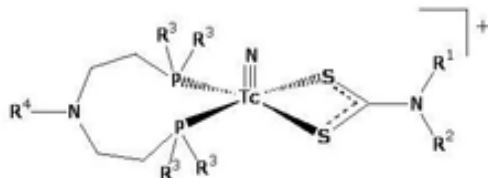
Alessandra Boschi,<sup>1</sup> Licia Uccelli,<sup>1</sup> Nicola Sabba,<sup>1</sup> Elena Moretti,<sup>1</sup> Guido Zavattini,<sup>2</sup> Giovanni Di Domenico,<sup>2</sup> Emiliano Cazzola,<sup>1</sup> Adriano Duatti,<sup>1</sup> Melchiorre Giganti<sup>1</sup>

<sup>1</sup>) *Laboratorio di Medicina Nucleare, Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale, Università di Ferrara, Ferrara,*

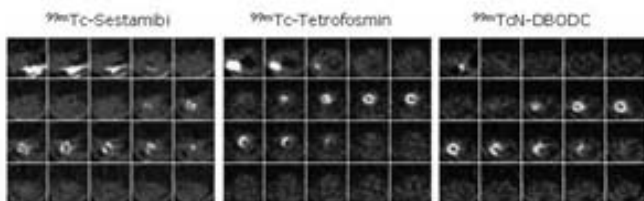
<sup>2</sup>) *Dipartimento di Fisica, Università di Ferrara, Ferrara*  
e-mail: czzmln@unife.it

L'imaging funzionale cardiaco costituisce uno dei settori di maggior successo della medicina nucleare. Attualmente, i complessi <sup>99m</sup>Tc-Sestamibi e <sup>99m</sup>Tc-Tetrofosmin sono i due agenti del Tc-99m commercialmente disponibili per la valutazione della perfusione cardiaca nei pazienti. Sebbene la loro utilità in ambito clinico sia ormai fuori discussione, occorre sottolineare che le proprietà biologiche di questi traccianti sono assai lontane da quelle che sono ritenute ideali per questa classe di radiofarmaci.

In questo lavoro, viene presentata una nuova classe di traccianti di perfusione cardiaca del Tc-99m, che mostrano proprietà assai vicine a quelle di un tracciante ideale. La struttura chimica di questi composti è mostrata in Figura 1. I complessi mostrano una peculiare struttura asimmetrica in cui due leganti bidentati differenti sono coordinati allo stesso centro metallico. La sfera di coordinazione è completata dalla presenza di un forte legame multiplo terminale tecnezio-azoto. La carica totale è +1.



La valutazione biologica preliminare è stata condotta utilizzando il ratto come modello e confrontando le proprietà di questa nuova classe di traccianti con quelle degli agenti commerciali <sup>99m</sup>Tc-Sestamibi e <sup>99m</sup>Tc-Tetrofosmin. I risultati mostrano che la velocità di eliminazione dell'attività localizzata nei polmoni e nel fegato è assai maggiore per i nuovi traccianti rispetto a quelli commerciali, mentre l'attività accumulata nel cuore risulta dello stesso ordine di grandezza.



In Figura 2 sono riportate le immagini tomografiche ottenute nel ratto con uno scanner per piccoli animali YAP(S)PET e illustrano il confronto fra gli agenti commerciali e uno dei nuovi agenti chiamato <sup>99m</sup>TcN-DBODC. Risulta evidente come la qualità delle immagini ottenute con il nuovo tracciante sia superiore a quella mostrata dai complessi <sup>99m</sup>Tc-Sestamibi e <sup>99m</sup>Tc-Tetrofosmin.

In conclusione, i risultati descritti nel presente lavoro indicano che la nuova classe di agenti per l'imaging funzionale del miocardio possiede proprietà biologiche superiori rispetto ai radiofarmaci in uso e può essere potenzialmente utile per lo sviluppo di traccianti cardiaci dal comportamento quasi ideale.