

No. 33, 2003

# nucleus

ISBN 0864-084X

**Publicación semestral**

Agencia de Energía Nuclear y Tecnologías de Avanzada en Cuba

**Ministerio de Ciencia, Tecnología y Medio Ambiente**

En éste número:

Memorias del Segundo Seminario  
Internacional y Segundo Taller Nacional  
**Uso y desarrollo de productos de la  
industri isotópica para la salud**

Centro de Isótopos, La Habana, Cuba 2002

# EDITORIAL

## IV REUNIÓN DEL ÓRGANO DE COORDINACIÓN TÉCNICA DE ARCAL

Del 23 al 27 de Junio se celebrará en nuestro país por primera vez la IV Reunión del Órgano de Coordinación Técnica del Acuerdo Regional de Cooperación para la Promoción de la Ciencia y Tecnología Nucleares en América Latina y El Caribe, conocido por las siglas ARCAL, donde se reunirán los coordinadores nacionales de todos los países participantes, personalidades invitadas del OIEA y representantes de otras organizaciones e instituciones internacionales que colaboran con este Programa.

En este encuentro serán analizados dos aspectos de suma importancia para el desarrollo futuro de ARCAL: la Propuesta de Modificación del Manual de Procedimientos y la nueva versión del Plan de Cooperación Regional (PCR) para el período 2005-2010.

A principios de la década del 80, los cinco países del Grupo Andino (Bolivia, Colombia, Ecuador, Perú y Venezuela) iniciaron gestiones con el objetivo de establecer actividades de cooperación en temas nucleares de interés mutuo. Para ello canalizaron la iniciativa al Organismo Internacional de Energía Atómica (OIEA), quien aceptó auspiciar, patrocinar y coordinar las actividades con el fin de extenderlas a la mayor cantidad posible de países de la región. A fines de la década del 90 los países Miembros destacaron la importancia de formalizar el Acuerdo, no solamente en el ámbito de Comisiones de Energía Atómica sino a nivel de Estado y dejaron asentada su participación en él.

Hoy el Acuerdo Regional de Cooperación para la Promoción de la Ciencia y Tecnología Nucleares en América Latina y el Caribe, está integrado por 20 Estados Miembros.

ARCAL es un programa que se basa principalmente en la cooperación horizontal, técnica y económica entre los países de la Región de Latinoamérica y del Caribe, con el fin de promover el uso de las diversas técnicas nucleares y conexas, así como de sus aplicaciones con fines pacíficos. Su misión fundamental es la de proporcionar un mecanismo idóneo para el encuentro y discusión periódicos, entre profesionales que trabajan en el área nuclear, sobre los logros producidos en la región. Particularmente en la fase de trabajo actual de este programa el objetivo principal es incrementar el impacto económico y social de los resultados de los proyectos, centrar los esfuerzos en la solución de problemas comunes para los países de América Latina y el Caribe, compartir las infraestructuras, intercambiar especialistas y dirigir los esfuerzos hacia el autosostenimiento del programa.



El impacto logrado por este acuerdo en el marco nacional se destaca en los siguientes aspectos: mejoramiento de la calidad de los servicios de radioterapia y medicina nuclear, incremento de la seguridad radiológica para diferentes prácticas, consolidación y elevación de la calidad de los servicios de reparación y mantenimiento de instrumentación nuclear y conexas, fortalecimiento e incremento de la calidad de servicios analíticos de alto valor agregado, introducción de nuevas técnicas para el diagnóstico industrial y para la gestión óptima de suelo, agua y fertilizantes, obtención de nuevas variedades agrícolas resistentes a plagas y enfermedades, y capacitación y especialización de profesionales.

Como se aprecia los principales sectores para la colaboración en ARCAL son salud, agricultura, hidrología, industria, energética, seguridad nuclear y protección radiológica.

El Acuerdo Regional de Cooperación para la Promoción de la Ciencia y Tecnología Nucleares en América Latina y el Caribe constituye un instrumento eficaz en el establecimiento y cooperación técnica en diferentes esferas, además contribuye con el desarrollo económico y social de los países en desarrollo de la región que se verá perfeccionado en esta nueva fase de trabajo.

Angelina Díaz García  
Presidenta de la Agencia de Energía Nuclear y Tecnologías de Avanzadas

# SUMARIO

## PANORAMA NUCLEAR

<b>El Centro de Isótopos y el mercado de radionúclidos y radiofármacos</b> <i>José Morín Zorrilla, Jorge Cruz Arencibia, Luis Ducat Pagés, Saúl Pérez Pijuán, Héctor Rivero Verdía</i> .....	4
<b>Instalaciones de producción de radiofármacos y aseguramiento de la calidad en CENTIS.</b>	
<b>Desarrollo y perspectivas</b> <i>Jorge Cruz Arencibia</i> .....	10
<b>Situación actual y propuesta de desarrollo de la medicina nuclear</b> <i>Juan P. Oliva González</i> .....	17
<b>Producción de generadores radisotópicos en el Centro de Isótopos</b> <i>Abmel Xiques Castillo</i> .....	21
<b><sup>123</sup>I: Una opción viable para la medicina nuclear cubana</b> <i>Luis Ducat Pagés</i> .....	26
<b>La radiosinovioresis en el tratamiento de las artropatías reumáticas</b> <i>Enrique García Rodríguez</i> .....	34
<b>Los efectos de las radiaciones ionizantes y las posibilidades de su detección mediante indicadores biológicos</b> <i>Omar García</i> .....	37
<b>CIENCIAS NUCLEARES</b>	
<b>Irradiación intracoronaria con renio 188 para reducir la restenosis después de la angioplastia coronaria. Resultados preliminares</b> <i>Amalia Peix, Lorenzo Llerena, Felizardo Ponce, Adlin López, Israel Guerrero, Leonardo López, Lázaro Omar Cabrera, Ana Ma. Maltas, Regla Carrillo, Ibelice Salgado, Ajit K. Padhy</i> .....	41
<b>Valores S a niveles de voxel para el renio 188 y yodo 90 calculado con el código mcnp-4c</b> <i>Marco Antonio Coca Pérez, Leonel Alberto Torres Aroche, Néstor Cornejo Díaz, Guido Martín Hernández</i> .....	49
<b>Estudio del reconocimiento in vivo de los tumores de origen epitelial por los anticuerpos monoclonales ior C5, ior egf/r3 y hR3 humanizado, mediante la técnica de inmunogammagrafía</b> <i>Mayra Ramos Suzarte, Nelson Rodríguez Mesa, Juan P. Oliva González, Normando Iznaga Escobar, Alejandro Perera Pintado, Leonel Torres Aroche, Juan Batista Cuellar, Elia Neninger, Nery González Lazo, Teresa Cruz, Ibrahim Leonard, Olga Torres Gemil, Teresita Rodríguez Obaya, Rolando Pérez Rodríguez</i> .....	54
<b>Marcaje del anticuerpo monoclonal humanizado h-R3 con <sup>188</sup>Re</b> <i>Alejandro Perera, René Leyva, Regla Gamboa, Leydis Alberdi, Abmel Xiques</i> .....	64
<b>Sinovioresis con fosfato crómico, sin restricción de edad, como primera opción de tratamiento para la sinovitis crónica activa del paciente hemofílico</b> <i>Adolfo Llinás, M. Silva, M. Duarte, P. Cuervo, D. Niño, G. Ucros, A.M. Cerquera, P. Bernal</i> .....	69
<b>Evaluación in vivo de tres radiofármacos diferentes marcados con tecnecio para la identificación del nodo linfático centinela</b> <i>Martín M. Edreira, Lucas L. Colombo, Juan H. Pérez, Elisa O. Sajaroff, Silvia G. de Castiglia</i> .....	80
<b>Fosfato crómico [<sup>32</sup>P]. Preparación y aplicaciones</b> <i>Tamara Taylor Delgado, Ahmed Cruz Morales, José Morín Zorrilla</i> .....	85
<b>Revistas nucleares de impacto</b> .....	90
<b>Instrucciones a los autores</b> .....	91

## CONSEJO EDITORIAL

Doctor en Ciencias Físicas Luis Felipe Desdín García, Master en Ciencias Físico-Matemáticas Manuel Fernández Rondón, Doctor en Ciencias Biológicas Omar García Lima, Doctor en Ciencias Químicas José Morín Zorrilla, Master en Ingeniería Nuclear Ramón Rodríguez Cardona, Doctor en Ciencias Ramón B. Pomés Hernández.

**Director:** Manuel Fernández Rondón / **Editor Jefe:** Jorge Alvarado Cartaya / **Redactor Técnico:** Marta Contreras Izquierdo / **Edición:** Dulce María García Medina / **Diseño:** Marietta Fernández Martín / **Composición:** Magaly Cruz Jorge / **Fotografía:** Pablo Massip Ginestá / **Traducción:** Odalys González, Marietta Crespo / **Referencias:** Katia González Sánchez / **Fotomecánica:** Alain Ciérvides Sánchez / **Producción:** Adolfo Estévez González, Ricardo Gavilla Moreno / **Encuadernación:** María Cristina Herrera Rosell / **Canje:** Iraida Oviedo Rivero.

Revista arbitrada. Referenciada en la Base de Datos INIS.

Publicación semestral de la Agencia de Energía Nuclear y Tecnologías de Avanzada del Ministerio de Ciencia, Tecnología y Medio Ambiente (CITMA).

Edición e Impresión: Cubaenergía / Calle 20 No. 4111-4113 e/ 18A y 47, Playa, Ciudad de La Habana, Cuba, CP 11300/ Apartado Postal 6317 y 6318 / Tel.: (537)2027527 / Fax: (537)204 1188 / c.e.: nucleus@cubaenergía.cu

Inscripta como impreso periódico. Registro Nacional de Publicaciones Seriadas No. 0061. Inscripta en la Dirección de Correos y Telégrafos con el No. 94021/184.

# SUMMARY

## NUCLEAR OUTLOOK

<b>The Isotope Center and the radiopharmaceuticals and radionuclides market</b> <i>José Morín Zorrilla, Jorge Cruz Arencibia, Luis Ducat Pagés, Saúl Pérez Pijuán, Héctor Rivero Verdía</i> .....	4
<b>Facilities for production of radiopharmaceuticals and quality assurance at CENTIS. Development and perspectives</b> <i>Jorge Cruz Arencibia</i> .....	10
<b>Present situation and proposal for nuclear medicine development</b> <i>Juan P. Oliva González</i> .....	17
<b>Production of radioisotope generators at the Isotope Center</b> <i>Abmel Xiques Castillo</i> .....	21
<b><sup>123</sup>I: aviable option for the cuban nuclear medicine</b> <i>Luis Ducat Pagés</i> .....	26
<b>Radiosynovior thesis in the treatment of rheumatic arthropathies</b> <i>Enrique García Rodríguez</i> .....	34
<b>Effects of ionizing radiations and possibilities of their detection by means of biological indicators</b> <i>Omar García</i> .....	37

## NUCLEAR SCIENCES

<b>Intracoronary irradiation with rhenium-188 to reduce restenosis following a coronary angioplasty. Preliminary results</b> <i>Amalia Peix, Lorenzo Llerena, Felizardo Ponce, Adlin López, Israel Guerrero, Leonardo López, Lázaro Omar Cabrera, Ana Ma. Maltas, Regla Carrillo, Ibelice Salgado, Ajit K. Padhy</i> .....	41
<b>S values at voxels level for <sup>188</sup>Re and <sup>90</sup>Y calculated with the MCNP-4C code</b> <i>Marco Antonio Coca Pérez, Leonel Alberto Torres Aroché, Néstor Cornejo Díaz, Guido Martín Hernández</i> .....	49
<b>Study on in vivo examination of tumors of epithelial origin for the monoclonal antibodies ior c5, ior egf/r3 and humanized hr3, by using inmunogammagraphy technique</b> <i>Mayra Ramos Suzarte, Nelson Rodríguez Mesa, Juan P. Oliva González, Normando Iznaga-Escobar, Alejandro Perera Pintado, Leonel Torres Aroche, Juan Batista Cuellar, Elia Neninger, Nery González Lazo, Teresa Cruz, Ibrahim Leonard, Olga Torres Gemil, Teresita Rodríguez Obaya, Rolando Pérez Rodríguez</i> .....	54
<b>Labeling of humanized monoclonal H-R3 antibody with <sup>188</sup>RE</b> <i>Alejandro Perera, René Leyva, Regla Gamboa, Leydis Alberdi, Abmel Xiques</i> .....	64
<b>Chromic phosphate synoviorthesis without age restriction, as a first option for treatmente of chronic active hemophilic sinovitis</b> <i>Adolfo Llinás, M. Silva, M. Duarte, P. Cuervo, D. Niño, G. Ucros, A.M. Cerquera, P. Bernal</i> .....	69
<b>In vivo evaluation of three different technetium-labeled radiopharmaceuticals for sentinel lymph node identification</b> <i>Martín M. Edreira, Lucas L. Colombo, Juan H. Pérez, Elisa O. Sajaroff, Silvia G. de Castiglia</i> .....	80
<b>Chromic phosphate [<sup>32</sup>P]. Preparation and aplications</b> <i>Tamara Taylor Delgado, Ahmed Cruz Morales, José Morín Zorrilla</i> .....	85
<b>Highly rated nuclear journals (impact factor ratings)</b> .....	90
<b>Information for authors</b> .....	91

## EL CENTRO DE ISÓTOPOS Y EL MERCADO DE RADIONÚCLIDOS Y RADIOFÁRMACOS

José Morín Zorrilla, Jorge Cruz Arencibia, Luis Ducat Pagés, Saúl Pérez Pijuán, Héctor Rivero Verdía

Centro de Isótopos, Ciudad de La Habana, Cuba

### Resumen

En el trabajo se exponen las ideas que el colectivo científico-productivo del Centro de Isótopos tiene con relación a los productos y servicios que debe incorporar a corto y a mediano plazos en la práctica médica, las líneas de investigación-desarrollo que en la institución se consideran prioritarias como soporte de lo anterior, y las valoraciones y acciones que se emprenden para renovar o modernizar la infraestructura tecnológica. Se examinan asimismo los distintos actores que intervienen en el proceso de producción y distribución de radiofármacos y las medidas que se toman o recomiendan para optimizarlo. El propósito es someter estas consideraciones al análisis de la comunidad médico-nuclear del país, a los efectos de conformar el plan de desarrollo perspectivo de la institución.

### THE ISOTOPE CENTER AND THE RADIOPHARMACEUTICALS AND RADIONUCLIDES MARKET

### Abstract

This work deals with the ideas of a group of scientists and researchers from the Isotope Center regarding short- and medium-term inclusion of its products and services in medical practice, the research and development projects considered as high-priority for the institution, in support of above-mentioned, and the assessment and actions aimed at updating or modernizing technological infrastructure. The different elements having a bearing on production of radiopharmaceuticals and distribution process and measures adopted or recommended to optimize it, are also considered. The purpose is to subject these considerations to the analysis of the national medical-nuclear community in order to elaborate the institution's perspective development plan.

*Palabras clave: nuclear medicine; isotope applications; therapeutic uses; production; trade; institutional factors; diagnostic uses; national government*

### INTRODUCCIÓN

En estrecha relación con la industria farmacéutica, que está siempre en busca de moléculas líderes, la ingeniería genética y la biotecnología continúan aportando a la medicina nuevos medios diagnósticos y terapéuticos y nuevas vacunas, lo que hace pensar que la salud pública de los próximos años seguirá fuertemente dominada por la genética y la farmacología. La medicina nuclear con su creciente papel en la práctica clínica y su contribución al conocimiento de los procesos moleculares, base de las enfermedades, es presumible esté en el centro de estos desarrollos y aplicaciones. El hecho que una de cada tres personas que ingresa en un hospital de Estados Unidos, para tomar una referencia, sea como promedio sometida a investigación o tratamiento por procedimientos de medicina nuclear, y la obtención de imágenes por Tomografía de Emisión Positrónica (PET), de importancia en la investigación de la terapia génica, son ejemplos de esta valoración.

Asimismo, la terapia radionuclídica se continúa abriendo paso, gracias a los resultados obtenidos con los productos ya registrados y las evaluaciones en curso de los numerosos ensayos clínicos que se llevan a cabo con anticuerpos monoclonales, fragmentos de estos anticuerpos y péptidos entre otras moléculas portadoras. No obstante lo anterior, el futuro de la medicina nuclear, su pertinencia como especialidad, es objeto de permanente debate, lo que agudiza las críticas en los países pobres, donde, los escasos fondos disponibles se destinan, como regla, a otras alternativas imagenológicas. La inevitable asociación con los efectos de las bombas arrojadas sobre Hiroshima y Nagasaki y a los ensayos nucleares, da lugar a que en ocasiones se señalen más los peligros que los beneficios. Uno de los temas fundamentales que se analiza en este contexto, es en qué medida se asegurará el suministro de radiofármacos y como base de estos, el de radionúclidos.

### LAS FUENTES DE RADIONÚCLIDOS

Dos tecnologías se utilizan para la producción de radionúclidos: el bombardeo de sustancias con neutrones en reactores nucleares y con partículas cargadas en aceleradores de partículas. Los reactores, requieren inversiones del orden de cientos de millones de dólares, importantes recursos de operación y generan apreciables desechos radiactivos.

Los ciclotrones, aceleradores de partículas más usados con fines de producción de radionúclidos, son mucho más baratos y seguros, con menores costos de operación, y dan lugar a volúmenes significativamente menores de desechos. Como regla, los radionúclidos ricos en protones producidos en ciclotrones tienen vida media más corta que los radionúclidos ricos en neutrones producidos en reactores, que pueden ser por tanto convenientemente importados como el  $^{99m}\text{Tc}$  base de los generadores de  $^{99m}\text{Tc}$ , pilar principal de la medicina nuclear diagnóstica. Por otra parte se observa que buena parte de las aplicaciones actuales más significativas se basan en radionúclidos de vida media muy corta, producidos en ciclotrones. Sirvan de ejemplo el  $^{18}\text{F}$  y el  $^{123}\text{I}$ . Aunque los costos de inversión y la operación de instalaciones primarias de producción son importantes, estas tienen la ventaja en este último caso, de asegurar el suministro.

No obstante a pesar de existir un número de compañías, firmas de mediana fuerza y centros de investigación-desarrollo que comercializan radionúclidos y radiofármacos, hay un grupo de empresas líderes, que controlan buena parte del mercado y que son Nordion International de Canadá, con más del 50% mercado mundial, reactores y ciclotrones en Canadá y Europa dedicados exclusivamente a la producción; Mallinkrodt de Estados Unidos con un 25% del mercado de  $^{99m}\text{Tc}$ , reactores y ciclotrones en Holanda y facilidades de procesamiento en San Luis, Estados Unidos; Amersham de Inglaterra con ciclotrones y facilidades de producción en Europa, Estados Unidos, Japón y China, la Comisión de Energía Atómica de Sudáfrica con un reactor de 20 MW y eficientes instalaciones de procesamiento. Entre las firmas de mediana fuerza y los institutos de investigación devenidos en empresas comercializadoras, podemos considerar a Schering-CisBio, de Francia, Izotop de Hungría, Sorin de Italia, entre otras.

Dos preguntas son dominantes en este asunto:

- ¿Habrá suficiente demanda a mediano y largo plazos, o dicho de otro modo, tiene futuro la medicina nuclear?
- ¿Las capacidades instaladas o previstas estarán en posibilidad de satisfacer esas demandas?

Con relación a la última pregunta, hay opiniones divergentes, pero en general se acepta, que la

demanda puede ser asegurada, aunque depende a su vez del desarrollo que tenga la Medicina Nuclear, de sus perspectivas a escala global.

### EL ESCENARIO CUBANO

El suministro eficaz y seguro de radiofármacos, kits de radioinmunoanálisis y servicios especiales de marcaje con base a radionúclidos en el país, está entre las misiones del Ministerio de Ciencia, Tecnología y Medio Ambiente (CITMA), que cuenta con un centro productor especializado, el Centro de Isótopos (CENTIS), un centro relacionado con la protección de los trabajadores y el medio ambiente, el Centro de Protección e Higiene de las Radiaciones (CPHR), ambos de la Agencia de Energía Nuclear y Tecnologías de Avanzada (AEN & TA), una empresa comercial, ISOCOMER, encargada de la importación de las sustancias radiactivas, y el Centro Nacional de Seguridad Nuclear (CNSN), de subordinación central, autoridad regulatoria en materia de uso de las radiaciones. Los sectores destino son los Servicios de Oncología, Medicina Nuclear y Endocrinología del Ministerio de Salud Pública (MINSAP) y centros hospitalarios y de investigación clínica, adscritos al Consejo de Estado, las Fuerzas Armadas Revolucionarias (MINFAR) y el Ministerio del Interior (MININT). La empresa SERVICEX del Consejo de Estado, realiza funciones similares a las de ISOCOMER en beneficio de algunos de estos centros.

La industria radiofarmacéutica nacional está sujeta a las regulaciones para el uso de sustancias radiactivas bajo la supervisión del CNSN, y de Buenas Prácticas de Manufactura, bajo la supervisión del Centro para el Control Estatal de la Calidad de los Medicamentos (CECMED), adscrito al MINSAP. Asimismo, la instrumentación necesaria como las cámaras gamma, base de las aplicaciones clínicas, está también vinculada a empresas de compra, y a centros de servicio y regulación del MINSAP en este caso. Todo lo anterior, junto a la transportación aérea internacional y las labores aduanales, conforman el conjunto de actores principales de las aplicaciones médicas en nuestro país.

### PROYECCIÓN DE LA INDUSTRIA NACIONAL DE RADIOFÁRMACOS

En una proyección de la industria nacional de radiofármacos hay que tener en cuenta los siguientes factores:

- La demanda actual y perspectiva.
- La infraestructura tecnológica (equipos de obtención de imágenes).
- Consideraciones generales.

El mercado cubano de radiofármacos y demás productos radiactivos para la medicina nuclear, se ha caracterizado por un modesto, pero sostenido

crecimiento en los consumos del grupo de productos producidos en CENTIS, hasta alcanzar un determinado nivel estable y una restricción también sostenida en productos fuera de la nomenclatura de este centro, en lo fundamental por razones financieras. A medida que el productor nacional incorpora a su nomenclatura, productos importados anteriormente, se aprecia de inmediato un crecimiento del consumo. La producción nacional, a nuestro parecer, ha permitido asegurar una base razonable de productos no exenta por supuesto, de fallas. Hay que considerar en una valoración actual de perspectivas las siguientes circunstancias:

- La apertura y reapertura de servicios de medicina nuclear.
- El inicio de un programa prospectivo de renovación del equipamiento de obtención de imágenes.
- La necesidad de incorporar técnicas de medicina nuclear en sectores de investigación de avanzada: Oncología, Cardiología, eurociencias.

Urge pues examinar en detalle las necesidades y posibilidades para optimizar el suministro y el uso de estos productos.

### LOS PRODUCTOS CENTIS. ACTUALIDAD Y PERSPECTIVAS

De manera sucinta y precisa:

- Como primera valoración, se debe mantener el suministro de los siguientes productos de la actual nomenclatura:  $^{131}\text{I}$  en forma de yoduro en solución oral,  $^{131}\text{I}$ -iodohipurato sódico,  $^{131}\text{I}$ -MIBG para diagnóstico,  $^{32}\text{P}$  en forma de ortofosfato en solución inyectable, y  $^{201}\text{Tl}$  en forma de cloruro, también en solución inyectable, los kits liofilizados MIBI, DTPA, MAG3, DMSA, MDP, pirofosfato y fitato.

- Entre los productos a incorporar de manera más inmediata y en orden de prioridades estarían: los generadores de  $^{99}\text{Mo}$ - $^{99\text{m}}\text{Tc}$ , el kit de ECD, los kits de ior/gf R3e ior- CEA para Inmunocentelleografía, solución inyectable de  $^{90}\text{Y}$ .

- En un segundo plano por requerir aún investigación-desarrollo estarían: La formulación terapéutica de  $^{131}\text{I}$ -MIBG, la solución coloidal de Fosfato Crómico- $^{32}\text{P}$ , la solución inyectable de  $^{90}\text{Y}$ , la solución inyectable de  $^{188}\text{Re}$ , kit liofilizado para diagnóstico de infección (Ciprofloxacina), el kit liofilizado para perfusión pulmonar (macroagregados de albúmina o fitato de calcio coloidal).

- En una perspectiva menos inmediata estarían las formulaciones de anticuerpos monoclonales, fragmentos de anticuerpos y péptidos para inmunocentelleografía y Radioinmunoterapia.

Los diseños de nuevas formulaciones de radiofármacos, estarán siempre condicionados a la disponibilidad de radionúclidos, lo que debe ser, a nuestro juicio, premisa en las líneas de investigación-desarrollo en este campo. Atención especial merecen los radiofármacos asociados a terapia radionuclídica, por el número limitado de los radionúclidos disponibles a corto plazo, por lo que las evaluaciones de dosis, el estudio detallado de sus efectos y la optimización en suma de su uso, son temas de particular interés investigativo. La instalación de un ciclotrón daría otra dimensión a este análisis y sería oportuno reflexionar sobre el tema, en el marco de algunas consideraciones logísticas que imponen restricciones adicionales a las financieras.

Antes, se debe indicar que CENTIS ha encaminado esfuerzos para alcanzar estándares internacionales de Buenas Prácticas de

### Pertinencia de la Medicina Nuclear

- Procedimientos diagnósticos y terapéuticos de rutina en la práctica clínica: renografía, centelleografía ósea, tratamiento de hipertiroidismo y cáncer de tiroides, tratamiento del dolor por metástasis óseas.
- La centelleografía de perfusión miocárdica investigación de elección en el manejo de la enfermedad coronaria.
- Renacimiento de la neurología nuclear a favor de un mejor manejo de epilepsia, demencia, tumores cerebrales.
- Aceptación gradual de la Tomografía de Emisión Positrónica como procedimiento de rutina.
- Buenos resultados en terapia radionuclídica. Crece continuamente el número de ensayos clínicos.
- Nueva dimensión al manejo del cáncer con la aplicación del concepto de nódulo centinela y de la prueba gamma.

### Condiciones que impone la importación de sustancias radiactivas

- Radionúclidos de vida media muy corta (horas o menos) no pueden ser importados y por tanto utilizados.
- Transcurren de 3-5 días desde el momento en que se produce en el exterior la materia prima radionuclídica o el producto terminado y el usuario lo recibe.
- Con frecuencia hay cambios de aviones y demora en vuelos que complican el la importación, y hay que disponer de alternativas y mantener comunicación expedita con el proveedor y las compañías aéreas.

Como estos materiales decaen continuamente requieren atención especial para no demorar los trámites en aduana, y utilizarlos tan rápido como sea posible.

a utilizar. Es una carrera contra reloj, en la que desaparece dinero o la posibilidad de dar solución a un problema de salud. De aquí se derivan dos conclusiones principales:

- Hay que llevar ese tiempo al mínimo posible.
- Hay que producir localmente todo lo que sea técnica y económicamente viable.

Dentro de los actores en este proceso es, pues, esencial la selección de los proveedores, condicionada por los siguientes factores principales:

- Relaciones del país de origen con nuestro país.
- Ubicación geográfica.
- Facilidades para la transportación (conexiones aéreas).
- Precios y condiciones de pago.
- Disposición para establecer cooperación y no limitarse a efectuar compraventa.

En estos momentos CENTIS tiene dos proveedores aprobados, ambos de Europa, que cumplen de una u otra forma los requerimientos apuntados, y con los que se mantiene una comunicación expedita y una buena relación. En los últimos años, sin embargo, se ha hecho necesario realizar de manera frecuente cambios de líneas aéreas por regulaciones de índice de transporte, no aceptación de cargas radiactivas en las aeronaves, cese temporal de rutas de vuelo, lo que ha provocado trastornos en la organización de la producción y afectaciones directas a los sectores destino. Se han encontrado soluciones, en algunos casos con afectaciones también a los costos, pero es necesario seguir examinando otras alternativas.

Entre las grandes empresas suministradoras existen buenas condiciones para establecer relaciones con Nordion y reestablecerlas con Amersham, lo que depende de algunas consideraciones técnicas y logísticas. Rusia es otra posibilidad y se han realizado algunos

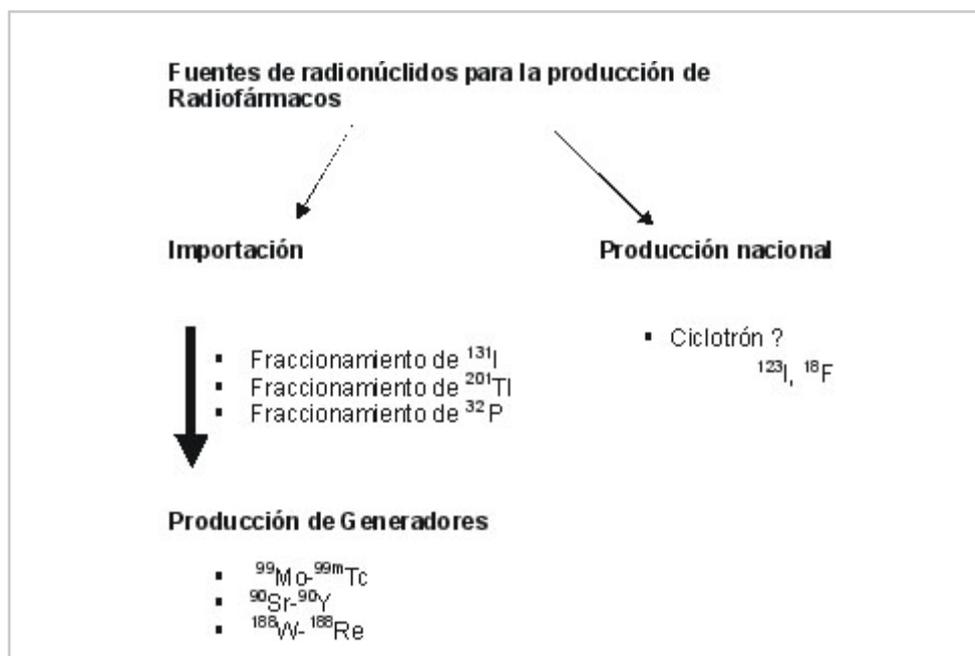
contactos. Es conocido el potencial productivo de ese país, pero no es una opción a corto plazo.

En América Latina, aunque hay capacidades productivas en Perú y Brasil, existen dificultades estructurales y técnicas (campaña y cronograma de operación de los reactores), que no posibilitan aún concretar acciones de importancia. Argentina debe ser observada, sobre todo en lo referente a la producción de <sup>99</sup>Mo, para lo que posee buenas instalaciones, pero no se aprecian señales promisorias todavía.

Hay que continuar perfeccionando los mecanismos internos de operación a través de las empresas comerciales. Al respecto desde el año 2002 CENTIS asumió la gestión de importación de la materia prima radionuclídica, que incluye captación de la demanda, gestión de concurrencia (evaluación de proveedores, solicitudes y selección de ofertas), confección del pliego de concurrencia y redacción del contrato para su presentación a la empresa importadora para su firma. Comprende además lo relacionado con las órdenes al proveedor y el seguimiento de cada embarque de mercancía solicitada.

Actualmente aunque han aumentado los costos de operación de CENTIS, el acuerdo con la empresa ISOCOMER ha favorecido considerablemente la gestión. Es asimismo imprescindible perfeccionar la interacción con la aduana y asegurar se libere sin demoras la carga a cualquier hora. Por otra parte es el momento para reanudar los contactos con el personal y los directivos de Cubana de Aviación a fin de llamarles la atención sobre la importancia de esta actividad y así contribuir a mejorar nuestra logística. Conviene estudiar el funcionamiento de radiofarmacias centralizadas como Syncor de Estados Unidos, con los criterios de hacer llegar la dosis correcta en el momento necesario, bajo condiciones de seguridad e inocuidad y con el objetivo de disminuir las restricciones logísticas, en los casos que sea posible y conveniente.

## PANORAMA NUCLEAR



### Aseguramiento perspectivo de radionúclidos para Medicina Nuclear

. Muchos observadores consideran que la red internacional de radionúclidos es segura y que posee suficiente capacidad para satisfacer la demanda perspectiva.

. Un grupo de empresas líderes domina el mercado: Nordion International, Mallinkrodt y Amersham.

. No hay dudas sobre el suministro de  $^{99}\text{Mo}$  en las próximas décadas y no se prevén dificultades en la producción de este radionúclido, que mantendrá su mercado. Lo mismo se puede decir con relación a  $^{131}\text{I}$  y  $^{32}\text{P}$ .

. No se avizoran tampoco dificultades para el suministro de  $^{67}\text{Ga}$ ,  $^{111}\text{In}$ ,  $^{201}\text{Tl}$  producidos en ciclotrones.

### Líneas CENTIS de investigación-desarrollo

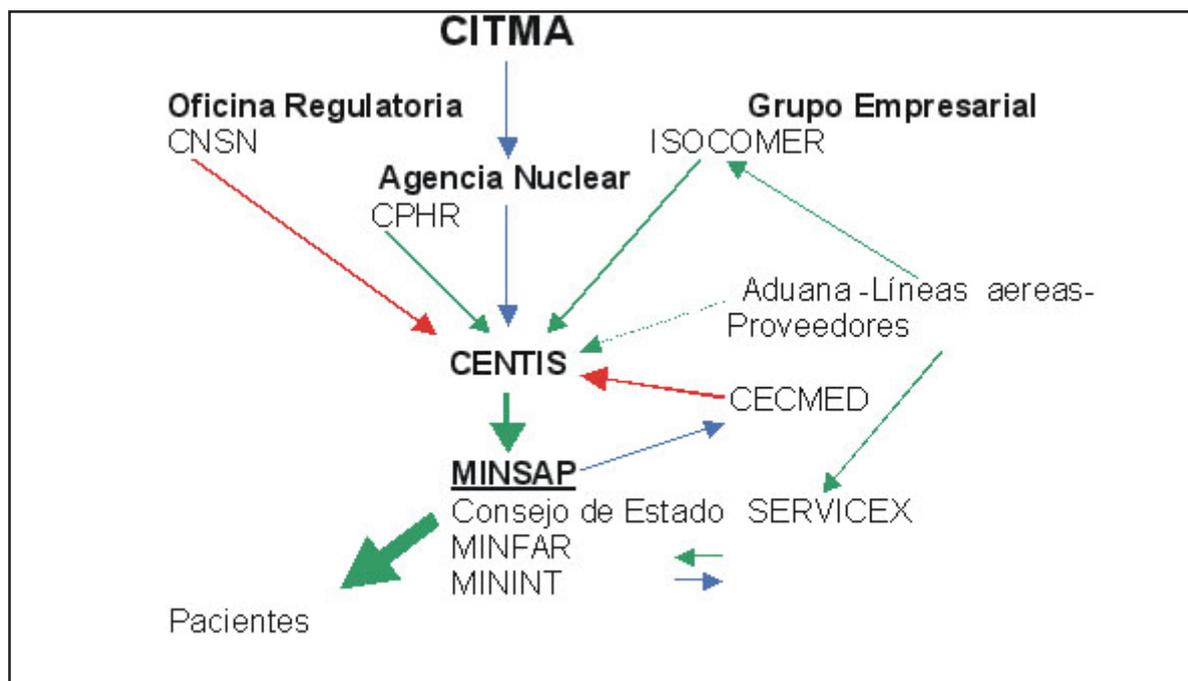
. Obtención de generadores de radisótopos:  $^{99\text{m}}\text{Tc}$   $^{188}\text{Re}$ ,  $^{90}\text{Y}$ .

. Optimización del funcionamiento y validación de los sistemas de fraccionamiento de radisótopos primarios. Celdas y cajas de guantes para fraccionamiento de  $^{131}\text{I}$ ,  $^{201}\text{Tl}$ ,  $^{32}\text{P}$ .

. Desarrollo de radiofármacos para uso diagnóstico y terapéutico con base a anticuerpos monoclonales y sus fragmentos.

. Desarrollo de radiofármacos con base a sistemas dispersos.

## PANORAMA NUCLEAR



### CONCLUSIONES

Como se aprecia los aspectos de mayor interés son:

- Hacer más efectiva la importación.
- Poner énfasis en la utilización de generadores de radionúclidos.
- Centrar esfuerzos en la radiofarmacia asociada a los radionúclidos disponibles al menor costo.
- Desarrollar la dosimetría clínica asociada a estos radionúclidos.
- Evaluar la instalación de un ciclotrón.

### BIBLIOGRAFÍA CONSULTADA

- [1] Expert Panel: Forecast Future Demand for Medical Isotopes, September 25-26, 1998, Arlington, Virginia.  
 [2] FFTF Medical Isotopes Market Study (2001-2020), Frost & Sullivan, 20 docs\Alternatives\Report rev,

November 1997, Pages 5-1 to 5-5, FFTF Opportunity Analysis.

[3] GANATRA, R.D., The future of Nuclear Medicine, idem: 86-88.

[4] GREGORY, M. R. J. BUDNITZ, G.: \public\division\comms\nuclear\Nukes2002\Reaction ReactNow.org\Background docs.1.doc Alternatives to a 20 MW Nuclear Reactor for Australia, June 7(2001) Future Resources Associates, Inc. 2039.

[5] LAZAR M., RAKESH K. S., DWARAKANATH B.S., Biotechnology in Health Care, Proceedings of an Indo-Cuban Workshop held on 3-4, October 2000, in New Delhi, editors, Arun Graphics, 2001.

[6] PHADHY, A.K., Nuclear Medicine in the Developing countries, World J. Nucl. Med. (2002)1-3.

[7] Proceedings of International Seminar-First national Workshop, Use and development of Health Related Industrial Isotopes products. 13-15 December 2000, Center of Isotopes Havana, Cuba.

[8] SIMON, R., CHERRY AND SANJIV, S. GAMBHIR, Use of Positron Emission Tomography in Animal Research ILAR Journal, Vol. 42(3) 2001.

# INSTALACIONES DE PRODUCCIÓN DE RADIOFÁRMACOS Y ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD EN CENTIS. DESARROLLO Y PERSPECTIVAS

Jorge Cruz Arencibia  
Centro de Isótopos

## Resumen

La producción de radiofármacos en el Centro de Isótopos comprende diferentes líneas o grupos de productos: liofilizados, soluciones inyectables y orales, y generadores radioisotópicos. El diseño de las instalaciones de producción data de finales de la década de los años 80, cuando no se había generalizado aún la aplicación de los conceptos de las Buenas Prácticas de Fabricación de Medicamentos a la producción de radiofármacos. Es por ello que su diseño cumple totalmente con los requisitos establecidos nacional e internacionalmente para la protección contra las radiaciones, pero no tiene en cuenta los requerimientos establecidos en las Buenas Prácticas de Fabricación de Medicamentos para la producción de medicamentos.

En el presente trabajo se describen las acciones que se llevan a cabo en el Centro de Isótopos en relación con las modificaciones que se ejecutan en las instalaciones de producción de acuerdo con las normas vigentes en la actualidad en cuanto a la producción de medicamentos.

## FACILITIES FOR PRODUCTION OF RADIOPHARMACEUTICALS AND QUALITY ASSURANCE AT CENTIS. DEVELOPMENT AND PERSPECTIVES

## Abstract

The production of radiopharmaceuticals at the Isotope Center covers different lines or groups of products: lyophilizates, solutions for injection and oral solutions, and radioisotope generators. The design of production facilities dates from the end of the eighties, when the application of the BPFM (Good Practices for Drug Production) concepts to production of radiopharmaceuticals had not become widespread yet. For this reason their design totally fulfills nationally and internationally established requirements for radiation protection, but it does not consider the requirements set in the BPFM for drug production.

Present work describes actions undertaken at the Isotope Center concerning the modifications carried out at present in the production facilities according to the drug production standards currently in force.

*Palabras clave: quality assurance; radioimmunoassay; accuracy; compiled dates; radiopharmaceuticals; quality control; molybdenum 99; injection; iodine 131*

## INTRODUCCIÓN

Los radiofármacos son un grupo especial de medicamentos que en su formulación contienen un isótopo radiactivo. Su diferencia fundamental en relación con los medicamentos normales radica en que al ser radiactivos los tiempos de vida de estos preparados son cortos, por lo que en la práctica son distribuidos (comercializados) y administrados a los pacientes sin que los ensayos de control de calidad hayan concluido. Tradicionalmente la producción y suministro de radiofármacos comenzó como una actividad de investigación de los laboratorios nucleares nacionales que operaban los reactores y los ciclotrones. Existen normas internacionales que regulan la exposición del personal y las

correspondientes organizaciones nacionales que supervisan y ejecutan las medidas de protección contra las radiaciones. Al constituir parte de los programas nucleares nacionales, la producción de radiofármacos ha estado desde el principio sujeta a las regulaciones de manipulación, transporte y uso del material radiactivo. Sin embargo, los sistemas de vigilancia y control existentes para los productos farmacéuticos no se han implementado en muchos lugares con la misma magnitud que en cuanto a la protección contra la radiación.

En la industria farmacéutica moderna se reconoce que la calidad del medicamento deviene del proceso de fabricación, por lo que las Buenas Prácticas de Fabricación de Medicamentos

(BPFM) son un signo de identidad de una empresa desarrollada. Es una exigencia con trascendental repercusión en la salud y a la vez un medio de conquistar cuotas de mercado. Es por lo tanto mandatario que la producción de radiofármacos se ejecute acorde con los principios básicos de las BPFM de productos farmacéuticos y de las BPF de productos estériles.

De acuerdo con estas normas los laboratorios locales para la producción o procesamiento de radiofármacos deben ser especialmente diseñados de modo que se tengan en consideración tanto los aspectos de la seguridad radiológica (radioprotección) como el grado de limpieza y la esterilidad. Por ello el sistema de ventilación de una instalación para la producción de radiofármacos debe cumplir estrictamente tanto los requisitos de prevención de la contaminación de los productos como de la exposición del personal a las radiaciones.

La experiencia internacional muestra diferentes enfoques para la solución del problema. Las empresas o firmas de países desarrollados han llevado a cabo grandes inversiones en la construcción de nuevas instalaciones que combinan ambos aspectos (la seguridad radiológica y la farmacéutica). Un ejemplo lo constituye la producción de radiofármacos basados en isótopos positrónicos, principalmente [<sup>18</sup>F]-FDG (fluorodesoxiglucosa), para lo que se cuenta en el mercado con instalaciones completamente automatizadas y que cumplen las normativas vigentes en cuanto a la producción de inyectables. Por otro lado, el Organismo Internacional de Energía Atómica y la Organización Mundial de la Salud trabajan de manera conjunta con el objetivo de adaptar a los radiofármacos las exigencias actuales que rigen la industria farmacéutica convencional. Este trabajo deberá culminar con la elaboración de directrices internacionales sobre Buenas Prácticas de Fabricación de Radiofármacos.

En el presente trabajo se describen las acciones que se llevan a cabo en CENTIS en relación con las modificaciones que se ejecutan en las instalaciones de producción y se tienen en cuenta las normas vigentes en la actualidad en cuanto a la producción de medicamentos.<sup>1</sup>

### CARACTERIZACIÓN DE LAS INSTALACIONES DE PRODUCCIÓN DE RADIOFÁRMACOS EN CENTIS

La producción de radiofármacos en CENTIS comprende potencialmente cuatro líneas o grupos de productos según se muestra en la siguiente tabla:

Línea o grupo	Productos
Liofilizados para inyección endovenosa (juegos de reactivos)	Productos para marcaje con <sup>99m</sup> Tc: Pirofosfato-Sn, Pentetato-Sn, Succinato-Sn, MAG3-Sn, Fitato-Sn, Metilendifosfonato-Sn, MIBI-Sn.
Solución oral	Ioduro de sodio [ <sup>131</sup> I] Cloruro de [ <sup>201</sup> Tl]Tallo
Inyecciones radiactivas	Iodo hipurato sódico [ <sup>131</sup> I] Iodobencil guanidina [ <sup>131</sup> I] Fosfato de sodio [ <sup>32</sup> P]
Generadores radioisotópicos	Generadores de Mo-Tc

Aunque inaugurado oficialmente en diciembre de 1995 el diseño de las instalaciones de producción del CENTIS data de finales de la década del 80, cuando no se había generalizado aún la aplicación de los conceptos de las BPFM a la producción de radiofármacos. Su diseño cumple totalmente con los requisitos establecidos nacional e internacionalmente para la protección contra las radiaciones, pero no tiene en cuenta los requerimientos establecidos en las BPFM para la producción de medicamentos. Es por ello que durante estos años se ha trabajado en la implantación de un sistema de aseguramiento de la calidad (SAC) asociado a estas producciones que permita garantizar la calidad de estos productos, y enfatizar en aquellos aspectos de las normas que permiten superar o minimizar las deficiencias en el diseño de las instalaciones. En paralelo se ha trabajado en la búsqueda de opciones (técnicas y financieras) para la adecuación de las instalaciones a las condiciones que se exigen en las BPFM.

<sup>1</sup> No se discuten otros aspectos (personal, documentación, etc.) de las BPFM y del SAC-CENTIS porque no constituyen un interés directo del presente trabajo.

## PANORAMA NUCLEAR

A continuación se describen las acciones desarrolladas o planificadas para cada una de las líneas o grupos de productos.

1. Liofilizados para inyección endovenosa: se trata de productos que no contienen isótopos radiactivos, por lo que su producción sigue los estándares establecidos para la industria farmacéutica convencional<sup>1</sup>. Para esta línea de productos se encuentra en fase de puesta en marcha un área limpia de 113 m<sup>2</sup>. Un esquema

general de esta área se muestra en la figura 1. Su diseño se realizó en colaboración con la Oficina de Transferencia Tecnológica del Consejo de Estado y fue revisado y aprobado por el Grupo Nacional de Validación y por el Centro para el Control Estatal de la Calidad de los Medicamentos (CECMED). De acuerdo con las normas vigentes y en función de los procesos que en ella se realizarán el área está dividida en locales con diferente clasificación según se muestra en la tabla 1.

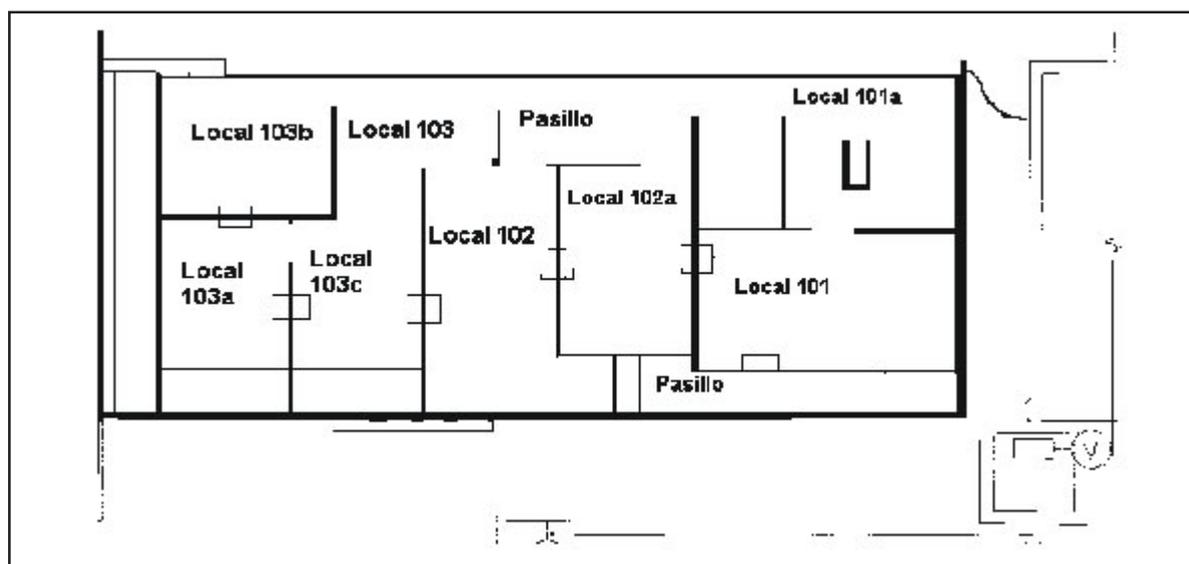


Figura 1. Esquema del área limpia del CENTIS.

Tabla 1. Locales que componen el área limpia de CENTIS

Local	Clasificación*	Funciones
101a	C	Esclusa sanitaria 1: entrada del personal.
101	C	Preparación de materiales.
102	C	Esterilización de materiales y soluciones de partida.
102a	B	Preparación de soluciones. Cuenta con flujo laminar.
103	C	Esclusa sanitaria 2: Entrada del personal (Acceso al área de formulación y llenado).
103c	B	Formulación. Cuenta con flujo laminar.
103a	B	Llenado y liofilización. Cuenta con flujo laminar.
103b	C	Sellado y etiquetado.

\* La clasificación se da de acuerdo con la regulación vigente en Cuba sobre Buenas Prácticas para la Fabricación de Productos Estériles.

<sup>2</sup> Dentro de los medicamentos estos productos se corresponden con la categoría de productos que no pueden ser esterilizados en su envase final.

La puesta en marcha y explotación de esta área se ejecuta de acuerdo con un programa preestablecido en el SAC del centro que incluye:

- Validación de las instalaciones, equipos y procesos.
- Programa de preparación y certificación del personal.
- Establecimiento y validación de:
  - Programa de Higiene
  - Programa de Monitoreo Ambiental
- Elaboración de la documentación asociada.

Un aspecto importante a destacar aquí es que como parte de la inversión se contará con una liofilizadora nueva, lo que permitirá garantizar la calidad de los productos sobre una base tecnológica más segura. Asimismo, permitirá la asimilación de nuevos renglones, como la producción de liofilizados a base de anticuerpos monoclonales para inmunogramafía.

Por último y no por ello menos importante, en esta área se realizarán todas las actividades de preparación relacionadas con la producción del resto de la nomenclatura de radiofármacos del centro como se explica en el resto del trabajo.

2. Solución oral de Ioduro de sodio [<sup>131</sup>I]: la producción de Ioduro de sodio [<sup>131</sup>I] comenzó en CENTIS en julio de 1997. Esta se realiza en una celda caliente con 10 cm de blindaje. Semanalmente se procesan alrededor de 3 Ci de <sup>131</sup>I. La experiencia de estos cinco años de trabajo demuestra un diseño satisfactorio de la instalación desde el punto de vista de la seguridad radiológica. Sin embargo los trabajos encaminados a obtener la licencia de producción demostraron deficiencias de diseño de la instalación para el cumplimiento de las BPFM. Para superar estas deficiencias se diseñó y estableció un flujo de producción que parte de la consideración del producto Ioduro de sodio [<sup>131</sup>I] como solución oral (por ser la vía de administración en el país), lo que representa otras exigencias, en cierta forma menos estrictas, a la instalación desde el punto de vista de las BPFM. En las instalaciones la fabricación del producto se divide en cuatro partes, las que se muestran en la tabla 2 junto con las soluciones adoptadas para cada caso. El trabajo realizado permitió obtener la licencia y el registro médico del producto.

Tabla 2.

<b>Etapa o parte del proceso de fabricación</b>	<b>Solución adoptada</b>
Preparación de los materiales y de las soluciones de partida	La preparación de los materiales se realiza en un ambiente clase D (100 000) de acuerdo con las BPFM. Las soluciones de partida se preparan en flujo laminar clase A ubicado en un ambiente clase D. Después de esterilizados e inmediatamente antes de la producción los bulbos son tapados y etiquetados y en esta forma son trasladados al recinto de producción. Estas operaciones se realizarán en la nueva área limpia. Este enfoque se aplica también para las inyecciones radiactivas.
Traslado de los materiales y soluciones hacia la celda de producción  Entrada de los materiales y soluciones a la celda	El traslado de los materiales se realiza en una cajuela cerrada para evitar el contacto directo de los mismos con aire sucio de un ambiente no controlado. El control microbiológico por placas expuestas demuestra que de esta forma se minimizan los riesgos de contaminación microbiana de los materiales. La celda de producción carece de transfer, por lo que al abrir la puerta que da acceso al interior de la celda se produce un contacto con una zona de aire sucio (desde el punto de vista de contaminación microbiana), lo que puede afectar la calidad del producto. Para solucionar esta deficiencia se diseñó una caja de transferencia y un módulo de filtración de aire equipado con filtro HEPA de alta eficiencia, lo que garantiza la calidad del aire que entra a la celda.
Fabricación (elaboración) del producto final	A las soluciones de partida (no radiactivas, constituyen más del 90% (en volumen del producto) se les da tratamiento de inyectables endovenosos, con sus correspondientes controles de esterilidad y endotoxinas, lo que asegura un alto nivel de calidad en el momento de su empleo en el proceso productivo. Como etapa final en la fabricación del producto se le realiza una filtración por 0,45 µm y esterilización por autoclave, lo que asegura la calidad microbiológica del mismo.

3. Inyecciones radiactivas: el flujo de fabricación de estos productos es en general similar al del loduro de sodio [<sup>131</sup>I] explicado anteriormente, excepto que en este caso por tratarse de productos con esterilización final por vapor húmedo y con vía de administración endovenosa se exige como mínimo un ambiente controlado clase C (10 000) para su elaboración. Para la preparación de los materiales y soluciones de partida y el traslado hacia los recintos de producción se aplican la mismas soluciones que para el loduro de sodio [<sup>131</sup>I]. Por los niveles de radiactividad que se manipulan en todos los casos se trabaja en cajas de guantes blindadas.

- Sistema de transferencia: aunque las cajas de guantes cuentan con transfers para la entrada de materiales, estos no cuentan con un sistema de ventilación propio ni con un sistema de seguridad que garantice la no apertura simultánea de las puertas de acceso al transfer y al interior de la caja de guantes.

- Existencia de dispositivos y componentes dentro del recinto estanco que imposibilitan la optimización del área útil de trabajo, así como su limpieza efectiva. Inadecuado diseño de los sistemas de evacuación de desechos radiactivos líquidos y sólidos, lo que representa un probable riesgo de contaminación microbiana del interior del recinto estanco.

- Ausencia de una puerta de intervención lo que dificulta las labores de mantenimiento y reparación.

- Baja calidad y fiabilidad del sistema de manipulación (telepinzas) y del sistema de instrumentación y control.

- El equipamiento interno concebido en la tecnología inicial no se corresponde en calidad y cantidad con las exigencias de las BPFM para este tipo de procesos.

Para la solución de estas deficiencias se propuso y aprobó un proyecto de asistencia técnica con el OIEA para el próximo bienio (2003-004), el cual contempla la ejecución de modificaciones a las cajas de guantes y la renovación de parte del equipamiento para lograr el cumplimiento de las BPFM. La figura 2 muestra, un esquema comparativo de la caja de guantes para el fraccionamiento de <sup>201</sup>Tl antes y después de que se ejecuten las modificaciones propuestas.

El proyecto elaborado incluye las siguientes propuestas:

- Modificación del sistema de ventilación para lograr un barrido del área de trabajo crítica, donde se realiza la dosificación y el producto se encuentra expuesto al ambiente. Esto permitirá minimizar los riesgos de contaminación microbiana.

- Instalación de un sistema de interbloqueo en las puertas de los transfers, lo que impedirá su apertura simultánea y, por lo tanto, minimizará el riesgo de entrada de aire sucio de las áreas adyacentes hacia el interior del recinto estanco.

- Colocación de un sistema de inyección (pasiva) y extracción forzada en los transfers de modo que permita un barrido efectivo del área interior de los mismos durante la apertura de la puerta que comunica con el área adyacente.

- Colocación de una puerta de mantenimiento en la pared trasera del recinto estanco.

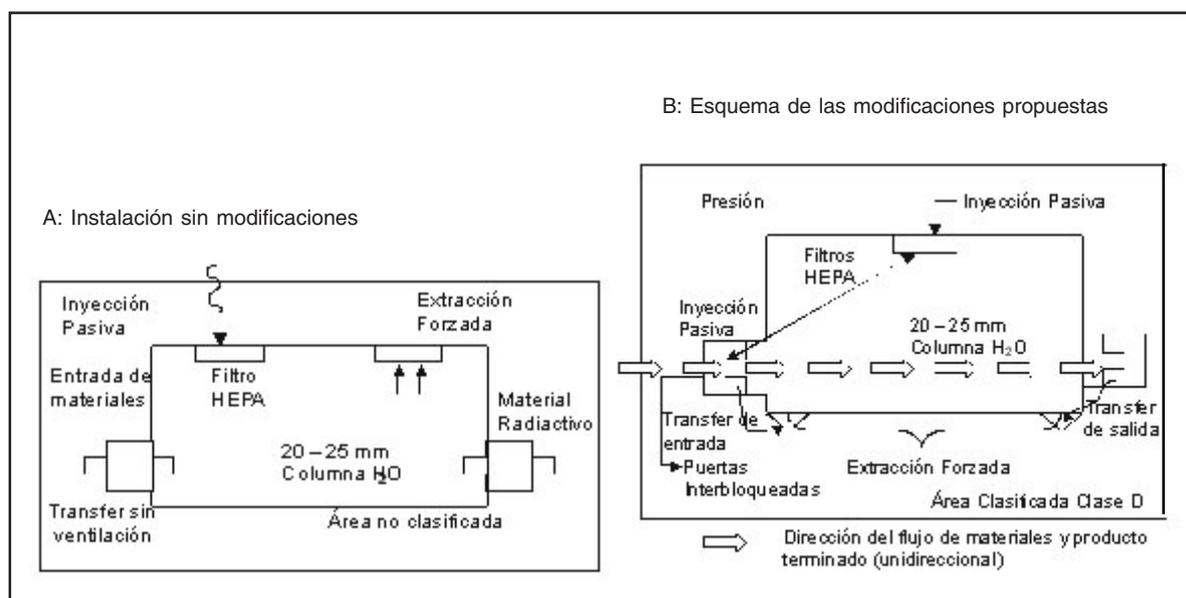


Figura 2. Esquema de la instalación para fraccionamiento de Cloruro de [<sup>201</sup>Tl]Talio antes y después de las modificaciones.

## PANORAMA NUCLEAR

- Colocación de nuevos sistemas para la evacuación de desechos radiactivos líquidos y sólidos.
- Instalación de nuevas telepinzas con un diseño más moderno y funcional.
- Disminución del equipamiento colocado en el interior del recinto estanco para facilitar la limpieza e higienización del mismo.

4. Generadores de Mo-Tc: de acuerdo con el diseño original (Figura 3-A) la instalación de producción de generadores de Mo-Tc consistía en un laboratorio equipado con: una celda para la preparación de la solución de <sup>99</sup>Mo, una celda para la carga de los generadores y una cabina de flujo laminar vertical para el ensamblaje aséptico de los generadores y para la realización de la primera elución de control después de la carga.

Un aspecto distintivo de este tipo de productos es que no pueden ser esterilizados al final del proceso por lo que tienen que ser producidos en condiciones totalmente asépticas para garantizar su calidad inyectable. Esta instalación presentaba las siguientes deficiencias desde el punto de vista de las BPFM:

- Ausencia de una clasificación adecuada de las diferentes áreas. El flujo laminar (clase A) se encuentra en un área no clasificada, lo que no garantiza que el aire debajo de él alcance la calidad requerida. Además no cuenta con una esclusa para el cambio de ropa del personal que trabajará bajo el flujo laminar.
- No se cuenta con áreas separadas para la entrada del personal y de materiales. No se garantiza un flujo unidireccional de los materiales, el producto y el personal.
- Los materiales de construcción del techo y paredes no son adecuados, pues desprenden gran cantidad de partículas que no garantiza la calidad microbiológica del producto.
- Fregaderos en la habitación.

Con vistas a superar estas deficiencias de diseño se elaboró y ejecutó un proyecto de modificaciones de este laboratorio. La figura 3 muestra un esquema antes y después de las modificaciones las cuales comprendieron los siguientes aspectos:

- División del laboratorio en dos grandes locales: Sala G (clasificación D, 100 000), donde se

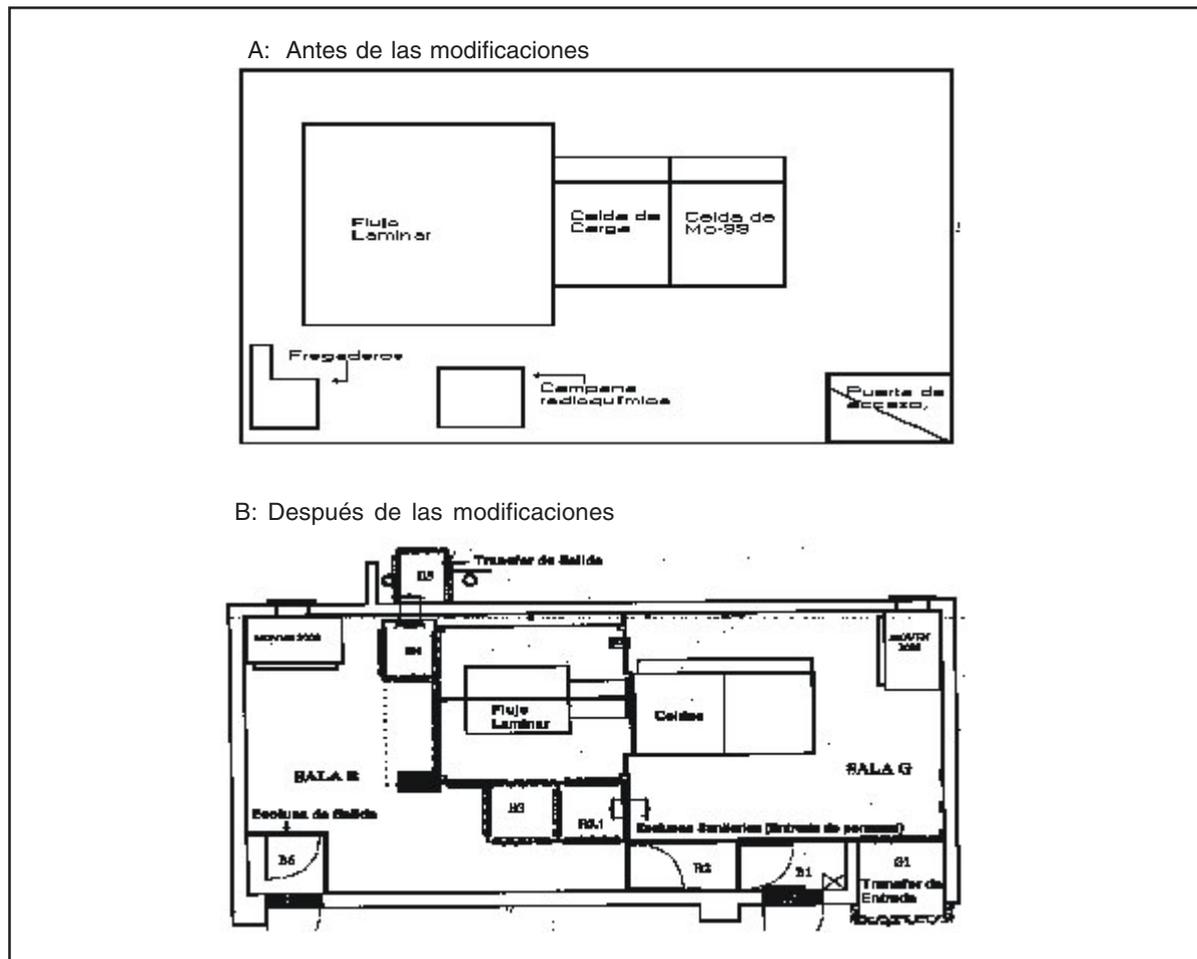


Figura 3. Vista del laboratorio de producción de generadores de Mo-Tc antes y después de las modificaciones.

encuentran las celdas y sala B (clase C, 10 000), donde se encuentra el flujo laminar.

- Construcción de esclusas para la entrada y cambio de ropa del personal.
- Colocación de un transfer con inyección forzada y filtro HEPA de alta eficiencia a la entrada de la sala G para garantizar la no entrada de aire sucio del corredor caliente hacia dicho local.
- Colocación de transfer para la retirada del producto terminado y de una esclusa para la salida del personal. Se garantiza de esta forma un flujo unidireccional de los materiales y las personas.
- La terminación de las paredes y techos garantiza que no se liberen partículas.

Los ensayos de producción realizados demuestran que se logra durante todo el proceso un ambiente que garantiza la calidad de los generadores que se fabrican en esta instalación.

### CONCLUSIONES

El diseño de las instalaciones de producción de radiofármacos en CENTIS no se basó en los

requerimientos de las BPFM. En estos años de explotación y en concordancia con el sistema de calidad establecido en el centro se han realizado o diseñado diferentes modificaciones y ajustes a las instalaciones y a los procesos de producción con vistas a asegurar el cumplimiento de las BPFM y la calidad de los productos.

### BIBLIOGRAFÍA CONSULTADA

- [1] Australian Code of Good Radiopharmaceutical Practice, 1996.
- [2] Buenas Prácticas para la Fabricación de Productos Farmacéuticos, Regulación No. 16-2000, CECMED, Cuba. - Anexo: Buenas Prácticas para la Fabricación de Productos Estériles, 2002.
- [3] European Comisión Directive 91/356/EEC, Guidelines for Good Manufacturing Practice.
- [4] MOIA, E., WHEELER. F., El criterio de diseño de una sala limpia farmacéutica, Industria Farmacéutica, 55-63, mayo-abril, 2000.
- [5] OMS, Serie de Informes Técnicos de la MOS (823): Buenas Prácticas de Manufactura Vigentes, inf. 32, OMS, Suiza, 1996.
- [6] REG 11/01/93, Guía para la inspección a los radiofármacos inyectables usados en la tomografía de emisión positrónica, FDA, EEUU, 1993.

# SITUACIÓN ACTUAL Y PROPUESTA DE DESARROLLO DE LA MEDICINA NUCLEAR

Juan P. Oliva González

Grupo Nacional de Oncología. Ministerio de Salud Pública, Ciudad de La Habana, Cuba

## Resumen

En el presente trabajo se analiza la situación actual de la medicina nuclear cubana, luego de su introducción en el país en los años 40 del siglo XX y su expansión a partir de 1962 y, principalmente, a partir de la instalación de la primera cámara gamma del país en 1980. En el momento actual existen en Cuba dentro de la Red Nacional de Oncología y en el Sistema Nacional de Salud (SNS) un total de 14 Departamentos o Servicios de Medicina nuclear que brindan atención a la población de acuerdo con su nivel de instrumentación nuclear.

Se propone un programa para la capacitación del personal médico y técnico, así como para el desarrollo gradual de los departamentos de medicina nuclear (que incluye la instalación de cámaras gamma, en dos etapas: 2003 - 2004 y 2005 - 2006). Se analizan los resultados esperados del programa propuesto, así como el impacto en la salud de la población.

## PRESENT SITUATION AND PROPOSAL FOR NUCLEAR MEDICINE DEVELOPMENT

### Abstrac

In the present paper, the current situation of the Cuban nuclear medicine, after its introduction in the country in the 40s of the 20<sup>th</sup> century and its expansion since 1962 and, particularly, from the installation of the first gamma camera in 1980, is analyzed. Nowadays, there is a total of 14 Nuclear Medicine Departments or Services in our country within the National Oncology Network and National Health System (SNS), which provide medical attention to the population depending on the nuclear equipment available.

A program for the medical and technical personnel's training is proposed, as well as for gradual development of nuclear medicine departments (including the installation of gamma cameras, divided into two stages: 2003 - 2004 and 2005 - 2006). The prospective results of the proposed program are analyzed, as well as the impact on the population's health.

*Palabras clave: nuclear medicine; vat; public policy; patients; diagnosis; gamma cameras; radiotherapy; radiology; national organizations; institutional factors; government policies*

## INTRODUCCIÓN

La medicina nuclear ha sido, y sigue siendo, una disciplina médica que se apoya en una tecnología de rápido y continuo desarrollo.

Las técnicas de medicina nuclear fueron introducidas en Cuba en la década de los años 40 en el antiguo Hospital "Reina Mercedes" donde se realizaban estudios tiroideos con radioiodo (I-131) y algunas aplicaciones con oro radiactivo (Au-198) para el tratamiento de las efusiones tumorales como la ascitis en el cáncer de ovario y de pulmón, además, a nivel privado en dos consultorios de La Habana donde sólo eran atendidas enfermedades tiroideas benignas. Estas prácticas de la medicina nuclear estaban sólo al alcance de un pequeño grupo de pacientes, ya que su empleo era además muy reducido.

No fue hasta el triunfo de la Revolución que a partir del año 1962 las técnicas radioisotópicas en medicina se introdujeron en nuestro país en el antiguo Hospital Oncológico de La Habana que posteriormente devino en Instituto Nacional de Oncología y Radiobiología (INOR).

A partir de entonces y basado en este núcleo inicial es que la medicina nuclear se desarrolló de manera horizontal y extensiva en la aplicación de las técnicas nucleares en medicina, y que además jugó un importante papel en la asimilación y desarrollo de toda las nuevas tecnologías radisotópicas aplicadas a la medicina. En los 25 años siguientes (1962-1987) las nuevas técnicas en medicina nuclear, aplicables a diversas especialidades médicas, se introdujeron en Cuba con una base técnico material adecuada a las condiciones objetivas de ese momento.

La amplia aplicación de los radiotrazadores a múltiples situaciones clínicas permitió expandir las técnicas de la medicina nuclear a otras instituciones, con propósitos verticalizados (Institutos de Endocrinología, Hematología, Hospital "Frank País", Hospitales Oncológicos de Camagüey y Santiago de Cuba, o con propósitos generales dentro de la práctica médica como el Centro de Investigaciones Clínicas, Hospital "Hermanos Ameijeiras", el "Salvador Allende" y los Hospitales Provinciales de Holguín, Santa Clara, las Unidades de Oncología de Pinar del Río y Matanzas. Posteriormente al construirse los Hospitales Provinciales Docentes Clínico-Quirúrgicos de Cienfuegos, Sancti-Spíritus, Las Tunas, Manzanillo y Guantánamo también se les dotó de las condiciones para realizar técnicas de medicina nuclear.

En el año 1980 a través de un proyecto de asistencia técnica del Organismo Internacional de Energía Atómica (OIEA) se instala en el Departamento de medicina Nuclear del INOR la primera cámara gamma de Cuba a la cual le siguieron posteriormente la del CIMEQ, Instituto de Cardiología, Centro de Investigaciones Clínicas, Hospital "Frank País", Hospital Clínico Quirúrgico de Santa Clara y Oncológico de Santiago de Cuba, estas dos últimas en los departamentos de medicina nuclear de dichas instituciones y recientemente se instaló el instrumento nuclear más potente del país, una cámara gamma de doble cabezal, en las instituciones CIREN-CIMEQ y en el Hospital "Hermanos Ameijeiras"..

Hoy en día la Medicina Nuclear es una especialidad por sí sola, que como en la década de los años 40 se dedica al diagnóstico y tratamiento de diferentes patologías tanto oncológicas como no oncológicas. En los últimos años existe la tendencia cada vez más desarrollada de lo que se ha dado en llamar por algunos Terapia Metabólica con Fuentes Abiertas.

En Cuba, como ya señalamos, existe una red de Departamentos y Servicios de Medicina Nuclear que se debe mejorar y desarrollar con nueva instrumentación nuclear y salas de ingreso con la seguridad nuclear adecuada tanto para pacientes como para el personal profesionalmente expuesto que es condición *sine qua nom* del desarrollo que se desea, ya que el potencial técnico-profesional está creado y puede afrontar los nuevos retos del siglo XXI en el campo de la medicina nuclear.

En el momento actual existen dentro de la Red Nacional de Oncología y en el Sistema Nacional de Salud (SNS) un total de 14 Departamentos o Servicios de Medicina nuclear que brindan atención a la población de acuerdo con su nivel de instrumentación nuclear. No así en relación con el tratamiento con radioiodo (I-131) de pacientes afectados de cáncer tiroideo, por no contar todos con las condiciones de seguridad nuclear y

protección radiológica para este tipo de tratamiento.

Estos Departamentos son:

- Unidad Estandar
- (1) Unidad Oncológica de Pinar del Río, UE
  - (2) Servicio de Oncología del Hospital "Miguel Enríquez", U E
  - (3) Servicio de Oncología del Hospital "Salvador Allende", U E
  - (4) Servicio de Oncología de la Unidad Oncológica de Matanzas, U E
  - (5) Servicio de Oncología del Hospital Provincial Docente de Santi-Spíritus, U E
  - (6) Servicio de Oncología del Hospital Provincial Docente de Cienfuegos, U E
  - (7) Servicio de Oncología del Hospital Provincial Docente de Oncología de Camagüey
  - (8) Servicio de Oncología del Hospital Provincial Docente de Las Tunas, U E
  - (9) Servicio de Oncología del Hospital Provincial Docente de Manzanillo, U E
  - (10) Servicio del Hospital Provincial Docente de Guantánamo, U E
  - (11) Servicio de Oncología del Hospital "V.I.Lenin" de Holguín, U E
  - (12) Servicio de Medicina nuclear del Hospital Docente de Santa Clara, U E

Equipamiento Actual con Unidad Estándar  
Equipo para captación tiroidea

Hematología  
Renografía  
Gammagrafía

Estos 12 departamentos están equipados con la UNIDAD ESTANDAR. En estos momentos cuatro de ellos han modernizando su gammatopógrafo al acoplarlo a una PC que mejora la imagen que se obtiene. Ellos están en las siguientes provincias:  
Pinar del Río, Villa Clara, Sancti Spíritus y Camagüey.

Otros tres Departamentos o Servicios de la Red Nacional de Oncología tienen cámara gamma que les permite dar un mejor servicio al poder realizar técnicas que no se realizan con el gammatopógrafo lineal.

- Departamento medicina nuclear del INOR.
- Servicio de Medicina Nuclear del Hospital Provincial Docente (Viejo) de Santa-Clara.

· Servicio de Medicina Nuclear del Hospital Provincial Docente Oncológico de Santiago de Cuba.

Además de estos departamentos, otros hospitales nacionales cuentan con cámara gamma: el Centro Investigaciones Clínicas, el CIMEQ, el Instituto de Nefrología, el Hospital "Frank País", el Instituto de Cardiología y el Hospital "Hermanos Ameijeiras".

El personal de estos departamentos es el siguiente:

Médicos	20
Físicos	17
Bioquímicos	12
Técnicos	82

Este personal se ha preparado para enfrentar las técnicas convencionales de la medicina nuclear a nivel de la infraestructura instrumental actualmente disponible, lo cual se ha logrado a través de entrenamientos y cursos de postgrado nacionales programados periódicamente por el Departamento de Medicina Nuclear del INOR, cabecera de la Red de Oncología Nacional del MINSAP. Sin embargo, la renovación de la instrumentación nuclear existente en las diferentes unidades del país, principalmente las de otras provincias exigirá un salto cualitativo en la capacitación de este personal. La capacitación debe estar orientada principalmente al personal médico y técnico. Además, se debe contemplar la necesidad de incrementar el número de técnicos.

### RECOMENDACIONES PARA LA CAPACITACIÓN

La capacitación se debe abordar de la siguiente manera:

#### 1. Capacitación del personal médico:

Se realizará en cursos nacionales, tanto con profesores nacionales como internacionales, que se repetirán hasta que todo el personal esté capacitado y posteriormente se harán anualmente. Los cursos de capacitación comienzan en este año, el primero de ellos se efectuará en el mes de julio y el segundo en noviembre, ambos para médicos y todo el personal profesional que trabaja en medicina nuclear. Estos cursos durarán de siete a 15 días. También se harán a nivel regional (región oriental, central y occidental del país). De hecho ya en la región oriental, en el mes de febrero se impartió un curso intensivo de una semana en la ciudad de Holguín.

#### 2. Capacitación del personal técnico:

Se realizará similar al anterior, pero con la diferencia que los cursos serán de más tiempo (tres meses como mínimo) y serán impartidos por el personal profesional de todas las ramas de la Medicina Nuclear. Estos cursos comenzarán en el mes de septiembre, con su primera experiencia

en el INOR. De esta forma todos los técnicos ya formados se capacitarán y los de nueva formación lo harán con programas nuevos por diferentes modalidades de acuerdo a las necesidades.

En estas condiciones, el país asumirá las nuevas tareas que este plan de desarrollo de la medicina nuclear requiere, tanto en el campo del diagnóstico como del tratamiento con radisótopos.

### DESARROLLO GRADUAL DE ESTOS DEPARTAMENTOS

1. Los departamentos que hoy tienen UE deben recibir gradualmente una cámara gamma (sin unidad de adquisición y procesamiento, ya que las cámaras gamma que se adquieran serán acopladas a un sistema Imagama, lo cual abaratará su instrumento base de todo departamento moderno de medicina nuclear, ya que la instrumentación existente en estas unidades está obsoleta teniendo en cuenta el estado actual de la instrumentación en medicina nuclear. La modernización se debe realizar de acuerdo con el potencial técnico-profesional existente.

#### 2. Período 2003-2004 (Provincias)

Hospital "Salvador Allende" de Ciudad Habana  
Pinar del Río  
Cienfuegos  
Camagüey  
Hospital "Miguel Enríquez" de Ciudad de La Habana  
Holguín

#### Período 2005-2006

Matanzas  
Sancti-Spíritus  
Las Tunas  
Manzanillo  
Guantánamo  
Ciego de Ávila

Se debe tener en cuenta también para el período comprendido entre los años 2003-2004 la adquisición de una cámara gamma de doble cabezal para el Instituto Nacional de Oncología, debido al desarrollo de su departamento de medicina nuclear y al intercambio internacional en forma de proyectos con el OIEA para comenzar de una manera estable la radioterapia metabólica, uno de los campos que se vislumbran con más desarrollo futuro en la medicina nuclear. Nuestro país tiene la ventaja de la producción de anticuerpos monoclonales y biomoléculas que se marcan con radisótopos emisores beta y son las que se emplean en este moderno tipo de tratamiento de las enfermedades tumorales malignas.

Con relación a las salas de ingresos de los Servicios de Oncología del interior del país hay que señalar la necesidad de algunas

remodelaciones constructivas de acuerdo con lo orientado por seguridad nuclear. Debido a esta situación, actualmente, todos los tratamientos con I-131 en pacientes portadores de carcinomas diferenciados del tiroides funcionales y no funcionales y de otros tipos se realizan en la sala R de nuestro instituto.

3. Cada uno de los departamentos mencionados para los cuales se solicita una cámara gamma deben tener un activímetro para poder realizar las mediciones de actividad a administrar a los pacientes, aún en caso de no ser posible la compra de las cámaras gamma.

4. Se prepara para el próximo año un Diplomado en Medicina Nuclear, el cual sería cursado por todos los médicos y especialistas en oncología y oncólogos dedicados a la especialidad, así como los profesionales no médicos que trabajan en el campo de la Medicina Nuclear que pertenecen al Sistema Nacional de Salud y se exigirá como requisito para la matrícula en el mismo un aval del trabajo realizado en el campo de la medicina nuclear. También se podrán incorporar profesionales médicos y no médicos de otras instituciones que no pertenecen al SNS del MINSAP propiamente.

### RESULTADOS ESPERADOS DEL PROGRAMA PROPUESTO. IMPACTO SOBRE EL ESTADO DE SALUD DE LA POBLACIÓN

Antes de exponer los resultados esperados y el impacto sobre el estado de salud de la población que se obtendrá con la introducción de esta tecnología de las cámaras gamma en todo el país, hay que señalar que además de todas las ventajas que se expondrán a continuación con los generadores de  $^{99m}\text{Tc}$  que hoy se importan y se envían a los Departamentos y Servicios de Medicina Nuclear del país se podrán estudiar un 15% más de los pacientes de los que actualmente se realizan (sin disminuir la calidad de los estudios, al contrario se incrementa), por medio de técnicas que no se realizan en estos momentos como estudios dinámicos de diferentes órganos o sistemas de nuestro organismo, topografías de emisión computarizada (SPECT) tan importante, por ejemplo, cuando se emplean anticuerpos monoclonales para la búsqueda de metástasis de los diferentes tipos de tumores malignos en los cuales se emplea la inmunogammagrafía, lográndose con todo esto incrementar el arsenal diagnóstico que hoy se brindan a las diferentes especialidades médicas que se nutren de las técnicas de medicina nuclear en nuestro país.

#### 1. Oncología

El impacto de las técnicas radioisotópicas en oncología radica en mejorar el diagnóstico de diferentes tipos de tumores malignos primarios y metastáticos, mejorar el control clínico de la

quimioterapia y contribuir sensiblemente a elevar las aplicaciones clínicas de la radioterapia metabólica de los tumores malignos.

#### 2. Cardiología

El impacto de las técnicas de la medicina nuclear en cardiología consiste en la sencillez y sensibilidad de las técnicas y la gran información funcional que ofrecen al médico, lo que contribuye a la toma de decisiones.

#### 3. Neurología

En neurología el impacto más importante de las técnicas nucleares consiste en la enorme utilidad de los procedimientos que evalúan la circulación cerebral y la función metabólica regional del encéfalo, así como el estudio de los diferentes receptores a nivel cerebral.

#### 4. Ortopedia y Artrología

En ortopedia y reumatología el impacto de las técnicas radisotópicas radica en su enorme utilidad en el estudio metabólico de las diferentes lesiones óseas.

#### 5. Nefro-Urología

En nefro-urología la importancia de las técnicas nucleares radica en la simplicidad de las mismas, y en el gran caudal de información funcional de los riñones que ofrecen al especialista en numerosas situaciones clínicas.

#### 6. Hematología

En hematología las técnicas radisotópicas han contribuido en buena medida a la precisión diagnóstica de las diversas hemopatías malignas y benignas.

#### 7. Gastroenterología

En gastroenterología el impacto de las técnicas nucleares radica en su gran valor para el estudio de la función de los órganos huecos del aparato digestivo, así como de los órganos de secreción de ese aparato.

#### 8. Neumología

En neumología la gran importancia de las técnicas nucleares consiste en que ofrecen importante información sobre la función regional de cada pulmón por separado, aplicadas al diagnóstico y al control evolutivo de diversas enfermedades de ese aparato.

#### 9. Endocrinología

En endocrinología el impacto de la medicina nuclear ha consistido en sus enormes y ya clásicas aplicaciones en tiroidología, y en el momento actual en el estudio de los tumores.

La adquisición de las cámaras gamma que se proponen representa un gran impacto de las técnicas nucleares en medicina por su amplio espectro de aplicaciones en las más diversas especialidades y problemas médicos, y por su significativa contribución a la toma de decisiones médicas.

# PRODUCCIÓN DE GENERADORES RADISOTÓPICOS EN EL CENTRO DE ISÓTOPOS

Abmel Xiques Castillo

Centro de Isótopos, Ciudad de La Habana, Cuba

## Resumen

El trabajo analiza los generadores que actualmente son de interés para el Centro de Isótopos; ya que forman parte de su proyección futura y están en concordancia con el programa nacional de salud pública. Fundamentalmente hay tres generadores en los que se ha trabajado y que contribuyen a aumentar las posibilidades para el tratamiento de un mayor número de pacientes toda vez que se dispone de una amplia gama de radiofármacos. Estos generadores son el de  $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$  para el diagnóstico y los de  $^{90}\text{Sr}/^{90}\text{Y}$  y  $^{188}\text{W}/^{188}\text{Re}$  para aplicaciones terapéuticas.

## PRODUCTION OF RADIOISOTOPE GENERATORS AT THE ISOTOPE CENTER

## Abstract

In the present work, generators which are of interest to the Isotope Center (CENTIS), being part of its future projection and in accordance with the national program of Public Health are analyzed. It has been working basically on three generators which contribute to increase the possibilities for treating a larger number of patients, since a wider spectrum of radiopharmaceuticals is available. These generators are  $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$  for diagnosis and  $^{90}\text{Sr}/^{90}\text{Y}$  and  $^{188}\text{W}/^{188}\text{Re}$  for therapy.

*Palabras clave: nuclear medicine; patients; radiopharmaceuticals; productions; molybdenum 99; strontium 90; rhenium 188; technetium 99; yttrium 90; diagnostic techniques; therapy*

## INTRODUCCIÓN

La Medicina Nuclear es la rama de la medicina que usa radiaciones para proporcionar información sobre el funcionamiento de los órganos de un paciente y el tratamiento de órganos enfermos o tumores. Los radiofármacos son su herramienta más potente, la búsqueda constante de nuevos y más efectivos radiofármacos para el diagnóstico y la terapia. El desarrollo de radiofármacos nuevos está estrechamente vinculado con la disponibilidad de los radisótopos, cuya producción ocurre en el reactor nuclear y en el ciclotrón. Aunque muchos plantean que el ciclotrón puede sustituir por completo al reactor, lo cierto es que se complementan el uno al otro pues satisfacen las necesidades por una amplia gama de radisótopos. Sin embargo, muchos de ellos tienen un tiempo de vida muy corto para ser transportados o su producción es imposible por la ausencia de algunas de estas instalaciones, es por ello que los generadores de radisótopos son los únicos que hacen posible el uso de radionucleidos en dichos lugares.

Un generador de radisótopos se puede definir como un sistema donde está contenido el isótopo

padre (generalmente de un período de semidesintegración relativamente largo) el cual se desintegra en el isótopo hijo que al ser un elemento diferente se puede separar por elución. La bibliografía sobre generadores radisotópicos es extensa. El número de generadores que han sido desarrollados es inmenso, algunos con fines puramente científicos, otros con aplicaciones prácticas en campos como la medicina nuclear, la industria, y otros. Sin embargo, en este trabajo se analizan los generadores que actualmente son de interés para el Centro de Isótopos (CENTIS), ya que forman parte de su proyección futura y están en concordancia con el programa nacional de salud pública.

## SITUACIÓN EN EL CENTIS

En el CENTIS los esfuerzos están dirigidos hacia la preparación y desarrollo de tres generadores radisotópicos que permitan en algunos casos aumentar la disponibilidad y en otros introducir nuevos radiofármacos que hasta el momento no han sido utilizados en el país.

Estos generadores son el de  $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$ , el de  $^{90}\text{Sr}/^{90}\text{Y}$  y el de  $^{188}\text{W}/^{188}\text{Re}$ . El primero se emplea con radiofármacos para el diagnóstico y el resto para la terapia.

### **GENERADOR DE $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$**

El generador de  $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$  continúa siendo el más importante para la medicina nuclear. Más del 80% de todos los procedimientos de toma de imágenes se realizan con este isótopo debido a sus casi ideales propiedades físico nucleares. Aunque existen diferentes tipos de generadores de  $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$  en dependencia de la actividad específica del  $^{99}\text{Mo}$  empleado en su confección (cromatográfico, extracción, sublimación, gel); el cromatográfico, que emplea  $^{99}\text{Mo}$  de fisión, sigue siendo el más usado. Ello está relacionado directamente, entre otras cosas, con la facilidad de manipulación, cuyo diseño hace más fácil su transportación y sencilla preparación (a costo no muy alto) una vez que se dispone de la materia prima radisotópica.

Este generador está incluido en nuestras prioridades como una forma de dar cobertura diagnóstica a ciclo cerrado a un grupo de especialidades, que utilizan conjuntos liofilizados: MIBI, DTPA, MDP, MAG-3, DMSA, Fitato, complementado con  $^{210}\text{Tl}$  para investigación cardiovascular y oncológica, (Zorrilla, Morín, J., Líneas de investigación-desarrollo e Innovación Tecnológica en Radiofarmacia, Proyecto Inducido de Planeamiento Estratégico, CENTIS, 2002).

El CENTIS llevó a cabo una modificación tanto civil como tecnológica de su instalación para la producción de generadores de  $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$  con el objetivo de cumplir con lo establecido por Las Buenas Prácticas de Manufactura de Medicamentos. También realizó varias producciones a pequeña escala (5-6 generadores por vez) a partir de la importación del molibdeno de fisión. Aunque todas las pruebas resultaron satisfactorias no se ha podido disponer de un suministro estable de la materia prima radisotópica debido a la negativa de las líneas aéreas comerciales a transportar material radiactivo lo cual es una seria limitación no sólo para la producción local de nuestros generadores de  $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$ , sino para la importación de otros radisótopos.

### **GENERADOR DE $^{90}\text{Sr}/^{90}\text{Y}$**

El  $^{90}\text{Y}$  es un emisor beta puro con una energía beta máxima de 2,28 MeV y un período de semidesintegración de 64 horas, su uso con fines terapéuticos data de varias décadas. Es el radionucleido más usado para sinovectomía y radioinmunoterapia en el marcaje de anticuerpos monoclonales y péptidos. La carencia de emisión gamma no permite la adquisición de imágenes centellográficas y la realización de estimaciones dosimétricas. El  $^{90}\text{Y}$  se puede obtener por reacción ( $n, \bar{\alpha}$ ) a partir del  $^{89}\text{Y}$ , que tiene un 100% de abundancia natural. La sección eficaz de esta reacción es grande y se obtiene con suficiente actividad específica para sinovectomía. Sin embargo para radioinmunoterapia su aplicación es limitada.

La obtención de  $^{90}\text{Y}$  libre de portador para radioinmunoterapia es factible a partir de un

generador de  $^{90}\text{Sr}$ , cuyo período de semidesintegración es de 28 años, a costos que serían accesibles para los países de la región.

Existen varios métodos de separación del par  $^{90}\text{Sr}/^{90}\text{Y}$ , pero se destacan aquellos basados en intercambio iónico que utilizan resinas orgánicas y extracción líquido-líquido. El método de intercambio iónico no puede ser usado para producir actividades en el orden de varios Ci, debido a la conocida sensibilidad radiolítica de las resinas orgánicas.

No existe un generador que permita eluir para su uso inmediato el  $^{90}\text{Y}$ . En todos los casos se obtiene el itrio unido a un acomplejante muy fuerte, o en medios fuertemente ácidos, que requiere métodos de purificación del eluato. Por esta razón la producción de este tipo de radionucleido se debe llevar a cabo mediante una radiofarmacia centralizada.

Aunque han emergido nuevos radionúclidos que superan algunas de las deficiencias del  $^{90}\text{Y}$  como el caso del  $^{188}\text{Re}$ , este continúa siendo ampliamente usado. Evidencia de ello lo constituye la aprobación por la Food and Drug Administration (FDA) recientemente del producto para terapia de tumores comercialmente conocido como Zevalin el cual no es más que un péptido marcado con  $^{90}\text{Y}$ .

### **EXPERIENCIA EN CENTIS**

La producción de  $^{90}\text{Y}$  en CENTIS a pequeña escala comenzó en el año 1997 a través del proyecto coordinado Cuba-OIEA CUB/2/011, Producción de radiofármacos para terapia. El generador cromatográfico preparado se basa en el empleo de la resina Dowex 50Wx8 como soporte y el EDTA como solución eluyente descrito por Hnatowich (M., Chinol, D. J., Hnatowich, J. Nucl. Med. 28(9): 1465-1470, 1987). Durante cinco años se ha evaluado la estabilidad de dos generadores, uno de 10 mCi y otro de 100 mCi y se desarrolló un método de purificación que básicamente no difiere del inicialmente reportado por Hnatowich pero que, sin embargo, permite bajar los contenidos de  $^{90}\text{Sr}$  en el producto final con un factor de descontaminación de  $10^5$  ( $^{90}\text{Sr}/^{90}\text{Y} = 10^{-11}-10^{-12}$ ). Otro aspecto importante es el contenido de EDTA en el producto final, el cual debe ser extremadamente bajo. Su determinación no es posible por métodos volumétricos clásicos y para ello se implementó una técnica por cromatografía (HPLC) de par iónico en fase reversa que permite la determinación directa de EDTA en concentraciones  $10^{-8}-10^{-9}$  mol/L y cuyo principio se basa en la determinación por UV del complejo Fe(III)-EDTA. Esta técnica es una modificación de la reportada por Bernd Nowack y colaboradores [1]. Los resultados indican en cada caso que la concentración de EDTA es menor que  $10^{-7}$  mol/L. Los estudios realizados también han permitido conocer varios factores relacionados con el

generador (geometría del generador, empleo de scavengers, frecuencia de elución, y otros) que pueden ser influenciados o controlados para mejorar la estabilidad del generador y así alargar su tiempo de uso [2]. El  $^{90}\text{Y}$  obtenido se ha venido usando a escala experimental en el marcaje de anticuerpos monoclonales con muy buenos resultados [3]. La preparación de radiopartículas para la radiosinovectomía también constituye otra temática de trabajo.

Un generador de  $^{90}\text{Y}$  de 100 mCi, desde el punto de vista práctico, para uso rutinario en pacientes es muy poco y requiere ser escalado. De acuerdo con los estudios realizados un generador de este tipo es escalable hasta 300 mCi sin que se afecten muy rápido sus parámetros de funcionamiento además puede suministrar, sobre la base de una elución semanal, aproximadamente 200 mCi, lo cual puede aumentar en un factor  $n$  si se dispone de  $n$  número de generadores. Mediante un adecuado diseño y explotación de un generador con esta actividad pudiera funcionar perfectamente por un tiempo prolongado.

#### GENERADOR DE $^{188}\text{W}/^{188}\text{Re}$

Actualmente el  $^{188}\text{Re}$  ocupa un lugar cimero en la preparación de radiofármacos para terapia. Esto se debe a sus propiedades físico nucleares especiales. A diferencia del  $^{90}\text{Y}$  el  $^{188}\text{Re}$  tiene emisión de cuantos gamma lo que permite la toma de imágenes y la estimación dosimétrica, además se obtiene fácilmente listo para ser usado a partir de un generador. Sus principales aplicaciones [4-7] están resumidas en la siguiente tabla:

Tabla 1. Principales aplicaciones del  $^{188}\text{Re}$

Aplicación	Radiofármaco
Radioinmunoterapia (tratamiento local/regional de cáncer)	Anticuerpos monoclonales ( $^{188}\text{Re}$ -RC-160 análogo de la somatostatina) y péptidos
Paliación del dolor producido por metástasis ósea	$^{188}\text{Re}$ -HEDP, $^{188}\text{Re}$ -DMSA
Radiosinovectomía	Coloide de sulfuro de $\text{Re}$ - $^{188}\text{Re}$
Braquiterapia intravascular para la prevención de restenosis coronaria seguida a la angioplastia coronaria.	$\text{Na } ^{188}\text{ReO}_4$ , $^{188}\text{Re}$ -MAG <sub>3</sub> ,
Tratamiento de tumores	$^{188}\text{Re}$ -DMS

La mayor cantidad de los trabajos reportados sobre generadores de  $^{188}\text{W}/^{188}\text{Re}$  describen el generador cromatográfico y el de gel. El primero es el único generador terapéutico disponible en el mercado actualmente. Su precio es elevado para las posibilidades económicas de muchos países entre ellos Cuba y esto se debe a que la producción del isótopo padre ( $^{188}\text{W}$ ) con la actividad específica adecuada requiere de largos tiempos de irradiación, irradiación continua, flujos elevados (flujo de neutrones térmicos superior a  $10^{15}$  n/cm<sup>2</sup>/s) y blancos enriquecidos de elevado porcentaje (> al 96%). De ahí que muy pocos países puedan producirlo. En dependencia de la aplicación se requieren generadores de 3,7 GBq (100 mCi), 24 GBq (650 mCi) ó 40 GBq (1,1 Ci) cuyos precios varían entre 2500 USD a 12500 USD. Los principales proveedores son MAP Technologies (Finlandia) y Oak Ridge National Laboratories (Estados Unidos).

Este tipo de generador es el más sencillo de preparar pues se absorbe simplemente el tungsteno en forma de ácido tungstico en una columna de alúmina y se separa el  $^{188}\text{Re}$  por elución con solución de cloruro de sodio al 0,9% listo para ser usado en la preparación de los radiofármacos. Sin embargo, cuando la actividad específica del  $^{188}\text{W}$  es muy baja, la preparación de un generador con actividades de interés clínico (> 10 GBq) requiere de un aumento de la cantidad de alúmina [8] (su capacidad de sorción para el W es de algunos miligramos) con el consiguiente aumento del volumen de solución eluyente para lograr una elución cuantitativa del  $^{188}\text{Re}$  lo que provoca que se obtengan soluciones de muy baja concentración radiactiva. La conversión del tungsteno en un gel insoluble mediante su reacción con el zirconio permite compactar grandes masas de este metal en un pequeño volumen, y a su vez obtener soluciones de alta concentración radiactiva con el empleo de tungsteno de muy baja actividad específica. Este generador se ha reportado en numerosas ocasiones en la literatura aunque aún no está disponible comercialmente [8]. Al igual que el cromatográfico se eluye con solución salina de cloruro de sodio al 0,9% y tiene eficiencias de elución máximas entre 75 y 85% brinda también un producto con las mismas características de su similar cromatográfico en cuanto a pureza (radioquímica y radionuclídica). De igual forma se reporta un tiempo de uso largo para este tipo de generador.

#### MÉTODOS DE CONCENTRACIÓN

Inicialmente los métodos de concentración se comenzaron a desarrollar para emplear el generador cromatográfico con tungsteno 188 de muy baja actividad específica [9], de esta forma se puede preparar una columna con alúmina lo suficientemente grande para contener todo el tungsteno deseado y eluirse entonces sin importar el volumen de solución eluyente necesario para una elución del 100%. Esta solución es pasada por una anionita donde se retiene el  $^{188}\text{Re}$  y se reducen en gran medida los

otros cationes y aniones acompañantes y luego se eluye este en un pequeño volumen que se evapora y se reconstituye en el volumen deseado con solución fisiológica de NaCl. Este generador donde se acopla una columna anionita a un generador cromatográfico de alúmina recibe el nombre de generador tandem y el reportado como más satisfactorio emplea solución eluyente de  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  (en lugar de NaCl) de concentración 0,05 mol/L para eluir el generador cromatográfico. Los iones nitrato permiten que los iones perrenato se adsorban fuertemente a la anionita (en este caso AG 1x8 100-200 mesh en forma de  $\text{NO}_3^-$ ) y se eliminan así los otros iones acompañantes. Luego se eluye el  $^{188}\text{Re}$  de la anionita con 2-3 mL de  $\text{HNO}_3$  6 mol/L el que se evapora y se obtiene el  $^{188}\text{Re}$  en forma de ácido perrénico en un pequeño volumen de solución fisiológica [2]. Este método de concentración obviamente no se puede emplear en una clínica donde se requiere de un personal técnico calificado para llevarlo a cabo y es más propio de una radiofarmacia centralizada.

Sin embargo, recientemente se han reportado dos variantes del método de concentración con el empleo de una combinación de anionita y cationita en cartuchos o columnas de extracción en fase sólida [9], disponibles comercialmente a bajo costo que han revolucionado el empleo de los generadores tandem por la sencillez y relativamente rápida operación de concentración del eluato del generador, que se puede realizar directamente por el médico en el momento de eluir el generador.

La primera variante utiliza para eluir el generador una solución de acetato de amonio (sal de un ácido débil) de concentración 0,3 mol/L, la cual es pasada a continuación por un sistema tandem acoplado directamente al generador y que tiene primeramente una cationita en forma  $\text{H}^+$  (IC-H Plus) en la cual se intercambian los iones  $\text{NH}_4^+$  con los  $\text{H}^+$  y se forman en el eluato ácido acético mientras que los iones perrenato permanecen disociados. Al pasar por la siguiente columna que es una anionita con grupos cuaternarios de amonio (QMA Light) el  $^{188}\text{Re}$  es retenido y el ácido acético no, luego se lava la columna con agua y se eluye el renio con menos de 1 mL de solución fisiológica de NaCl listo para ser usado. En la segunda variante la solución eluyente del generador sigue siendo la solución de cloruro de sodio, sólo que la primera columna que se acopla al generador es una cationita en forma de iones plata (AG Plus) que retiene a los iones cloruro. El Re es retenido en la siguiente columna anionita (QMA Light SepPak) y eluido con menos de 1 mL de solución fisiológica de NaCl.

Estas dos variantes de concentración aunque se pueden usar para aquellos generadores preparados con tungsteno de baja actividad específica se desarrollaron para los generadores cromatográficos comerciales de uso clínico los cuales a pesar de dar una solución de  $^{188}\text{Re}$  de

alta concentración radiactiva, no es suficientemente alta para algunas aplicaciones, por otra parte permiten contrarrestar la disminución de la concentración radiactiva de los eluatos con el tiempo como consecuencia del decaimiento del  $^{188}\text{W}$  en el generador.

#### **EXPERIENCIA DE CUBA**

El OIEA realiza numerosos esfuerzos para fomentar el desarrollo de métodos para la producción de nuevos isótopos, algunos de ellos para generadores radionucleidos. Esta ayuda se manifiesta a través de asistencia técnica y financiera, un ejemplo son distintos programas desarrollados a través de ARCAL. Recientemente una de las tareas del programa ARCAL LII fue la evaluación del potencial regional para la producción y uso de radionucleidos, generadores y radiofármacos para radioinmunoterapia. En la reunión celebrada en Sao Paulo, Brasil, en septiembre del 2002 se llegó a la conclusión que no es posible realizar la producción  $^{188}\text{W}$  con actividades de interés preclínico y clínico en la región latinoamericana por razones económicas y técnicas de los reactores.

A pesar de estas limitaciones, la región y en especial Cuba cuentan con una importante experiencia técnica en la utilización del  $^{188}\text{Re}$ . Específicamente en el CENTIS se está trabajando en el desarrollo de un generador de extracción en el marco de un contrato de investigación (CRP).

Por el elevado costo del blanco enriquecido de  $^{186}\text{W}$  para obtener actividades específicas altas se ha buscado la alternativa de emplear tungsteno natural como blanco en la irradiación. De esta forma se obtiene un  $^{188}\text{W}$  altamente contaminado por los otros isótopos del tungsteno  $^{181}\text{W}$  y  $^{185}\text{W}$ . Con el objetivo de obtener una actividad total suficientemente alta para la preparación de un generador para aplicaciones clínicas se trata de contrarrestar la baja abundancia del  $^{188}\text{W}$  con un aumento en la masa de tungsteno a irradiar lo que a su vez se traduce en una disminución cada vez mayor de la actividad específica. Cuando las actividades específicas son tan bajas la variante cromatográfica de generador no tiene sentido y pasan a ser importantes las variantes alternativas de gel y extracción.

Al respecto cabe hacer el siguiente señalamiento: con las tecnologías de extracción y de gel para los generadores de  $^{99}\text{Mo}/^{99}\text{Tc}$  se ha visto que la variante de gel se ha logrado llevar a un diseño portátil con características similares (volumen de elución, características del eluato) a un generador cromatográfico, mientras que la de extracción se reserva para una radiofarmacia centralizada. Sin embargo para el caso del  $^{188}\text{W}$  la situación no es tan sencilla. La causa de esto radica en la diferencia en las actividades específicas que se obtiene para el  $^{99}\text{Mo}$  y para el  $^{188}\text{W}$ . La actividad específica del  $^{99}\text{Mo}$  que se emplea en los generadores de gel y de extracción y que se

obtiene por reacción n, ã a partir de molibdeno natural y un flujo de neutrones térmicos  $10^{14}$  n/cm<sup>2</sup>/s está en el orden de 1mCi/mg Mo [10]. Esta es del mismo orden que la máxima que se obtiene [11] para el <sup>188</sup>W (2 – 5 mCi/mg W) que se emplea en los generadores cromatográficos sobre alúmina y que se obtiene empleando blancos enriquecidos y flujos de neutrones térmicos de  $2 \times 10^{15}$ . Nuestra experiencia en irradiaciones realizadas en el reactor KFKI de Budapest, Hungría durante nueve días y a un flujo de  $1,4 \times 10^{14}$  con el empleo de una masa de 0,2 g de tungsteno metálico. La actividad específica obtenida para el <sup>188</sup>W estuvo entre 1,5–2 mCi <sup>188</sup>W/g. Por lo cual estimamos que para la obtención de actividades de <sup>188</sup>W suficientes para preparar un generador de uso clínico (>10 GBq), a partir de W natural y con el empleo de un reactor de flujo medio se requeriría de grandes masas de tungsteno de (>40 g). Si se tiene en cuenta que la densidad del gel de W-Zr está entre 1,2 y 1,4 g/cm<sup>3</sup> y que en un gramo de gel hay groseramente 0,6g de tungsteno no es difícil darse cuenta que la conversión de grandes masas de tungsteno irradiado a gel no daría un generador tan compacto. Los volúmenes de elución también serían grandes (>100 mL) lo que hace que se requiera obligatoriamente de un paso de concentración del eluido proveniente del generador. Ello no sería difícil de implementar con la existencia de métodos de concentración efectivos y rápidos ya reportados en la literatura para el <sup>188</sup>Re. Todo lo anterior pudiera limitar un poco el diseño portátil del generador y pudiera favorecer su uso en una radiofarmacia centralizada.

La extremadamente baja actividad específica que se obtendría para el <sup>188</sup>W puede ser empleada sin problema en un generador de extracción. Si se tiene en cuenta que la solubilidad del Na<sub>2</sub>WO<sub>4</sub> es muy grande (41 g/100 g de H<sub>2</sub>O a 0°C), se pueden preparar soluciones extremadamente concentradas (1,3 mol/L) de la solución Na<sub>2</sub>WO<sub>4</sub> una vez hecha la disolución del blanco y emplearla directamente en el generador de extracción.

Teniendo en cuenta lo planteado sobre la alta solubilidad del Na<sub>2</sub>WO<sub>4</sub> en agua y las similitudes químicas entre los pares <sup>188</sup>W/<sup>188</sup>Re y <sup>99</sup>Mo/<sup>99m</sup>Tc; el CENTIS está trabajando en el prototipo de un generador de extracción para emplear <sup>188</sup>W de muy baja actividad específica. La extracción tiene la ventaja adicional que es rápida y se puede emplear como método de separación y concentración o como método de concentración solo. Los estudios preliminares indican que en el sistema de extracción agua:metiletilcetona la extracción del <sup>188</sup>Re es independiente del pH de la solución acuosa y los rendimientos de extracción están entre 75 y 90%, pero para el <sup>188</sup>W si se extrae en cantidades importantes en fase orgánica a pH ácidos, se logra una buena separación sólo a pHs > 4 que no se ve afectada con el aumento de las

cantidades de portador de tungsteno en forma de Na<sub>2</sub>WO<sub>4</sub>, aún cuando se lleguen a concentraciones cercanas a la saturación de la solución.

### PROYECCIONES FUTURAS

Las proyecciones de la producción de radisótopos a partir de generadores en el CENTIS son las siguientes:

1. Comenzar la producción local de los generadores de <sup>99</sup>Mo/<sup>99m</sup>Tc cuando se resuelva el problema de la importación del <sup>99</sup>Mo de fisión.
2. Preparar un generador cromatográfico de <sup>90</sup>Sr/<sup>90</sup>Y de hasta 300 mCi, una vez importado el <sup>90</sup>Sr que permita una disponibilidad semanal de alrededor de 200 mCi de <sup>90</sup>Y.
  - a) Sumar a la nomenclatura de productos del CENTIS varios fármacos marcados con <sup>90</sup>Y como el fitato, citrato y el silicato en los cuales se está trabajando.
3. Desarrollar un generador de extracción que permita de forma centralizada la obtención de <sup>188</sup>Re para distintas aplicaciones terapéuticas.
  - a) Aumentar la nomenclatura de CENTIS con nuevos fármacos para terapia entre los que se destacan el <sup>188</sup>Re-HEDP, el sulfuro coloidal de <sup>188</sup>Re, y otros.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] NOWACK B., GULNTER K. F., HILGER S. U., SIGG, L., Determination of Dissolved and Adsorbed EDTA, Species in Water and Sediments by HPLC, Anal. Chem. 68 (1996)561-566.
- [2] XIQUES, A., Obtención de Y-90 de alta pureza para aplicaciones medicas, Tesis de maestría, 2000.
- [3] PERERA, A., LEYVA, R., XIQUES, A., HERNÁNDEZ I., LEÓN, M., FIGUEREDO, R., IZNAGA, N., Marcaje del anticuerpo monoclonal humanizado h-R3 con <sup>90</sup>Y, International Seminar-First National Workshop, Use and Development of Health Related Industrial Isotopes.
- [4] EHRHARDT, G. y otros, Technetium and Rhenium in Chemistry and Nuclear Medicine 3 (1990)631.
- [5] MILLER, K. M. y otros, Diagnostic/Therapeutic Radioisotope Pairs: A comparison of Tc-99m/Re-186 and In-111/Y-90, Targeted Radiopharmaceuticals.
- [6] SEUNG, J. O. y otros, Automation of the synthesis of highly concentrated <sup>188</sup>Re-MAG3 for intracoronary radiation therapy, Applied Radiation and Isotopes 54 (2001)419-427.
- [7] BOR-TSUNG, H. y otros, Comparison of various <sup>188</sup>Re-labeled diphosphonates for treatment of bone metastases, Nuclear Medicine and Biology, Vol. 26 (1999)973-976.
- [8] HIROSHI, K. y otros, <sup>188</sup>W/<sup>188</sup>Re, Generator for Biomedical Applications, Radiochimica Acta 65 (1994)39-46.
- [9] GUHLKE, S. y otros, Simple New Method for effective concentration of <sup>188</sup>Re solutions from alumina-based <sup>188</sup>W-<sup>188</sup>re generator, J. Nucl. Med. 41(2000)271-1278.
- [10] Fisión Molibdenum for Medical use, IAEA-TECDOC-515, 1989.
- [11] CALLAHAN, A.P. y otros, Large-Scale Production of Tungsten-188, Radioactivity and Radiochemistry, Vol. 3, No. 4, 1992.

## <sup>123</sup>I: UNA OPCIÓN VIABLE PARA LA MEDICINA NUCLEAR CUBANA

Luis Ducat Pagés

Centro de Isótopos, Ciudad de La Habana, Cuba

### Resumen

En el trabajo se analizan algunas de las aplicaciones diagnósticas de los radiofármacos de I-123 en neurología, cardiología y oncología, para la obtención de imágenes de infecciones e inflamaciones y otras aplicaciones diagnósticas. Se analizan los factores que han incidido en la no utilización de radiofármacos de I-123 en nuestro país y la factibilidad de instalación de un ciclotrón de 20 MeV de protones para la producción de isótopos radiactivos para PET y SPECT en el Centro de Isótopos, lo que junto con las demás instalaciones tecnológicas de producción, el equipamiento científico instalado, la experiencia de más de 12 años en la producción de radiofármacos y un sistema de calidad aplicado a todos los procesos productivos, así como un sistema de distribución rápido y eficiente, hace que el Centro de Isótopos pueda asimilar la producción de I-123, F-18 y otros isótopos ciclotrónicos y garantizar la distribución de radiofármacos de I-123 a todo el país.

### <sup>123</sup>I: A VIABLE OPTION FOR THE CUBAN NUCLEAR MEDICINE

### Abstract

Some of diagnostic applications of I-123 radiopharmaceuticals in neurology, cardiology and oncology, for obtaining images of infections and inflammations and other diagnostic applications, are analyzed in this work. The studied factors are those having impact on the non-use of I-123 radiopharmaceuticals in our country and the feasibility for the installation of a 20 MeV proton cyclotron in order to produce radioactive isotopes for PET and SPECT at the Isotope Center. The above-mentioned factors, together with other technological production facilities, the installed scientific equipment, the experience of more than 12 years in production of radiopharmaceuticals and a quality assurance system applied to all productive processes, as well as a quick and efficient distribution system, have enabled CENTIS to incorporate the production of I-123, F-18 and other cyclotron isotopes and to guarantee the distribution of I-123 radiopharmaceuticals to the whole country.

*Palabras clave: nuclear medicine; vat; patients; diagnosis; iodine 123; radiopharmaceuticals; pharmacology; isotope production; photon sails emission computed tomography*

### INTRODUCCIÓN

La medicina nuclear de hoy, y sobre todo la de mañana, seguirá siendo un compromiso costo-beneficio. El Tc-99m, gracias a sus propiedades químicas y nucleares favorables, reconocida desde su descubrimiento por Sagré en 1941, es el radionúclido ideal para la obtención de imágenes en cámara gamma. Sin embargo, no fue hasta que Mallinckrodt desarrolló un generador de <sup>99</sup>Mo-<sup>99m</sup>Tc funcional y barato, que la química del tecnecio no alcanzó los niveles de desarrollo que permitieron la explosión de los radiofármacos de Tc-99m en las décadas 80 y el 90 del pasado siglo, lo que junto con el perfeccionamiento tecnológico de la cámara gamma, condujeron a un desarrollo vertiginoso de la medicina nuclear.

Algo similar ocurre hoy con el F-18. Hace ya varios años que es universalmente aceptado que el F-18, caracterizado por T<sub>1/2</sub> de 110 min., emisión positrónica relativamente blanda de 632 KeV con la formación de dos cuantos gamma de

aniquilación de 0,511 MeV emitidos en una misma dirección y en sentidos opuestos, y el hecho que la sustitución de un grupo OH en la posición 2' de la glucosa, no altera las propiedades químicas de esta molécula, se pudiera convertir el PET con <sup>18</sup>F-FDG en la bala mágica de la medicina nuclear. Sin embargo esto aún no ha ocurrido y el uso de este radiofármaco y de la tomografía positrónica en general sigue siendo algo privativo de los países desarrollados. Un estudio de perfusión miocárdica mediante PET cuesta, incluyendo la depreciación del tomógrafo y el radiofármaco, un poco más de 1500 dólares, mientras que un estudio de perfusión con Tl-201 cuesta 350 dólares y con Tc-MIBI unos 170 dólares.

Muchos factores influyen en el alto costo de este tipo de aplicaciones, pero el fundamental es la elevada inversión inicial en equipamiento (un tomógrafo PET cuesta alrededor de 1,5 millones de dólares y un ciclotrón de 18 MeV de protones costaría hasta 3 millones, incluyendo la inversión civil). Si a esto sumamos el costo del apoyo tecnológico al funcionamiento del ciclotrón, el

aseguramiento de la calidad, la preparación del personal y la protección radiológica, vemos que una dosis de 2 mCi de <sup>18</sup>F-FDG cuesta 400 dólares y dos horas de trabajo de un tomógrafo PET cuesta 600 dólares.

El I-123 es otro ejemplo donde el compromiso costo-beneficio puede jugar un papel determinante en la toma de decisiones sobre su producción y empleo masivo en nuestro país. En la tabla 1 se muestran las propiedades nucleares más importantes del I-123 comparadas también con las del I-131 y del Tc-99m.

En la tabla 1 se evidencia que el I-123 posee propiedades nucleares muy favorables para la preparación de radiofármacos. Aunque no se trate

Tabla 1. Propiedades nucleares del I-123, I-131 y Tc-99m

	<b>I-123</b>	<b>I-131</b>	<b>Tc-99m</b>
T1/2	13,3 h	8,02 d	6,0 h
E <sub>β</sub> (MeV)	0,159	0,364	0,140
E <sub>α</sub> (MeV)	0	0,600	0
Efectividad en NaI (%)	95	30	95

de un elemento componente de las sustancias bioactivas como los radionúclidos de C, N y O, el yodo puede ser incorporado a un sinnúmero de moléculas orgánicas por métodos simples y con buenos rendimientos químicos y radioquímicos, sin una alteración apreciable de las propiedades biológicas de estas moléculas. Las imágenes que se obtienen en la cámara gamma son de altísima calidad, ya que la energía gamma del I-123 es comparable a la del Tc-99m y ronda el máximo de eficiencia de los cristales de centelleo de NaI que se utilizan actualmente en las cámaras gamma.

Hay radiofármacos tradicionales de I-131 para diagnóstico, que se pueden producir con I-123 sin alteraciones tecnológicas notables en la síntesis y el control de la calidad, como por ejemplo, algunos anticuerpos monoclonales que ya son de uso rutinario así como sus fragmentos, el ácido ortoyodo hipúrico, la metayodo bencilguanidina (MIBG), el yoduro de sodio, y otros. Sin embargo los radiofármacos de I-123 tienen cada vez mayor aceptación y aplicación en la detección y estadiamiento de tumores, en la obtención de imágenes funcionales del miocardio y del cerebro y en muchas otras aplicaciones, con una manipulación más sencilla y más segura que en el caso de los radiofármacos de I-131. La tabla 2 resume algunas de estas aplicaciones y las sustancias más utilizadas como radiofármacos de I-123.

Tabla 2. Radiofármacos de I-123 y algunos campos de aplicación

Imágenes de tumores	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Proteínas y péptidos</li> <li>- Receptores específicos</li> <li>- MIBG</li> <li>- Metiltirosina (IMT)</li> <li>- Isopropil-yodo-anfetamina (IMP)</li> <li>- Yodo-desoxyuridina</li> </ul>
Imágenes de infecciones e inflamaciones	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Anticuerpos</li> <li>- Cytokines</li> </ul>
Imágenes del miocardio	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Ácidos grasos</li> <li>- MIBG</li> <li>- Receptores específicos</li> </ul>
Imágenes del cerebro	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Neuroreceptores</li> <li>- Moléculas bioactivas de bajo peso molecular</li> </ul>
Otras aplicaciones	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Serum amyloid P compound</li> <li>- Atrial natriuretic peptide</li> </ul>

**MÉTODOS DE YODACIÓN**

Los métodos de yodación para la obtención de radiofármacos de origen proteico de I-123 son en principio, los que se emplean para la yodación de proteínas con I-125 para RIA e IRMA y se pueden dividir en químicos, enzimáticos y físico-químicos, y utiliza como agentes oxidantes cloramina T, yodógeno, lactoperoxidasa, y otros. El método de yodación se selecciona sobre la base de que se mantenga inalterable la inmunoreactividad de la proteína, que no se incorpore más de un átomo de yodo por molécula y que existan los métodos de purificación adecuados. En el caso de moléculas no proteicas la yodación se puede hacer mediante sustitución nucleofílica o electrofílica. La sustitución nucleofílica se lleva a cabo mediante intercambio de halógenos o mediante la sustitución de diazo y triazo derivados en los anillos aromáticos.

La sustitución electrofílica se realiza mediante agentes oxidantes como amidas, imidas, una mezcla de ácido acético y peróxido de hidrógeno, y otros lo que permite reducir el número de subproductos clorados, que se obtienen cuando se emplea cloramina T o sus análogos. Otro método de yodación electrofílica de sustancias alifáticas consiste en la halodemetilación, en la cual el enlace C-H se sustituye por C-Me y luego el metal se sustituye por yodo mediante un ataque electrofílico en condiciones químicas suaves y cortos tiempos de reacción. Teniendo en cuenta que la yodación de sustancias aromáticas es más fácil que la de sustancias alifáticas, la posibilidad de obtener compuestos yodados para la medicina nuclear es tan amplia como la de obtener compuestos marcados con Tc-99m.

**RADIOFÁRMACOS DE I-123 L-3-<sup>123</sup>I-YODO-Á-METIL TIROSINA (<sup>123</sup>I-IMT)**

La tomografía SPECT con <sup>123</sup>I-IMT es una herramienta importante para la investigación *in vivo* del transporte de aminoácidos y ha demostrado ser útil para la caracterización no invasiva de tumores cerebrales y su recurrencia. Las imágenes obtenidas aportan más información que las de resonancia magnética nuclear y no dependen de las afectaciones de la barrera hematoencefálica, por lo que pueden ser de utilidad para el planeamiento terapéutico. En la figura 1 se muestra una imagen de un tumor cerebral mediante SPECT con <sup>123</sup>I-IMT (a) y mediante PET con <sup>18</sup>F-FDG (b). Se aprecia una mayor resolución en la imagen obtenida con I-123-SPECT.

En la figura 2 se muestra un tomograma transaxial de un tumor cerebral obtenido mediante <sup>123</sup>I-IMT- SPECT (a), <sup>18</sup>F-FDG- PET (b) y mediante RMN (c). Aún cuando el valor diagnóstico de las imágenes sea semejante, se debe considerar que el SPECT con I-123 es tres veces más barato que el PET con F-18.

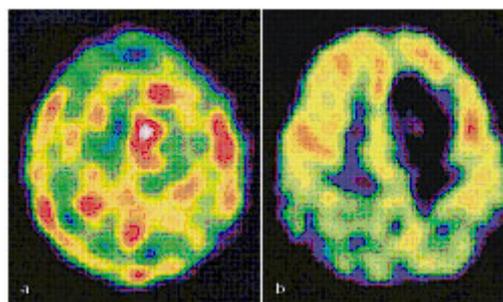


Figura 1.

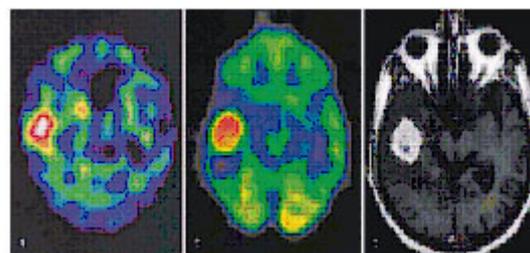


Figura 2.

El <sup>123</sup>I-IMT también se ha utilizado con éxito para la detección de carcinomas escamosos de cabeza y cuello, y se obtienen imágenes nítidas 30 minutos después de la inyección de 130 MBq del radiofármaco con bloqueo de tiroides (figura 3), lo que permite la detección temprana de recurrencias con un 93% de sensibilidad.

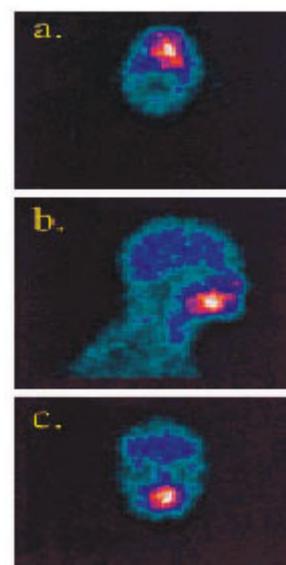


Figura 3. Imagen de un paciente con carcinoma escamoso recurrente de cabeza y cuello (lengua) tres meses después de efectuada la radioterapia. La recurrencia se confirmó mediante biopsia.

**N-ISOPROPIL-P-123I-iodoANFETAMINA (<sup>123</sup>I-IMP)**

Es un compuesto lipofílico que penetra la barrera hematoencefálica y presenta una elevada eficiencia de extracción en el tejido cerebral, por lo que se puede utilizar para la medición del flujo sanguíneo cerebral. Su acumulación en el cerebro transcurre según el flujo sanguíneo regional. Como se aprecia en la figura 4 los tumores se visualizan en la imagen de SPECT como focos de acumulación disminuida de <sup>123</sup>I-IMP, por lo que se utiliza para diagnosticar de tumores en el Sistema Nervioso Central.

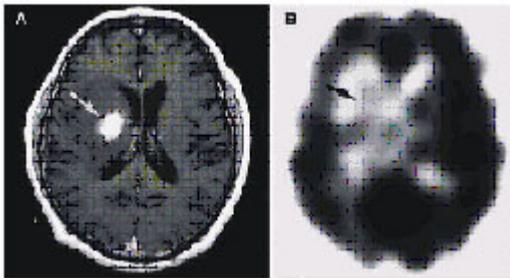


Figura 4. Imagen de un tumor de cerebro obtenida a las dos horas de administrado 130 MBq de <sup>123</sup>I-IMP.

**N-3-iodopropen-2-yl-2b-carbomethoxy-3b-(4-chlorophenyl)tropane (<sup>123</sup>I-IPT)**

Es un análogo de la cocaína que permite obtener imágenes de los transportadores de la dopamina mediante SPECT. Como se aprecia en la figura 5 puede ser utilizado para el estudio de la progresión y la extensión de la degeneración en pacientes con el Mal de Parkinson, donde se obtiene una

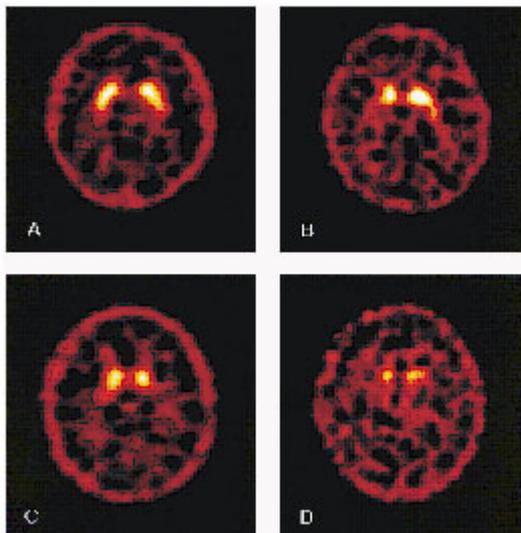


Figura 5. Unión específica de <sup>123</sup>I-IPT en un paciente control (A) y en pacientes con estadios crecientes del Mal de Parkinson I (B), II (C), y IV (D). Los coeficientes de enlazamiento disminuyen marcadamente al aumentar los estadios de Hoehn y Yahr.

acumulación disminuida con el aumento del nivel de deterioro ocasionado por la enfermedad. En pacientes con síntomas no bien definidos puede servir para el diagnóstico adecuado en etapas tempranas de la enfermedad.

**5-YODO-2'-DOSOXYURIDINE**

Esta sustancia presenta un comportamiento *in vivo* similar a la timidina debido a la similitud entre los radios de Van der Waals entre el átomo de yodo y el grupo metilo en la posición cinco. Una vez dentro de la célula el compuesto se somete a una fosforilación enzimática y se incorpora al ADN de las células en división, por lo que presenta una acumulación no específica marcada en tumores, demostrándose su utilidad clínica en el diagnóstico temprano de metástasis en hígado a partir de tumores primarios colorectales.

**METAYODO-BENCIL GUANIDINA (I-123 MIBG)**

La <sup>123</sup>I-MIBG ha consolidado sus posiciones en la medicina nuclear como un marcador por excelencia de tumores neuroendocrinos (paragangliomas, neuroblastomas) con una sensibilidad mayor de 97%, lo que presenta una acumulación notable además en tumores pequeños de pulmón y carcinomas medulares de tiroides. También se ha venido utilizando con éxito en la valoración gammagráfica de la integridad neuronal cardíaca y por ende para el diagnóstico de isquemia y diversas cardiopatías. La MIBG muestra un esquema de biodistribución similar a la norepinefrina debido a un mecanismo ATP-asa dependiente, similar al mecanismo de acumulación de las catecolaminas. Luego de cuatro días, hasta un 90% de la MIBG se encuentra en la orina sin alteraciones metabólicas.

En la figura 6 se muestra un estudio de perfusión con <sup>123</sup>I-MIBG donde se muestra una isquemia anterior con una reducida acumulación en zonas con defectos de perfusión.

En la figura 7 se muestra un estudio comparativo entre las imágenes obtenidas mediante Tc-99m-MAA y I-123 MIBG en un paciente con un adenocarcinoma en el pulmón derecho tratado con

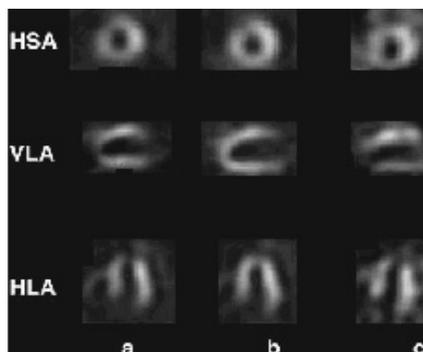


Figura 6.

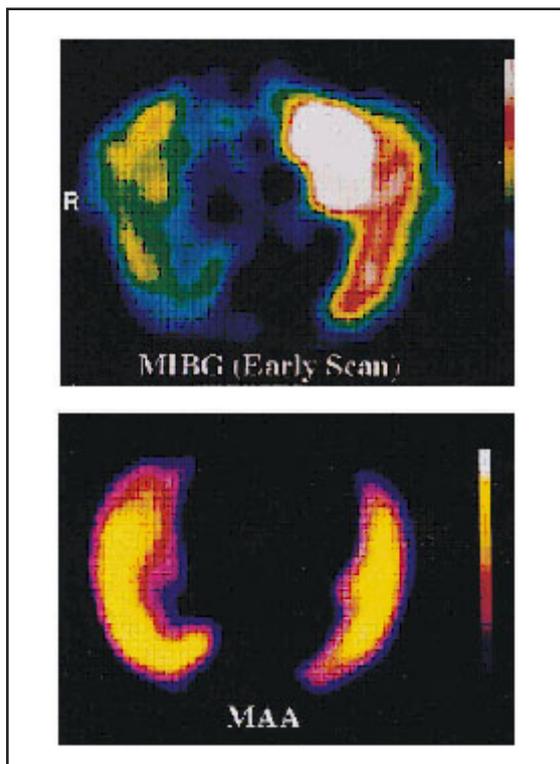


Figura 7.

radioterapia en un acelerador lineal de protones con dosis fraccionadas de 1,5 Gy. Hasta una dosis total de 28 MeV. Nótese un pequeño residuo tumoral que se observa en la imagen obtenida con MIBG-<sup>123</sup>I y no en la obtenida con MAA.

**Péptido vasoactivo intestinal (123I-VIP)**  
Los receptores del péptido vasoactivo intestinal (VIP) se encuentran sobre expresados en los adenocarcinomas humanos del sistema gastroenteropancreático y por lo tanto constituyen un blanco lógico para la gammagrafía de receptores. Utilizando <sup>123</sup>I-VIP se puede detectar tejido de adenocarcinoma del páncreas, en particular tejido metastático con alta sensibilidad y especificidad.

#### <sup>123</sup>I-IOBENZAMIDA (<sup>123</sup>I-IBZM)

La iodobenzamida es un radiofármaco que atraviesa fácilmente la barrera hematoencefálica y se enlaza selectivamente a los receptores de la dopamina y se ha venido utilizando con éxito, por ahora experimental, en el diagnóstico de la esquizofrenia. En la figura 9 se muestra la imagen de un paciente esquizofrénico tratado previamente con olanzapina que es un agente antipsicótico de la familia de las clozapinas.

#### OBTENCIÓN DE I-123

La causa fundamental por la que un radionúclido de propiedades tan favorables no haya encontrado aún una aplicación masiva en países

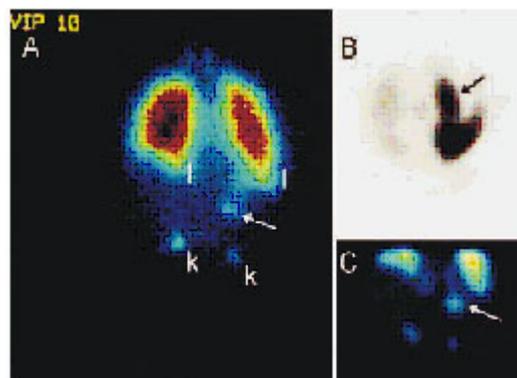


Figura 8. Centelleografía de una paciente con adenocarcinoma pancreático 4,5 horas después de la administración de <sup>123</sup>I-VIP. A- vista anterior, B- vista transversal y C- vista frontal.

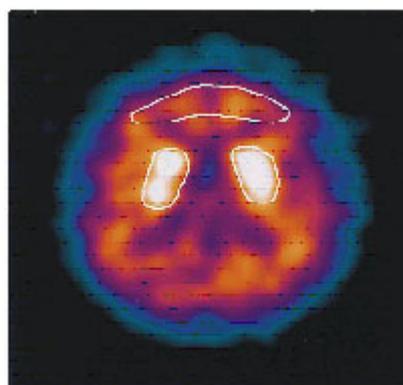


Figura 9.

como Cuba se debe sin dudas a las dificultades para su obtención. Debido a su corto  $T_{1/2}$  no puede ser importado, y para producirlo en el país se requiere de un ciclotrón de al menos 20 MeV de protones, que es un equipamiento con un costo aproximado de 2,5 millones de dólares y que precisa de un personal altamente calificado para su explotación y mantenimiento y de condiciones adecuadas para su aplicación segura.

El I-123 se obtiene a partir de un blanco gaseoso de Xe-124 a alta presión, enriquecido al 99,8%. El máximo de rendimiento se obtiene para protones de 30 MeV, aunque para protones de 20 MeV con 120 ñ A de corriente y con el aumento del tiempo de irradiación hasta 8-10 horas, se obtienen rendimientos favorables de 260 MBq/ñ A.h. Luego de un tiempo de enfriamiento de alrededor de seis horas, el blanco se trata con hidróxido de sodio diluido, extrayéndose el I-123 en forma de yoduro de sodio.

Este método de obtención sustituyó al que se empleaba anteriormente y que consistía en el bombardeo de yodo natural con protones de 60 MeV:



## PANORAMA NUCLEAR

que si bien empleaba un blanco natural más barato, requería de grandes instalaciones de aceleración que a la larga encarecían el producto final. El contenido de contaminantes era también muy elevado, sobre todo en I-125 y Te-121.

Asimismo, se ha dejado de utilizar el método de obtención basado en la irradiación de Te-124 con protones de 45 MeV:  $^{124}\text{Te} (p,2n) ^{123}\text{I}$  en la que se produce como subproducto I-124, cuyo contenido relativo crece con el tiempo lo que aumenta la dosis que recibe el paciente.

La firma belga IBA oferta ciclotrones de 20 MeV de protones a un precio aproximado de 2,5 millones de dólares.

Un ciclotrón de estas características, que por algún tiempo sería el primero y único en el país, estaría dedicado fundamentalmente a la producción de F-18 y I-123 y en menor escala a la producción de los otros radionúclidos positrónicos de vida media ultracorta: C-11, N-13 y O-15, así como a otras aplicaciones médicas, se amortigua en un período de dos años de explotación. En la tabla 3 se resumen las características de los ciclotrones pequeños y medianos que se pueden utilizar en la producción de F-18 y I-123.

El hecho que este tipo de ciclotrones se pueda catalogar de pequeño, por no presentar las complejidades tecnológicas y civiles de los grandes aceleradores de investigación, quizás

haga pensar erróneamente que su explotación está libre de riesgos o es una tarea rutinaria más. Nada más lejos de la realidad. Las tasas de dosis implicadas en los procesos de producción de radiofármacos para PET y SPECT a partir de radisótopos ciclotrónicos pudieran ser extraordinariamente altas y comprometer fácilmente los límites anuales de dosis establecidos para los trabajadores profesionalmente expuestos. Sólo de esta manera se entiende el riguroso seguimiento al que están sometidas las instalaciones radiactivas que cuentan con ciclotrones por parte del organismo regulador en materia de seguridad nuclear tanto en su construcción como posteriormente durante su explotación.

Existen dos cuestiones fundamentales que inciden en la manipulación segura de un ciclotrón independientemente de cuál sea su tamaño. La primera es las elevadas tasas de radiación que se producen durante el proceso de bombardeo de los blancos. Durante este período se produce radiación gamma de alta energía (alrededor de 10 MeV) y neutrones. Los neutrones son partículas difíciles desde el punto de vista de la seguridad radiológica, ya que por carecer de carga presentan recorridos en la materia muy elevados y por su tamaño depositan una enorme cantidad de energía en el tejido. La forma de detenerlos es emplear materiales ligeros como plásticos, parafinas, boro o elementos ricos en hidrógeno. Estos materiales son radicalmente opuestos a los necesarios para atenuar la radiación gamma de

Tabla 3. Características técnicas de los ciclotrones más empleados en la producción de isótopos

	10 MeV	20 MeV	30 MeV
Ión acelerado	H <sup>-</sup> , D <sup>-</sup>	H <sup>-</sup> , D <sup>-</sup>	H <sup>-</sup>
Ión extraído	H <sup>+</sup> , D <sup>+</sup>	H <sup>+</sup> , D <sup>+</sup>	H <sup>+</sup>
Energía de protones	Fija: 10 MeV	Fija: 18 MeV	Variable: 15-30
Energía de deuterones	Fija: 5 MeV	Fija: 9 MeV	no
Corriente	60 μA	80 μA	350 μA
No. puertos para blancos	8	8	8
Número de corrientes simultáneas	2	2	2
Consumo de energía	40 kW	50 kW	60 kW
Alta frecuencia	42 MHz	42 MHz	65 MHz
Radionúclidos posibles	$^{11}\text{C}$ $^{13}\text{N}$ $^{15}\text{O}$ $^{18}\text{F}$	$^{11}\text{C}$ $^{13}\text{N}$ $^{15}\text{O}$ $^{18}\text{F}$ $^{123}\text{I}$ $^{111}\text{In}$	$^{11}\text{C}$ $^{13}\text{N}$ $^{15}\text{O}$ $^{18}\text{F}$ $^{123}\text{I}$ $^{111}\text{In}$ $^{201}\text{Tl}$
Precio del ciclotrón en millones USD	1,5	2,0	4,0
Precio de la unidad de RF	1,3	1,8	2,0
Precio del tomógrafo	2,0	2,0	2,0

alta energía, lo que produce un pequeño conflicto en el momento de elegir un blindaje eficaz para proteger un ciclotrón. El material que tradicionalmente ha proporcionado un compromiso a dichas necesidades radiológicas ha sido el hormigón. La necesidad de construir imponentes búnquers de hormigón para alojar los equipos reduce drásticamente las posibilidades de instalación de ciclotrones en edificios convencionales u hospitales.

Las empresas fabricantes han centrado sus esfuerzos en dotar a los ciclotrones de un carácter mucho más compacto y lo que es mucho más relevante, suministrarlos con su propio autoblandaje. Gracias a estas mejoras algunos de los ciclotrones comerciales se pueden instalar en salas de poco más de 35 m<sup>2</sup> sin la necesidad de realizar una obra civil importante. Pero el autoblandaje limita las posibilidades tecnológicas del ciclotrón, ya que es prácticamente imposible extraer el haz de partículas del ciclotrón hacia el laboratorio radioquímico. Este efecto es particularmente lamentable en el caso de ciclotrones con posibilidad de utilizar dos y hasta tres haces simultáneamente, por ejemplo los cyclon de IBA, Bélgica.

La otra gran consideración que atañe al trabajo de un ciclotrón es su mantenimiento y explotación. Aunque han sido muchas las mejoras realizadas para acercar los aceleradores a usuarios no familiarizados con estos equipos, este proceso no ha estado acompañado con una mejora sustancial de los niveles de fiabilidad que alcanzan los fabricantes de otros equipos de alta tecnología, como por ejemplo computadoras, automóviles, u otro tipo de instrumentación de electromedicina. Hoy por hoy, cuando los equipos antes mencionados ofrecen márgenes de error evaluados en partes por millón, los fabricantes de ciclotrones no garantizan más allá de un 95% de fiabilidad.

Estas cifras tan llamativas no son extrañas si se tiene en cuenta que se trata de sistemas que cuentan con muy diversas tecnologías interrelacionadas entre sí y que trabajan bajo condiciones de funcionamiento muy exigentes. Si a ello sumamos un número similar de fallos atribuibles a otros equipos del sistema de producción como los módulos de síntesis o los correspondientes a errores humanos, la fabricación de radiofármacos PET se convierte en una actividad con márgenes absolutos de error bastante elevados. Una buena parte de ellos se pueden superar con equipamiento redundante o con líneas de producción paralelas y simultáneas. Las consecuencias económicas de esta solución sólo pueden ser soportadas si se cuenta con un número adecuado de clientes.

Para acometer la producción nacional de radiofármacos para PET y SPECT de I-123 se requiere, además del ciclotrón, un sistema de boxes blindados y cajas de guantes que permitan

acometer los procesos de producción, purificación y control de la calidad de acuerdo con las Buenas Prácticas de Producción, un sistema de protección radiológica aplicado a los procesos productivos que aseguren el cumplimiento de los requisitos estipulados por el Centro Nacional de Seguridad Nuclear para este tipo de producciones y un sistema de calidad aplicado a todos los procesos productivos que permita el cumplimiento de los requisitos impuestos por el órgano regulador nacional (CECMED) para este tipo de producciones. Semejante grado de control sobre la fabricación de los radiofármacos para PET tiene su justificación por el riesgo que supone el importante grado de manipulación que requiere la preparación de los reactivos y el fraccionamiento del producto final, por el delicado proceso de su síntesis química y por el casi inmediato consumo que se hace de ellos y que obliga a contar con un laboratorio de control de calidad que asegure de forma rápida y fiable la pureza radioquímica y radionuclídica así como la eficacia e inocuidad del producto que se va a administrar. Este nivel de riesgo es muy superior al de las preparaciones liofilizadas para el marcaje con Tc-99m, en los que la posibilidad de alteración del producto es mínima y la calidad de los compuestos empleados está asegurada por sus fabricantes.

Entre los requisitos que contempla la fabricación de estos productos se encuentra la necesidad de contar con zonas clasificadas desde el punto de vista de calidad del aire. En función de las características del equipamiento de producción elegido, esto es, módulos de síntesis, dispensador automático de viales y celdas blindadas que los albergan, será necesario un nivel exigente de la calidad del aire para la zona de producción así como el cumplimiento estricto de las BPP por lo que la síntesis y el control de la calidad se regirá por las normas y procedimientos preceptivos para el trabajo en salas limpias.

Además se requiere de un sistema de transportación rápido, eficiente y certificado que permita colocar un producto en cualquier hospital de la ciudad en menos de una hora, así como de toda la logística necesaria para acometer la producción de productos de doble naturaleza: por un lado son inyectables y por otro son sustancias radiactivas de cortos períodos de semidesintegración, con doble regulación nacional.

El Centro de Isótopos cuenta con toda la infraestructura necesaria para acometer esta tarea en materia de medios tecnológicos de defensa, áreas destinadas a la producción de medicamentos según las Buenas Prácticas de Producción, equipamiento analítico instalado, sistema de seguridad radiológica y desechos radiactivos, sistema de calidad aplicado a todos los procesos productivos, y otros. Cuenta con la experiencia de 12 años en la producción, control y distribución de radiofármacos para todo el país y finalmente con especialistas que han acumulado

una valiosa experiencia en el campo de la radiofarmacología y la radioquímica.

### CONCLUSIONES

Para concluir podemos subrayar los siguientes aspectos:

- 1- El I-123 por sus propiedades químicas y nucleares está llamado a jugar un papel de primer orden en la medicina nuclear en nuestro país.
- 2- Los radiofármacos de I-123 encuentran aplicación clínica rutinaria en oncología, cardiología, neurología, obtención de imágenes de infecciones e inflamaciones y otras aplicaciones.
- 3- Para la medición de I-123 se emplean las mismas cámaras gamma que ya están instaladas en los hospitales. Las imágenes obtenidas son de gran nitidez y resolución, y en algunos casos superiores a las que se obtienen por PET.
- 4- Los precios de los radiofármacos de I-123 son mucho más bajos que los de los radiofármacos para PET, de igual forma el precio de una tomografía por PET es en un orden mayor que los estudios tomográficos habituales en cámara gamma.
- 5- Un ciclotrón de 20 MeV de protones permitiría la producción de F-18 y I-123 en cantidades suficientes para satisfacer las necesidades nacionales.
- 6- El Centro de Isótopos cuenta con las instalaciones, la experiencia y la logística

necesaria para garantizar la producción y el suministro de radiofármacos de I-123 y F-18 a todo el país.

### BIBLIOGRAFÍA CONSULTADA

- [1] BOURGUIGNON, M.H., PAUWELS, E.K., Iodine 123 labelled radiopharmaceuticals and single-photon emission tomography: a natural liaison, *Eur. J. Nucl. Med.* 24 (1997)331-344.
- [2] YOSHIKAI, T., FUKAHORI, T., ISHIMARU, J., KATO, A., I-123-IMP SPECT in the diagnosis of primary central nervous system lymphoma, *Eur. J. Nucl. Med.* 28 (2001)25-32.
- [3] MOMOSE, S.I., TOSHISKI, E., KIMIHARU, I., Increased cardiac sympathetic activity in patients with hypothyroidism as determined by iodine-123 metaiodobenzylguanidine scintigraphy. *Mitsuru Eur. J. Nucl. Med.* 24 (1997)1132-1137.
- [4] Non invasive grading of primary brain tumours: results of a comparative study between SPET with 123I-methyl tyrosine and PET with F18-deoxyglucose, *Eur. J. Nucl. Med.* 24 (1997)5428-434.
- [5] REINHARDT, M., JUNGLING, F., KRAUSE, T., BRAUNE S., Scintigraphic differentiation between two forms of primary dysautonomia early after onset of autonomic dysfunction: value of cardiac and pulmonary iodine 123 MIBG uptake, *Eur. J. Nucl. Med.* 27 (2000)595-600.
- [6] SCHMIDT, D., GOTTWALD, U., LANGEN, K., WEBER, F., 123-I methyl - L tyrosine uptake in cerebral gliomas: relationship to histological grading and prognosis, *Eur. J. Nucl. Med.* 28 (2001)855-861.
- [7] TATSH, K., SCHAWARS, J., MOSLEY, D., LINKE, R., Relationship between clinical features of Parkinson's disease and presynaptic dopamine transporter binding assessed with I-123-IPT and SPECT, *Eur. J. Nucl. Med.* 24 (1997)415-421.

# LA RADIOSINOVIOERTESIS EN EL TRATAMIENTO DE LAS ARTROPATÍAS REUMÁTICAS

Enrique García Rodríguez

Hospital General Docente "Enrique Cabrera", Instituto de Hematología e Inmunología, Ciudad de La Habana, Cuba

## Resumen

El trabajo incluye una breve reseña histórica, las indicaciones generales y específicas de la radiosinovioertesis, sus ventajas y desventajas, reacciones secundarias y contraindicaciones. Se analizan los estudios complementarios a realizar previos y posteriores al tratamiento. Se exponen además las características del procedimiento, los principales radionúclidos utilizados, así como el manejo general de los pacientes antes y después de su realización. Se ofrecen las ventajas de la próxima introducción de este método de tratamiento en nuestro país.

## RADIOSYNOVIORTHESES IN THE TREATMENT OF RHEUMATIC ARTHROPATHIES

### Abstract

The work includes a brief historical review, general and specific indications on the radiosynovioertesis, its advantages and disadvantages, side effects and warnings. The complementary studies to be carried out before and after treatment are analyzed. The procedure's characteristics, the main radionucleidos used, as well as the general follow-up of patients before and after its implementation are also exposed. Advantages of its immediate introduction in our country are shown.

Palabras clave: nuclear medicine; patients; phosphorus 32; radiation doses; bone joints; therapeutic uses; isotope applications

## INTRODUCCIÓN

La radiosinovioertesis consiste en la inyección en una articulación portadora de inflamación sinovial, de un radiofármaco beta emisor, fundamentalmente en forma de radiocoloide, con el objetivo de provocar fibrosis y remodelación de la membrana sinovial, para aliviar el dolor y mejorar la función articular. Se conoce además con los términos de sinoviolisis radiactivo y sinovectomía por radisótopos.

Las primeras experiencias de su aplicación datan de 1952 en Europa por Fellingner y col. y Ansell y col. en 1963, mediante la utilización de AU-198 en articulaciones inflamadas. Delbarre en 1967 adopta el término de radiosinovioertesis para describir este procedimiento.

Posteriormente su utilización se extendió masivamente en Europa, Canadá y Australia. Recientemente se ha extendido por Estados Unidos, algunos países de Asia, y en países de América Latina fundamentalmente en las capitales de Colombia y Venezuela para uso exclusivo en pacientes hemofílicos. Actualmente nos proponemos introducir esta técnica de tratamiento en Cuba y posteriormente

extender su uso en el manejo terapéutico de las artropatías reumáticas y hemofílicas.

### Indicaciones generales

La radiosinovioertesis se puede utilizar en aquellas afecciones que se caracterizan por la proliferación e inflamación crónica del tejido sinovial o que en su evolución presentan episodios prolongados de inflamación sinovial. Además se puede aplicar en enfermedades en las que están presentes cuadros de hemartrosis repetidas que provocan una artropatía crónica en las articulaciones.

Las principales enfermedades en que está indicada son: artritis reumatoide, artritis por psoriasis, osteoartritis, hemofilia, espondilitis anquilopoyética, sinovitis vellonodular pigmentada y otras afecciones como pueden ser: pseudogota, gota, quiste de baker, sinovitis después de reemplazo protésico, síndrome de Reiter y sinovitis postcorrección de desarreglo interno de rodilla. Otras entidades sistémicas que en su evolución cursen con episodios inflamatorios crónicos de la sinovial, no están excluidos de la posible indicación de la radiosinovioertesis.

## PANORAMA NUCLEAR

Entre los propósitos de la acción terapéutica de la radiosinovioartesis está la reconstrucción de la mucosa articular, preservar la función, reducir el dolor, mejorar la movilidad, disminuir el uso de medicamentos y mejorar la calidad de vida de los enfermos.

### Indicaciones específicas en la artritis reumatoide

- Después de seis meses de tratamiento básico sistémico.
- No mejoría después de seis inyecciones intraarticulares de esteroides.
- Estadios tempranos de lesión articular (Estadios I y II).
- Recidiva después de radiosinovioartesis. Se puede repetir a los seis meses de realizada, excepto en los casos de sinovitis después de tres meses de la inyección inicial en que se realiza (dosis de saturación).
- Pacientes con alto riesgo para la cirugía.
- Enfermos que no aceptan la cirugía.
- Gran número de articulaciones necesitadas de cirugía.
- Combinación con la sinovectomía quirúrgica después de seis semanas de realizada.
- Tratamiento paliativo del dolor en pacientes con estadios avanzados (III) de artropatía con sinovitis presente.

### Ventajas de la radiosinovioartesis

- Intervención menor.
- Bajo costo.
- Es un procedimiento ambulatorio.
- Reduce el uso de medicamentos.
- Se puede utilizar en pacientes inoperables.
- Permite tratar múltiples articulaciones simultáneamente o en cortos intervalos.
- En caso de poca mejoría es posible repetir el procedimiento o utilizar la cirugía.
- No necesita rehabilitación por su aplicación.

### Desventajas

- No es posible su uso en tenovaginitis, ni bursitis.
- Menos efectiva en inestabilidad o deterioro avanzado de la articulación, (Estadio III).
- Exposición a radiación.

### Precauciones

- Niños y adolescentes. La indicación debe ser más estricta. Sólo se analizará su uso en hemofilia y artritis reumatoidea juvenil.

### Contraindicaciones

- Embarazo y lactancia.
- Sepsis cutánea próxima al sitio de inyección.
- Fractura articular en evolución.
- Anquilosis.

### Contraindicaciones relativas

- Quiste de Baker: en los casos en que sea muy grande (más de 10 ml), y que esté presente un mecanismo de válvula o se localice en la cercanía de los vasos principales (arteria y vena poplítea).
- Inestabilidad avanzada de la articulación: sólo en casos con imposibilidad de realizar cirugía y como tratamiento paliativo.

### Reacciones secundarias (raras)

- Sinovitis por cristales: se evita con la administración concomitante de esteroides intraarticulares.
- Necrosis tisular: ocurre por inyección iatrogénica extraarticular o reflujo del material por el canal de inyección, cuando este no se irriga después de inyectar el radisótomo con solución salina fisiológica y esteroides.
- Infección articular: muy rara, se estima en 1 en

Principales radionúclidos utilizados

Radionúclidos	Máx. beta Energía (mev)	Emisión gamma (Kev)	Penetración Máx. (mm)	Rango medio (mm)	Vida media
Y-90	2,26	---	11,0	3,6	2,7 d
Re-186	0,98	9 % (137)	3,7	1,2	3,7 d
Er-169	0,34	---	1,0	0,3	9,5 d
Re-188	2,1	15 % (155)	11,0	3,8	16,9 h
Ho-166	1,84	6 % (81)	8,4	3,3	26,9 h
P-32	1,71	---	7,9	2,2	14,3 d
Dy-165	1,3	4 %	5,7	1,3	2,3 h
Au-198	0,95	95 % (412)	3,9	1,0	2,7 d
Sm-153	0,81	28 % (103)	2,5	0,8	46,8 h

- 35 000 articulaciones.
- Reacción general a la radiación: teórica y no demostrada.
- Desarrollo de alteraciones degenerativas articulares: teórico y no demostrado.
- Daño genético: teórico y no demostrado.
- Desarrollo de neoplasias: teórico y no demostrado. Se estima teóricamente que el riesgo es del 0,04% superior a la población general.

#### **Exámenes complementarios**

- RX simple: para definir estadio de lesión articular.
- Hemograma.
- Estudio citogenético: de un grupo a los primeros pacientes se le realiza el tratamiento, antes y después para demostrar ausencia de daño genético.
- Ultrasonido articular: útil en hombro, en rodillas para evaluar presencia y características de quiste de Baker.
- Gammagrafía con Tc-99 HMDP ó MDP a los 10 minutos de inyección del Tc: es el estudio más importante, ya que demuestra la inflamación articular y determina la indicación del tratamiento.
- Gammagrafía de distribución: útil para demostrar la distribución del radionúclido en la articulación después de aplicada la inyección.

#### **Manejo general de los pacientes**

Previo al tratamiento se debe confeccionar una historia clínica detallada en relación con la patología presente, indicar los exámenes complementarios y determinar las articulaciones a tratar, radionúclido y dosis. Se debe ofrecer al paciente una información detallada del procedimiento por escrito, y firmar su consentimiento informado.

La radiosinovioartesis se debe realizar en condiciones asépticas de trabajo, con presencia de fluoroscopia intensificadora de imágenes, y utilizar el contraste radiográfico para algunos casos y esteroides para instilar posteriormente a la inyección del radionúclido. Se inmoviliza la extremidad por 48 horas, se restringe su uso una semana y se explica al paciente los cuidados posteriores así como la forma de contactar al equipo médico en caso de duda o urgencia. Se cita a la semana, a las dos semanas y al mes, y se evalúa la posibilidad de repetir a radiosinovioartesis a los tres o seis meses.

#### **Ventajas que ofrece la introducción de este tratamiento en Cuba**

El 16 de noviembre del 2002 se realizó el ensayo clínico y primera aplicación de la radiosinovioartesis en nuestro país a un grupo de pacientes portadores de artropatías reumáticas y hemofílicas en nuestro centro.

#### **Ventajas:**

- 1- Mejorar la calidad de vida de múltiples enfermos.

- 2- Reducción del uso de medicamentos, generalmente tóxicos, para la artritis reumatoidea así como la utilización de hemoderivados en el caso de los pacientes hemofílicos.
- 3- Colocar a Cuba en un lugar de vanguardia con el uso de este tratamiento en América Latina.
- 4- Con la existencia del CENTIS, se abaratarán los costos y se permitirá la extensión del tratamiento.
- 5- Cuba está en mejores condiciones que el resto de los países del área por el desarrollo de su Sistema Nacional de Salud, además, contamos con la posibilidad de realizar tratamientos de medicina física y rehabilitación previos y posteriores al tratamiento. El Centro Nacional de Rehabilitación Julio Díaz nos ha ofrecido su apoyo y colaboración en ésta esfera.
- 6- Posibilidad de solidarizarnos con la introducción de esta técnica en otros países, y contar con la ayuda de la OIEA.

#### **BIBLIOGRAFÍA CONSULTADA**

- [1] ANSELL, B.M., CROOK, A., MALLARD, J.R., BYWATERS, E.G.L., Evaluation of intraarticular colloidal AU-198 in the treatment of persistent knee effusions. *Ann Rheum Dis* 22 (1963)435-439.
- [2] DELBARRE, F., CAYLAD, MENKES, C.,: La synoviorthese par les radio-isotopes, *Press med.* 76 (1968)1045.
- [3] DELBARRE, F., MENKES, C.J., AIGNAU, M., INGRAUD, D., LEG, A., ROUCAYROL, J.C., La synoviorthese per les radioisotopes a la main et au poignet, *Rev., Rhum,* 40 (1973)205.
- [4] DEUTSCH, E., BRODACK, J.W., DEUTSCH, K.I., Radiation Synovectomy revisited, *Eu, J. Nucl. Med.* 20 (1993)1113-1127.
- [5] FELLINGER, K., SCHMID, J., Die lokale Behandlung der rheumatischen erkrankungen, *Wien Z Jun. Med.* 33 (1952)351.
- [6] GRATZ, S., y otros Correlation between radiation dose, synovial thicknees and efficacy of radiosynoviorthesis, *J. Rheumatol. jun:*26(6) (1999)1249-1249.
- [7] HNATOWICH, D.V., y otros, Dysprosium163 ferris hydroxide macroaggregates for radiation synovectomy, *J. Nucl. Med.* 19 (1978)303-308.
- [8] LIEPE, K., Radiosynoviorthesis in University Hospital Carl Gustav Carus, Dresden, Germany, *Pers. Comm., Nov.* 2001.
- [9] MÖDDER, G., Radiosynoviorthesis, Involvement of Nucleaar Medicine in Rheumatology and Orthopaedics *Worlich Druck und verlagsges, Mbh Rep.* (2001)11-63.
- [10] MOVIL, J., y otros, Physical and biological dosimetry in patients undergoing radiosynoviorthesis with erbium-169 and rhenium186, *Nucl. Med. Commun.* 22 (2001)405-416.
- [11] MURRAY, R.C., *Ell b: Nuclear Medicine in Clinical diagnosis and Treatment, Volume 2,88.* Churchill-Livingstone (1994)1051-1054.
- [12] NOBLE, D., y otros, Leakaje of radioactive particle systems from a synovial joint studied with a gamma camera, *J., Bone and Joint Surg., Vol.65-A, No.3 march* (1983)381-389.
- [13] Product information; Isotopic radiation synovectomy with yttrium90, rhenium186 and erbium169., Schering., *Cis-Bio. International,* 1999.
- [14] SILVA, M., LUCK, J.R., J.V., SIEGEL, M.E., <sup>32</sup>P chromic phosphate radiosynovectomy for chronic haemophilic synovitis, *Haemophilia (supp 1,29(2001))* 40-49.
- [15] WANG, S.J., y otros, Rhenium188 microsphenes, A new radiation synovectomy agent., *Nuc., Med., Comm.,* 19 (1998)427-433.

# LOS EFECTOS DE LAS RADIACIONES IONIZANTES Y LAS POSIBILIDADES DE SU DETECCIÓN MEDIANTE INDICADORES BIOLÓGICOS

Omar García Lima

Centro de Protección e Higiene de las Radiaciones, Ciudad de La Habana, Cuba

## Resumen

El trabajo presenta una síntesis de lo más significativo del conocimiento actual sobre los efectos agudos de las radiaciones en las células, los tejidos y en todo el organismo, así mismo se ofrece una panorámica del estado del arte en la dosimetría biológica y en el desarrollo de indicadores biológicos que puedan ser útiles para evaluar los efectos producidos por las radiaciones ionizantes.

## EFFECTS OF IONIZING RADIATIONS AND POSSIBILITIES OF THEIR DETECTION BY MEANS OF BIOLOGICAL INDICATORS

## Abstract

In this work a short synthesis of the most significant in the current knowledge on acute effects of radiation on cells, tissues, and on the whole organism, is presented. A panoramic view of the state of art in biological dosimetry and in the development of biological indicators that may be useful to evaluate the effects caused by ionizing radiation is also expounded.

*Palabras clave: biological indicators; ionizing radiations; radiation doses; biological radiation effects; dosimetry; radiation protection*

## INTRODUCCIÓN

El estudio del efecto biológico de las radiaciones ionizantes comenzó prácticamente al unísono con el descubrimiento en 1895 de los rayos X. Los primeros hallazgos y estudios fueron de carácter cualitativo, pues se realizaron cuando aún no se poseían medios para cuantificar las dosis de radiación suministradas. A comienzos del siglo pasado se detectaron efectos dañinos de las radiaciones en el hombre y en animales de experimentación, pero no existían normas de protección radiológica y se poseía poca información sobre los efectos de las radiaciones. Los estudios cuantitativos que se comenzaron a efectuar en la radiobiología experimental en la segunda década del siglo XX, junto con los estudios epidemiológicos en los sobrevivientes de los bombardeos atómicos de Hiroshima y Nagasaki y en pacientes expuestos a tratamientos radioterapéuticos permiten en la actualidad poseer una información voluminosa sobre el efecto biológico de las radiaciones que fundamentan el establecimiento de normas que garantizan la seguridad del trabajador ocupacionalmente expuesto (TOE) a las radiaciones, así como de los pacientes que reciben tratamiento médico con isótopos radiactivos.

## Interacción de las radiaciones con las biomoléculas

Los efectos biológicos de las radiaciones se producen como consecuencia de la ionización de los átomos que conforman las biomoléculas que producen cambios químicos que alteran o erradican sus funciones. Como se muestra en la figura 1, la energía transmitida por la radiación puede actuar de manera directa sobre la molécula biológica y causar la ionización o de manera indirecta, a través de los radicales libres que surgen por la ionización de las moléculas del agua que la rodean. Los procesos de absorción de energía, ionización y excitación, así como las alteraciones bioquímicas ocurren en fracciones de segundos. Los cambios que se producen se manifiestan a escala celular, tisular y así sucesivamente hasta el nivel de organismo, de manera inmediata o a largo plazo.

Como consecuencia de la ionización las proteínas pierden la funcionalidad de los grupos amino y cambian incrementando su reactividad química, las enzimas se inactivan, los lípidos sufren peroxidación, los carbohidratos se desagregan y los ácidos nucleicos sufren rupturas de sus

## PANORAMA NUCLEAR

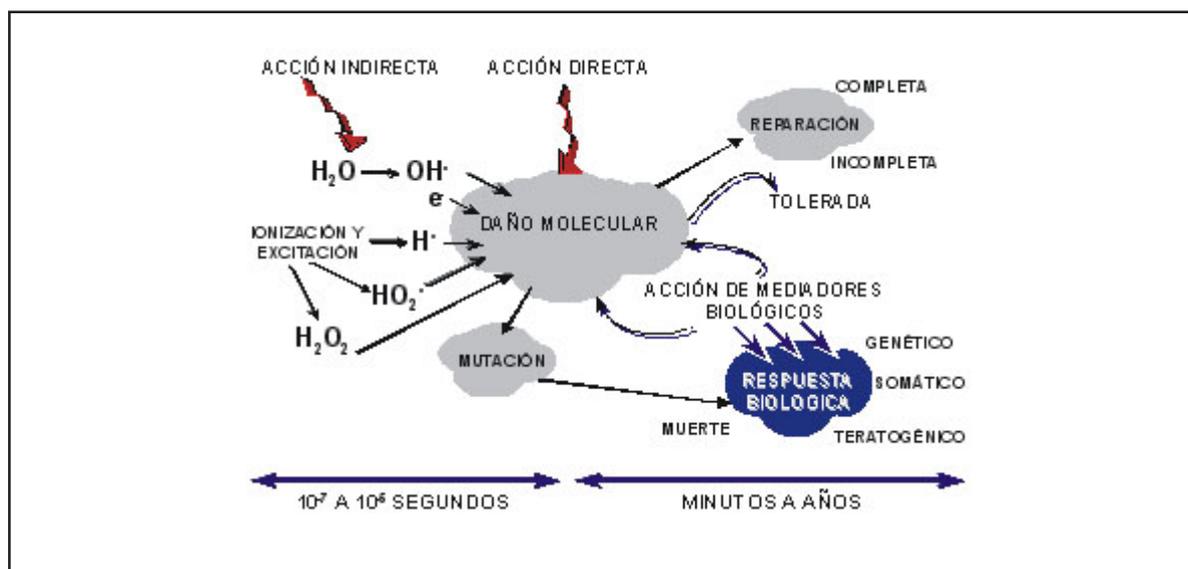


Figura 1. Mecanismos de respuesta física, bioquímica y biológica.

cadena y modificaciones en su estructura. Del conjunto de estas alteraciones, actualmente se consideran que las más influyentes sobre la supervivencia y el funcionamiento celular son las modificaciones que tienen lugar en la molécula de ADN, por lo que este se considera el blanco principal de las radiaciones en la célula. Las lesiones que la radiación puede inducir en el ADN son muy diversas como las roturas de una o dos cadenas (roturas sencillas o dobles), recombinaciones, sustituciones de bases, y otras.

### EVENTOS SIGNIFICATIVOS EN EL ÁMBITO CELULAR Y SU REPERCUSIÓN EN TODO EL ORGANISMO

Una representación general del proceso de interacción de las radiaciones con las células, la actuación de los mecanismos de reparación celular, y los efectos que se pueden manifestar en el organismo se aprecian en la figura 2,[1]. A escala celular existen mecanismos para reparar las alteraciones que ocurren en el ADN. Después que se ha producido la irradiación, los mecanismos enzimáticos y de reparación pueden conducir a la reparación correcta del ADN y de esta forma, las células sobreviven sin modificaciones en sus funciones y estructura genética.

Cuando los daños se reparan de manera errónea, las células pueden sobrevivir pero con modificaciones en su composición genética y por lo tanto en sus funciones. Lo que ha ocurrido es una mutación que puede estar localizada en una célula somática y dar lugar a un cáncer, o en una célula germinal y dar lugar a un efecto hereditario. Las mutaciones son modificaciones en los genes que provocan cambios en las funciones

enzimáticas originales con la consiguiente alteración metabólica que se manifiesta en la síntesis de proteínas. Los efectos que así se producen se reconocen como estocásticos. Para ellos no existe dosis umbral. La posibilidad de su surgimiento aumenta con la dosis, su severidad no varía con el aumento de la dosis y ocurren en un plazo relativamente largo después de ocurrida la exposición. Son ejemplos de estos efectos la leucemia y el cáncer de tiroides, colon, y otros. La relación entre la exposición a radiaciones y la aparición de estos efectos ha sido establecida en estudios epidemiológicos. No hay indicadores moleculares o de otro tipo que permitan identificar, un cáncer producido por radiaciones

Cuando los daños no pueden ser reparados se produce la muerte celular. Para las células diferenciadas, que no proliferan, la muerte celular se define como la pérdida de la función para la que se han especializado. Para células proliferantes, como las células primordiales hematopoyéticas o las células que crecen en medios de cultivo, la muerte celular es la pérdida de la capacidad de proliferación sostenida o la pérdida de la integridad reproductora. La radiosensibilidad celular ha sido mejor estudiada en células proliferantes. Actualmente se conoce que la radiosensibilidad celular depende de factores físicos, químicos y biológicos.

Entre los factores físicos se pueden mencionar la transferencia lineal de energía de la radiación incidente, la cual a medida que aumenta conduce al aumento de la gravedad de las roturas en el ADN, y la tasa de dosis, la cual a medida que aumenta, disminuye la probabilidad de activación en el momento adecuado de los mecanismos de reparación, y hace que se acumule mayor daño celular.

## PANORAMA NUCLEAR

Entre los factores químicos está la presencia de productos que sensibilizan (radiosensibilizadores) o protegen a las células (radioprotectores) de la acción de la radiación. Su acción está basada fundamentalmente en la producción y eliminación, respectivamente, de radicales libres. Entre los factores biológicos más importantes están la capacidad proliferativa, el grado de especialización celular y la fase del ciclo celular en la cual ocurre la exposición. Generalmente la radiosensibilidad celular es directamente proporcional a la velocidad de división celular e inversamente proporcional al grado de especialización celular. Esto explica por qué los tejidos que mantienen una renovación celular permanente son más radiosensibles que aquellos que no la tienen. En cuanto al ciclo celular, las células son más sensibles durante la mitosis (división celular) que en las etapas que la preceden durante las cuales están activados los mecanismos de reparación.

Los tejidos pueden mantener su funcionamiento con la pérdida de un determinado número de células. En los tejidos proliferantes, la división celular, junto a los mecanismos de reparación celular atenúan estas pérdidas, sin embargo cuando los daños producidos por las radiaciones son de tal magnitud que el número de células que mueren es muy elevado y no hay compensación por la renovación celular, el tejido no puede mantener su funcionamiento. Este tipo de efecto se denomina efecto determinístico y si ocurre en un tejido vital puede producir la muerte. Estos efectos se producen a partir de una dosis

denominada umbral (aquella que produce el efecto en el 1-5% de los individuos expuestos).

La severidad y la frecuencia de estos efectos aumenta con la dosis y la tasa de dosis. El número de células afectadas influye proporcionalmente en la severidad del efecto. Se pueden producir con distintos periodos de latencia, por lo que se distinguen efectos tempranos, que se detectan en pocos días o semanas y efectos tardíos no malignos que aparecen meses o años después de la irradiación. Ejemplos de efectos determinísticos son el eritema, la depresión de la médula ósea, las cataratas, la esterilidad temporal y la irreversible.

El efecto determinístico más severo es la muerte. La respuesta de un organismo adulto a una exposición aguda, que provenga de una fuente externa y que afecte a todo el organismo, produce signos, síntomas y un cuadro clínico variable que se conoce como Síndrome Agudo de Radiación (SAR).

Aunque existe gran incertidumbre sobre los umbrales de dosis letales en el hombre debido a que en ellos influyen el estado general de salud, la asistencia médica recibida y otros factores individuales, se puede afirmar que dosis entre 3-5 Gy pueden causar la muerte del 50% de los individuos expuestos en un plazo de uno o dos meses. En el rango de dosis de 3 a 10 Gy la causa principal de muerte es la afectación de la médula ósea. Esto se conoce como síndrome hematopoyético. Dosis mayores que 10 Gy causan la muerte en una o dos

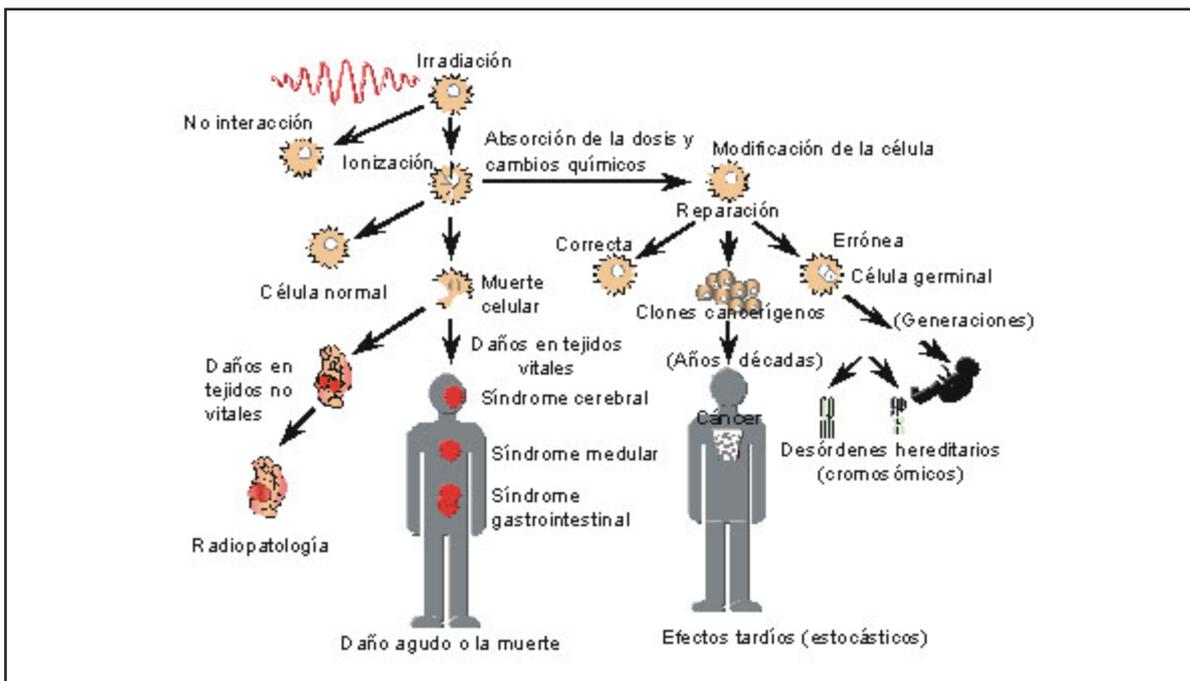


Figura 2. Manifestaciones en el organismo de la acción de las radiaciones.

semanas como consecuencia de la afectación del tracto gastrointestinal (síndrome gastrointestinal). Dosis mayores de 50 Gy causan la muerte en horas o días como consecuencia de la afectación del sistema nervioso central (síndrome del sistema nervioso central). El SAR tiene cuatro fases, prodromal, latencia, crítica o de estado y recuperación o muerte. La etapa prodromal es un conjunto de signos y síntomas que aparecen en las primeras horas post exposición.

### INDICADORES BIOLÓGICOS DE DAÑO POR RADIACIÓN

Cuando las dosis son desconocidas los síntomas de la etapa prodromal pueden ayudar a estimar las dosis recibidas por las personas, sirven como indicadores clínicos. Los indicadores clínicos más comunes son los gastrointestinales y los neuromusculares. Dentro de los indicadores gastrointestinales se encuentran, las náuseas, los vómitos, las diarreas y la anorexia; y dentro de los neuromusculares, el cansancio, la apatía, la indiferencia, la sudación, la fiebre y el dolor de cabeza. El daño provocado por una sobreexposición se puede pronosticar por el tiempo transcurrido entre la irradiación y la aparición de los síntomas. En general, mientras más estables sean y menor el tiempo de aparición, mayor es la dosis de radiación y el peligro para la vida del individuo expuesto.

Hay un conjunto de indicadores biológicos que pueden ofrecer información sobre la dosis en situaciones accidentales o sobre el efecto que ella causa en situaciones experimentales. Los requerimientos fundamentales para los indicadores biológicos son que tengan una relación dosis efecto conocida, que las observaciones sean reproducibles, que el efecto perdure, que sea específico y altamente sensible a las radiaciones, que la muestra sea fácil de recoger, que los resultados se obtengan rápido y sea posible detectar irradiaciones parciales. Lamentablemente hasta ahora ningún indicador biológico tiene todas estas propiedades, por lo que si resulta necesario se acude a un conjunto de ellos. Los indicadores más usados actualmente son los hematológicos, los citogenéticos, y los bioquímicos.

Los indicadores hematológicos utilizan como referencia las variaciones en el número de células de la sangre y pueden ofrecer una información muy rápida sobre la dosis y la gravedad de la afectación. Los linfocitos se han usado con fines dosimétricos, ya que la dependencia entre su número y la dosis es bien conocida. Con este indicador se pueden estimar dosis a partir de 1Gy de radiación gamma, y se usan para ello curvas de referencia como las publicadas en [2,3].

Los indicadores citogenéticos constituyen en la actualidad los dosímetros biológicos más eficaces.

Ellos basan su funcionamiento en el brusco incremento de la frecuencia de aberraciones cromosómicas, particularmente de los dicéntricos en los linfocitos de la sangre producto de la exposición a radiaciones. Con este indicador se pueden estimar dosis del orden de los 100 mGy de radiación gamma, así como establecer si la dosis de radiación recibida fue homogénea o no, y evaluar el volumen del cuerpo irradiado. En su versión clásica, los resultados con este indicador se pueden obtener después de cultivar en un laboratorio especializado los linfocitos de la sangre periférica durante 48 horas, y analizar en microscopio óptico 500 metafases. Cuando las dosis son muy altas se pueden obtener resultados preliminares con 50-100 metafases. La dependencia entre este indicador y la dosis es lineal cuadrática, y cada laboratorio que realiza este análisis debe poseer su propia curva de calibración. Dado que los dicéntricos tienden a desaparecer con el tiempo, cuando ha transcurrido meses o un año entre la exposición y el análisis resulta más conveniente usar como indicador la frecuencia de reordenamientos entre los cromosomas (translocaciones).

Recientemente han aparecido métodos que permiten evaluar de forma precisa la ocurrencia de translocaciones en los cromosomas. Ellos se basan en la posibilidad de usar sondas de ADN fluorescentes específicas a determinados cromosomas, lo que permite que las translocaciones se identifiquen por el reordenamiento de los colores. Una amplia información sobre el uso de indicadores citogenéticos con fines dosimétricos se puede obtener en una reciente publicación del OIEA [4].

Los indicadores bioquímicos basan su funcionamiento en las fluctuaciones de determinados metabolitos en la orina y la sangre de los individuos irradiados. No son muy útiles como dosímetros pero ofrecen información cualitativa sobre el estado del irradiado. Entre estos indicadores se encuentran la creatina/ creatinina, la taurina y la alfa-amilasa.

Una buena información sobre la utilidad de los indicadores biológicos se puede obtener revisando su aplicación durante el accidente de Chernobil [2].

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] IAEA, The International Chernobyl Project., Assessment of Radiological Consequences and Evaluation of Protective Measures, IAEA, (1991)39.
- [2] United Nation. Sources, Effects and Risk of Ionizing Radiation, United Nation Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation, Report to the General Assembly, with annexes, United Nations Publication Sales, No. E.88.IX.7 (1988)545.
- [3] IAEA, Medical Handling of Accidentally Exposed Individuals, Safety Series No. 88 (1988).
- [4] IAEA, Cytogenetic Analysis for Radiation Dose Assessment, Technical Reports Series No. 405 (2001).

# IRRADIACIÓN INTRACORONARIA CON RENIO 188 PARA REDUCIR LA RESTENOSIS DESPUÉS DE LA ANGIOPLASTIA CORONARIA. RESULTADOS PRELIMINARES

Amalia Peix<sup>1</sup>, Lorenzo Llerena<sup>1</sup>, Felizardo Ponce<sup>1</sup>, Adlin López<sup>1</sup>, Israel Guerrero<sup>1</sup>, Leonardo López<sup>1</sup>, Lázaro Omar Cabrera<sup>1</sup>, Ana Ma. Maltas<sup>1</sup>, Regla Carrillo<sup>1</sup>, Ibelice Salgado<sup>1</sup>, Ajit K. Padhy<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Cardiología y Cirugía Cardiovascular, Ciudad de La Habana, Cuba

<sup>2</sup>Organismo Internacional de Energía Atómica

## Resumen

En este trabajo se presentan los resultados preliminares de nuestra contribución a un proyecto coordinado del Organismo Internacional de Energía Atómica que corrobora que la irradiación intracoronaria permite reducir la restenosis luego de la angioplastia coronaria transluminal percutánea en pacientes con cardiopatía isquémica por disminución de la hiperplasia de la neoíntima. La irradiación intracoronaria se puede realizar tanto con emisores gamma como beta, pero con estos últimos (específicamente con el renio188), es posible emplear un catéter balón de angioplastia para suministrar la terapia.

## INTRACORONARY IRRADIATION WITH RHENIUM 188 TO REDUCE RESTENOSIS FOLLOWING A CORONARY ANGIOPLASTY. PRELIMINARY RESULTS

## Abstract

This paper shows the preliminary results from our contribution to a coordinated project with the International Atomic Energy Agency, which corroborates that the intracoronary irradiation allows to reduce the restenosis following a percutaneous transluminal coronary angioplasty (PTCA) in patients with ischemic cardiopathy as a result of neointima hyperplasia reduction. In the treatment, both beta and gamma emitters can be used, but with the latter (specifically with rhenium 188), it is possible to use an angioplasty balloon catheter for therapy purposes.

*Palabras clave: nuclear medicine; rhenium 188; patients; radiation doses; biomedical radiography; blood vessels; coordinated research programs; x-ray radiography*

## INTRODUCCIÓN

La restenosis luego de una angioplastia coronaria transluminal percutánea (ACTP) exitosa (el más serio problema que enfrenta el resultado a largo plazo de este proceder) es realmente un proceso de cicatrización.

La restenosis del segmento dilatado ocurre en un 30-50% de los pacientes post-ACTP, resultante del *recoil* elástico, la formación de neoíntima y la contractura o remodelación vascular [1-4]. La formación de neoíntima y la fibrosis perivasculares que originan un estrechamiento tardío de la luz se asemejan a la formación de una cicatriz como la que se observa en otros tejidos. La radiación ionizante en bajas dosis ha sido efectiva en la reducción de la formación de tejido cicatricial excesivo, como en la prevención de queloides [5]. Con el uso de stents la restenosis se reduce a un 15-20% en comparación con la ACTP por balón, primariamente, porque el stent actúa como una especie de armazón mecánica que evita la

remodelación [6]. Sin embargo, los stents no eliminan completamente la restenosis y pueden experimentar frecuencias relativamente altas de estas (>30%) en vasos pequeños y lesiones largas [7]. La restenosis intrastent es casi totalmente debida a la hiperplasia de la neoíntima resultante del daño a la pared vascular por la estructura del stent.

La terapia con radiación ionizante a baja dosis evita la restenosis coronaria por reducción de la proliferación de células lisas musculares y reducción de la contractura o remodelación de la pared vascular [8-10].

Existen dos formas de irradiación endovascular: sistemas que emplean catéteres y stents radiactivos. Se ha empleado tanto la irradiación gamma con iridio-92 (<sup>92</sup>Ir): trabajos de Condado y otros [11] y de Teirstein y otros [12], como la irradiación beta: con <sup>90</sup>Sr / <sup>90</sup>Y [13] y con <sup>188</sup>Re [14,15].

Usando un emisor beta, la exposición a la radiación de algunas secciones de la arteria podría tener una diferencia del 70% o más debido a la posición excéntrica de la fuente. Este problema se puede solucionar fácilmente con el uso de un balón relleno de líquido que contenga un radisótomo beta emisor que queda en posición central en todo momento. Aunque existe una variedad de radisótopos beta emisores que se pueden preparar en forma soluble para ser usados con balón, el <sup>188</sup>Re es el más prometedor, ya que puede ser eluido a partir de un generador de tungsteno/renio.

Las ventajas del <sup>188</sup>Re para la irradiación endovascular se pueden resumir de la forma siguiente:

- Es un beta emisor líquido con preservación de los alrededores del tejido blanco.
- Se puede obtener una dosis efectiva en la pared del vaso dentro de un tiempo apropiado.
- El radiotrazador se puede obtener de un generador.

Se han estimado los datos dosimétricos tanto para la radiación endovascular como para la administración endovenosa.

En el caso improbable de ruptura del balón, el límite de dosis equivalente absorbida total por el cuerpo puede ser reducida mediante la administración oral subsecuente de perclorato de potasio.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Diseño del estudio

Se trata de un ensayo controlado, no-aleatorizado, multicéntrico y multinacional, auspiciado por el Organismo Internacional de Energía Atómica, donde se incluyen dos grupos de pacientes uno tratado con Re-188 y otro grupo control.

### Criterios de inclusión

Clínicos: angina estable crónica, angina inestable estabilizada, infarto del miocardio previo con evidencia de isquemia y consentimiento informado del paciente.

Angiográficos: diámetro luminal de la estenosis coronaria  $\geq 70\%$ , tamaño del vaso coronario de 2,0 a 4,0 mm y longitud de la lesión blanco menor de 20 mm.

### Población estudiada

Se incluyeron 21 pacientes con diagnóstico de cardiopatía isquémica en el grupo de pacientes tratados (11 (50%) con stent, cinco (25%) con ACTP con balón en lesiones de novo y los restantes cinco (25%) con restenosis intra-stent), así como 15 en el grupo de los controles. El diseño incluye un seguimiento clínico a una, tres, seis, 12, 18 y 24 meses de realizado el proceder y una angiografía coronaria de control a los seis meses.

### Procedimiento

Se siguió el proceder estándar de la ACTP, y se consideró que fue exitosa cuando se alcanzó un diámetro residual de la estenosis posterior al proceder de menos de un 30% sin complicaciones mayores. Se utilizó un catéter-balón nuevo para suministrar la dosis de 18 Gy a una profundidad de 1,0 mm desde la superficie del balón hacia la pared del vaso, y se empleó una solución de perrenato de renio sin medio de contraste.

El tiempo de irradiación total se calculó siguiendo el programa de cálculo de dosis desarrollado para el protocolo (Stabin y Fox). Se administró la heparinización estándar durante el procedimiento. Todos los pacientes recibieron 600 mg de perclorato de potasio oral media hora antes del proceder, así como 325 mg de aspirina diarios. Se administraron 300 mg de clopidogrel como dosis de carga y 75 mg una vez al día durante tres meses.

Se mantuvieron medidas de protección radiológica durante el proceder y para excluir rupturas del balón potencialmente no detectables se obtuvieron dos muestras de 5ml de sangre antes y después de la irradiación, que se midieron para descartar contaminación radiactiva.

### Análisis estadístico

Las variables continuas se expresaron como la media  $\pm$  desviación estándar (DE) y se compararon con el test de Student. Las variables discretas se compararon mediante la prueba de chi-cuadrado. Se consideró significativa una  $p < 0,05$ .

## RESULTADOS

### Datos clínicos

En la tabla 1 se presentan las características clínicas basales de ambos grupos de pacientes. No hubo diferencias significativas entre los grupos. Hubo más hombres que mujeres en ambos grupos (52 vs. 48% en el grupo irradiado y 60 vs. 40% en el grupo control). El 50% de las mujeres eran posmenopáusicas. Había antecedente de un infarto del miocardio previo en un 29% de los pacientes irradiados y en un 40% de los controles.

Tabla 1. Características clínicas basales

	Irradiados	Control	p
No. de pacientes	21	15	-
Sexo (M/F)	11/10	9/6	NS
Mujeres	5	3	NS
Posmenopáusicas			
Edad media (años)	55 $\pm$ 8	54 $\pm$ 9	NS
IM previo	6	6	NS

IM: infarto del miocardio

Tampoco hubo diferencias significativas en cuanto a los factores de riesgo coronario. Los más frecuentes fueron la hipertensión arterial y el hábito de fumar en ambos grupos (tabla 2).

Tabla 2. Factores de riesgo cardiovascular

	Irradiados	Control	p
Hipercolesterolemia	8	9	NS
Hábito de fumar	12	12	NS
Hipertensión Arterial	15	9	NS
Diabetes Mellitus	2	1	NS

La figura 1 muestra el vaso coronario blanco en ambos grupos de pacientes. La más frecuentemente afectada fue la arteria coronaria derecha, pero no hubo diferencias significativas.

DA: arteria coronaria descendente anterior  
 Cx: arteria coronaria circunfleja  
 CD: arteria coronaria derecha  
 p NS: no diferencias estadísticas entre ambas muestras

No hubo disfunción ventricular izquierda entre los pacientes. La fracción de eyección de ventrículo izquierdo (FEVI) fue  $177 \pm 7\%$  entre los irradiados y  $75 \pm 4\%$  para el grupo control (p NS).

Datos del procedimiento

Se utilizaron 1,5 a 2 ml de una solución de perrenato de renio 188 con un volumen específico de  $4863 \pm 2045$  MBq/ml. La irradiación se aplicó con catéteres-balón con un diámetro medio del balón de  $2,98 \pm 0,37$  mm; el diámetro medio del catéter fue de  $0,86 \pm 0,05$  mm. En

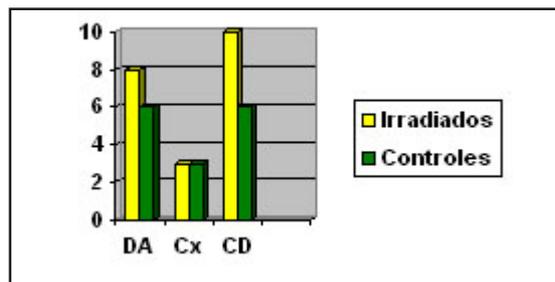


Figura 1. Vaso coronario blanco.

todos los casos se aplicó la dosis prescrita de 18 Gy. El tiempo medio de irradiación fue  $469 \pm 218$  segundos. Hubo necesidad de fraccionar la dosis en un 47% de los pacientes (media  $3 \pm 1$  fracciones).

En la tabla 3 se presentan las medidas angiográficas previas a la angioplastia coronaria. Los pacientes irradiados tuvieron un diámetro luminal mínimo de  $0,66 \pm 0,20$  mm, un diámetro de la estenosis de  $74 \pm 9\%$  y una longitud media de la lesión de  $9,34 \pm 4,94$  mm. No hubo diferencias significativas entre los pacientes irradiados y los controles.

El diámetro de la estenosis residual posangioplastia fue de  $8 \pm 5\%$  en los pacientes irradiados y de  $10 \pm 5\%$  en los controles (figura 2). No hubo ruptura de balón con pérdida de solución radiactiva en ninguno de los casos.

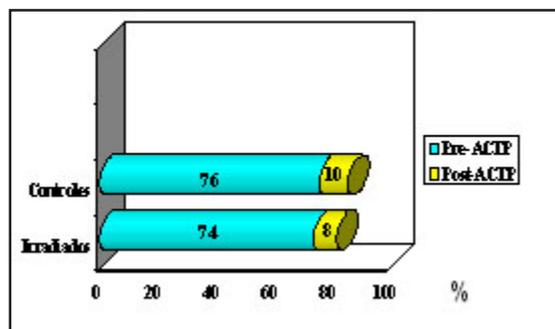


Figura 2. Diámetro de la estenosis antes y después de la ACTP.

Tabla 3. Mediciones angiográficas antes de la angioplastia coronaria

	Irradiados	Controles	p
Diámetro de referencia (mm)	$2,52 \pm 0,50$	$2,38 \pm 0,44$	NS
Diámetro luminal mínimo (mm)	$0,66 \pm 0,20$	$0,67 \pm 0,24$	NS
Diámetro de la estenosis (%)	$74 \pm 9$	$76 \pm 9$	NS
Longitud de la lesión (mm)	$9,34 \pm 4,94$	$11,14 \pm 2,98$	NS

**Seguimiento**

Hasta el momento de presentación de estos resultados (tres meses del estudio), sólo existe un seguimiento clínico de los casos. Previo al alta hospitalaria un paciente presentó un cuadro de angina inestable con cambios eléctricos de ST-T; mientras que al primer y tercer mes, tres pacientes (14%) tuvieron angina (uno de ellos con angina inestable al primer mes) y un caso refirió disnea (tabla 4).

Tabla 4. Seguimiento clínico

Síntomas	Al alta		Un mes		Tres meses	
	No.	%	No.	%	No.	%
Angina	1	5	3	14	3	14
Disnea	-	0	1	5	1	5
Infarto	-	0	-	0	-	0
Muerte súbita	-	0	-	0	-	0
No síntomas	20	95	17	81	17	81

**CONCLUSIONES**

La irradiación intracoronaria con renio 188 es técnicamente realizable y segura, pero estos resultados son preliminares y se requiere de un seguimiento completo, que incluye una evaluación angiográfica a los seis meses.

**REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

[1] HOLMES, D.R. Jr., VLIETSTRA, R.E., SMITH, H.C., VERTROVEC, G.W., KENT, K.M., COWELY, M.J., y otros, Restenosis after percutaneous transluminal coronary angioplasty (PTCA) : a report from the PTCA registry of the National Heart, Lung and Blood Institute, *Am J. Cardiol*, 53 (1984)77C-81C.  
 [2] POPMA, J.J., CALIFF, R.M., TOPOL, E.J., Clinical trials of restenosis after coronary angioplasty. *Circulation*, 84 (1991)1426-36.  
 [3] GRUENTZIG, A.R., KING, S.B. III, SCHLUMPF, M., SIEGENTHALER, W., Long-term follow-up after

percutaneous transluminal coronary angioplasty. *N Engl. J. Med.*, 316 (1987)1127-32.  
 [4] MINTZ, G.S., POPMA, J.J., PICHARD, A.D., KENT, K.M., SATLER, L.F., WONG, C. y otros, Arterial remodeling after coronary angioplasty : a serial intravascular ultrasound study, *Circulation*, 94(1996)35-43.  
 [5] KOVALIC, J.J., PÉREZ, C.A., Radiation therapy following keloidectomy : a 20 year experience, *Int J. Radiat. Oncol. Biol. Phys*, 17 (1989) 77-80.  
 [6] JANICKI, C., DUGGAN, D.M., COFFEY, C.W., FISCHHELL, D.R., FISCHHELL, T.A., Radiation dose from a phosphorous-32 impregnated wire mesh vascular stent. *Med Phys*, 24 (1997)437-45.  
 [7] DUSSAILLANT, G.R., MINTZ, G.S., PICHARD, A.D., KENT, K.M., SLATER, L.F., POPMA, J.J y otros, Small stent size and intimal hyperplasia contribute to restenosis : A volumetric intravascular ultrasound analysis. *J. Am Coll. Cardiol.* 26 (1995)720-4.  
 [8] WIEDERMANN, J.G., MARBOE, C., ARNOLS, H., SCHWARTZ, A., WEINBERGER, J., Intracoronary irradiation markedly reduces restenosis after balloon angioplasty in a porcine model, *J Am Coll. Cardiol.* 23 (1994)1491-8.  
 [9] WAKSMAN, R., ROBINSON, K., CROCKER, I., GRAVANIS, M., CIPOLLA, G., KING, S.B. III, Endovascular low-dose irradiation inhibits neointima formation after coronary artery balloon injury in swine : a possible role for radiation therapy in restenosis prevention, *Circulation*, 91(1995)533-9.  
 [10] WEINBERGER, J., ARNOLS, H., ENNIS, R., SCHWARTZ, A., WEIDERMANN, J., MARBOE, C., Intracoronary irradiation : dose response for the prevention of restenosis in swine, *Int J Radiat Oncol. Biol. Phys.* 36 (1996)767-75.  
 [11] CONDADO, J.A., WAKSMAN, R., GURDIEL, O., ESPINOSA, R., GONZÁLEZ, J., BURGER, B., y otros, Long-term angiographic and clinical outcome after percutaneous transluminal coronary angioplasty and intracoronary radiation therapy in humans, *Circulation*, 96 (1997)727-32.  
 [12] TEIRSTEIN, P.S., MASSULLO, V., JANI, S., RUSSO, R.J., SCHATZ, R.A., CLOUTIER, A. y otros, Two-year follow-up after catheter-based radiotherapy to inhibit coronary restenosis, *Circulation*, 99 (1999)243-7.  
 [13] KING, S.B. III, WILLIAMS, D.O., CHOUGULE, P., KLEIN, L., WAKSMAN, R., HILSTEAD, R. y otros, Endovascular beta-radiation to reduce restenosis after coronary balloon angioplasty, Results of the Beta Energy Restenosis Trial (BERT). *Circulation*, 97(1998)2025-30.  
 [14] KNAPP, F.F., GUHLKE, S., BEETS, A.L., LIN, W.Y., STABIN, M., ARNOLS, H. y otros, Endovascular beta radiation for prevention of restenosis using solution radioisotopes: pharmacologic and dosimetric properties of rhenium-188 compounds. *Cardiovasc. Radiat. Med.*, 1(1999)86-97.  
 [15] KOTZERKE, J., FENCHEL, S., GUHLMANN, A., STABIN, M., RENTSCHLER, M., KNAPP, F. F. y otros, Pharmacokinetics of <sup>99m</sup>Tc-pertechnetate and <sup>188</sup>Re-perrhenate after oral administration of perchlorate: Option for subsequent care after the use of liquid <sup>188</sup>Re in a balloon catheter, *Nucl. Med. Commun.*, 19 (1998)795-801.

## S VALUES AT VOXELS LEVEL FOR $^{188}\text{Re}$ AND $^{90}\text{Y}$ CALCULATED WITH THE MCNP-4C CODE

Marco Antonio Coca Pérez<sup>1</sup>, Leonel Alberto Torres Aroché<sup>1</sup>, Néstor Cornejo Díaz<sup>2</sup>, Guido Martín Hernández<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Centro de Investigaciones Clínicas

<sup>2</sup> Centro de Protección e Higiene de las Radiaciones, Ciudad de La Habana, Cuba

<sup>3</sup> Centro de Aplicaciones Tecnológicas y Desarrollo Nuclear, Ciudad de La Habana, Cuba

### Abstract

The main objective of this work was to estimate the voxel S values for  $^{188}\text{Re}$  at cubical geometry using the MCNP-4C code for the simulations of radiation transport and energy deposition. Mean absorbed dose to target voxels per radioactive decay in a source voxel were estimated and reported for  $^{188}\text{Re}$  and  $^{90}\text{Y}$ . A comparison of voxel S values computed with the MCNP code and the data reported in MIRD pamphlet 17 for  $^{90}\text{Y}$  was performed in order to evaluate our results.

### VALORES S A NIVELES DE VOXEL PARA EL RENIO 188 Y YODO $^{90}$ CALCULADO CON EL CÓDIGO MCNP-4C

### Resumen

El objetivo principal del trabajo fue estimar el valor S del voxel para el renio 188 en una geometría cúbica que emplea el código MCNP-4C para las simulaciones de transporte radiactivo y deposición de energía. Se estimó y reportó para el renio 88 y el itrio 90, la dosis media absorbida para un voxel blanco por desintegración radiactiva, en un voxel fuente. A fin de evaluar nuestros resultados se realizó una comparación de los valores S para el voxel en el caso del itrio 90 computados con el código MCNP y los datos reportados en el folleto 17 del Comité Médico para Dosis de Radiación Interna (MIRD).

*Palabras clave: nuclear medicine; radiation doses; radiation monitoring; radiation protection; personnel monitoring; rhenium 188; phosphorus 32; strontium 89; iodine 131; yttrium 90; technetium 99; radionuclide kinetics; m codes; computer calculations*

### INTRODUCTION

In the last years, several radioimmunotherapeutic clinical trials have shown hopeful results in the treatment of certain types of tumors. However, induced radiotoxicity has limited a wider and more efficient use of these procedures. That is way, internal radiation dosimetry estimations has become as an important objective on these studies [1-3].

Estimations of absorbed doses during these therapeutic practices require more accuracy methodologies than the traditional ones, especially to take into account non uniform distributions of activity and non-homogeneous mediums. Different patients specific methods have been developed and reported up today. Three broad computational approaches are available for handling non-uniform dosimetry at voxel level: doses point-kernel convolution, direct Monte Carlo radiation transport and voxel S values. At present, the dose point-kernel approach is the most widely

used technique, primarily due to the demanding computational requirements of direct Monte Carlo and the unavailability of tabulated S values at voxel level [4-6].

On the other hand, rhenium 188 labeled compounds has become as an attractive therapeutic alternative due to it is a radionuclide obtained from a generator of Wolframio 188 and also because its physical features [7].

The main objective of this paper was to estimate the voxel S values for  $^{188}\text{Re}$  using the MCNP-4C code for specific geometrical conditions. It will allow us to perform patient-specific internal radiation dosimetry, using the MIRD methodology at voxel level.

### METHODS AND MATERIALS

#### A. The MCNP-4C Monte Carlo code

The MCNP-4C Monte Carlo radiation transport code developed at Los Alamos National Laboratory was

employed to perform the calculations on this work. Although it was originally conceived and utilized for neutron and photons transport problems, it has incorporated the capability of electrons transport and has been used to study many problems in internal and external dose assessment. This code support a wide variety of scoring options and radiation source modelling.

MCNP-4C, released in 2000, include features such as unresolved resonance treatment, macrobodies, superimposed importance mesh, perturbation enhancements, electron physics enhancements, plotter upgrades, cumulative tallies, parallel enhancements and other improvements [8]. In particular repeated structures feature was used in our geometry definition.

### **B. Calculation of S Values at Voxel Level for <sup>188</sup>Re and <sup>90</sup>Y in Cubical Geometries**

The simulations of radiation transport and energy deposition were performed for two radionuclides (<sup>188</sup>Re and <sup>90</sup>Y) in two different mediums: water and soft tissue, in order to compute the voxel S values. The composition of soft tissue defined on the Cristy and Eckerman anthropomorphic phantom was used [4]. A voxel size of 6mm was established (taking into account the voxel size of local SPECT systems) and a cubical array of 81 x 81 x 81 target voxel regions was defined in which a centrally located source voxel was fixed.

During the electron transport calculations, in order to obtain the S values, it was taken into account the production and subsequent transport of bremsstrahlung photons, in the total cubical array. On the other hand, the photons transport included the treatment of secondary electron transport. The continuous beta spectrums for both radionuclides were obtained from the Simpkin and Mackie published data [9]. Auger and conversion electrons of energy > 0.5 keV were included in the radiation transport simulations.

The energy deposition tally was used in the present calculation as primary result of MCNP-4C. It provides the energy deposited from both photons and electrons, if present in the analysed cell, expressed in MeV per particle. The mean absorbed doses to a target cell or voxel per radioactive decay in a source voxel were estimated from this tally. Twenty to Twenty-five millions histories were generally run for both radionuclides, in order to improve the statistics of the results (no variance reduction technique was used).

## **RESULTS AND DISCUSSION**

### **A. The MCNP-4C Monte Carlo code**

An MCNP-4C input file was created in order to perform calculation of S values at voxel level. This file included cell definition parameter, surface, mode and materials definitions according to the

geometry of interest and a the tally definition \*f8:e to obtain the energy deposited per radioactive decay in the analyzed voxel. Source definition for <sup>90</sup>Y and <sup>188</sup>Re were also established. This input file is able to be easily modified for other radionuclides or voxel sizes according to practical clinical necessities.

### **B. Calculation of S Values at Voxel Level for <sup>188</sup>Re and <sup>90</sup>Y in Cubical Geometries**

The S values for <sup>90</sup>Y and <sup>188</sup>Re in water and soft tissue were calculated using the MCNP-4C code outputs for 54 voxels belonging to the first octant (see annex 1). The resting elements of this octant were obtained by symmetry criteria in order to complete a volume of 6x6x6 voxels. No more voxel were considered due to at source-to-target distances over 3.6 cms the contribution to the target region dose was not significant (order 10<sup>-7</sup>). Each S value was computed and tabulated in mGy/MBq-s units. Relative coordinates to the source voxel, referred to the x,y,z position of the target element and ranged from 0,0,0 to 6,6,6 were used in order to index the computed data. It was alternated with the absolute center-to-center distance from the source to target voxel.

Values obtained for <sup>90</sup>Y were compared with the data published on MIRD Pamphlet 17 (only for soft tissue) in order to evaluate our results [4]. Figure 1 shows the curves of S values at target voxel versus his distance from the source element. It can be also noted that self-dose are the higher contribution to the S value of the source voxel. Within it, the computed value was 0.331 mGy.MBq<sup>-1</sup>.sec<sup>-1</sup> (MCNP-4C) and the reported one was 0.346 mGy.MBq<sup>-1</sup>.sec<sup>-1</sup> (MIRD Pamphlet 17). S values for the source voxel irradiating its nearest neighboring voxel (center-to-center distance 6 mm) are 0.0389 mGy.MBq<sup>-1</sup>.sec<sup>-1</sup> (MCNP-4C) and 0.0395 mGy.MBq<sup>-1</sup>.sec<sup>-1</sup> (MIRD Pamphlet 17), representing a significant decrease, around 8 times, from the central voxel. There is a change in the curve slopes around 15mm from the central voxel due to a decrement in the beta particles contributions to the S values, and an increment of gamma emissions contributions.

It can be noted that the shape of both curves for soft tissue, obtained from the MCNP and MIRD data, are very similar, showing the higher differences in voxels far away 2.8 to 3.6 cms from the source region. Mean relative differences were around 8.5%, ranged 0.1 to 34.0% (figure 2). More than 40% of S values computed with MCNP had a relative difference less than 5% related to the MIRD published data and more than 70% was under 10%.

On the other hand, figure 1 showed that S values obtained for water and soft tissue using the MCNP code have the same curve dependence. The maximum difference was appreciated at voxel 1,1,2 (distance 1,47cms) and the mean relative difference was around 4.7%, ranged 0.2 to 21 %. More than 70% of S values showed a relative difference less than 5%.

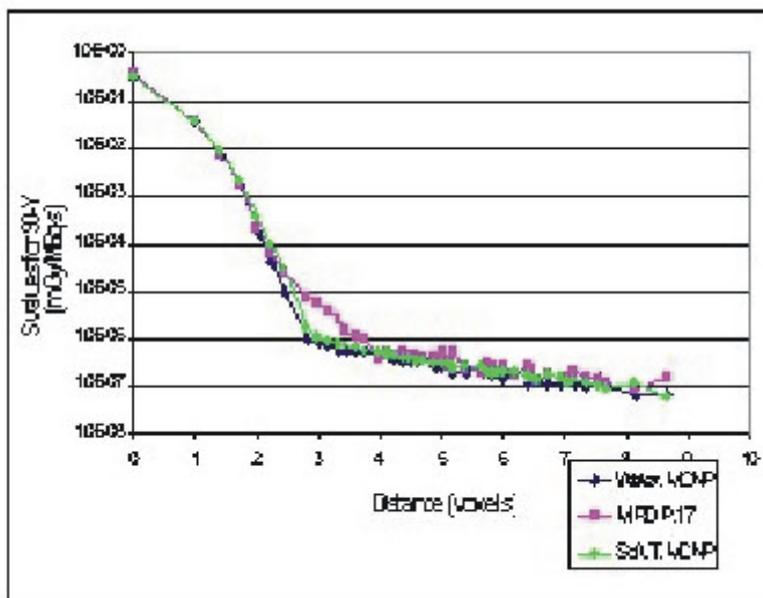


Figure 1. Curves of S values for  $^{90}\text{Y}$  calculated with MCNP-4C for water and soft tissue mediums and the S values published in MIRD Pamphlet 17.

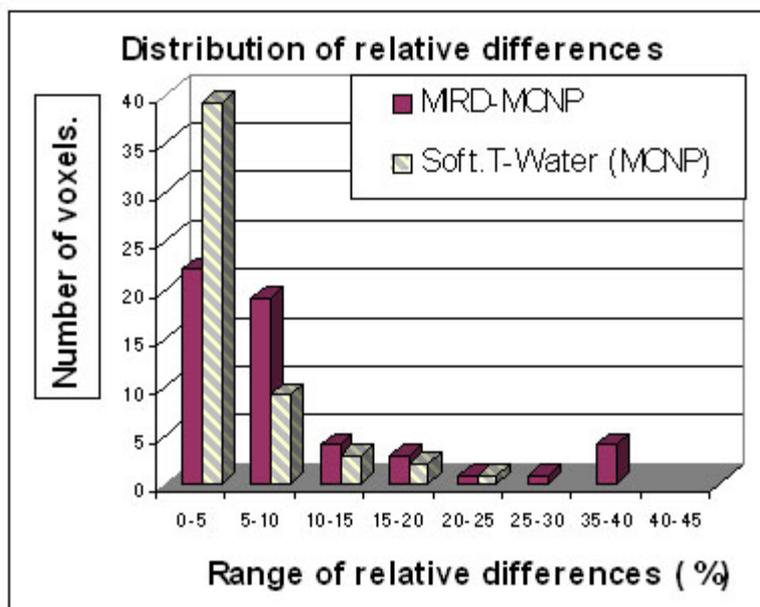


Figure 2. Histogram of relative differences between the  $^{90}\text{Y}$  computed and published data, taking into account increments of 5% of differences.

Computed S values for  $^{188}\text{Re}$  in water and soft tissue mediums, using MCNP-4C code are shown in figure 3 and tabulated in annex 1. It can be observed a similar behavior of the S values curves for  $^{90}\text{Y}$  and  $^{188}\text{Re}$ . Self-dose is also the higher contribution to the S value of the source voxel, reaching values of  $0.270 \text{ mGy.MBq}^{-1}.\text{sec}^{-1}$  and showing a fast decrease with the distance.

Renium values showed a slight decrement in the mean absorbed dose per radioactive

decay. It should be related with the differences in the mean energy of the beta emission between these radionuclides. Taking into account that biodistribution of renium labeled compounds can be easily evaluated by scintigraphic studies (due to its 155keV gamma emissions) and computed the cumulated activity at voxel level, the reported values can be use to estimate the absorbed dose delivered to tumor are adjacent normal organs.

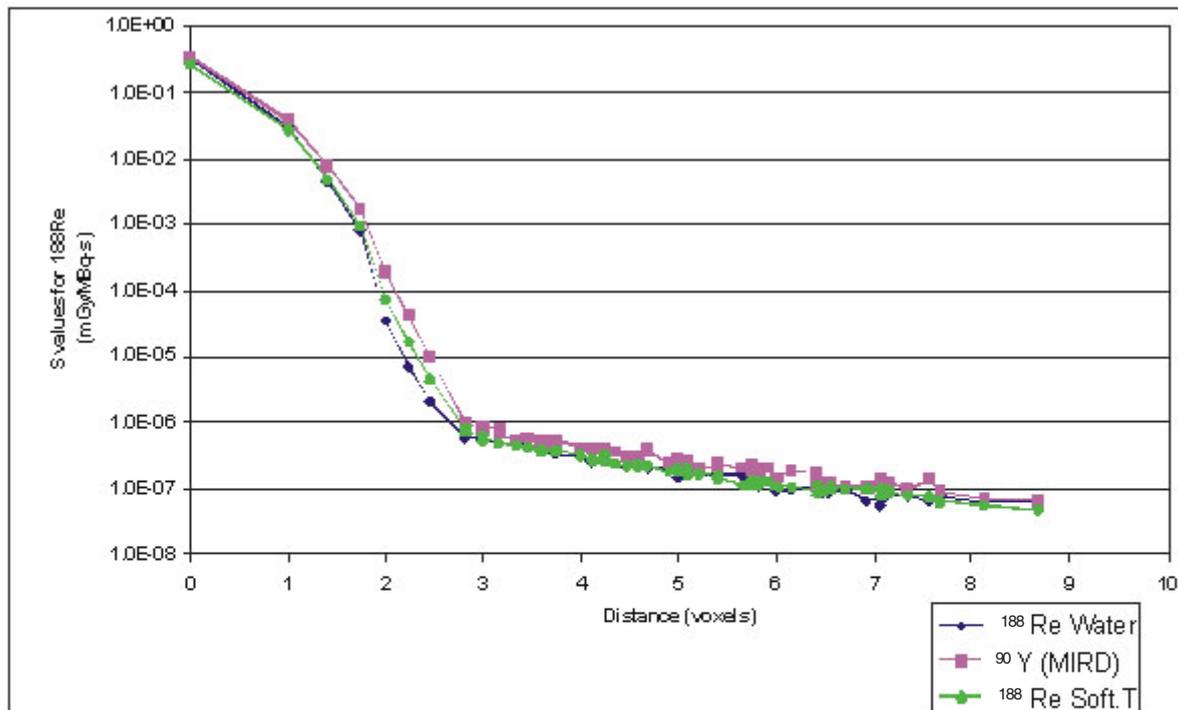


Figure 3. Curves of S values for <sup>188</sup>Re calculated with MCNP-4C for water and soft tissue mediums and data of <sup>90</sup>Y published in MIRD Pamphlet 17.

**CONCLUSIONS**

Voxels S values for <sup>188</sup>Re computed on this work can be used for internal radiation dosimetry calculations using the MIRD methodology at voxel level. Up today, no data of S values at voxel level for <sup>188</sup>Re have been published. The results of this work were compare and validated using previous reported values for <sup>90</sup>Y. Taking into account the promising features of <sup>188</sup>Re for internal radiation therapy with applications in nuclear medicine, oncology and interventional cardiology [7] the results of this work could be very useful for patient-specific internal radiation dosimetry estimations, as a part of the radiation safety procedures of phase I clinical trials.

**REFERENCES**

[1] JACOBS, A., FER, M., MIN, SU F., A phase I Trial of a Rhenium 186-labeled, Mab administered intraperitoneally in ovarian carcinoma: Toxicity and Clinical Response, *Obstetrics and Gynecology* 82 (4) (1993)1099-1109.  
 [2] BIGNER, D.D., BROWN, M.T., FRIEDMAN, A.H., et al, Iodine-131-Labelled AntiTenascin Monoclonal Antibody 81C6, Treatment of patients with Recucurrent Malignant

Gliomas: Phase I Trial Results. *J. Clin. Oncol.*, 16 (1998)2202-2212.  
 [3] RIVA, P., FRANCESCHI, G., ARISTA, A., et al, Loco regional radioimmunotherapy of high-grade malignant gliomas using soecific monoclonal antibodies labeled with <sup>90</sup>Y: A phase I study. *Clinical Cancer Research*; 5 (1999)3275-3280.  
 [4] BOLCH, W.E., BOUCHET, L.G., ROBERTSON, J.S., et al, The dosimetry of nonuniform activity distributions, Radionuclide S values at the voxel level, *Medical Internal Radiation Dose Committee, (MIRD) pamphlet No. 17*; *J. Nucl. Med.* Jan 40(1) (1999)11S-36S.  
 [5] HOWELL, R.W., WESSELS, B.W., LOEVINGER, R., et al: The MIRD perspective 1999, *Medical Internal Radiation Dose Committee. J. Nucl. Med. Jan, 40 (1) (1999)3S-10S.*  
 [6] TAGESSON, M., LJUNGBERG, M., STRAND, S.E., A Monte-Carlo program converting activity distributions to absorbed dose distributions in a radionuclide treatment planning system, *Acta Oncol*, 35(3) (1996)367-72.  
 [7] HAMBYE, A.S.E., DOBBELIER, A.A., VERVAET, A.M., KNAPP, F.F., Image quality with Rhenium-188 and Technetium 99m, Comparative planar and SPECT evaluation in a phantom study and implications for dosimetry, *World J. Nucl. Med.*, 1(2002)12-20.  
 [8] BRIEMESTER, J.F., Ed. MCNP-A, General Monte Carlo, N-particle transport Code, Version 4C, LA-13709-M(2000). SIMPKIN, D.J., MACKIE, T.R.: EGS4 Monte Carlo, determination of the beta dose kernel in water, *Med. Phys.*, Mar-Apr;17(2) (1990)179-86.

**Annex 1.** Voxel S values for <sup>188</sup>Re in Soft tissue.

Voxel			S values
i	j	k	mGy/MBq.s
0	0	0	2.70E-01
1	0	0	2.74E-02
1	1	0	4.64E-03
1	1	1	9.33E-04
2	0	0	7.50E-05
2	1	0	1.67E-05
1	1	2	4.59E-06
2	2	0	7.86E-07
3	0	0	5.73E-07
1	2	2	6.32E-07
3	1	0	5.10E-07
1	1	3	4.52E-07
2	2	2	4.35E-07
3	2	0	3.79E-07
1	2	3	3.64E-07
4	0	0	3.11E-07
4	1	0	2.58E-07
2	2	3	2.73E-07
3	3	0	3.25E-07
1	1	4	2.55E-07
1	3	3	2.46E-07
4	2	0	2.16E-07
1	2	4	2.20E-07
2	3	3	2.13E-07
2	2	4	1.87E-07
5	0	0	2.08E-07
4	3	0	1.93E-07

Voxel			S values
5	1	0	1.57E-07
1	3	4	1.98E-07
1	1	5	1.78E-07
3	3	3	1.67E-07
5	2	0	1.54E-07
2	3	4	1.39E-07
4	4	0	1.15E-07
1	4	4	1.18E-07
2	2	5	1.33E-07
5	3	0	1.18E-07
3	3	4	1.33E-07
1	3	5	1.24E-07
2	4	4	1.11E-07
2	3	5	1.12E-07
4	5	0	9.00E-08
3	4	4	1.13E-07
1	5	4	9.15E-08
3	3	5	1.02E-07
2	4	5	9.65E-08
4	4	4	9.80E-08
5	5	0	1.00E-07
3	4	5	7.91E-08
1	5	5	8.59E-08
2	5	5	7.81E-08
4	4	5	7.57E-08
3	5	5	6.49E-08
4	5	5	5.92E-08
5	5	5	5.03E-08

# ESTUDIO DEL RECONOCIMIENTO IN VIVO DE LOS TUMORES DE ORIGEN EPITELIAL POR LOS ANTICUERPOS MONOCLONALES IOR C5, IOR EGF/R3 Y HR3 HUMANIZADO, MEDIANTE LA TÉCNICA DE INMUNOGAMMAGRAFÍA

Mayra Ramos Suzarte<sup>1</sup>, Nelson Rodríguez Mesa<sup>2</sup>, Juan P. Oliva González<sup>3</sup>, Normando Iznaga- Escobar Escobar<sup>1</sup>, Alejandro Perera Pintado<sup>4</sup>, Leonel Torres Aroche<sup>4</sup>, Juan Batista Cuellar<sup>4</sup>, Elia Neninger<sup>5</sup>, Nery González Lazo<sup>4</sup>, Teresa Cruz<sup>4</sup>, Ibrahim Leonard<sup>4</sup>, Olga Torres Gemil<sup>1</sup>, Teresita Rodríguez Obaya<sup>1</sup>, Rolando Pérez Rodríguez<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Centro de Inmunología Molecular; <sup>2</sup> Centro de Investigaciones Médico Quirúrgicas,

<sup>3</sup> Instituto Nacional de Oncología y Radiobiología <sup>4</sup> Centro de Investigaciones Clínicas,

<sup>5</sup> Hospital Hermanos Ameijeiras

## Resumen

El objetivo del trabajo fue demostrar que los anticuerpos monoclonales murinos ior c5, ior egf/r3 y el AcM humanizado hR3 pueden reconocer lesiones neoplásicas primarias, sus recidivas postquirúrgicas y metástasis a través de la inmunogammagrafía. Para ello se estudiaron durante los años 1992-1999, pacientes entre 18 y 85 años de edad, de cualquier sexo y etnia, portadores de tumores de origen epitelial, metástasis o recidivas postquirúrgicas, confirmados en todos los casos por diagnóstico anatomopatológico. Los anticuerpos monoclonales ior c5, ior cea1, ior egf/r3 de origen murino y el hR3 humanizado se marcaron previamente con <sup>99m</sup>Tc a través del método de Schwarz con una eficiencia de marcaje en todos los casos superior al 95%. Se evaluaron 301 pacientes: 148 con el AcM ior egf/r3, 14 con el hR3, 59 con el ior c5 y 80 combinado en un mismo paciente los AcMs ior c5 e ior cea 1. Estos resultados demostraron que los AcMs ior c5, ior egf/r3 y hR3 son útiles en el diagnóstico de los tumores primarios de origen epitelial, sus metástasis y recidivas postquirúrgicas. Esta tecnología se convierte en una prueba de concepto para utilizar posteriormente los AcMs con fines terapéuticos.

## STUDY ON IN VIVO EXAMINATION OF TUMORS OF EPITHELIAL ORIGIN FOR THE MONOCLONAL ANTIBODIES IOR C5, IOR EGF/R3 AND HUMANIZED HR3, BY USING INMUNOGAMMAGRAPHY TECHNIQUE

## Abstract

The aims of the present work were to assess the diagnostic utility of ior egf/r3, ior c5, ior cea 1 and hR3, labeled with <sup>99m</sup>Tc. Materials and Methods. Three hundred patients (148 using ior egf/r3 mab, 14 using hR3, 59 with ior c5 and 80 combined ior c5 e ior cea 1 in the same patient), aged between 18-85 years old, suspected of having epithelial tumors, its metastasis and recidives were study by immunoscintigraphy in authorized clinical trials. Most of the patients were in stages III-IV of the diseases. The Mabs were labeled with <sup>99m</sup>Tc by Schwarz methodology. Labeling efficiency was up to 98%. Three milligrams of <sup>99m</sup>Tc ior egf/r3, 6 mg of <sup>99m</sup>Tc hR3 and 1 mg of <sup>99m</sup>Tc ior cea1 and <sup>99m</sup>Tc ior c5 were intravenous administrated in to the patients. Conclusions ior egf/r3, hR3, ior c5 and ior cea1 are useful for the diagnosis a follow-up epithelial tumors, its metastasis and recidives. This technology may come in concept prove to future immunotherapy with those monoclonal antibodies.

*Palabras clave: in alive; gamma radiography; monoclonal antibodies; immunotherapy; neoplasms; nuclear medicine*

## INTRODUCCIÓN

Los anticuerpos monoclonales AcMs han resultado de gran utilidad en el diagnóstico clínico por inmunogammagrafía (InGG) de diferentes enfermedades, desde que fueron introducidos en las técnicas de medicina nuclear. En estas aplicaciones el Tecnecio<sup>99m</sup> (<sup>99m</sup>Tc) (Hnatowich, D.J., 1990, Morrison, R.T., 1984) ha desplazado a otros radioisótopos utilizados con estos fines por su inocuidad, pero en general esta tecnología se ha extendido a nivel mundial por las ventajas de poder visualizar a través de toda la extensión corporal, en una única prueba diagnóstica, posibles metástasis y recidivas relacionadas con el marcador empleado, en algunas ocasiones no identificadas previamente por otros métodos imagenológicos, con alta especificidad y sensibilidad (Britton, K.E., 1996, Oliva, J.P. y cols., 1999).

A principio de la década de los 80 se comienza a desarrollar en Cuba, en el Instituto Nacional de Oncología y Radiobiología, AcMs dirigidos contra antígenos tumor asociados, de esta manera se trabajó en dos blancos fundamentales: el Receptor del Factor de Crecimiento Epidérmico (r-EGF) y los antígenos asociados al cáncer de colon reconocidos por los anticuerpos monoclonales ior egf/r3, DIACIM hR3, ior c5 e ior cea1, (Oliva, J.P., 1994, 1996). La aplicación de estos AcM en la práctica diaria de la medicina nuclear los convierte en herramienta diagnóstica para una mejor evaluación de la enfermedad.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Pacientes evaluados

Todos los pacientes se estudiaron en el marco de ensayos clínicos prospectivos, revisados y aprobados por los Comités de Ética para la investigación Clínica de los hospitales participantes en el estudio. Estos fueron aprobados por la agencia regulatoria cubana que es el Centro Estatal para el Control de Medicamentos (CECMED).

El diagnóstico confirmativo se realizó por anatomía patológica, por evaluación de la muestra obtenida de la lesión tumoral o la metástasis ya sea por cito o histopatología, antes de la InGG o después, en el acto quirúrgico. Se incluyeron pacientes que expresaron de forma escrita su disposición de participar en el ensayo clínico, entre 18 y 85 años de edad a los cuales no se les había administrado con anterioridad anticuerpos monoclonales ni tratamiento oncoespecífico 30 días antes de la inmunogammagrafía (InGG), con estado general menor o igual a dos según los criterios de la OMS (Edwards, I.R., 1994) y función renal, hepática y hematológica dentro de los parámetros normales. Se excluyeron del estudio mujeres embarazadas o lactando, pacientes con estados febriles por enfermedades infecciosas agudas, o de gravedad, o en convalecencia y los que no cumplían los criterios de inclusión.

### Método de marcaje y control de la pureza radioquímica

Los AcMs se marcaron de acuerdo con el método de Schwarz y Steinstrasser, 1987, modificado por Morales, A. y cols., 1998.

El control de la pureza radioquímica se llevó a cabo por cromatografía en papel ascendente y se utilizó como sistemas de solvente la fase móvil (acetona, solución salina 0,9%, papel absorbente Whatman 3 mm). Se controló además la pureza radioquímica por cromatografía en placas finas de Silica GEL (ITLC).

### Inmunogammagrafía

Se administró a cada paciente 40-50 mCi (1480-1850 MBq) de <sup>99m</sup>Tc enlazado a la dosis de AcM seleccionada.

Las imágenes fueron tomadas en dos modelos de cámaras gammas: ZLC 3700 (Siemens, Hoffman Estates, ILI) y Shopy DS-7 (SMVi, Buc. France), según el servicio de medicina nuclear donde se llevó a cabo el estudio. La interfase para la toma y procesamiento de las imágenes fue el mismo para ambas: Imagamma.

### Evaluación de la toxicidad

Se tuvieron en cuenta los siguientes criterios para evaluar la toxicidad del AcM al ser administrado en el paciente: valores de hemoglobina mayor que 10 g/l, de leucocitos mayor que 4000 g/mm<sup>3</sup>, plaquetas 100x10<sup>9</sup> y las transaminasas (TGP) dentro de los valores de referencias normales.

Previo a la administración del AcM y a las cuatro y 24 horas post tratamiento se le midieron los signos vitales: presión arterial, frecuencia cardiaca, frecuencia respiratoria y temperatura corporal. Cualquier variación relevante en estos parámetros sería considerado como toxicidad.

### Imágenes

Las imágenes planas se tomaron en vistas anteriores y posteriores de acuerdo con la localización de la lesión, y se empleó una matriz de 128x128, con el fotopico centrado en 140 keV y una ventana de  $\pm 20\%$  (amplitud de adquisición de la emisión gamma). Se tomaron imágenes equivalentes a 500 kiloconteos a las dos, cuatro y 24 horas posteriores a la administración del inmunoradiofármaco.

De cuatro a seis horas posteriores a la administración del radiofármaco se realizaron las imágenes tomográficas en 64 proyecciones, cada 30 segundos, con una matriz de 64 x 64, zoom 1, y se empleó una órbita de contorno de 360°. En todos los casos los pacientes se colocaron en posición decúbito supino.

## Interpretación de las imágenes

Las imágenes fueron evaluadas por un equipo especializado compuesto por no menos de tres especialistas en medicina nuclear. El diagnóstico final se elaboró por consenso, al menos dos de los criterios debían ser coincidentes.

Respuesta humana contra el AcM murino (HAMA) o contra la porción hipervariable (Fab') del AcM humanizado

Básicamente la respuesta humana contra el AcM murino se evaluó de forma semicuantitativa, y se correlacionó el reconocimiento del suero del paciente antes de ser tratado y posterior a la administración del AcM marcado, en similares diluciones por un sistema inmunoenzimático (ELISA) indirecto desarrollado para cada AcM, y se usó como recubrimiento el AcM de interés o fragmentos Fab del mismo (h-R3). Se evaluaron muestras de los pacientes previo tratamiento y a uno, dos, cuatro, ocho y 12 semanas posterior a la administración del radiofármaco. Se consideró positivo si la relación entre la D.O. post tratamiento con respecto a la del pre tratamiento (Índice HAMA) fue mayor o igual que dos.

## Anticuerpos monoclonales y pacientes evaluados

**ior egf/r3:** el AcM anti r-EGF ior egf/r3 es un anticuerpo monoclonal murino, isotipo IgG2a, que reconoce el r-EGF con una constante de disociación  $K_d = 10^{-9}$  m y una constante de afinidad de  $0,94 \pm 0,8 \times 10^8$  (Fernández, A. y cols., 1989).

148 pacientes estudiados con el AcM murino ior egf/r3, portadores de tumores de origen epitelial de la cabeza y cuello, cerebro, tracto gastro intestinal (esófago, estómago, intestino grueso en toda su extensión, recto sigmoides, canal anal y ano), sistema reproductor (ovario, cuello de útero), pulmón, mama, fundamentalmente. Un total de 109 pacientes estaban clasificados en estadios III y IV (avanzados) de su enfermedad. Los tumores más frecuentes en esta población fueron los carcinomas epidermoides (75 pacientes) y los adenocarcinomas (25 pacientes).

**AcM h-R3:** AcM humanizado con similar capacidad para inhibir la unión del EGF marcado a su receptor que el AcM murino ior egf/r3, con una constante de disociación de  $10^{-9}$  M. Tiene una constante de afinidad de  $1,12 \pm 0,69 \times 10^8$  L/mol (Mateo, C., y cols., 1997).

14 pacientes estudiados con el AcM humanizado hR3 portadores de tumores de origen epitelial en las localizaciones, Sistema Digestivo y Sistema Reproductor fundamentalmente.

**ior c5:** IgG1, que reconoce al antígeno tumor asociado, glicoproteína de PM entre 140-190 kD

presente en la superficie y el citoplasma de las células de adenocarcinoma (Vázquez, A.M. y cols., 1993, 1994).

59 pacientes estudiados con el AcM ior c5 con la dosis de 1 mg, portadores de tumores colorrectales. Este estudio se hizo abierto, no controlado.

**ior cea1:** subclase de Ig de ratón IgG 1, que reconoce al antígeno tumor asociado CEA (antígeno carcinoembrionario) altamente expresado en algunos tipos de neoplasias malignas fundamentalmente colorrectales, ováricas y de mama (Gavilondo, J., 1989).

Se realizó un estudio comparativo de diagnóstico por InGG con los AcMs ior c5 e ior cea1 en el mismo paciente. 80 pacientes en los cuales se llevó a cabo un estudio a triple ciegas, aleatorizado, con la administración de los AcMs murinos ior c5 e ior cea 1 con la dosis de 1 mg en ambos casos, administrados en el mismo paciente con una semana de aclaramiento entre ambas InGG. En este caso el estudio se dividió en dos grupos:

- Grupo A: aquellos pacientes que recibieron el AcM ior c5 como primer AcM y el ior cea 1 como segundo (43 pacientes).

- Grupo B: aquellos pacientes que recibieron como primer AcM el ior cea1 y como segundo el ior c5 (37 pacientes).

En este caso se evaluó el posible efecto en la eficiencia diagnóstica del orden de aplicación de los AcM en el mismo paciente.

La administración del AcM marcado con  $^{99m}\text{Tc}$  se realizó en forma de bolo endovenoso, dosis única, en la vena antecubital. Las dosis administradas de  $^{99m}\text{Tc}$  fueron similares para todos los AcM estudiados 40-50 mCi (14,8-1,85 GBq). Las dosis de AcMs empleadas fueron: ior egf/r3: 3 mg, hR3: 6 mg, ior c5: 1 mg, ior cea1: 1mg.

## Evaluación de la eficacia y estadística

Para calcular los parámetros establecidos de sensibilidad, precisión, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo, se utilizó como "patrón de oro" la biopsia de los tumores estudiados, ya sea de la lesión primaria o de la metástasis. Se utilizó para los cálculos el paquete estadístico programa Stat Xact 3 para Windows 2000.

## RESULTADOS

### Toxicidad y Reacciones Adversas

No se encontraron efectos adversos frente a la administración de ninguno de los AcM estudiados. No hubo cambios relevantes en la función de la médula ósea, el hígado o el riñón posterior a la administración del radiofármaco.

**Respuesta humana contra los anticuerpos monoclonales**

En 30 de los 148 pacientes evaluados con el ior egf/r3 se observó respuesta HAMA, uno de ellos mantuvo la respuesta, detectable 12 semanas después de la administración del AcM pero, el resto volvió a los niveles pre tratamiento antes de las 8 semanas. El resto de los pacientes tratados con los otros AcM no desarrollaron respuesta.

Los resultados de las biopsias mostraron que 126 de 148 pacientes incluidos en el estudio con ior egf/r3 presentaron tumores de origen epitelial (85,1%), 22 fueron negativos a la presencia de tumores (14,9%). La InGG identificó 106 de 126 pacientes portadores de tumores de origen epitelial y 22 de 22 negativos fueron diagnosticados como Verdaderos Negativos (VN). La sensibilidad, especificidad, precisión, valor predictivo positivo y negativo de las imágenes inmunogammagráficas fueron: 84,1 %, 100%, 86,5%, 100% y 52,4% respectivamente. En ninguno de los casos estudiados se encontraron falsos positivos.

De todos los órganos fuentes evaluados el hígado fue el de mayor captación. (Iznaga-Escobar, N., y cols., 1998, Morales, A., y cols., 2000). No se encontró acumulación selectiva en otro órgano o tejido, excepto en la vía de excreción renal. En la figura 1 se muestran imágenes planas obtenidas a las 24 horas posterior a la administración del radiofármaco de un paciente con carcinoma epidermoide de pulmón. El AcM marcado se acumula en la lesión del pulmón derecho comparado con el pulmón contralateral.

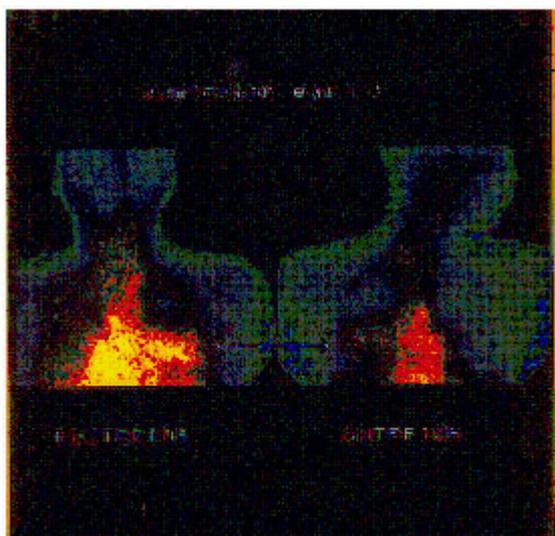


Figura1. Imágenes planas anterior y posterior tomadas 24 horas posterior a la administración del AcM ior egf/r3 (3 mg / 50 mCi <sup>99m</sup>Tc) de un carcinoma epidermoide bien diferenciado de pulmón derecho.

En los 106 pacientes diagnosticados como verdaderos positivos (de un total de 126 pacientes portadores de tumores), encontramos lesiones metastásicas en 70 (75,26%) con lesiones metastásicas (en algunos casos metástasis múltiples), 46 de las cuales (65,7%) se identificaron antes de que aparecieran síntomas clínicos o fueran reveladas por otros métodos imagenológicos.

Con el AcM humanizado hR3, se obtuvo una eficiencia de marcaje superior al 98%, en este caso se marcaron 6 mg de AcM con 50-60 mCi de <sup>99m</sup>Tc. La sensibilidad diagnóstica del estudio en general fue del 83,3%, con una precisión del 85,7%. El VPP fue del 100%, ya que no se encontraron casos falsos positivos en la muestra estudiada. Los órganos fuentes identificados como los más hipercaptantes fueron los mismos que para su homólogo murino. La administración del radiofármaco en un paciente con lesión primaria de carcinoma epidermoide de pulmón izquierdo como lesión primaria evidenció una lesión cerebral que no se había identificado previamente por otro método clínico ni presentaba sintomatología (figura 2).

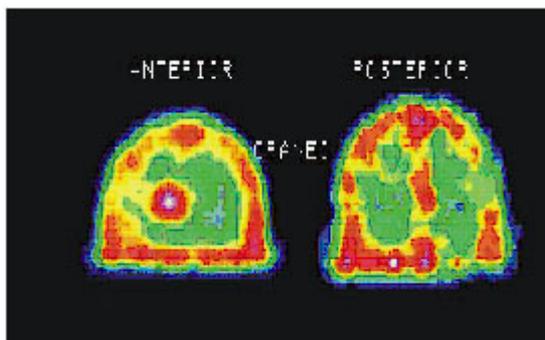


Figura 2. Metástasis cerebral procedente de un carcinoma epidermoide de pulmón.

Empleando la InGG, se observan lesiones que no se diagnosticaron previamente por otros métodos convencionales, tanto recidivantes como metastásicas (53 nuevas lesiones). Las mejores imágenes por InGG con el AcM ior c5 se obtuvieron entre las cuatro y las 24 horas post administrado el radiofármaco. De los 10 pacientes evaluados como verdaderos positivos por coincidir los resultados de la biopsia con la InGG, siete presentaban lesiones metastásicas a distancia, cuatro de ellas no identificadas previamente.

Por otra parte en ninguno de los pacientes estudiados con los AcM ior c5 e ior cea1, dirigidos contra antígenos asociados al cáncer colorectal, se encontraron resultados falsos negativos. Los órganos fuentes principales en los cuales se encontró hipercaptación del radiofármaco desde los primeros minutos posteriores a la

administración del ior c5 fueron: corazón (área cardíaca), hígado, bazo y macizo maxilofacial.

La sensibilidad del ensayo con el AcM ior c5 fue de un 93,75% y la precisión del 94,91%. Las lesiones de colon ascendentes, que por su localización tan lejana en el colon proximal son difíciles de diagnosticar por otros métodos (recto-sigmoidoscopia, por ejemplo) fueron detectadas ante la cámara gamma con elevada precisión diagnóstica. En la figura 3 se aprecia una lesión hipercaptante coincidente con un adenocarcinoma de colon ascendente no identificada previamente por otros métodos diagnósticos.

Se encontró diferencia significativa cuando ambos AcM, ior c5 e ior cea 1, se administraron como segundo anticuerpo con respecto a cuando se administraron como primer radiolocalizador, sin embargo su comportamiento como AcM fue similar a lo reportado para ellos en estudios previos cuando eran administrados como primer AcM.

En la mayoría de las lesiones evaluadas se encontró coincidencia diagnóstica para ambos AcMs evaluados tanto para lesiones primarias como para las metástasis y las recidivas.

### DISCUSIÓN

Los AcM empleados en el estudio resultaron seguros, no provocaron reacciones adversas relacionadas con la administración de estos. A pesar de la elevada captación del radiofármaco a

nivel del hígado, los resultados del laboratorio clínico no mostraron evidencias de daño hepático.

La respuesta HAMA detectada en seis de los 30 pacientes estudiados con el AcM murino ior egf/r3 fue transitoria y desapareció antes de las ocho semanas post tratamiento. Sólo un paciente desarrolló títulos elevados aún a las 12 semanas siguientes (Ramos-Suzarte, M., 1999). Otros autores que han empleado estudios con AcM murinos anti EGFr han reportado repuesta HAMA (Fallito, T., 1996, Brady, L.K., 1991), con títulos altos y sostenidos. Esta baja respuesta puede estar relacionada con las bajas dosis empleadas por pacientes (sólo 3 mg de AcM), el rápido aclaramiento plasmático (Iznaga Escobar, N., 1998), además de la inmunosupresión y terapias previas a que estuvieron sometidos los pacientes evaluados (efecto secundario presente en pacientes en estadios avanzados de la enfermedad), (Homer, A.F., 1999).

Los estudios con los AcM anti EGFr demostraron la capacidad de detectar tumores primarios de origen epitelial, sus metástasis y recidivas con una sensibilidad superior al 80%). En los 148 pacientes evaluados con el ior egf/r3, no se encontraron falsos positivos, por lo que la especificidad fue del 100%, esto puede estar relacionado con la alta afinidad del AcM por su receptor ( $K_a=0,94 \pm 0,12 \times 10^8$  L/mol), (Fernández, A., 1989), lo que propicia una elevada estabilidad del complejo anticuerpo-receptor en la superficie celular, que se manifiesta al observar imágenes hipercaptantes de la lesión tumoral no sólo en las primeras horas posterior a la administración del producto, sino 24 horas post tratamiento.

La sobre expresión del EGFr ha sido reportada como una característica frecuente en los tumores de mama (Hakomori, S., 1985), tracto digestivo (McKensie, I.F.C., 1990), colorrectales (Levine, D.S., 1989, Stochi, L., 1998), cabeza y cuello (Brunivels, D.J., (1994), pulmón (Suárez, E., 1998) y otros tipos de cáncer. El incremento de este receptor en la superficie de la célula se ha visto relacionado con un mayor grado de malignidad de la enfermedad, pobre diferenciación, mayor grado de invasión y por consiguiente un mal pronóstico y menos sobrevida (Stochi, L., 1998). También hay reportes en estudios anatomopatológicos (Macías, A., 1991) de una mayor expresión del EGF en metástasis que en tumores primarios.

Por otra parte Fontanini y col. en 1995, describieron variabilidad de la presencia del receptor en la superficie de las células acorde con la clasificación histológica de la malignidad y la variedad histológica en estudios inmunohistoquímicos, lo que demostró los carcinomas epidermoide expresan mayor cantidad del r-EGF que los adenocarcinomas. Nuestros resultados confirman estos hechos, que hasta ahora sólo se había demostrado en



Figura 3. Diagnóstico por InGG con el AcM ior c5. Lesiones hipercaptantes patológicas a nivel de colon ascendente.

estudios anatomopatológicos (Yamamoto, T., 1983, Ríos, M.A., 1988, Fontanini, 1995, Chakrabarty, 1997), acercándonos a la biología del tumor *in vivo*, en el propio paciente, y quedó demostrado con este ensayo clínico al encontrar diferencia significativa entre ambas variedades histológicas en el diagnóstico inmunogammagráfico. Los adenocarcinomas proceden de un epitelio simple glandular que en estado normal tiene menor recambio celular y por tanto necesitaría menor expresión del receptor del factor de crecimiento epidérmico, sin embargo los tumores de tipo carcinoma epidermoide proceden de un epitelio plano estratificado, el cual tiene un recambio constante por su función lo que conlleva a una mayor cantidad de receptores en su superficie celular (Fontanini, F., 1995).

Por otra parte Ríos y cols. 1985, 1992; Montjtahedi y cols. 1994, Lupu, R., 1995 y Zhang, L., 1995, demostraron que la expresión del r-EGF estaba significativamente elevada en el carcinoma de mama y se asociaba con el mal pronóstico de la enfermedad, la progresión tumoral y la resistencia a drogas. Estos estudios se realizaron en líneas celulares y en estudios anatomopatológicos. En 70 pacientes evaluados por InGG con el ior egf/r3, se encontraron lesiones metastásicas (75,26%), índice que apunta a un mal pronóstico de la enfermedad. De estas, 46 de ellas (65,7%) fueron hallazgos de la InGG, pues no habían sido previamente identificadas por la clínica, y algunas de ellas sin sintomatología clínica.

El estudio reportó 20 pacientes falsos negativos, 10 de ellos tenían tumores de pulmón y seis tumores de cabeza y cuello. Algunos autores (Holmer, A.F., 1999) han reportado una importante heterogeneidad en la expresión del EGFr en los tumores de origen epitelial a través de estudios inmunohistoquímicos, la presencia del receptor también depende de la etapa de la enfermedad y del tipo histológico como se discutió previamente. Además el tejido normal de algunos órganos (hígado, bazo, corazón, riñón y otros) cercanos a la lesión pueden tener elevada emisión de radiactividad por la biodistribución del AcM lo cual dificulta la detección de la lesión por interposición de imágenes, como el área cardíaca, macizo maxilofacial, hígado y otros no fue posible demostrarla expresión del receptor del cgf por inmunohistoquímica en los pacientes que resultaron falsos negativos. No fue posible demostrar la expresión del receptor del egf por inmunohistoquímica en los pacientes que resultaron falsos negativos.

La biodistribución normal en macizo maxilofacial del ior egf/r3 (Iznaga-Escobar, N., 1998), debido a la irrigación sanguínea presente en esta zona, hace difícil el diagnóstico de los tumores de cabeza y cuello en las primeras horas de post administrado el producto, ella puede ser además la causa por la cual la sensibilidad y precisión diagnóstica para la localización sea tan baja

(75,4% y 83,3% respectivamente). La elevada irrigación sanguínea de la región facial, favorece un marcado fondo radiactivo en esta área, que enmascara las lesiones de la zona cuando se toman imágenes planas anteriores y posteriores.

Las imágenes tomográficas para la cabeza y el cuello, mejoraron la resolución en aquellos casos que presentaban lesiones metastásicas en ganglios adyacentes, claviculares, supraclaviculares, axilares entre otros, asimismo, las lesiones primarias de lengua, base de lengua, paladar duro, entre otras presentes en esta zona, no se pudieron detectar. Estas localizaciones son fácilmente diagnosticadas por examen físico y estudios anatomopatológicos. El valor diagnóstico de la InGG para estos tumores, está en la detección de metástasis a distancia. También resultaría útil al ser empleada para demostrar el reconocimiento del AcM por los receptores del tumor con vista a la inmunoterapia (Crombet, T., 2000), pero reiteramos que para el cáncer de la cabeza y el cuello, sería posible la toma de muestra y la determinación de la expresión del receptor del EGF por inmunohistoquímica y no por InGG.

Con el AcM humanizado se constata al igual que con el ior egf/r3, que la expresión aberrante está asociada al mal pronóstico de la enfermedad (Ríos, M.A., 1992, Modjtahedi, H., 1994), el cual constituye un marcador biológico *in vivo* de la actividad funcional del tumor con respecto a su pronóstico posterior. Se ha visto que todos aquellos casos en etapas avanzadas en los que se han encontrado lesiones metastásicas a distancia, tienen una expectativa de vida estimada por los clínicos muy corta.

Los estudios por InGG que se realizaron con el AcM ior c5, evidenciaron la elevada capacidad de reconocimiento de AcM por su receptor, el ior c2, antígeno asociado al cáncer de colon que, aunque no se ha logrado identificar su función en la célula, se conoce su sobreexpresión apical en las células tumorales, así como la disminución en la excreción luminal en los pacientes portadores de tumores con respecto a individuos sanos (Vázquez, 1992, 1994).

Los órganos blancos hipercaptantes fueron fundamentalmente el hígado, el área cardíaca y el bazo. Otros autores han reportado similar distribución de los AcM asociados al cáncer de colon, debido a la permanencia de una parte del mismo en circulación sanguínea al menos durante las primeras 12 horas, luego de aclararse por vía hepatobiliar y renal (Oliva, J., 1994, Goldenberg, D., 1989, Willkomm, P., 2000, Hiller, D.G., 2001). Se pudiera pensar que dosis tan pequeñas no permitirían un diagnóstico adecuado, pero como este antígeno, expresado en las células tumorales, se ubica en la superficie celular, la reacción Ag-AcM marcado, se mantiene en la membrana de la célula lo que proporciona

un marcaje *in vivo* del contorno del tumor a través de las membranas de las células que lo conforman. El tiempo de vida media alfa de 0,207 horas  $\pm$  0,059 horas (vida plasmática), demuestra que rápidamente el AcM ior c5 va a un segundo compartimiento para radiolocalizar su antígeno, ya que no hay interacción inespecífica con otros antígenos en el organismo.

No sugerimos que la InGG con el ior c5 sea utilizada para el diagnóstico del borde anal y ano, lesiones que pueden ser identificadas por el examen clínico, ya que la posición en la cámara gamma bien sea decúbiteo supino o decúbiteo prono, hacen que la superposición de órganos dificulte el diagnóstico. Otro inconveniente es que de acuerdo con las características inmunohistoquímicas de la interacción de AcM con los antígenos en los tejidos del colon, se reconoce intensamente el tejido de la mucosa del colon, fundamentalmente la de tipo glandular, pero en el tejido netamente epitelial el reconocimiento es pobre. El ior c2 está expresado en células maduras de todo el epitelio del colon, sin embargo en el borde anal, los tejidos secretorios no son de células caliciformes sino glándulas subyacentes al epitelio (Levine, D.S., 1989, Fenger, C., 1988), cuyas células no expresan ior c2, por lo que se puede asociar también a ello los diagnósticos falsos negativos encontrados en esta localización. Esto también se demuestra en la diferencia de sensibilidad y precisión diagnóstica entre los carcinomas epidermoides evaluados y los adenocarcinomas 80% y 95,34% y 83,3% y 96,07% respectivamente.

La combinación en el mismo paciente de dos AcM, en momentos diferentes para el diagnóstico diferenciado por InGG no mostró efectos adversos en ninguno de los 80 pacientes evaluados.

No se encontró, ni a la semana post administrado el primer AcM ni durante el seguimiento realizado por 12 semanas, una respuesta HAMA a pesar de haber administrado en dos ocasiones un AcM de origen murino. Ello está asociado a que la dosis de proteína empleada en ambos estudios es muy pequeña (1 mg), con similar subclase de inmunoglobulina (IgG 1) y el tiempo de separación entre ambos estudios también es corto, sólo de una semana. La vía de administración endovenosa, es la menos inmunogénica y ambos antígenos están bastante restringidos al colon, además que estos pacientes son portadores de tumores y metástasis a lo cual se une el AcM con alta especificidad que permanece poco tiempo en circulación sistémica. Como estos pacientes se encuentran en etapas muy avanzadas de su enfermedad la inmunodepresión inmunológica es muy frecuente. Todos estos aspectos son la causa por la cual, frente a dos administraciones de AcM murino en el mismo paciente, no se haya encontrado una respuesta HAMA frente a ninguno de los AcM empleados.

La diferencia en la localización de los antígenos, también puede explicar la diferencia en la coincidencia diagnóstica de las imágenes de ambos AcM en un mismo paciente, aunque en un pequeño número de casos, se observó, que el ior cea 1 detectó dos lesiones metastásicas procedentes de carcinomas epidermoide, en la región del recto y el ano (zona del tracto gastrointestinal donde se minimiza la producción de mucus por las células secretoras y sería menos probable encontrar altas cantidades del receptor ior c2) que no fueron vistas por el ior c5. Así mismo ocurrió con un tumor primario de la misma variedad histológica.

El orden de aplicación de los AcM dio lugar a sensibilidades diagnósticas entre ambos, y aumentó significativamente la del ior cea 1 cuando se administró como segundo AcM y disminuyó la del ior c5 cuando se administró posterior al ior cea 1.

Estos dos fenómenos aparentemente diferentes, están asociados a una posible modificación antigénica ya sea en expresión o estructural, de ambos antígenos colon asociado, cuando estas células se ponen en contacto con un AcM específico a ellos previamente.

Las características del antígeno carcinoembrionario (CEA), miembro de la super familia de las inmunoglobulinas, han sido clasificadas como altamente modificable (Neil, L., 2002). Es una molécula de adhesión homotípica que al interactuar con una homóloga, puede favorecer diferentes funciones en la célula tumoral (Charbonneau, J., 1999) que incluye el aumento de la expresión de otras moléculas de CEA para favorecer la interacción intercelular. El CEA, aunque presente en niveles bajos en las glándulas subyacentes al epitelio del colon y en las células indiferenciadas de la cripta en la región apical, está asociado a procesos de malignización una vez que su expresión sale de los marcos del control celular; inhibe la muerte celular inducida y pérdida de anclaje a la matriz celular, coopera en la transformación celular con muchos proto-oncogenes tales como BCL 2 y C-Myc, promueve entrar al estado *GO like* del ciclo celular y favorece la acumulación de eventos oncogénicos adicionales. (Thaeri, M., 2000, Ordóñez, C., 2000).

Pudiera suceder que al interactuar el ior c5 con su antígeno en membrana (ior c2) ocurrieran los siguientes fenómenos:

Primero: que la formación del complejo ior c2- ior c5 favorezca la expresión del CEA ya sea por envío de alguna señal al núcleo o por modificación estructural en la membrana que por contigüidad se favorezcan cambios que activen la expresión del CEA.

Segundo: que el ior c2, al reconocer a su anticuerpo quede modificado estructuralmente y al

ser re expresado en membrana este tenga homología estructural con el CEA por algún epítipo y el AcM ior cea 1 lo pueda reconocer (aunque sea con menor afinidad que al propio CEA).

Tercero: que el antígeno ior c2 tenga algún epítipo compartido con el CEA y cuando este entra en contacto con el ior c5 se favorezca su sobre expresión la cual es reconocida también por el ior cea 1 una semana posterior a la primera administración.

Poco conocido hasta la fecha es el papel que desempeña el antígeno ior c2 en la superficie de las células tumorales, si bien es cierto que este se encuentra presente en la mayoría de las células del colon, su distribución es preferentemente citoplasmática y heterogénea (Vázquez, A.M., 1994), sin embargo, en la célula tumoral el marcaje se polariza hacia la membrana citoplasmática, netamente apical, esto lleva a pensar que la función biológica de este antígeno, cambia en los procesos de malignización y comienza a desempeñar alguna función en la membrana citoplasmática, ya sea en la transmisión de alguna señal al núcleo o en la posibilidad de reconocimiento de otros antígenos externos.

Cada día son más los reportes en la literatura mundial acerca de los fenómenos de transmodulación intermembrana de determinados antígenos asociados a la malignización. Un ejemplo clásico es la relación de *cross talk* entre el TGF alfa (del inglés transforming growth factor) el receptor de la fibronectina y el antígeno carcinoembrionario. (Chakrabarty, S., 1997). La estimulación del r-TGF alfa provoca estimulación de la actividad fosfotransferasa que induce la expresión de fibronectina (FN) y esta a su vez la expresión del receptor de la fibronectina (r-FN), señal que a su vez induce la expresión del CEA (Tang, D.G., 1997)., que como molécula de adhesión favorece el proceso de malignización Chakrabarty, 1888, 1989, 1997).

Por esta vía se tendría dos posibles explicaciones para el fenómeno de sobre expresión del CEA en los pacientes tratados previamente con el AcM ior c5:

1. ¿Será que el AcM ior c5 reconoce de forma inespecífica el receptor del TGF alfa y este estimula la expresión de moléculas de adhesión como la fibronectina y esta a su vez estimula la sobre expresión del CEA en la superficie de la membrana citoplasmática de la célula tumoral?,
2. ¿El antígeno ior c2 tiene regiones complementarias u homólogas con el receptor del TGF alfa que sean reconocidas por el AcM ior c5 y estimule la cascada de señales que favorezcan la sobre expresión del CEA por transmodulación?
3. ¿Será que el ior c2 es un antígeno similar al r-FN (o tiene algún epítipo común con este) y al ser reconocido por el AcM ior c5 induzca la sobre expresión del CEA?

Sin embargo, ¿Por qué la sensibilidad diagnóstica del ior c5, que quedó demostrada en el primer ensayo clínico de 59 pacientes y en el grupo A del estudio con 43 pacientes de ser superior al 90%, disminuye a valores cercanos al 80% (82,75%) cuando se administra como segundo anticuerpo?

Esta podría ser una de las causas de algunas lesiones que pudieron ser observadas con el AcM ior cea1 y que no se pudieran ver con el ior c5, quizás la afinidad y densidad de receptores CEA en estos tumores sea mucho mayor que la del ior c2 y ocurran los fenómenos anteriormente explicados.

Sería muy interesante en futuros trabajos conocer el papel biológico que juega el antígeno tumor asociado ior c2 en la célula normal y tumoral.

### CONCLUSIONES

Los anticuerpos monoclonales ior c5, ior egf/r3 y hR3 son capaces de reconocer *in vivo* los tumores de origen epitelial con una sensibilidad del 93,75%, 84,1% y 83,3% respectivamente y una especificidad del 100% mediante la técnica diagnóstica de inmunogammagrafía, que son seguros y específicos.

No apareció respuesta HAMA significativa que impida el tratamiento con estos AcM, sólo se observó respuesta HAMA de corta duración en el 20% de los pacientes evaluados luego de ser tratados con el AcM murino ior egf/r3 (6/30), sólo en una la respuesta tuvo una más de ocho semanas.

Se comprobó *in vivo* la sobre expresión del receptor para el factor de crecimiento epidérmico en metástasis de los tumores estudiados lo cual reafirma que es un marcador de mal pronóstico. La existencia de una diferencia significativa en cuanto a expresión del receptor del factor de crecimiento epidérmico entre las variedades histológicas Adenocarcinomas y Carcinomas Epidermoides fue demostrada, y es superior la expresión en los carcinomas con respecto a los adenocarcinomas en dependencia de la sensibilidad diagnóstica por InGG con los AcM anti receptor del EGF.

Se comprobó *in vivo* la diferencia diagnóstica entre los AcM ior c5 e ior cea 1 en tumores colorrectales cuando son administrados en un mismo paciente con una semana de diferencia. Cuando el ior cea 1 es administrado como segundo AcM su sensibilidad diagnóstica se ve incrementada cuando es administrado como primer AcM, lo que podría estar asociado a un proceso de transmodulación entre este antígeno y el ior c2 presente también en los tumores colorrectales.

Por último, se pudo constatar que la InGG resulta una técnica efectiva para demostrar como prueba de concepto que un AcM puede o no ser utilizado

con fines terapéuticos, una vez que estos reconozcan *in vivo* el antígeno tumor asociado contra el cual están dirigidos.

**BIBLIOGRAFÍA CONSULTADA**

- [1] BRADY, L.K., MIYAMOTO, C., WOO, D.V., RACKOVER, M.A., EMRICH, J., BENDER, H., DADPARVAR, S., Malignant astrocitomas treated with iodine 125 labeled MAB 425 against EGF R. A phase II clinical trial. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 22 (1991)225-230.
- [2] BRITTON, K.E., GRANOWSKA, M., Immunoscintigraphy : Importance for researchers and patients. *Acta-Oncol.* 35 (3) (1996)313-317.
- [3] CHAKRABARTY, S., HUANG, S., Expression of antisense epidermal growth factor RNA downmodulated the malignant behavior of human colon cancer cells. *Clin. Exp. Metastasis* 13 (1995)191-195.
- [4] CHAKRABARTY, S., JAN, Y., BRATTAIN, M.G., TOBON, A., VARANI, J., Diverse cellular responses by transforming growth factor Beta, *Cancer Res.* 49 (1989)2112-2117.
- [5] CHAKRABARTY, S., REYNOLDS, S., WANG, J.M., RAJAGOPAL, S., Action of polypeptide growth factors in colon cancer, development of new therapeutic approaches, *Frontiers in Bioscience* 2, Sept 15. (1997)460-470.
- [6] CHAKRABARTY, S., TABON, A., V, ARANI, M.G., Induction of carcinoembryonic antigen secretion and modulation of protein secretion/expression and fibronectin/laminin expression in human colon carcinoma cells by transforming growth factor beta, *Cancer Res.* 48 (1988)4059-4064.
- [7] CHARBONNEAU, J., STANNERS, C.P., Role of Carbohydrate Structures in CEA-mediated intercellular adhesion. *Cell Adhes Commun.* 7 (3) (1999)233-44.
- [8] CROMBET, T., TORRES, O., NENINGER, E., CATALA, M., RODRÍGUEZ, N., RAMOS-SUZARTE, M., FERNÁNDEZ, E., IZNAGA, N., PÉREZ, R., LAGE, A., Phase I Clinical Trial Evaluation of a Neutralizing Monoclonal Antibody against EGF R., *Cancer Therapy and Radiopharmaceuticals.* 16 (1) 2001.
- [9] CROMBET, T., TORRES, O., RODRÍGUEZ, A., MENÉNDEZ, A., STEVENSON, A, RAMOS-SUZARTE, M., TORRES, F., FIGUEREDO, R., VEITIA, I., IZNAGA, N., PEREZ, R., LAGE, A., Phase I Clinical Evaluation of a Neutralizing Monoclonal Antibody against EGF. R in advanced brain tumors patients: Preliminary Study. *Short Communication, Hybridoma,* 20 (2) (2001)131-136.
- [10] FAILLOT, T., MAGDELENAT, H., MADY, E., STASIECKI, P., FOHANNO, D., Phase I study of an anti epidermal growth factor receptor antibody for the treatment of malignant gliomas. *Neurosurgery,* 39 (1996)478-483.
- [11] FENGER, C., Histology of the anal canal. *Am. J. Surg Pathol.* 12(1) (1988)41-55.
- [12] FERNÁNDEZ, A., SPITZER, E., PÉREZ, R., BOEHMER, F.D., ECKERT, K., GROSSE, R., A new monoclonal antibody for detection of egf receptor in western blots and paraffin embedded tissue sections. *J. Cell. Biochem.* 49 (1992)157-165.
- [13] FERNÁNDEZ, A., PÉREZ, R., MACÍAS, A., VELANDIA, A., ALVAREZ, I., RAMOS, M., VELOSO, A., Generación y caracterización de anticuerpos monoclonales contra el receptor del factor de crecimiento epidérmico. *Interferón y Biotecnología,* 6 (1989)289-298.
- [14] FONTANINI, G., VIGNATI, S., BIGINI, I.D., Epidermal growth factor receptor expression in non small cell lung carcinomas correlates with metastatic involvement of hilar and mediastinal lymph nodes in the squamous subtype. *Eur. J. Cancer,* 31 (A) (1995)178-183.
- [15] GAVILONDO, J., Anticuerpos Monoclonales contra el antígeno carcinoembrionario en ensayos inmunohistoquímicos e inmuoquímicos. *Interferón y Biotecnología,* Vol 4(1987)1.
- [16] GOLDENBERG, D.M., KIM, E.E., BENNETT, S., NELSON, M.O., DELAND, F.H. CEA radioimmunodetection in the evaluation of colorectal cancer and in the detection of occult neoplasm. *Gastroenterology,* 84 (1983)524-532.
- [17] HAKOMORI, S., Aberrant Glycosilation in cancer cell membranes as focused of glycolipids: Overview and perspectives. *Cancer Res.* 45 (1985)2405-14.
- [18] HOLMER, A.F., Survey. New Medicines in development for the WAR on Cancer. Presebted by American's Pharmaceutical companies, Survey, (1999)1-26.
- [19] MACÍAS, A., PÉREZ, R., HAGESTROM, T., SKOOG, L. Transforming growth factor Alpha in human mammary carcinomas and their metastases, *Anticancer Res.,* 9 (1991)177-180.
- [20] MATEO, C., MORENO, E., AMOUR, K., LOMBARDEO, J., HARRIS, W., PÉREZ, R. Humanization of a mouse monoclonal antibody that blocks the epidermal growth factor receptor: Recovery of antagonistic activity, *Immunotechnology,* 3 (1997)71-81.
- [21] MCKENSIE, I.F.C., Mucins in breast cancer: Recently immunological advances. *Cancer Cell.,* 2 (1990)75-78.
- [22] MODJTAHEDI, H., DEAN, C.J., The receptor of EGF and its ligands: Expression prognostic value and target for therapy to cancer. *Int. J. Oncol.,* 4 (1994)277-296.
- [23] MODJTAHEDI, H., DEAN, C., y otros, A phase I trial and tumor localization of anti-EGFR antibody ICR62 in head and neck or lung cancer, *Brit. J. Cancer,* 73 (1996)228-235.
- [24] MODJTAHEDI, H., KOMURASAKI, T., TOYODA, H., DEAN, C., Anti-EGFR monoclonal antibodies which act as EGF, TGF $\alpha$ , HB-EGF and BTC antagonist block the binding of epiregulin to EGFR expressing tumors. *Int. J. Cancer,* 75 (1998)310-316.
- [25] MORALES, A., DUCONGE, J., ÁLVAREZ, D., BÉCQUER, M.A., NÚÑEZ, G., FERNÁNDEZ, E., CABALLERO, I., IZNAGA, N., Humanized vs. murine anti human epidermal growth factor receptors mAbs for immunoscintigraphy studies. *Nuc Med and Biology,* 27(2) (2000)199-206.
- [26] MORALES, A., ZAYAS, F., NÚÑEZ, G., ESCOBAR, N., PÉREZ, N., IZQUIERDO, J.C., Technetium-<sup>99m</sup> direct radiolabeling of monoclonal antibody ior egf/r3. *Nuc. Med. Biol.* 25 (1998)25-30.
- [27] MORRISON, R.T., LYSTER, D.M., ALCORN, L., y otros, Radioimmunomaging with <sup>99m</sup>Tc monoclonal antibodies: clinical studies. *Int. J. Nucl. Med. Biol.,* 11 (1984)184-188.
- [28] OLIVA, J., R. PERALTA, J., CHOY, ROVNIJ, N., PIMENTEL, G., CASSOLA, J., VALDEZ, H., DURÁN, R., IGLESIAS, J., ior cea 1 Un nuevo AcM anti-cea Tc-<sup>99m</sup> para la inmunogammagrafía de los tumores colorrectales. Resultados preliminares, *Rev. Española de Med. Nuc.,* 13 (1) (1994)32-37.
- [29] OLIVA, J., PERALTA, R., COI, J., PIMENTEL, G., MARRERO, I., TORRES, O., RAMOS, M., Inmunoscintigrafía del tumor con el AcM ior cea 1 marcado con <sup>99m</sup>Tc. *Rev. Esp. Med Nucl.,* octubre 1993, No. 125, octubre 1993, 36. XIII Congreso de la AIASBINM.
- [30] OLIVA, J., PIMENTEL, G., CASCANTE, L., PERALTA, R., BORRÓN, M., ORTIZ, R., GUERRA, M., CASOLA, J., GARCÍA, C., CARRAZANA, M., ior CEA 1 : Un nuevo AcM Hanoi cea marcado con <sup>99m</sup>Tc para la inmunogammagrafía de tumores colorrectales. Resultados finales de un ensayo clínico Fase II. *Rev. Esp. Med. Nucl.,* 14. 4 (1995)213-221.
- [31] OLIVA, J., PIMENTEL, G., CASCANTE, L., PERALTA, R., BORRÓN, M., ORTIZ, R., GUERRA, M., CASOLA, J., CARCIA, C., CARRAZANA, M., BAUM, R., Radioimmunoscintigrafía of colorectal tumors with the

- Cuban Monoclonal Antibody ior cea 1. Eur. J. Nuc. Medicine, 25/8 PS-141(1998)1019.
- [32] OLIVA, J., PIMENTEL, G., PERALTA, R., BORRON, M., ORTIZ, R., GUTIÉRREZ, J., BAUM, R.,  
Radioimmunosintigraphy of colorectal caner using the anti CEA monoclonal antibody BW 431/26. Final Results, Rev. Esp. Med. Nuc. 18(1) (1999)5-15.
- [33] STOCHI, L., NELSON, H., Diagnostic and therapeutic application of Mab in colorectal cancer. Dis Colon Rectum. 45 (1998)232-250.
- [34] TANG, D.G., TARRIEN, M., DOBRZYNSKI, P. HONN, K.V., Melanoma cell spreading on fibronecting induced by 12(s)-HETE involves both protein kinase C-and prtein tyrosine depended focal adhesion formation and tyrosine phosphorilation of focal adhesion kinase. J Cell Physiol. 165 (1995)291-306.
- [35] VÁZQUEZ, A.M., TORMO, B., ALFONSO, M., VELANDIA, A., y otros, Characterization of Monoclonal Antibodies against colorectal cancer. Biotecnología Aplicada, Vol. 10. No. 2 (1993)39.
- [36] VÁZQUEZ, A.M., TORMO, A., VELANDIA, A., y otros, Characterization of ior c5 colorectal tumor associated antigen. Journal of tumor Marker Oncology,. Vol.9, No.2, Summer 1994.
- [37] VÁZQUEZ, A.M., TORMO, B., VELANDIA, A., y otros Characterization of the Colorectal Antigen IOR-C2. Hybridoma, Vol. 11 (2) (1992)245.
- [38] VÁZQUEZ, A.M., TORMO, B., VELANDIA, A., y otros, Characterization of the colorectal Antigen ior-C2. II, The Year in Immunology, Vol.7 (1993)137-145.

# MARCAJE DEL ANTICUERPO MONOCLONAL HUMANIZADO H-R3 CON $^{188}\text{RE}$

Alejandro Perera<sup>1</sup>, René Leyva<sup>2</sup>, Regla Gamboa<sup>2</sup>, Leydis Alberdi<sup>2</sup>, Abmel Xiques Castillo<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Centro de Investigaciones Clínicas, <sup>2</sup> Centro de Isótopos, Ciudad de La Habana, Cuba

## Resumen

El anticuerpo monoclonal humanizado h-R3 ha mostrado elevada afinidad por el receptor del factor de crecimiento epidérmico lo que inhibe el crecimiento del tumor, y supone que sea un buen candidato para la radioinmunoterapia de estos tumores malignos. El objetivo del presente trabajo fue marcar el anticuerpo h-R3 con  $^{188}\text{Re}$  y valorar su estabilidad *in vitro* e *in vivo*.

## LABELING OF HUMANIZED MONOCLONAL H-R3 ANTIBODY WITH $^{188}\text{RE}$

### Abstract

The humanized monoclonal H-R3 antibody has shown high affinity on the part of the epidermal growth factor recipient, which inhibits the tumor growth, and is supposed to be a good alternative for the radioimmunotherapy of these malignant tumors. The objective of the present work was to label the H-R3 antibody with  $^{188}\text{Re}$  and to assess its *in vitro* and *in vivo* stability.

*Palabras clave: monoclonal antibodies; nuclear medicine; rhenium 188; isotope applications; stabilization; neoplasms; radiotherapy; labelling; in alive; in vitro*

## INTRODUCCIÓN

En los últimos años se ha evaluado la utilidad de la radioinmunoterapia como alternativa viable en el tratamiento de tumores malignos. Con este objetivo se han empleado diferentes radisótopos, entre los que se encuentran el  $^{131}\text{I}$ ,  $^{90}\text{Y}$ ,  $^{186}\text{Re}$ ,  $^{212}\text{Bi}$ ,  $^{211}\text{At}$  y otros [1-3].

El desarrollo de los generadores de  $^{188}\text{W}/^{188}\text{Re}$  ha permitido contar con un emisor  $\beta$  ( $E\beta = 2,12 \text{ MeV}$ ) atractivo, que ofrece ventajas como precio asequible, emisión de radiación  $\gamma$  con energía adecuada para visualizar imágenes en cámara gamma ( $E\gamma = 155 \text{ keV}$ , 15% abundancia), un período de semidesintegración adecuado  $T_{1/2} = 16,9 \text{ h}$  y procedimientos sencillos de marcaje, similares a los utilizados para el  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  [4-7].

Se ha reportado que los tumores de origen epitelial representan más del 80% de todas las neoplasias y muestran una expresión en membrana del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFr) muy superior al tejido sano adyacente [8-10]. Este hecho se ha relacionado con la malignidad y un peor pronóstico de la enfermedad [11-14]. Se piensa que esta sobreexpresión del receptor permita la estimulación autocrina del tumor por el EGF y el TGF $\alpha$  [15]. El anticuerpo monoclonal (AcM) humanizado h-R3 reconoce con elevada afinidad el EGFr ( $10^{-9}\text{M}$ ) y una vez unido al complejo membrana receptor se internaliza y provoca una

disminución de la cantidad de EGFr sin estimulación de la actividad de la tirosina kinasa [16-18].

Su baja toxicidad (IgG humana), su capacidad de inhibir el crecimiento tumoral, así como su afinidad por el EGFr, que se encuentra aumentado en 30-40 veces en la mayor parte de las neoplasias, ha hecho pensar que el AcM h-R3 marcado con  $^{188}\text{Re}$  podría ser un buen candidato para la radioinmunoterapia de tumores de origen epitelial.

El objetivo del presente trabajo fue marcar el anticuerpo h-R3 con  $^{188}\text{Re}$  y valorar su estabilidad *in vitro* e *in vivo*.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Anticuerpo Monoclonal

El anticuerpo monoclonal humanizado h-R3 es una IgG1 que reconoce con elevada afinidad el receptor del factor de crecimiento epidérmico, y fue suministrado por el Centro de Inmunología Molecular a una concentración de 5 mg/mL en buffer fosfato salino a pH neutro.

### Determinación de las condiciones de marcaje del h-R3 con $^{188}\text{Re}$

El marcaje del anticuerpo se realizó de forma directa, por analogía con el método de Schwarz [4, 19].

Se le adicionó 2-mercaptoetanol (2-ME) al AcM a una relación molar h-R3:2-ME de 1:2000 y se incubó a temperatura ambiente durante 30 minutos. Posteriormente, se purificó a través de una columna de filtración en gel PD-10 (Pharmacia, Suecia), eluyendo con buffer fosfato salino (PBS) 0,1M pH=8,2. Alícuotas de 0,5 mg de h-R3 se dispensaron en frascos al vacío y se congelaron a -20°C.

Se preparó una solución que contenía 162,3 mg/mL de glucoheptonato de sodio (Sigma, EE.UU.), 13,3 mg/mL de ácido ascórbico (Merck, Inglaterra) y 1,8 mg/mL de fluoruro de estaño (II) (Sigma, EE.UU.) en solución salina, previamente gaseada con nitrógeno. A esta solución se adicionaron volúmenes variables (de 50 a 600 µL) a 0,5 mg de h-R3, que se marcaron con 185-222 MBq (5-6 mCi) de <sup>188</sup>Re. El tiempo de incubación a temperatura ambiente fue de tres horas.

### Marcaje del h-R3 con <sup>99m</sup>Tc

El procedimiento se llevó a cabo por el método de Schwarz, y se redujeron los grupos sulfhidrilos del anticuerpo con 2-ME [19], como se describió anteriormente. Se fraccionaron en viales al vacío alícuotas de 1 mg y se congelaron a -20°C.

Para el marcaje se disolvió un kit frío liofilizado de pirofosfato (CENTIS) con 5 mL de solución salina fisiológica gaseada con nitrógeno y se le adicionó 50µL a 1mg de anticuerpo, que se marcó con 740-925 MBq (20-25 mCi) de <sup>99m</sup>Tc. Se incubó todo durante 10 minutos a temperatura ambiente.

### Control de Calidad

La determinación del porcentaje de renio (o tecnecio) libre y de transquelatante débil marcado (glucoheptonato o pirofosfato, según el caso), se efectuó mediante cromatografía de papel ascendente, y se empleó como fase estacionaria tiras de 2x12 cm de papel Whatman 3MM y como fases móviles acetona y solución salina fisiológica, respectivamente. La presencia de radiocoloides se evaluó mediante cromatografía instantánea de capa delgada en sílica gel (ITLC-SG), y se utilizó tiras de 2x12 cm impregnadas con albúmina humana 20% y como fase móvil una solución de etanol: amoníaco: agua (2:1:5 v/v) en la que el coloide se mantiene en el punto de aplicación (Rf=0), mientras el resto de las especies migra. Se realizaron tres réplicas en cada caso.

La pureza radioquímica del radiofármaco se calculó restándole a 100% el porcentaje de cada una de las impurezas.

### Retos contra L-cisteína

Para valorar la estabilidad del <sup>188</sup>Re-h-R3 se realizaron retos contra un exceso molar (1:300) de L-cisteína. Paralelamente, se realizó un experimento comparativo con el anticuerpo

marcado con <sup>99m</sup>Tc. Se incubó todo a temperatura ambiente y se tomaron muestras a cero, dos y 24 horas. Los controles se realizaron por cromatografía de papel ascendente, con tiras de papel Whatman 3MM de 2x12cm, y se empleó solución salina fisiológica como fase móvil.

### Biodistribución en ratas sanas

Se incluyeron en el estudio 12 ratas Wistar machos sanas con un peso de 190-210 g, las cuales se dividieron en dos grupos. A seis de las ratas se les administró a través de una vena lateral de la cola 24,3±1,0 MBq de <sup>188</sup>Re-h-R3 y a los otros seis animales por la misma vía se les inyectó 25,0±1,6 MBq de <sup>99m</sup>Tc-h-R3. De cada grupo se sacrificaron tres ratas a las tres horas y el resto a las 24 horas post-inyección. Se determinó el porcentaje de la dosis administrada en: hígado, bazo, estómago, corazón, intestino grueso, intestino delgado, sangre y orina. En cada caso se preparó un patrón en 100 mL con una actividad del radiofármaco similar a la inyectada a las ratas. Las velocidades de conteos se midieron en un contador automático (Wallac-LKB, Suecia). Los valores medios del porcentaje de dosis por órganos en el tiempo se compararon mediante un test de t-Student.

### RESULTADOS

Determinación de las condiciones de marcaje del h-R3 con <sup>188</sup>Re

En la medida que aumentó la cantidad de solución de glucoheptonato, mejoró la eficiencia de marcaje del anticuerpo con <sup>188</sup>Re. En la figura 1 se muestran estos resultados.

A partir de los resultados obtenidos se decidió, manteniendo las mismas proporciones, incrementar ligeramente, las cantidades de glucoheptonato de sodio y ácido ascórbico en la formulación, sin variar la de fluoruro de estaño (II), con el fin de contar con la suficiente cantidad de transquelatante como para mantener estabilizado al renio en el grado de oxidación adecuado para marcar al anticuerpo durante el largo período de incubación que se requería. De esta forma se mejoró la eficiencia de marcaje de 94,2±1,0% a 98,0±0,4%.

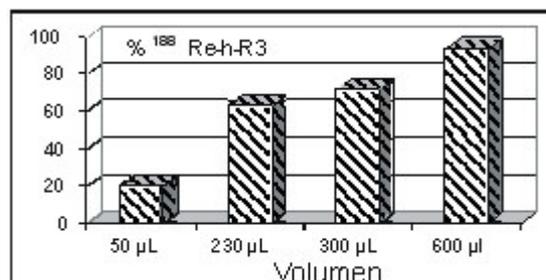


Figura 1. Marcaje del h-R3 con <sup>188</sup>Re.

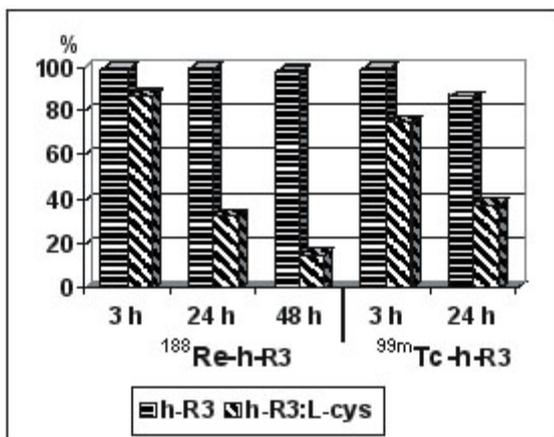


Figura 2. Estabilidad del h-R3 marcado con <sup>188</sup>Re y <sup>99m</sup>Tc en buffer fosfato y en presencia de un exceso molar de L-cisteína (1:300).

### Retos contra L-cisteína

En la figura 2 se aprecia la estabilidad del anticuerpo marcado con <sup>99m</sup>Tc y <sup>188</sup>Re en presencia de L-cisteína a una relación molar h-R3:L-cys de 1:300.

### Biodistribución en ratas sanas

Las figuras 3 y 4 muestran la biodistribución del <sup>188</sup>Re-h-R3 y del <sup>99m</sup>Tc-h-R3 en ratas Wistar macho, respectivamente.

A las tres horas, se detectó un aumento significativo de la captación en riñones y la eliminación por orina de <sup>99m</sup>Tc-h-R3, con relación al anticuerpo marcado con <sup>188</sup>Re ( $p < 0,001$ ). Ya a las 24 horas se detectó un mayor porcentaje de la dosis inyectada en hígado, bazo, riñones, sangre e intestino grueso en los animales inyectados con <sup>99m</sup>Tc-h-R3 ( $p = 0,01$ ), mientras la actividad excretada por la orina se mostró semejante ( $p = 0,28$ ).

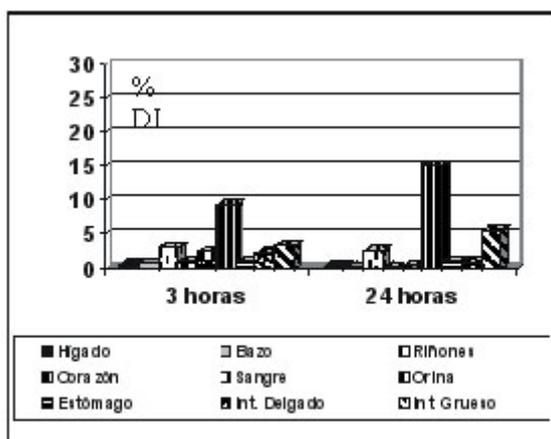


Figura 3. Biodistribución normal del <sup>188</sup>Re-h-R3 en ratas Wistar macho sanas.

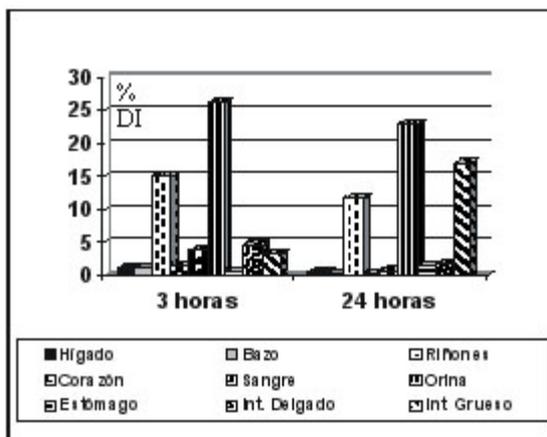


Figura 4. Biodistribución normal del <sup>99m</sup>Tc-h-R3 en ratas Wistar macho sanas.

### DISCUSIÓN

Por sus bondades y su disponibilidad, el <sup>188</sup>Re se ha convertido en un radionucleido prometedor para la radioterapia de lesiones malignas [4-7]. La ubicación del renio en el grupo VIIB de la tabla periódica, ha permitido a los investigadores seguir estrategias de marcaje de los anticuerpos con isótopos radiactivos de este metal, similares a las empleadas con el tecnecio [4, 7]. No obstante, desde el punto de vista termodinámico, los complejos de renio con grados de oxidación +7 son más estables que sus análogos de tecnecio y una vez reducido, muestra una marcada tendencia a su reoxidación. Por ello diferentes autores han planteado la necesidad de emplear cantidades muy superiores de Sn<sup>+2</sup> (agente reductor) en los marcajes con <sup>188</sup>Re, respecto a las empleadas habitualmente para reducir al <sup>99m</sup>Tc [7, 20]. Estas recomendaciones se tuvieron en cuenta en el presente trabajo. Durante la formulación se pudo detectar, además, que la cantidad de glucoheptonato incidía en la eficiencia del marcaje, posiblemente porque permiten estabilizar el renio reducido durante el tiempo requerido para que los grupos tiolos de la inmunoglobulina quelataran fuertemente al metal. El ácido ascórbico se empleó como protector de la proteína contra la radiólisis producida por la emisión β<sup>-</sup> del <sup>188</sup>Re. Resultados de marcaje similares han sido reportados por otros autores [4].

Mardirossian G. y cols. (21) plantearon que la principal causa de inestabilidad de las proteínas marcadas con <sup>99m</sup>Tc era la transquelación del metal a la cisteína presente en sangre y tejidos. Por esta razón, se propuso realizar retos contra excesos molares de este aminoácido para valorar la estabilidad de las moléculas marcadas con tecnecio [21-24]. Por su analogía química, esta prueba se ha aplicado también a los anticuerpos marcados con radisótopos de renio para valorar su estabilidad [4,7]. En la figura 2 se aprecia que

a las tres horas existe una mayor actividad de  $^{188}\text{Re}$  enlazada a la inmunoglobulina ( $87,4 \pm 0,6\%$ ), respecto a esta molécula marcada con  $^{99m}\text{Tc}$  ( $75,4 \pm 1,4\%$ ), estadísticamente significativa (test t-Student,  $p=0,009$ ). Sin embargo, no se detectaron diferencias significativas en cuanto a la estabilidad en buffer fosfato ( $p=0,106$ ). Después de 24 horas de incubación en exceso molar de cisteína, la actividad unida a la proteína resultó ser similar para ambos radisótopos ( $p=0,083$ ).

Para el caso del marcaje directo de anticuerpos con  $^{99m}\text{Tc}$ , Hnatowich, D.J. y cols. [22] reportaron que a las tres horas más del 40% de la actividad transquela a cisteína y se emplea un exceso molar de 1:300, al igual que el usado en el trabajo. Salteri, M.A. y Mather, S.J. [25] reportaron valores aproximados del 10% y 50% de disociación a las tres y 24 horas de incubación con exceso molar de L-cisteína de 1:333 del AcM PR1A3 marcado de forma directa con  $^{99m}\text{Tc}$  por dos vías diferentes. Los resultados de este trabajo, son significativamente superiores a los obtenidos por Hnatowich, D.J. y cols. [22], sin embargo, la traslocación de la actividad hacia el aminoácido fue algo superior a lo reportado por Salteri M.A. y Mather S.J. [25] para ambos radisótopos estudiados. Griffiths G.L. y cols. [4] estudiaron la estabilidad de diferentes anticuerpos monoclonales marcados con  $^{188}\text{Re}$ . Para el caso del  $^{188}\text{Re}$ -h-R3 estos valores se encontraban dentro de los niveles por ellos reportados hasta las 48 horas (figura 2).

Los estudios de biodistribución demuestran, no sólo la biodisponibilidad de un fármaco, sino la estabilidad *in vivo* del compuesto marcado. Los elevados valores de actividad detectados en riñones y orina, sugieren que esta es una de las vías fundamentales de excreción del anticuerpo marcado tanto con  $^{188}\text{Re}$  como con  $^{99m}\text{Tc}$ . Por otra parte, se ha planteado que ambos radisótopos pueden transquelar a la cisteína y el glutatión presentes en la sangre, que son eliminados del organismo mediante filtración glomerular [21-24]. No se detectaron diferencias significativas en la excreción de ambos compuestos a través de la orina hasta 24 horas post-administración en ratas ( $p=0,282$ ). El hígado representa uno de los órganos en donde se lleva a cabo la degradación de los anticuerpos, de manera que, la actividad con que estos están marcados, se podría pasar a excretar a través del intestino, y aumentar el porcentaje de la dosis inyectada en esta parte del tracto digestivo, fundamentalmente a las 24 horas debido a la acumulación de las heces en el intestino grueso. La actividad en sangre disminuyó hasta menos del 1% de la dosis a las 24 horas, lo cual favorece el empleo del anticuerpo para radioinmunoterapia, porque permitiría reducir la dosis recibida por los órganos sanos. No se detectaron actividades significativas ( $>1\%$ ) en hígado, bazo, donde se acumularía el radiocoloide, y estómago, cuya mucosa secretaría el tecnecio libre, lo que se corresponde con los

resultados de pureza radioquímica de los radiofármacos ( $>97\%$ ) y los resultados de la estabilidad de los anticuerpos marcados.

## CONCLUSIONES

La metodología propuesta permitió un marcaje estable del h-R3 con  $^{188}\text{Re}$ .

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] VOLKERT, W.A., GOECKELER, W.F., EHRHARDT, G.J., KETRING, A.R., Therapeutic radionuclides: Production and decay property considerations. J. Nucl. Med. 32 (1991)174-85.
- [2] BOMBARDIERI, E., RIV, A.P., CHITI, A., MASSARON, S., CRIPPA, F., Anticorpi radiomarcati nella terapia dei tumori: Promesse mantenute e prospettive, Argomenti Oncol 17 (1996)105-24.
- [3] BRITON, K.E., GRANOWSKA, M., Cancer find and treat the individual: The nuclear medicine approach, World J. Nucl. Med. 1(2002)75-9.
- [4] GRIFFITHS, G.L., GOLDENBERG, D.M., KNAPP, F.F., JR, CALLAHAN, A.P., CHANG, C.H., HANSEN, H.J., Direct radiolabeling of monoclonal antibodies with generator-produced rhenium-188 for radioimmunotherapy: Labeling and animal biodistribution studies, Cancer Res. 51(1991)4594-602.
- [5] KNAPP, F.F. JR, BEETS, A.L., GULHKE, S., ZAMORA, P.O., BENDER, H., PALMEDO, H., y otros Availability of rhenium188 from alumina-based tungsten-188/ rhenium188 generator for preparation of rhenium188-labeled radiopharmaceuticals for cancer treatment. Anticancer Res 17(1997)1783-96.
- [6] DUATTI, A., Advances in the chemistry of technetium and rhenium from ligands and cores to biocomplexes, In NICOLINI, M., MAZZIM U., (Eds) Technetium, rhenium and other metals in chemistry and nuclear medicine. SGE Editoriali, Italy (1999)3-17.
- [7] IZNAGA-ESCOBAR, N., Direct radiolabeling of monoclonal antibodies with rhenium-188 for radioimmunotherapy of solid tumors -A review of radiolabeling characteristics, quality control and in vitro stability studies, Appl. Radiat. Isot. 54 (2001)399-406.
- [8] MACÍAS, A., DE LOS RÍOS, M., PÉREZ, R., SKOOG, L., LÁGE, A., Expresión del receptor del factor de crecimiento epidérmico (R-EGF) en el cáncer mamario humano, Interferón y Biotecnología 6 (1989)143-53.
- [9] GULLICK, W.J., Prevalence of aberrant expression of the epidermal growth factor receptor in human cancer, Br. Med. Bull. 47(1991)87-98.
- [10] MODJTAHEDI, H., ECCLES, S., SANDLE, J., BOX, G., TITLEY, J., and CHRISTOPHER D., Differentiation or immune destruction. Two pathways for therapy of squamous cell carcinomas with antibodies to the epidermal growth factor receptor, Cancer Res, 54(1994)1695-701.
- [11] FOX, S.B., SMITH, K., HOLLYER, J., GREENALL, M., HASTRICH, D., y otros The epidermal growth factor receptor as a prognostic marker: Results of 370 patients and review of 3009 patients, Breast Cancer Res. Treat. 29 (1994)46-9.
- [12] RADINSKY, R., RISIN, S., FAN, D., DONG, Z., BIELENBERG, D., y otros, Level and function of epidermal growth factor receptor predict the metastatic potential of human colon carcinoma cells, Clin Cancer Res. 1(1995)19-31.
- [13] FONTANINI, G., VIGNATI, S., BIGINI, D., MUSSI, A., LUCCHI, H., y otros, Epidermal growth factor receptor (HEGF-R) expression in non-small cell lung carcinomas correlates with metastatic involvement of hilar and

- mediastinal lymph nodes in the squamous subtype, *Eur. J. Cancer* 31A (1995)178-83.
- [14] CIARDIELLO, F., TORTORA, G., BIANCO, C., BALDASSARRE, G., DAMIANO, V. y otros, Epidermal growth factor-related growth factors in human colorectal cancer, *Forum Trends Exp. Clin. Med.* 5 (1995)281-91.
- [15] ZALUTSKY, M.R., Growth Factor Receptors as molecular targets for cancer diagnosis and therapy. *Q. J. Nucl. Med.* 41(1997)71-7.
- [16] MATEO, C., MORENO, E., AMOUR, K., LOMBARDEO, J., HARRIS, W., PÉREZ, R., Humanization of a mouse monoclonal antibody that blocks the epidermal growth factor receptor: Recovery of antagonistic activity. *Immunotechn* 3 (1997)71-81.
- [17] FERNÁNDEZ, A., PÉREZ, R., MACÍAS, A., VALENDIA, A., ÁLVAREZ, I., RAMOS, M. y cols., Generación y caracterización primaria de anticuerpos monoclonales contra el receptor del factor de crecimiento epidérmico. *Interferón y Biotecnología*, 6 (1989)289-98.
- [18] FERNANDEZ, A., SPITZER, E., PÉREZ, R., BOEHMER, F.D., ECKERT, K., ZSCHIESCHE, W., GROSSE, R., A new monoclonal antibody for detection of HEGF-Receptors in Western Blots and paraffin-embedded tissue sections. *J. Cell. Biochem.* 49 (1992)157-65.
- [19] SCHWARZ, A., STEINSTRABER, A., A novel approach to Tc-99m-labeled monoclonal antibodies. *J. Nucl. Med.* 28 (1987)721.
- [20] DADACHOVA, E., MIRZADEH, S., The role of tin in the direct labeling with rhenium-188. *Nucl. Med. Biol.* 24 (1997)605-8.
- [21] MARDIROSIAN, G., WU, C., RUCKOWSKI, M., HNATOWICH, D.J., The stability of <sup>99m</sup>Tc directly labelled to a Fab' antibody via stannous ion and mercaptoethanol reduction, *Nucl. Med. Comm.* 13 (1992)503-12.
- [22] HNATOWICH, D.J., MADIROSSIAN, G., RUSCKOWSKI, M., FORGARASI, M., VIRZI, F., WINNARD, F., Jr. Directly and indirectly technetium-99m-labeled antibodies – A comparison of in vitro and animal in vivo properties, *J. Nucl. Med.* 34(1993)109-19.
- [23] HNATOWICH, D.J., VIRZI, F., FORGARASI, M., y otros, Can cysteine challenge assay predict the in vivo behavior of <sup>99m</sup>Tc-labeled antibodies?, *Nucl. Med. Biol.* 21(1994)1035-44.
- [24] HNATOWICH, D.J., Is technetium-99m the radioisotope of choice for radioimmunoscintigraphy? *J. Nucl. Biol. Med.* 38 (suppl 1) (1994)22-32.
- [25] SALTERI, M.A., MATHER, S.J., Technetium-99m labelling of the anti-tumor antibody PR 1A3 by photoactivation, *Eur. J. Nuc. Med.* 23 (1996)178-87.

# SINOVIORTESIS CON FOSFATO CRÓMICO, SIN RESTRICCIÓN DE EDAD, COMO PRIMERA OPCIÓN DE TRATAMIENTO PARA LA SINOVITIS CRÓNICA ACTIVA DEL PACIENTE HEMOFÍLICO

Adolfo Llinás, Mauricio Silva, Mónica Duarte, Pilar Cuervo, Dora Niño, Gonzalo Ucros, Ángela María Cerquera, Patricia Bernal

Grupo para el Tratamiento de la Hemofilia y Sección de Medicina Nuclear, Fundación Santa Fé de Bogotá, Colombia

## Resumen

El objetivo del trabajo fue demostrar que los resultados clínicos obtenidos con sinovectomías con fosfato crómico activo sin profilaxis con concentrado de factor antes o después del procedimiento son comparables con aquellos obtenidos en tres meses de profilaxis antes del procedimiento, sucedido de un mes de profilaxis post-procedimiento.

También se evaluó la eficacia de la sinovectomía con fosfato crómico P-32 en el control de la hemartrosis crónica en los pacientes hemofílicos para prevenir la evolución de la artropatía y sus complicaciones.

## CHROMIC PHOSPHATE SYNOVIORTHESIS WITHOUT AGE RESTRICTION, AS A FIRST OPTION FOR TREATMENT OF CHRONIC ACTIVE HEMOPHILIC SINOVITIS

## Abstract

The aim of the work was to demonstrate that clinical results obtained with synovectomies using active chromic phosphate without receiving dose of prophylactic factor concentrate before or after procedure are comparable to those obtained by a 3-month program of pre-procedure factor concentrate administration, followed by a month of post-procedure prophylaxis. The effectiveness of the synovectomy using chromic phosphate (32P) in the control of chronic hemarthroses in hemophilic patients to prevent the evolution of the arthropathy and its complications was also assessed.

*Palabras clave: nuclear medicine; patients; phosphorus 32; radiation doses; hemophilia; bone joints; therapeutic uses; synoviortheses*

## INTRODUCCIÓN

La hemofilia es una enfermedad hereditaria de la coagulación [2,8,16,19,37,38] que se transmite en forma recesiva ligada al sexo, afecta a los hombres y es transmitida por las mujeres. Se caracteriza por la deficiencia de factor anti-hemofílico en la sangre, y se presenta con una incidencia en la población general de 10 por cada 100000 hombres nacidos vivos, de los cuales la hemofilia A (deficiencia del factor VIII) representa el 85% de los casos y la hemofilia B (deficiencia del factor IX) el 15% [21,35].

La severidad de la hemofilia está determinada por el porcentaje de actividad del factor anti-hemofílico en la sangre, así [2]:

- Leve: 20-60% actividad del factor.
- Moderada: 5-20% actividad del factor.
- Moderada/Severa: 1-5% actividad del factor.
- Severa: Menor al 1% de actividad del factor.

Los pacientes con niveles de factor anti-hemofílico menores a 5% presentan sangrados espontáneos o secundarios a traumas menores [2].

En el paciente hemofílico, estos sangrados ocurren principalmente en las articulaciones mayores, y afectan en orden de frecuencia decreciente a la rodilla, codo, tobillo, cadera y hombro [2,8,34]. La sinovitis crónica y la artropatía degenerativa progresiva son las complicaciones músculo-esqueléticas más comunes de las hemartrosis recurrentes en los pacientes hemofílicos [29]. Las hemorragias intraarticulares afectan en mayor proporción a los niños y adolescentes y muy escasamente a los adultos que han alcanzado la madurez esquelética [8,38].

### 1. Fisiopatología

La artropatía hemofílica se desarrolla en forma secundaria a un círculo vicioso de hemartrosis-sinovitis-hemartrosis [29], que raramente se rompe con la sola reposición de factores

hemostáticos [4]. Existen tres estadios de la artropatía hemofílica [2]:

- Agudo: se presenta una hemartrosis aislada. Hay hipertrofia de la sinovial, con depósitos de hemosiderina en las células fagocíticas, agregación focal de células inflamatorias y fibrosis subsinovial.
- Subagudo: se presenta antes de los seis meses en forma frecuente (tres o más por mes) las hemorragias.
- Crónico: hay degeneración del cartílago y destrucción articular.

Magallón [22], realiza un esquema fisiopatológico de la artropatía hemofílica, basado en el trabajo de Stein [38].

La fosfatasa ácida y la catepsina D mantienen la inflamación crónica de la sinovial. Estas enzimas son las responsables de producir la lisis de las proteínas, lo cual afecta no sólo a la sangre libre en la articulación sino también a la sinovial, cartílago y hueso [32-34].

**2. Clasificación:**

Múltiples clasificaciones se han utilizado para la artropatía hemofílica. De Palma [8], en 1967, y Arnold & Hilgarthner [2,27], en 1977, establecieron clasificaciones basadas en las características clínicas y los hallazgos radiológicos. Pero estas clasificaciones no permitían, en forma retrospectiva, discriminar los signos encontrados en cada paciente. Por ello, Pettersson [26], en 1980, formuló una clasificación basada en los

hallazgos radiológicos, por la cual se puede establecer un diagnóstico más discriminante de la artropatía.

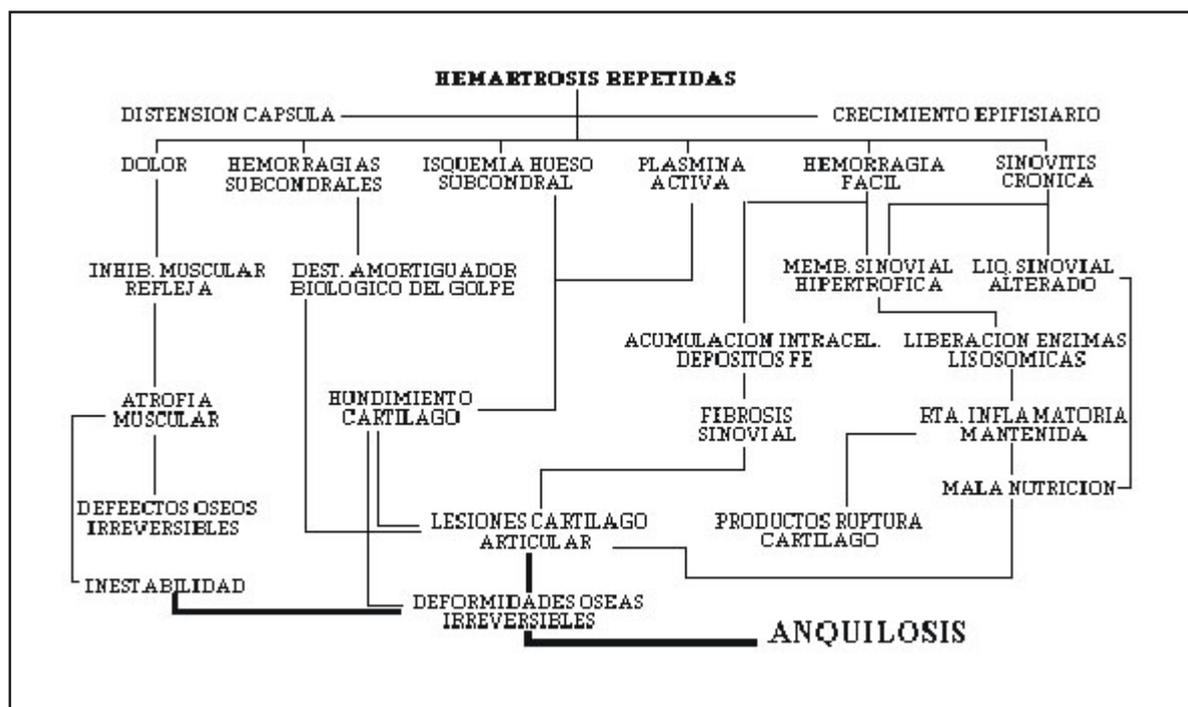
**3. Tratamiento de la hemartrosis**  
**3.1 Manejo conservador**

Consiste en la reposición del factor anti-hemofílico asociado a inmovilizaciones y fisioterapia. Fue hasta 1969 el único tratamiento para la artropatía hemofílica. En ese año, Storti [39] describió la sinovectomía abierta como una nueva alternativa para esta enfermedad, basado en el concepto según el cual la prevención de las hemorragias intraarticulares frecuentes tiene como pilar fundamental la reducción de la sinovial hipertrofica [10].

La profilaxis ambulatoria con factor anti-hemofílico, de acuerdo con los resultados del Dr. Greene [16], sólo tiene resultados satisfactorios en el 36% de los pacientes, y tiene como patrón de comparación la modificación en la frecuencia de presentación de las hemartrosis.

**3.2. Sinovectomías**  
**3.2.1. Abiertas y Artroscópicas**

Las indicaciones de las sinovectomías, en general, son [15,27] hemorragias frecuentes y persistentes en una articulación con una hemartrosis subaguda o en un estadio crónico temprano de sinovitis, que no responda a un tratamiento conservador que incluya reemplazos de concentrado de factor anti-hemofílico, inmovilizaciones y fisioterapia.



## CIENCIAS NUCLEARES

<b>Es cala de Pettersson*</b>		
<b>RX</b>	<b>Hallazgo</b>	<b>Puntaje</b>
Osteoporosis	Ausente	0
	Presente	1
Crecimiento epifisiario	Ausente	0
	Presente	1
Irregularidad subcondral	Ausente	0
	Mínima	1
	Pronunciada	2
Disminución espacio articular	Ausente	0
	Mínima	1
	Pronunciada	2
Quiste subcondral	Ausente	0
	1 Quiste	1
	Mas de 1	2
Erosión Marginal	Ausente	0
	Presente	1
Incongruencia articular	Ausente	0
	Mínima	1
Deformidad	Pronunciada	2
	Ausente	0
	Mínima	1
	Pronunciada	2
Puntaje Máximo = 13 puntos		

\* Tomado de Pettersson y cols., Clin. Orthop. 149: 153-159, 1980.

De esta manera, nos permite establecer una escala pronóstica:

<b>Escala pronóstica*</b>		
<b>Puntaje</b>	<b>Historia de sangrado intraarticular</b>	<b>Disminución función articular</b>
0	Presente en algunos pacientes	No
2	Escasa	No o mínima
3-4	Siempre presente	Siempre presente
>4	Siempre presente	Excelente correlación entre aumento del puntaje y disminución función articular

\* Tomado de Pettersson y cols. Clin. Ortho. 149:153-159, 1980.

Otras indicaciones son:

- Rápido deterioro articular.
- Dolor crónico en estadios menores de III (de Arnold y Hilgarthner).
- Compromiso neurológico secundario a hipertrofia sinovial.

A través del tiempo se han utilizado diversos tipos de sinovectomías. Desde 1969, se utilizaron las sinovectomías abiertas basadas en el principio de remover los sitios potenciales de sangrado y las enzimas proteolíticas del cartílago [7,27,39]. Una vez que se realizaba este tipo de sinovectomías, se evidenciaba menor frecuencia de sangrados articulares, los cuales se hacían menos dolorosos y severos. La desventaja de este tipo de procedimiento es que se ve asociado a mayor rigidez articular post-quirúrgica [27,31,39]. En los estudios de Post y cols. [27] y de Triantafyllow y cols. [39] se evidencia que aún después de realizar la sinovectomía abierta hay una progresión en el estadio radiológico, incluso hasta la anquilosis. Sin embargo, McCollough [23] reportó que luego de realizar las sinovectomías encontraba mejoría radiológica con reconstitución del espacio articular.

Los factores que contribuyen a la efectividad de las sinovectomías son [31]:

- Edad del paciente al inicio del tratamiento.
- Severidad de la hemofilia.
- Estadio radiológico.
- La calidad de la sinovectomía realizada (magnitud de la remoción del tejido sinovial).

Conociendo las ventajas de la sinovectomía en el paciente con artropatía hemofílica, se buscó un método que produjera iguales beneficios con menores complicaciones; es decir, disminución en la frecuencia de sangrado e intensidad de los síntomas con mejoría en el rango de movimiento. Fue así como se inició la utilización de la sinovectomía por vía artroscópica con buenos resultados. En la serie de Triantafyllow [39] se encontró una disminución del rango de movimiento de las articulaciones sometidas a sinovectomía abierta en un 62,5% de los casos, mientras que en las articulaciones sometidas a sinovectomía artroscópica se encontró un aumento promedio en el rango de movimiento, de 40°. Asimismo, disminuyó el tiempo necesario de hospitalización, las necesidades de reemplazo de factor anti-hemofílico y menores incisiones, asociadas a más lentas progresiones radiológicas de la artropatía. La serie de Wiedel [40], con seguimientos entre 10 y 15 años, reporta resultados similares. Sin embargo, demuestra que la sinovectomía artroscópica, a pesar de lograr disminuir la incidencia de las hemartrosis, no detiene el deterioro articular aún cuando probablemente se presente más lentamente.

En artropatías severas, el uso de la artroscopía se encuentra limitado y es preferible llevar a cabo una cirugía abierta [9].

### 3.2.2. Químicas

Debido a que las sinovectomías que se realizaron por métodos quirúrgicos se vieron asociadas a mayores índices de rigidez articular y a períodos prolongados de rehabilitación, se utilizaron varios agentes químicos para realizar sinovectomías no-quirúrgicas. La thiotepa, D-penicilamina, ácido ósmico, corticoesteroides, uroquinasa, sales estables de oro, mostaza nitrogenada, azatioprina, y fenilbutazona se utilizaron para producir la necrosis de la sinovial en los pacientes con artropatía hemofílica sin buenos resultados, ya que presentaban incomodidades y rigideces articulares similares a las obtenidas con los métodos quirúrgicos [10,36].

Reportes recientes evidencian los beneficios de las sinovectomías realizadas con rifampicina, lo que produce una fibrosis sinovial y disminuye el número de hemartrosis. Sin embargo, tienen como inconvenientes el presentar buenos resultados sólo en niños muy pequeños y requiere múltiples dosis para lograr el objetivo [4].

### 3.2.3. Radiactivas

La Sinoviortesis, término acuñado por Delbarre y cols. [10], es un procedimiento definido como la destrucción del tejido sinovial que se realiza por medio de la inyección intraarticular de un agente radiactivo [29]. Tiene como ventajas que requiere una sola dosis de factor anti-hemofílico, no necesita rehabilitación, no produce rigidez articular por tratarse de un método no invasivo, y no requiere estancia hospitalaria, lo que implica menores costos [13,29]. Rivard y cols. [29] refieren que aunque la disminución en la frecuencia de las hemartrosis no es tan significativa como después de una sinovectomía abierta, el rango de movimiento es claramente mejor preservado luego de una sinoviortesis.

El radisótomo ideal es aquel que se pueda obtener fácilmente, que no sea tóxico, químicamente puro, que sea un emisor de radiación beta puro, que tenga una vida media relativamente corta, y que se encuentre en forma de coloide homogéneo con un tamaño de partículas cercano a los 1000 Armstrongs [10].

En general, con la sinoviortesis, la frecuencia de los sangrados se disminuye a corto plazo en un 70-99% de los casos y a largo plazo entre el 27-100% de los mismos [22]. Es efectiva cuando se realiza en pacientes que tienen puntajes radiológicos menores de dos. Con puntajes mayores de tres, el proceso degenerativo es irreversible [1,26].

Varios isótopos se han utilizado para la realización de la sinoviortesis, el renio 186, el oro 198, el itrio 90 y el fósforo 32.

El renio 186, con un tamaño de partículas de 10 Armstrongs, produce una irradiación homogénea, tiene una penetración en los tejidos entre 1,2 y 3,7 mm, pero tiene como inconveniente que es un emisor de radiaciones tanto beta como gamma, lo cual, unido a su pequeño tamaño, lo asocia con la aparición de alteraciones cromosómicas [13,14].

El oro 198 es un emisor de radiaciones tanto beta como gamma. Tiene una vida media de 2,7 días, una penetración en los tejidos entre 1,2 y 3,6 mm y las partículas son de mayor tamaño (300 Armstrongs) lo cual implica un menor riesgo de diseminación extraarticular. Aunque produce una disminución en la frecuencia de las hemartrosis recurrentes, se ha visto asociado a alteraciones cromosómicas [12-14,22-24].

Con la utilización del itrio 90 se han obtenido buenos resultados, ya que se trata de un isótopo emisor beta puro, con un tamaño entre 100 y 200 Armstrongs, y con una vida media de 2,7 días, que produce una disminución en la frecuencia de las hemartrosis hasta en un 50% de los casos y que tiene una penetración en los tejidos de aproximadamente 4 mm, por lo cual el riesgo de lesiones a las placas de crecimiento es bajo [6,10].

El fosfato crómico P-32 es un isótopo de entre 600-2000 Armstrongs, emisor beta puro, con una vida media de 14,3 días [25]. Debido a que no posee emisiones gamma, el paciente no recibe irradiaciones corporales. Su radiactividad, luego de una inyección intraarticular, muy raramente se evidencia en ganglios linfáticos regionales, hígado o región sacra. Tiene mayor deposición de la energía por tener una vida media más larga que el Au-198 y el Y-90. Por estas razones, rara vez produce daños después de ser inyectada dentro de una articulación [25]. Su penetración en los tejidos y en las placas de crecimiento es de aproximadamente 3 mm, por lo cual el riesgo de complicaciones disminuye [36].

#### 4. Inhibidores

El 20% de los pacientes con hemofilia A presenta anticuerpos circulantes contra el factor VIII. Los inhibidores hacen que los pacientes sean refractarios al tratamiento con el factor VIII convencional, ya que este es rápidamente neutralizado [18]. Por ello, los pacientes que presentan inhibidores circulantes no son candidatos para ningún tipo de procedimiento quirúrgico que requiera de niveles normales de factor anti-hemofílico. Así pues, los pacientes hemofílicos con artropatías grados IV y V, en quienes están indicados procedimientos como reemplazos artroplásticos o artrodesis, no pueden

recibir tratamiento alguno debido a la imposibilidad de ser sometidos a cirugía.

En estos pacientes, la sinoviortesis es una alternativa que, aún cuando no va a lograr una reversión en el daño articular ya presente, producirá una disminución en la frecuencia de los sangrados articulares [20].

La hemartrosis crónica recurrente es la complicación de la hemofilia más incapacitante por el dolor, las deformidades articulares, la limitación en los arcos de movimientos y la artrosis que produce; su magnitud y duración, están directamente relacionadas con la progresión en el estadio de la artropatía. Por ese motivo es necesario optimizar un procedimiento que le permita al paciente hemofílico mantener sus articulaciones libres de sangrado en forma temprana, con el propósito de detener el proceso degenerativo articular y, así, alcanzar la madurez esquelética con articulaciones funcionales, indoloras, minimizar los tiempos de incapacidad y costos del tratamiento y mejorar su calidad de vida.

Los estudios realizados en los últimos 25 años han demostrado que la sinovectomía de la articulación afectada es el procedimiento que, en forma temprana permite controlar mejor la hemartrosis crónica, ya que por medio de ella se remueven los sitios potenciales de sangrado. Este procedimiento se puede realizar en forma abierta, artroscópica, química y radiactiva. Sin embargo, las sinovectomías radiactivas (sinoviortesis) son las que mejores resultados han obtenido, ya que no son invasivas, no requieren cobertura prolongada con factor anti-hemofílico ni estancia hospitalaria, lo cual representa menores costos.

#### MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un trabajo descriptivo, con una estrategia de tipo antes y después; y se propuso realizar 15 sinoviortesis por año en los primeros tres años del estudio.

Se incluyeron los pacientes con hemofilia moderada o severa que asisten a la consulta de Ortopedia del Hospital Universitario de San Ignacio y de la Fundación Santa Fé de Bogotá, que presentan hemartrosis crónica, o más de tres sangrados articulares por mes o aquellos pacientes en quienes el tratamiento conservador de inmovilización + fisioterapia no controla la frecuencia de los sangrados articulares, independientemente de su edad y de que reciban o no tratamiento con factor anti-hemofílico.

Todos los pacientes fueron informados acerca de la naturaleza del procedimiento y de los posibles riesgos del mismo. Para los pacientes menores de edad se obtuvo la autorización escrita de por lo menos uno de los padres.

Los primeros 22 procedimientos fueron realizados en el Hospital Universitario de San Ignacio y los restantes en la Fundación Santa Fé de Bogotá.

Los pacientes fueron valorados antes del procedimiento por el Servicio de Hematología de la institución respectiva y se les realizó medición de niveles de factor VIII, inhibidores y VIH. La presencia de inhibidores y de VIH no representaron contraindicación para el procedimiento.

Antes de realizar la sinoviortesis se interrogó a los pacientes acerca del número de sangrados que se presentaban durante un mes en la articulación afectada, el dolor en la misma (por medio de una escala verbal análoga con valores entre 0 y 10), el número de días al mes que se encontraba incapacitado para realizar su actividad laboral o escolar normal en forma secundaria a los sangrados y el número de unidades de factor VIII que requería mensualmente, si es que las utilizaba, para el control de las hemartrosis. Así mismo, se midió con goniómetro el arco de movimiento en la articulación afectada, consignándolo como el porcentaje de un arco de movilidad normal esperado en una articulación similar.

Todos los pacientes fueron valorados, previo al procedimiento, con unas radiografías antero-posteriores y laterales de la articulación afectada y clasificados de acuerdo con los criterios de Petterson [26].

El día fijado para la sinoviortesis, y previo a su realización, todos los pacientes recibieron profilácticamente factor anti-hemofílico, en una dosis de 20 U/Kg. Luego, bajo condiciones asépticas, se realizó una infiltración local de lidocaína al 2% sin epinefrina con una aguja No. 27 para producir anestesia en la zona de la punción articular. Una vez obtenida la anestesia, se introdujo una aguja No. 21 dentro del espacio articular, de manera que se obtuviera líquido sinovial de retorno por la aguja o, por lo menos, que existiera un flujo libre de lidocaina hacia la articulación. Con la certeza de estar dentro de la articulación, se conectó una jeringa de insulina, que contenía el isótopo radiactivo, a la aguja que se encontraba dentro de ella, y se inyectó el fosfato crómico (Phosphocol P-32, Mallinckrodt, St. Louis, Missouri), diluido en solución salina normal, con las siguientes dosis: entre 1,0 y 1,5 mCi en las rodillas y entre 0,5 y 1,0 mCi para los codos y tobillos. En los pacientes menores de 10 años se utilizó la mitad de las dosis.

Al terminar la inyección del isótopo radiactivo se cambió la jeringa que lo contenía por una jeringa de 5cc con una mezcla de lidocaína al 2% sin epinefrina y dexametasona y se inyectaron 4cc dentro de la articulación y en el trayecto de la aguja al ser retirada, con el fin de producir efectos anestésicos y anti-inflamatorios.

Finalizado el procedimiento se realizó un arco de movimiento completo a la articulación tratada, con el fin de producir una distribución homogénea del isótopo dentro de la misma.

Para verificar que el fosfato crómico se encontrara confinado a la articulación tratada, en los primeros cinco pacientes se realizaron proyecciones gammagráficas, así como la medición de la actividad radiactiva, por medio de un contador Geiger, en el aspecto interno y externo de la articulación, en los ganglios linfáticos inguinales ipsilaterales y contralaterales, en el hígado y el bazo. Estos procedimientos se repitieron al octavo día posterior a la sinoviortesis. Sin embargo, ante la certeza de la no migración del isótopo fuera de la articulación, decidimos no realizar proyecciones gammagráficas en los pacientes siguientes, y controlar únicamente con el procedimiento descrito a través del contador Geiger.

Con el fin de evaluar los resultados del procedimiento, se realizó un seguimiento a los pacientes en el cual se les interrogó acerca de la frecuencia de los sangrados en un mes en la articulación tratada, el dolor (en una escala de 0-10), la incapacidad (en días/mes) para realizar la actividad laboral o escolar normal y el uso de factor VIII para el control de los sangrados. Así mismo, se realizó una medición periódica, con un goniómetro, del arco de movilidad de las articulaciones sometidas a la sinoviortesis. Estos datos fueron consignados en un instrumento diseñado para este fin.

Las magnitudes de los cambios que determinamos de antemano como significativos (Delta) fueron las siguientes: una disminución igual o mayor a 70% en la frecuencia de los sangrados articulares, un aumento igual o mayor a 20% en la amplitud del arco de movimiento, una disminución igual o mayor a 50% del dolor, una disminución igual o mayor a 15% en el tiempo en que el paciente permanece incapacitado y una disminución igual o mayor a 25% en los requerimientos de factor VIII.

### RESULTADOS

Desde febrero de 1995, hemos realizado 95 sinoviortesis con fosfato crómico en 83 articulaciones de 62 pacientes que acudieron a la consulta de Ortopedia del Hospital Universitario de San Ignacio (hasta mayo de 1996) y de la Fundación Santa Fé de Bogotá (desde mayo de 1996 hasta la actualidad).

De nuestros pacientes, 56 presentan hemofilia A y 6 hemofilia B moderada/severa o severa, con un rango en el porcentaje de actividad del factor VIII entre 0,23% y 2% y un promedio de 0,93%; se encuentran en un intervalo de edad entre los cuatro y los 56 años, con un promedio de 15,03 años.

## CIENCIAS NUCLEARES

Uno de nuestros pacientes presenta anticuerpos anti-factor VIII circulantes. Tres de ellos presentan el virus de inmunodeficiencia adquirida (VIH).

La sinoviortesis se ha realizado en 50 rodillas, 22 codos, 10 tobillos y un hombro.

19 de nuestros pacientes proceden de ciudades diferentes a Santa Fé de Bogotá, dos de ellos proceden de Ibagué, uno de Ocaña, uno de Fresno, uno de Armenia y catorce más de Medellín.

Hemos realizado un seguimiento a nuestros pacientes entre uno y 42 meses, con un promedio de 9,16 meses.

De los 61 pacientes, 10 han requerido una nueva sinoviortesis en la articulación ya tratada para controlar las hemartrosis. De ellos, uno requirió un tercer procedimiento.

Otros dos requirieron intervenciones quirúrgicas adicionales para el control de la sintomatología. De ellos, el primero había evolucionado satisfactoriamente luego de la sinoviortesis pero sufrió un trauma moderado sobre su rodilla izquierda un mes después del procedimiento, y presentó recurrencia de la hemartrosis y dolor, los cuales se hicieron incontrolables a pesar de manejo con factor anti-hemofílico e inmovilización. Por lo tanto, se decidió realizar una sinovectomía artroscópica al tercer mes post-sinoviortesis. El segundo, un paciente que presentaba una artropatía hemofílica grado V, de acuerdo con la clasificación de Arnold y Hilgarthner [2], requirió un reemplazo total de la rodilla que había sido sometida a la sinoviortesis, por la persistencia de la hemartrosis, el dolor y el avanzado estado de artrosis de la misma, intervención que fue realizada cinco meses después del procedimiento. Por esta razón, los datos de los controles de estos dos últimos pacientes, en los meses posteriores al respectivo procedimiento quirúrgico, no se incluyen en los resultados.

Otros tres pacientes fallecieron durante el transcurso del seguimiento, por causas asociadas a la hemofilia pero diferentes al objeto del estudio.

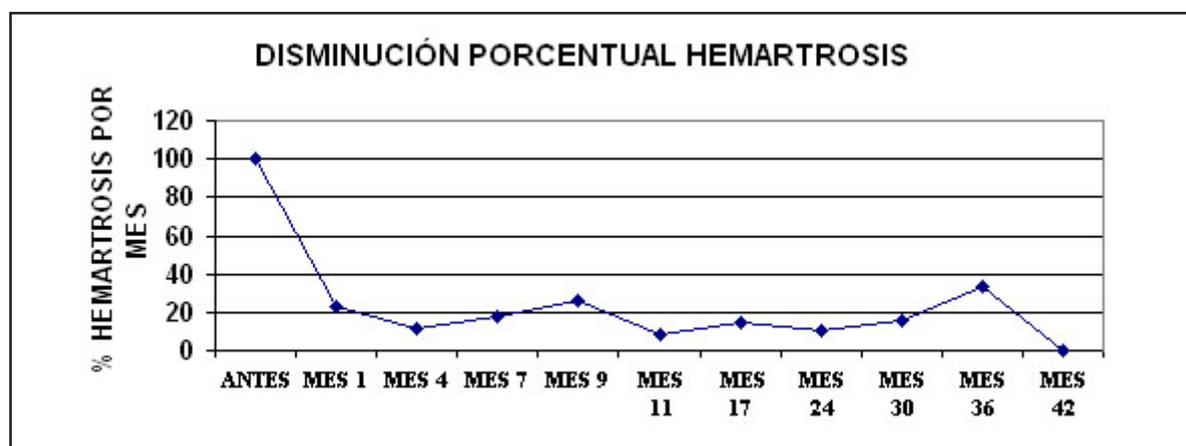
Un paciente presentó, el primer día post-procedimiento, hemartrosis en las dos articulaciones que fueron sometidas a la sinoviortesis, por lo cual requirió cubrimiento durante cinco días con factor anti-hemofílico. Este paciente no guardó reposo luego de la sinoviortesis, por lo cual creemos que se presentó el sangrado. En ningún otro paciente se presentaron complicaciones post-procedimiento.

Se revisaron los estudios radiológicos de todos los pacientes y se clasificaron de acuerdo con los criterios de Pettersson:

PUNTAJE	% ARTICULACIONES
0-3	20,0
4-7	35,0
8-11	27,5
>12	7,5

### a) Hemartrosis

Hemos encontrado que en nuestros pacientes la frecuencia de los sangrados pasó de ser, como promedio, de 2,70 hemartrosis por mes a menos de una hemartrosis por mes, lo cual representa una disminución, a través del seguimiento, entre el 66,67% y el 100% de ellas. Si comparamos el control inicial de cada paciente con su último control, de acuerdo con la metodología escogida para el estudio (diseño de tipo antes y después), encontramos una reducción del 84,95% ( $p < 0,001$ ) en la frecuencia de las hemartrosis.



b) Arco de movimiento

Como promedio, nuestros pacientes presentaban un arco de movilidad de la articulación comprometida cercano al 50% del de una articulación normal, y se tomó como valores de referencia 140° para las rodillas y 65° para los tobillos. Luego de ser realizada la sinoviortesis se presentó un incremento en el arco de movilidad, como promedio, de 6,5% (figura 3). Sin embargo, en un 30% de los pacientes se produjo una reducción en el arco de movimiento articular inicial. Comparando el control inicial de cada paciente con los datos obtenidos en el último control, encontramos un aumento en el arco de movimiento, con un promedio de 13,97% ( $p < 0,3$ ).

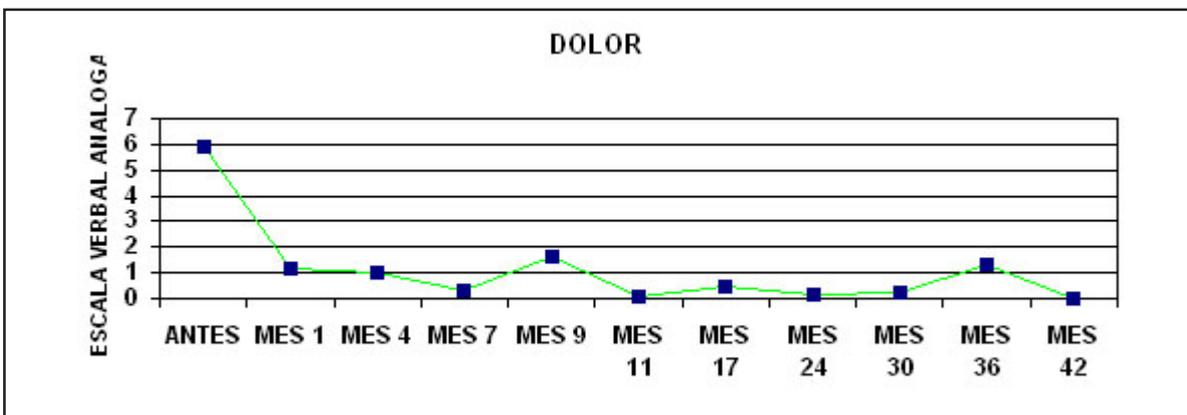
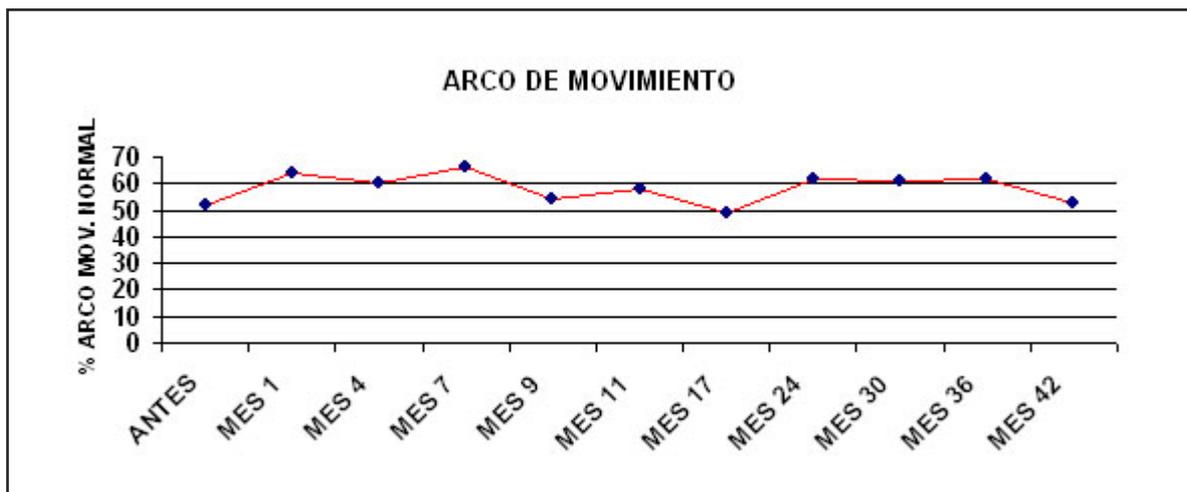
Dolor

Buscando poder dar valor numérico a un síntoma como el dolor, utilizamos una escala verbal análoga, con valores de 0 a 10, con el fin de convertir los datos en variables continuas.

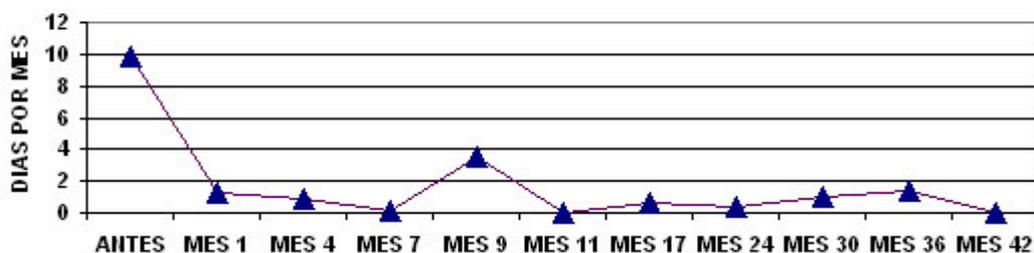
Encontramos que se produjo una disminución en el dolor, a través del tiempo de seguimiento, en un rango entre el 74,59% y el 100%, con un promedio de 86,96%. Comparando el dolor referido en el control inicial por cada uno de los pacientes contra el dolor en el último control realizado, encontramos una disminución con un promedio del 83,03% ( $p < 0,001$ ).

Incapacidad

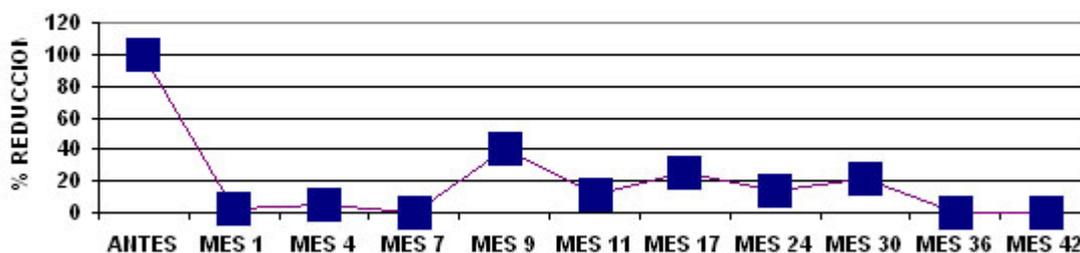
Nuestros pacientes se encontraban, como promedio, incapacitados 9,82 días al mes para realizar sus actividades escolares o laborales normales, antes de realizarse la sinoviortesis. Luego de ella presentaron una disminución en el tiempo que permanecieron incapacitados, a través del seguimiento, como promedio, del 85,97%. Comparando los datos del control inicial con los datos obtenidos en el último control realizado al paciente, se evidenció una disminución en el tiempo de incapacidad, del 87,5% ( $p < 0,005$ ).



INCAPACIDAD



REQUERIMIENTOS FACTOR VIII



Factor VIII

43 de nuestros pacientes venían recibiendo tratamiento con factor anti-hemofílico. Luego de la sinoviortesis se presentó, a través del seguimiento, la reducción en las necesidades de factor VIII en un rango entre el 58,28% y el 100%, con un promedio de 87,10%. Comparando los datos del control inicial de cada paciente con los del último control realizado, encontramos una disminución en los requerimientos de factor VIII del 84,09% ( $p < 0,03$ ).

DISCUSIÓN

La sinovitis crónica, producto de los frecuentes y abundantes sangrados articulares que se presentan en los pacientes hemofílicos como consecuencia del déficit en los factores de la coagulación, es la responsable del progresivo deterioro articular.

De ahí que reducir el volumen de la sinovial sea el objetivo del tratamiento del paciente hemofílico que, al entrar en un ciclo de hemartrosis-sinovitis-hemartrosis, no responde al tratamiento conservador, lo que conlleva a un daño articular irreversible y al deterioro de su calidad de vida.

Las sinovectomías abiertas y artroscópicas, producen una disminución significativa en el número de las hemartrosis y una disminución mayor en la sinovial que la obtenida por medio de la sinoviortesis [26]. Sin embargo, se han visto asociadas a mayor rigidez articular post-operatoria, coberturas más prolongadas con factor anti-hemofílico antes y después del procedimiento y hospitalizaciones más largas.

Conformamos nuestra cohorte con pacientes hemofílicos que presentan artropatía, a cualquier edad, aún cuando no hayan recibido tratamiento con factor anti-hemofílico. Utilizamos una estrategia de tipo antes y después para describir las variaciones en los valores de frecuencia del sangrado, arco de movimiento, dolor, incapacidad y requerimientos de factor Anti-hemofílico. Estos resultados se pueden comparar con los de los grupos descritos en las dos series publicadas en la literatura mundial y así saber si la utilización de la sinoviortesis con fosfato crómico P-32 en nuestros pacientes produce resultados similares, a pesar de contar con diferentes condiciones.

Se obtuvo una disminución en las hemartrosis, dolor, incapacidad y uso de factor comparables con las series que utilizan profilaxis pre y post-procedimiento.

Estos hallazgos, que se pueden utilizar sin riesgo en pacientes menores, por su bajo costo comparado con procedimientos quirúrgicos, bajo riesgo de complicaciones, no requerir cobertura prolongada con factor anti-hemofílico, mayor facilidad para la rehabilitación, y disminuir la latencia entre la sinovitis crónica y el tratamiento, hacen de la sinoviortesis con fosfato crómico P-32 el tratamiento de elección en nuestros pacientes hemofílicos que se encuentran en un estado crónico e incontrolable de hemartrosis.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] AHLBERG, A., PETERSSON, H., Synoviorthesis with Radioactive Gold in Hemophilics, *Clinical and radiological follow-up*, *Acta Orthop. Scand.* 50 (1979)513-517.
- [2] ARNOLD, W.D., HILGARTNER, M.W., Hemophilic Arthropathy, *Current of pathogenesis and management*, *JBJS* 59A (1977)287-305.
- [3] BUZZARD, B.M., Physiotherapy for Prevention and Treatment of Chronic Hemophilic Synovitis, *Clin. Orthop.* 343 (1997)42-46
- [4] CAVIGLIA, H.A., FERNÁNDEZ-PALAZZI, F., MAFFEI, E., Chemical Synoviorthesis for Hemophilic Synovitis, *Clin. Orthop.* 434 (1997)30-36.
- [5] CORRIGAN, J.J., KOLBA, K.S., GALL, E.P., Treatment of hemophilic arthritis with D-Penicillamine: A preliminary report, *Am J., Hematol.* 19 (1985)255-264.
- [6] DAWSON, T.M., RYAN, P.F., STREET, A.M., Yttrium synovectomy in Haemophilic arthropathy, *Br J. Rheumatol.* 33 (1994)351-356.
- [7] DEGNORE, L.T., WILSON, F.C., Surgical management of hemophilic arthropathy, in Evarts CM (ed): *American Academy of Orthopaedic Surgeons Instructional Course Lecture, XXXVIII. St. Louis, CV Mosby, (1989)383-388.*
- [8] DEPALMA, A.F., Hemophilic Arthropathy, *Clin. Orthop.* 52 (1967)145-165.
- [9] EICKHOFF, H.H., KOCH, W., RADERSCHADT, G., Arthroscopy for Chronic Hemophilic Synovitis of the Knee, *Clin. Orthop.* 343 (1997)58-62.
- [10] ERKEN, E.H., Radiocolloids in the management of Hemophilic arthropathy in children and adolescents, *Clin. Orthop.* 264 (1991)129-135.
- [11] EWALD, B.E., MYERS, M., CROOKS, J., Synovectomy in hemophilia-A preliminary report, *JBJS.* 57A (1975)139.
- [12] FERNÁNDEZ-PALAZZI, F., BOSCH, N.B., VARGAS, A.F., Chromosomal study after Radioactive Synoviorthesis for haemophilic haemarthrosis. *Int. Orthop.* 3 (1979)159-164.
- [13] FERNÁNDEZ-PALAZZI, F., BOSCH, N.B., VARGAS, A.F., Radioactive synovectomy haemophilic haemarthrosis. Follow-up of fifty cases, *Scand. J. Haematol.* 33 (1984)291-300.
- [14] FERNÁNDEZ-PALAZZI, F., RIVAS, S., CIBEIRA, J.L., Radioactive Synoviorthesis in Hemophilic Hemarthrosis. *Materials, Techniques and Dangerous*, *Clin. Orthop.* 328 (1996)14-18.
- [15] GILBERT, M.S., RADOMISLI, T.E., Therapeutic Options in the Management of Hemophilic Synovitis. *Clin. Orthop.* 343 (1997)88-92,
- [16] GREENE, W.B., MCMILLAN, C.W., Nonsurgical management of hemophilic arthropathy, in Evarts CM (ed): *American Academy of Orthopaedic Surgeons Instructional Course Lectures, XXXVIII. St. Louis, CV Mosby, (1989)367-381.*
- [17] GREEN, W.B., MCMILLAN, C.W., WARREN, M., Prophylactic Transfusion for Hypertrophic Synovitis in Children with Hemophilia. *Clin. Orthop.* 343 (1997)19-24.
- [18] HAY, C.R.M., BOLTON-MAGGS, P., Porcine Factor VIIIc in the management of patient with Factor VIII inhibitors, *Transf. Med. Rev.* 2 (1991)145-151.
- [19] HOYER, L.W., Hemophilia A., *N. Engl. J. Med.* 330 (1994)38-47.
- [20] LOFQVIST, T., PETERSSON, C., NILSSON, I.M., Radioactive Synoviorthesis in patients with Hemophilia with Factor Inhibitor, *Clin. Orthop.* 343 (1997)37-41.
- [21] LUCK, J.V., KASPER, C.K., Surgical Management of Advanced Hemophilic Arthropathy. An Overview of 20 Years' Experience, *Clin. Orthop.* 242 (1989)60-82.
- [22] MAGALLÓN, M., ORTEGA, F., MARTÍN VILLAR, J., Resultados a Largo Plazo de la Inyección Intraarticular de Isótopos Radioactivos (sinoviortesis) sobre la evolución de la Artropatía Hemofílica, *Rev. Ortop. Traum.* 33IB (1989)524-532 .
- [23] MCCOLLOUGH, N.C., ENIS, J.E., LOVITT, J., Synovectomy or total replacement of the knee in hemophilia, *JBJS.* 69A (1979)69-75.
- [24] MERCHAN, E.C.R., MAGALLÓN, M., MARTÍN VILLAR, J., Long term follow up of haemophilic arthropaty treated by Au-198 radiation synovectomy, *Int. Orthop.* 17(1993) 120-124.
- [25] ONETTI, C.M., GUTIÉRREZ, E., LIBA, E., Synoviorthesis with 32P-colloidal chromic phosphate in rheumatoid arthritis-Clinical, histopathologic and arthrographic changes, *J. Rheumatol.* 9 (1982)229-238.
- [26] PETERSSON, H., AHLBERG, A., NILSSON, I.M., A radiologic classification of Hemophilic arthropathy, *Clin. Orthop.* 149 (1980)153-159.
- [27] POST, M., WATTS, G., TELFER, M., Synovectomy in hemophilic arthropathy. A retrospective review of 17 cases, *Clin. Orthop.* 202 (1986)139-146.
- [28] RIBBANS, W.J., GIANGRANDE, P., BEETON, K., Conservative Treatment of Hemarthrosis for Prevention of Hemophilic Synovitis, *Clin. Ortho.* 343(1997)12-18
- [29] RIVARD, G.E., GIRARD, M., BÉLANGER, R., Synoviorthesis with Colloidal 32P Chromic Phosphate for the Treatment of Hemophilic Arthropathy, *JBJS.* 76A (1994)482-488.
- [30] RODRÍGUEZ, E.C., GALINDO, E., MAGALLÓN, M., Comparison between episodic and prophylactic treatment in a group of hemophiliacs sustaining procedures for synovial destruction. Long-term follow-up, *Ort. Traum. Oggi.* 10 (1990)50-53.
- [31] RODRÍGUEZ, E.C., GALINDO, E., LADREDA, J.M., Surgical synovectomy in haemophilic arthropathy of the knee, *Int. Orthop.* 18 (1994)38-41.
- [32] RODRÍGUEZ, E.C., Pathogenesis, Early Diagnosis, and Prophylaxis for Chronic Hemophilic Synovitis, *Clin. Orthop.* 343 (1997)6-11.
- [33] RODRÍGUEZ, E.C., MAGALLÓN, M., GALINDO, E., Hemophilic Synovitis of the Knee and the Elbow, *Clin. Orthop.* 343 (1997)47-53.
- [34] RODRÍGUEZ, E.C., Effects of Hemophilia and Articulations of Children and Adults. *Clin. Orthop.* 328 (1996)7-13.
- [35] SHOPNICK, R.I., BRETTLE, D.B., Hemostasis. A Practical Review of Conservative and Operative Care, *Clin. Orthop.* 328 (1996)34-38.
- [36] SIEGEL, H., LUCK, J.B., SIEGEL, M.E., Hemarthrosis and Synovitis Associated with Hemophilia: Clinical Use of

P-32 Chromic Phosphate Synoviorthesis for Treatment.  
Radiology, 190 (1994)257-262.

[37] SPEER, D.P., Early pathogenesis of hemophilic  
arthropathy. Evolution of the subchondral cyst, Clin.  
Orthop. 185 (1984)250-265.

[38] STEIN, H., DUTHIE, R.B., The pathogenesis of chronic  
hemophilic arthropathy, JBJS. 63B (1981)601-709.

[39] TRIANTAFYLLOU, S.J., HANKS, G.A., NADAL,  
J.A., Open and arthroscopic synovectomy in  
hemophilic arthropathy of the knee. Clin. Orthop. 283  
(1992)196-204.

[40] WIEDEL, J.D., Arthroscopic Synovectomy of the Knee  
in Hemophilia. 10 to 15 Year Followup, Clin. Orthop. 328  
(1996)46-53.

# IN VIVO EVALUATION OF THREE DIFFERENT TECHNETIUM-LABELED RADIOPHARMACEUTICALS FOR SENTINEL LYMPH NODE IDENTIFICATION

Martín M. Edreira<sup>1</sup>, Lucas L. Colombo<sup>2</sup>, Juan H. Perez<sup>1</sup>, Elisa O. Sajaroff<sup>1</sup>, Silvia G. de Castiglia<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Radiopharmaceutical Division, Ezeiza Atomic Centre, National Atomic Energy Commission, Ezeiza, Argentina

<sup>2</sup>CONICET and Research Area, Institute of Oncology "Angel H. Roffo", University of Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina

## Abstract

This work is focussed on the SLN and LLN uptake of three different radiopharmaceuticals produced in our laboratory, [<sup>99m</sup>Tc]-HSAC, [<sup>99m</sup>Tc]-SC and a [<sup>99m</sup>Tc]-Dx solution, which have different particle sizes. The site of injection, either intradermal or intratumoural, was also studied. The assays were carried out in normal mice and mice harbouring footpad tumours. The right rear footpad (RRF) was the chosen site of injection of the radiolabeled products. The SLN for this animal model is the first node that drains the rear footpad, the popliteal node. The second lymphatic node station from the RRF, the lumbar lymph node (LLN), was also resected, to determine the amount of radiopharmaceutical passing the SLN.

## EVALUACION IN VIVO DE TRES RADIOFARMACOS DIFERENTES MARCADOS CON TECTENIO PARA LA IDENTIFICACIÓN DEL NODO LINFÁTICO CENTINELA

## Resumen

Este trabajo trata sobre la absorción en nodos linfáticos centinelas (SLN) y nodos linfáticos lumbares (LLN) de tres radiofármacos diferentes producidos en nuestro laboratorio, [<sup>99m</sup>Tc]-HSAC, [<sup>99m</sup>Tc]-SC y una solución de [<sup>99m</sup>Tc]-Dx, con diferentes tamaños de partículas. También se estudió dónde aplicar la inyección (intradérmica o intratumoral). Los ensayos se llevaron a cabo en ratones normales y ratones que presentan tumores en la almohadilla plantar. La almohadilla plantar derecha posterior (RRF) fue el lugar escogido para inyectar los productos radiomarcados. El SLN para este animal modelo es el primer ganglio que drena al tumor en la almohadilla plantar, el ganglio poplíteo. Se practicó también la resección en la segunda estación del segundo nodo linfático de la RRF, el nodo linfático lumbar (LLN), a fin de determinar la cantidad de radiofármacos que pasan el SLN.

*Palabras clave: nuclear medicine; technetium 99; radiopharmaceuticals; neoplasms; in alive; labeled compounds; isotope applications; injection; mice*

## INTRODUCTION

Metastatic spread of solid tumours, such as breast carcinoma and melanoma, takes place by an orderly progression, where regional dissemination to lymph nodes usually precedes distant metastasis. For this reason, the first lymph node that drains the tumour, the sentinel lymph node (SLN), is an important predictor of metastatic dissemination and, thus, a very important factor for tumour staging, prognosis and therapeutic decisions [1,2].

A variety of compounds have been used for SLN localisation, originally blue dye [3,4] and lately, radiopharmaceuticals [1,2,5]. The radio-guided technique is a minimally invasive technique which improves intraoperative efficiency in SLN identification, obviating the need for node-negative patients to suffer the potential morbidity of conventional axillary lymph node dissection or the more complex surgery required by the blue dye technique, in which the sentinel node may be

missed in up to 40 % of the cases [6-10]. However, some technical uncertainties remain with this technique, such as radiopharmaceutical and gamma probes of choice, site and volume of injection and imaging time [1,2]. The ideal radiopharmaceutical should selectively identify the SLN and so, it should reach the SLN and remain trapped therein, reducing non-sentinel background emissions [11]. This nodal uptake and retention strongly depend on the radiopharmaceutical particle size [7,12,13].

## MATERIALS AND METHODS

### Radiopharmaceuticals. Preparation

The HSAC was prepared from a mixture of Human Serum Albumin with SnCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O as a reducing agent. Briefly, 600 ml of a 20% HSA solution (immuno AG, Austria) was added to 100 ml of HCl (0.1 N) solution containing 210 mg of SnCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O, the pH was adjusted to 7.4 and the final volume to 240 ml with distilled water. This solution was then

placed into a water bath at 96°C, with constant stirring. Three minutes later, the solution was removed from the bath and cooled in a 4°C bath for 20 minutes. Finally, the HSAC solution was split into 2-ml fractions and lyophilised.

The preparation of the SC was carried out by the classical procedure [14] adding 100 ml of H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> saturated double-distilled water to 20 ml of a 1% solution of antimony potassium tartrate. The solution was then stabilised with 10 ml of PVP; H<sub>2</sub>S excess was eliminated by N<sub>2</sub> bubbling and divided into 2-ml aliquots.

1250 mg of Dextran 70 (Sigma, USA) was dissolved in 25 ml of H<sub>2</sub>O and 12.5 ml SnCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O solution (1 mg/ml) in water was added. The solution was lyophilised in 1.5 ml fractions.

#### Radiopharmaceutical <sup>99m</sup>Tc labeling

The lyophilised preparations were re-dissolved in 1 ml of saline and labeled by addition of 150-160 MBq/ml of a fresh <sup>99m</sup>TcO<sub>4</sub><sup>-</sup> elution, eluted from a <sup>99</sup>Mo/<sup>99m</sup>Tc generator (CNEA, Argentina). In the case of the SC, after the addition of the radionuclide, the solution was autoclaved for 30 minutes at 120°C. Radiochemical purity was assayed by ITLC, using methanol 85% for [<sup>99m</sup>Tc]-Dx and saline for [<sup>99m</sup>Tc]-HSAC and [<sup>99m</sup>Tc]-SC as solvents.

#### Particle Size Determination

Radiopharmaceutical particle size was measured by successively filtration of a single sample through 450, 220, 100 and 20 nm pore size filters (Whatman, England). Briefly, the filter was first moistened, the sample filtered and then washed with 2 ml of physiological saline. Residual and filtered activities were measured and their relative ratio calculated. Each determination was repeated at least 3 times.

#### Experimental Animals

Eight to twelve-week-old, with an average weight of 25 gr, female inbred NIH and Balb/c mice from the National Atomic Energy Commission and Roffo Oncological Institute facilities, respectively, were kept (5-10 mouse/cage) with water and food ad libitum. Animal care was provided in accordance with the procedure outlined in the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals [15].

#### Tumour Cells

The M2 mammary adenocarcinoma arose spontaneously in a reproductive female Balb/c mouse of the Animal Facility of the Roffo Oncological Institute. After several *in vivo* transplantations it became undifferentiated, with a sarcomatoid aspect, but maintaining immunohistochemical epithelial markers. The tumour line was maintained by subcutaneous transplantations in Balb/c female mice and retained these characteristics. 2 x 10<sup>5</sup> viable M2 cells, harvested by a mechanical dissociation, in 0.05 ml of RPMI medium without serum, were inoculated subcutaneously into the right rear

footpad of syngeneic male Balb/c mice. Tumour diameters were recorded 3 times a week with an appropriate calliper and tumour volume (in millimetres) was calculated.

#### Experimental Procedure

A 0.02 ml bolus of the radiopharmaceutical was injected intradermally into the RRF of NIH mice (n=2-4 per time point). Mice were killed by cervical dislocation at 20, 40, 100 and 200 minutes post injection (p.i). Tumour bearing Balb/c mice were intradermally or intratumourally injected into the RRF with 0.02 ml of the radiopharmaceutical and sacrificed 40 minutes later. After killing at the designed time point SLN and LLN were isolated and placed into 5 ml plastic tubes. All nodes were kept at room temperature until the last sample was obtained and were counted at the same time in a gamma counter (Auto-Gamma à Counting Systems, Packard, USA). The percentage of the injected dose per node (%ID/node) was calculated as the ratio between node activity and total injected dose.

#### Statistical Considerations

%ID/node are expressed as the mean ± SD. To compare the SLN uptake between two radiopharmaceuticals, an unpaired Student's t test was performed using GraphPad InStat (GraphPad Software, USA). All reported p values are two-sided.

#### RESULTS

Table 1 summarises the particle size distribution found in each radiopharmaceutical. In every case the radiochemical purity was always higher than 99%. Data shown in table 1 demonstrate that [<sup>99m</sup>Tc]-HSAC and the [<sup>99m</sup>Tc]-SC present homogeneous particle size distributions, between 220 and 100 nm, for [<sup>99m</sup>Tc]-HSAC and less than 20 nm, in the case of the [<sup>99m</sup>Tc]-SC. On the other hand, the [<sup>99m</sup>Tc]-Dx preparation showed a heterogeneous particle size distribution. No activity was associated with particles of more than 450 nm.

Figures. 1A, B and C, show the relative SLN and LLN uptake of [<sup>99m</sup>Tc]-HSAC, [<sup>99m</sup>Tc]-SC and [<sup>99m</sup>Tc]-Dx in normal NIH mice over time. The accumulation of [<sup>99m</sup>Tc]-HSAC (fig. 1A) in the SLN increased, while, the percentage of uptake in the LLN remained low with time. At 100 minutes p.i, the %ID/node was 16.7% for the SLN, which is significantly (p=0.004) higher than the 6.0% in the LLN. At 200 minutes, the relative uptakes were 27.0% and 7.3% (p=0.0045), respectively. In the case of the [<sup>99m</sup>Tc]-SC (Fig.1B), in spite of the significant difference (p=0.027) detected between the accumulation in the two lymph nodes, at 40 minutes (9.0% of the ID for SLN and 3.7% in LLN), the radiopharmaceutical uptake increased in both over time and this significance disappeared. Even at 200 minutes, when the uptake of [<sup>99m</sup>Tc]-SC in SLN was 24.8% and in the LLN 15.3%, no statistical differences between them were found

Table 1. Radiopharmaceutical particle sizes distribution

	Radiopharmaceutical particle size percentage <sup>a</sup>		
	[ <sup>99m</sup> Tc] -HSAC	[ <sup>99m</sup> Tc] -SC	[ <sup>99m</sup> Tc] -Dx
450-220 nm	7	3	30
220-100 nm	90	13	38
100-20 nm	3	18	4
< 20 nm	-	66	28

( $p=0.1981$ ). No statistical differences were seen for the [<sup>99m</sup>Tc]-Dx, which exhibited a low uptake in both the SLN and the LLN, even over time. The highest uptake of [<sup>99m</sup>Tc]-Dx, 7.5% in SLN and 3.9% in LLN ( $p=0.054$ ), was achieved at 100 minutes p.i.

While SLN uptake of [<sup>99m</sup>Tc]-HSAC and [<sup>99m</sup>Tc]-SC were very similar over time (Fig. 1 A, B), LLN uptake of the radiopharmaceuticals was quite different, almost constant for [<sup>99m</sup>Tc]-HSAC but increasing over time in the case of the [<sup>99m</sup>Tc]-SC.

Thus, when the uptake ratio of SLN/LLN over time was calculated (table 2), the ratio for [<sup>99m</sup>Tc]-HSAC increased with time, but remained constant for the [<sup>99m</sup>Tc] -SC. Figures 2 and 3 show the data obtained when the radiopharmaceuticals were intradermally or intratumourally injected, into Balb/c mice bearing M2 tumours in the RRF, and sacrificed 40 min p.i. [<sup>99m</sup>Tc]-HSAC intradermal administration (Fig. 2A) showed higher uptake than [<sup>99m</sup>Tc]-SC (Fig. 2B) or [<sup>99m</sup>Tc]-Dx (Fig. 2C) in SLN, while the low LLN uptake was similar in all the three cases. Figure 2 also shows a substantial decrease in SLN uptake as tumour volume increases. When the radiopharmaceuticals were intratumourally injected, the SLN uptake was lower than when intradermally injected, and there was also a decrease in uptake as

tumour volume increased. However, in intratumoural injection, tumour volume had a greater influence over lymph node uptake (Fig. 3A, B, C) since radiopharmaceutical retention by the tumour rose as tumour volume increased.

compounds have been compared in this study, which differ not only in particle size, but in chemical nature, surface characteristics, and probably electrical charge. Although, the influence of these factors cannot be excluded, we found a clear correlation between lymph node uptake and retention and particle size.

### Three very different radiopharmaceutical

Lymph node uptake and retention strongly depend on the radiopharmaceutical particle size. Particles of few nanometers generally pass into the bloodstream through venous capillaries [13] while particles greater than a few hundred nanometers in diameter are likely to be trapped at the site of injection. Particles with intermediate sizes are absorbed into lymphatics, but once there, particle size continues to play an important role in their accumulation in lymph nodes. The greater the number and size of particles in the lymph flowing to the SLN, the greater the probability that these particles will be phagocytosed and retained in the first lymph node they encounter [2,11,12].

Table 2. Relative uptake ratio between SLN and LLN in NIH mice over time

Time (minutes)	SLN/LLN <sup>a</sup>	
	[ <sup>99m</sup> Tc] - HSAC	[ <sup>99m</sup> Tc] -SC
20	1.85	1.19
40	1.38	2.41
100	2.80	1.36
200	3.76	1.62

Of the three radiopharmaceuticals examined in this study, [<sup>99m</sup>Tc]-HSAC showed the greatest differences between SLN and LLN accumulation. As a result of its uniform, intermediate size distribution, [<sup>99m</sup>Tc]-HSAC was more efficient in the selective identification of the SLN, since it showed greater retention and a lower rate of passage to the next node, the LLN. [<sup>99m</sup>Tc]-SC, often used for lymphoscintigraphy, has a small particle size, mostly less than 20 nm. Although lymphatic absorption of [<sup>99m</sup>Tc]-SC was indicated by the high uptake in SLN, LLN accumulation was also high. The faster rate of passage to the second node, is consistent with [<sup>99m</sup>Tc]-SC as an indicator of lymph flow more than a SLN locator when compared with the [<sup>99m</sup>Tc]-HSAC. [<sup>99m</sup>Tc]-Dx showed low uptake in either SLN or LLN, which is in agreement with its

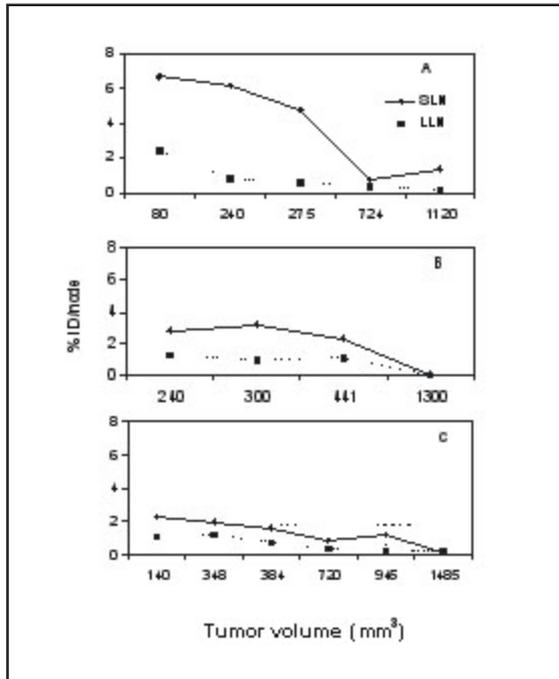


Figure 1.  $[^{99m}\text{Tc}]$ -HSAC (A),  $[^{99m}\text{Tc}]$ -SC (B) and  $[^{99m}\text{Tc}]$ -Dx (C) relative uptake in SLN and LLN of normal NIH mice at different times after injection of a 0.02 ml bolus of radiopharmaceutical, into the RRF.

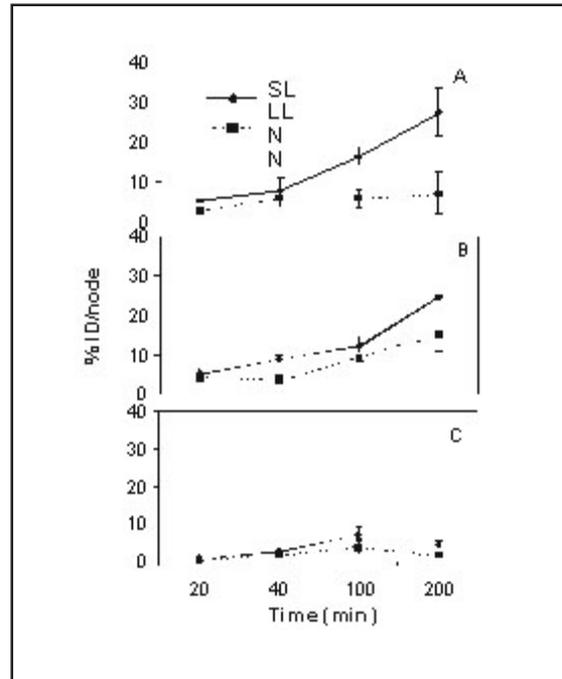


Figure 2.  $[^{99m}\text{Tc}]$ -HSAC (A),  $[^{99m}\text{Tc}]$ -SC (B) and  $[^{99m}\text{Tc}]$ -Dx (C) relative uptake in SLN and LLN of Balb/c mice bearing an M2 tumour in the RRF, 40 minutes post intradermal injection. Tumour sizes are in cubic millimetres.

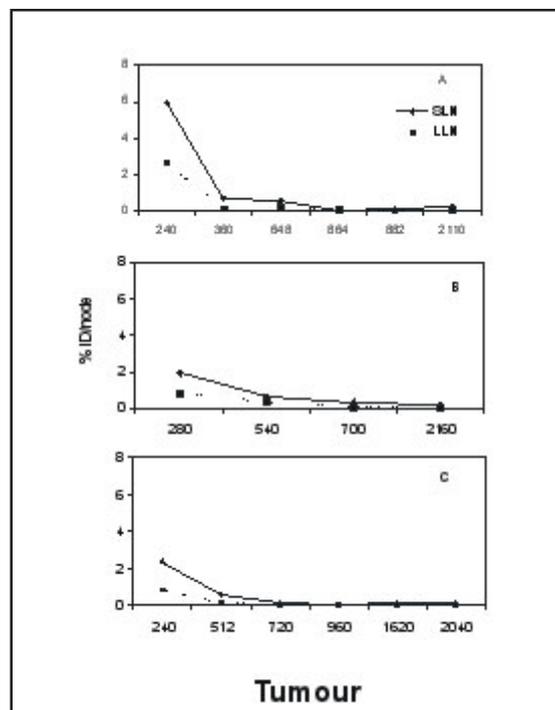


Figure 3.  $[^{99m}\text{Tc}]$ -HSAC (A),  $[^{99m}\text{Tc}]$ -SC (B) and  $[^{99m}\text{Tc}]$ -Dx (C) relative uptake in SLN and LLN of Balb/c mice bearing an M2 tumour in the RRF, 40 minutes post intratumoural injection.

broad heterogeneous particle size distribution. The large particles are likely to be phagocytosed by macrophages at the site of injection and those smaller than a few nanometers pass directly to the bloodstream. In this way, only a low proportion of the [<sup>99m</sup>Tc]-Dx particles would be able to reach the SLN and just a fraction of these, taken up by resident phagocytic cells.

The intradermal route of administration results in a more effective radiopharmaceutical accumulation in SLN than intratumoural injection. It is likely that lymphatic uptake depends upon vessels immediately adjacent to the tumour, since a true lymphatic system within tumours has not been demonstrated [16]. Hence, when given intratumourally, to reach the lymphatic vessels, radiopharmaceutical particles must diffuse from the centre of the tumour to its surface and thus the larger the tumour, the slower the radiopharmaceutical clearance. Conversely, when given intradermally, the radiopharmaceutical is in direct contact with lymphatics and uptake is more easily achieved. However the data also show that increments in the tumour volume reduces the accumulation of the radiopharmaceuticals following intradermal injection. This might be possibly related to compression of adjacent lymphatic vessels by the tumour mass. Consequently, the greater the tumour, the larger the compression of the vessels, the lower the SLN uptake.

In this model, intradermal injection appeared to be the better administration route for SLN identification. This agrees well with clinical studies in which more efficient SLN identification was achieved by subdermal or peritumoural inoculation of radiopharmaceuticals [1,7,8].

## REFERENCES

- [1] KESHTGAR, M.R.S., ELL, P.J., Sentinel Lymph Node Detection and Imaging, *Eur J. Nucl. Med.* 26 (1999)57-67.
- [2] GLASS, E., ESSNER, R., GIULIANO, E., Sentinel Node Localization in Breast Cancer, *Sem. Nucl. Med.* vol. XXIX 1(1999)57-68.
- [3] MORTON, D.L., WEN, D.-R., WONG, J.H., et al, Technical details of intraoperative lymphatic mapping for early stage melanoma, *Arch. Surg.* 127 (1992)392-9.
- [4] MORTON, D.L., WEN, D.-R., COCHRAN, A., Management of early-stage melanoma by intraoperative lymphatic mapping and selective lymphadenectomy: an alternative to routine elective lymphadenectomy or "watch and wait", *Surg Oncol. Clin. North Am.* 1(1992)247-59.
- [5] BOMBERDIERI, E., CRIPPA, F., MAFFIOLI, L., DRAISMA, A., AGRESTI, R., GRECO, M., Nuclear Medicine approaches for detection of axillary lymph node metastases. *Q. J. Nucl. Med.* 42 (1998)54-65.
- [6] VERONESI, U., PAGANELLI, G., VIALE, G., et al, Sentinel lymph node biopsy and axillary dissection in breast cancer: results in a large series. *J Natl Cancer Inst.* 91(1999)368-73.
- [7] PAGANELLI, G., DE CICCO, C., CREMONESI, M., et al, Optimized sentinel node scintigraphy in breast cancer. *Q. J. Nucl. Med.* 42 (1998)53.
- [8] DE CICCO, C., CREMONESI, M., LUINI, A., et al., Lymphoscintigraphy and Radioguided Biopsy of the Sentinel Axillary Node in Breast Cancer. *J. Nucl. Med.* 39(1998)12, 2080-4.
- [9] GIULIANO, A.E., Sentinel Lymphadenectomy in primary breast carcinoma: an alternative to routine axillary dissection, *J. Surg. Oncol.* 62 (1996)75-77.
- [10] GIULIANO, A.E., DALE, P.S., TURNER, R.P., MORTON, D.L., EVANS, S.W., KRASNE, D.L., Improved axillary staging of cancer with sentinel lymphadenectomy, *Ann Surg.* 222 (1995)394-401.
- [11] NATHANSON, S.D., ANAYA, P., KARVELIS, K.C., ECK, L., HAVSTAD, S., Sentinel Lymph Node Uptake of Two Different Technetium-Labeled Radiocolloids, *Ann. Surg. Onc.* 4(2)(1997)104-110.
- [12] STRAND, S.-E., PERSSON, B.R.R., Quantitative lymphoscintigraphy I: basic concepts for optimal uptake of radiocolloids in the parasternal lymph nodes of rabbits. *J. Nucl. Med.* 20 (1979)1038-46.
- [13] BERGQVIST, L., STRAND, S.-E., PERSSON, B.R.R., Particle sizing and biokinetics of interstitial lymphoscintigraphic agents. *Sem. Nucl. Med.* 13 (1983)9-19.
- [14] HAWKINS, L.A., MCALISTER, J., The use of <sup>99m</sup>Tc antimony sulphide colloid for liver scanning, its preparation and some clinical and experimental observations, *Br. J. Radiol.* 42 (1969)495 234-5.
- [15] Institute of Laboratory Animal Resources, National Research Council, Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, Washington DC: National Academy Press, 1996.
- [16] LIOTTA, L.A., STETLER-STEVENSON, W.G., Principles of molecular cell biology of cancer: cancer metastasis, In: DE VITA, V.T., HELLMAN, S., ROSENBERG, S.A., eds. *Cancer: principles and practice of oncology*, Philadelphia: JB Lippincott, (1993)134-149.

# FOSFATO CRÓMICO [<sup>32</sup>P]. PREPARACIÓN Y APLICACIONES

Tamara Taylor Delgado, Ahmed Cruz Morales, José. Morín Zorrilla  
Centro de Isótopos, Ciudad de La Habana, Cuba

## Resumen

En el presente trabajo se obtienen distintos preparados coloidales potencialmente útiles, de acuerdo con los estudios fisicoquímicos y en ensayos en animales, aún en curso. El método involucra la reacción del óxido de cromo con ácido fosfórico P-32, en un ligero exceso, para obtener la actividad específica en presencia del sulfito de sodio como agente reductor. Se aplicaron dos métodos de purificación para la eliminación del fosfato libre: centrifugación y purificación por intercambio iónico, encontrándose los mejores resultados para el segundo método. Para la determinación del tamaño de partícula se empleó el método de filtración por membrana.

## CHROMIC PHOSPHATE [<sup>32</sup>P].

## PREPARATION AND APPLICATIONS

## Abstract

In the present work different potentially useful colloidal preparations, in accordance with the physicochemical studies and tests carried out on animals (still ongoing), are obtained. The method involves the reaction of chromium oxide with phosphoric acid P-32, in a slight excess, in order to obtain the specific activity in presence of sodium sulfite as reducing agent. Two purification methods were applied for eliminating free phosphate: centrifugation and purification by ionic exchange, obtaining the best results in the second method. For the determination of the particle size the membrane filtration method was used.

*Palabras clave: phosphorus 32; production; phosphorus compounds; chemical preparation; radiocolloids; isotope applications; hemophilia; radiopharmaceuticals*

## INTRODUCCIÓN

El uso de micropartículas radiomarcadas con emisores beta se ha mantenido dentro del foco de atención de la medicina nuclear para el tratamiento de la sinovitis crónica en las artropatías hemofílica y reumática, efusiones malignas en pleura y cavidad peritoneal entre otras entidades patológicas. A pesar del número de radionúclidos adecuados para estas aplicaciones, estudios recientes [1] demuestran que el P-32 continúa recibiendo gran atención debido a sus características físicas nucleares (T<sub>1/2</sub> 14,3 días, E<sub>β</sub> (máx.) 1,7 MeV y rango medio de penetración en tejido de 3 mm), bajo costo y buena disponibilidad. Es conocido el uso de preparados radiactivos con este isótopo, como la solución de fosfato de sodio P-32 en el tratamiento paliativo del dolor por metástasis óseas y en el tratamiento de la policitemia vera. El fosfato crómico P-32 amplía las posibilidades de tratamientos con el empleo de este isótopo. Diferentes preparados del compuesto han sido formulados en varios rangos de tamaños de partículas. Uno de los más utilizados, fundamentalmente en EE.UU., es el Phosphocol, comercializado por Mallinckrodt, cuya efectividad ha sido probada y en otros casos ensayada en la

radioterapia de diferentes metástasis presentes en espacios intraperitoneal, intrapleural, artropatías hemofílicas y articulaciones artríticas, en el tratamiento de cáncer de ovario en fase I; en el tratamiento de craneofaringiomas, en la terapia directa intratumoral de cáncer de mamas, de adenocarcinoma pancreático, y otros [2-6]. La vía de administración del preparado coloidal es directa dentro de la cavidad de ahí la importancia en la precisión de la inyección y la buena formulación del preparado en cuanto a estabilidad y tamaño, de manera que este sólo se deposite en el lugar deseado y las pérdidas por la salida de la articulación sean mínimas.

En la literatura aparecen varios métodos reportados para la obtención del fosfato crómico en forma de suspensiones (tp\* >1m), o soluciones coloidales (tp < 1m): el de Jones, Wroble y Lyon [7], Anghileri [8-11] y Brauer [12]. El primero se basa en la precipitación directa de fosfato crómico insoluble a partir de una solución de fosfato alcalino y de una de sal crómica soluble. Por este método no se obtienen resultados satisfactorios debido a la no uniformidad en el tamaño de partículas; el rendimiento en base al fósforo radiactivo no supera el 25%, además la duración de las

operaciones es de varios días de trabajo. Los otros dos métodos se basan en la reacción de oxidación-reducción que involucra al ácido ortofosfórico y al óxido de cromo en presencia de un agente reductor. En ambos casos se emplea exceso de cromo respecto a la cantidad necesaria para la estequiometría de la reacción.

En los métodos desarrollados por Anghileri se obtienen tanto suspensiones como soluciones coloidales en dependencia del empleo de agentes dispersores y estabilizadores. El agente más empleado fue la gelatina con la que se obtiene un producto en un rango de tamaño de partícula entre 0,06-2  $\mu\text{m}$ . Por estos métodos la preparación del fosfato crómico es mucho más rápida y simple respecto al de precipitación directa; el producto se obtiene directamente en el estado deseado, sin necesidad de ser calcinado y molido. Tiene la desventaja que por los valores tan elevados de pH, se pueden formar especies iónicas complejas no deseables del cromo como resultado de la hidrólisis de sus sales. El método de Brauer, es un macrométodo con el cual se obtienen valores más altos de tamaño de partículas (5-8 $\mu\text{m}$ ), aunque el resultado es dependiente del volumen de reacción.

En el presente trabajo se describe la obtención de preparados coloidales potencialmente útiles, de acuerdo con los estudios fisicoquímicos, y se aplican diferentes modificaciones al método de Anghileri, con el objetivo de disponer de un preparado para radiosinovetomía.

### MATERIALES Y MÉTODOS

En la preparación se emplearon P-32 libre de portador del Centro de Isótopos (CENTIS), óxido de cromo, ácido ortofosfórico, sulfito de sodio, gelatina y di-hidrógeno fosfato de amonio. Se empleó el Cr-51 en forma de cromato de sodio (Cis bio) para la estandarización de la metódica de preparación dado su facilidad de detección ( $T_{1/2}$  27,7 días, E 320 keV).

Básicamente se formularon dos preparados: uno similar al obtenido por Anghileri en [10] y otro con un ligero exceso de ácido ortofosfórico y de sulfito de sodio los que llamaremos preparados A y B respectivamente.

El método (como se explicó anteriormente) involucra la reacción del óxido de cromo con ácido fosfórico, con la cantidad P-32 necesaria para obtener la actividad específica deseada, en presencia del sulfito de sodio como agente reductor. En el caso del preparado B a diferencia del A, la gelatina se añade antes del sulfito de sodio. Para lograr la dispersión necesaria del preparado B se hizo un estudio de la cantidad de gelatina a añadir. La purificación del preparado A se realizó por intercambio iónico de forma similar a lo descrito en [11]. Para la evaluación del

contenido de fósforo en las fracciones eluidas se empleó la cromatografía en placas de PEI-celulosa y se utilizó 0,5M  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  como solvente y la autorradiografía. Las fracciones que mostraron mayor presencia de coloide se unieron y se extrajo una alícuota para medición de la pureza del preparado y se utilizó cromatografía de papel Whatman 1 y agua como solvente según se describe en la USP 24 [13]. El preparado final se esterilizó en autoclave durante 10 minutos a 100°C sin presión, nuevamente se le determinó la pureza y se almacenó a 4°C. La purificación del preparado B se realizó por centrifugación con varios procesos de lavado primero con hidrogenofosfato de amonio y luego con agua hasta eliminar el exceso de reaccionantes solubles. El preparado finalmente se resuspendió en solución de dextrosa 30%, alcohol bencílico y acetato de sodio 0,15M. La esterilización fue en autoclave a 120°C durante 15 minutos. Se obtuvieron varios lotes en los cuales se evaluó la pureza radioquímica según [9]. Para la estimación del tamaño de partícula de los preparados se empleó el método de filtración por membrana para lo cual se emplearon varios filtros de tamaño de poro entre 0,2  $\mu\text{m}$  - 5  $\mu\text{m}$ .

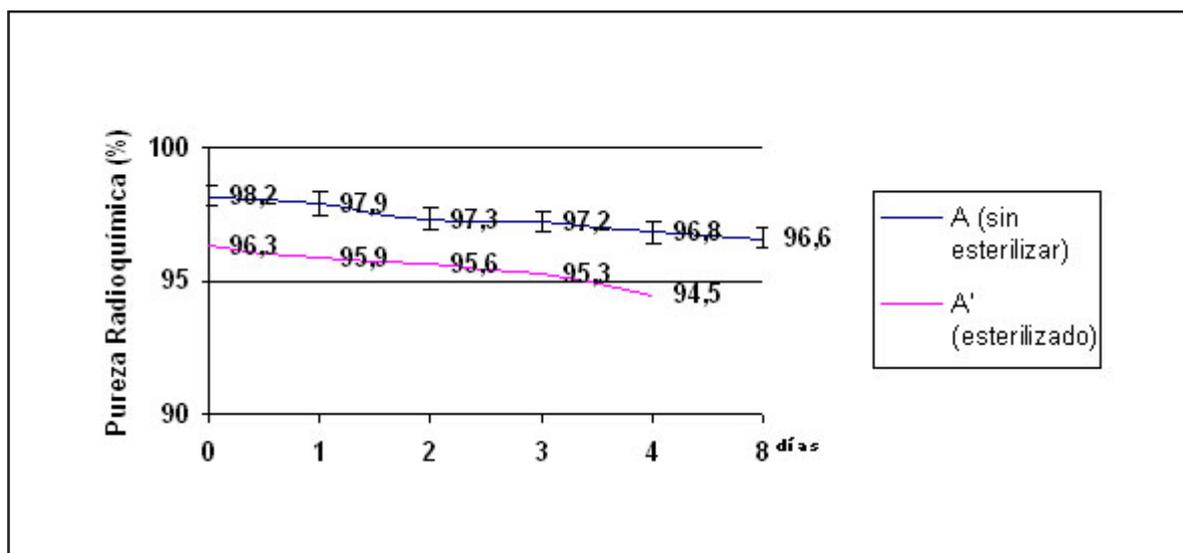
### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Por ambos métodos se obtienen fosfato crómico marcado con P-32 con un rendimiento entre 60-70% para el preparado A y entre un 50-60% para el B. Estos preparados son soluciones coloidales verde claras transparente y no sedimentables como lo describe Anghileri para la formulación A. La purificación por centrifugación es más simple y rápida pero las pérdidas son mayores debido al grado de dispersión del coloide, de ahí que se añadan grandes cantidades del agente floculante para obtener la precipitación. El tiempo de obtención de ambos preparados como producto final no excede una hora.

Es importante destacar las diferencias fundamentales que desde el punto de vista físico-químico presentan ambos preparados. El primero A es un coloide formado *in situ* sobre la micela proteica, en cambio el B es un microprecipitado absorbido sobre la micela. La formación del primero parece que se realiza en dos etapas: la reducción del ión cromato a  $\text{Cr}^{3+}$  y la unión de este último por covalencia a la gelatina. Varios autores plantean [11] que en el proceso de unión habría una atracción polar hacia los grupos carboxilos en el caso del ion  $\text{Cr}^{3+}$  y posteriormente se consolidaría por la unión covalente de coordinación entre los aminoterminales de la lisina y otros grupos básicos de las proteínas. En la segunda etapa ocurre la formación del fosfato crómico por interacción del cromo unido por covalencia a la proteína y al ácido fosfórico presente en solución. El fosfato crómico formado permanece así unido a la micela y se obtiene como resultado las denominadas soluciones coloidales verdaderas.

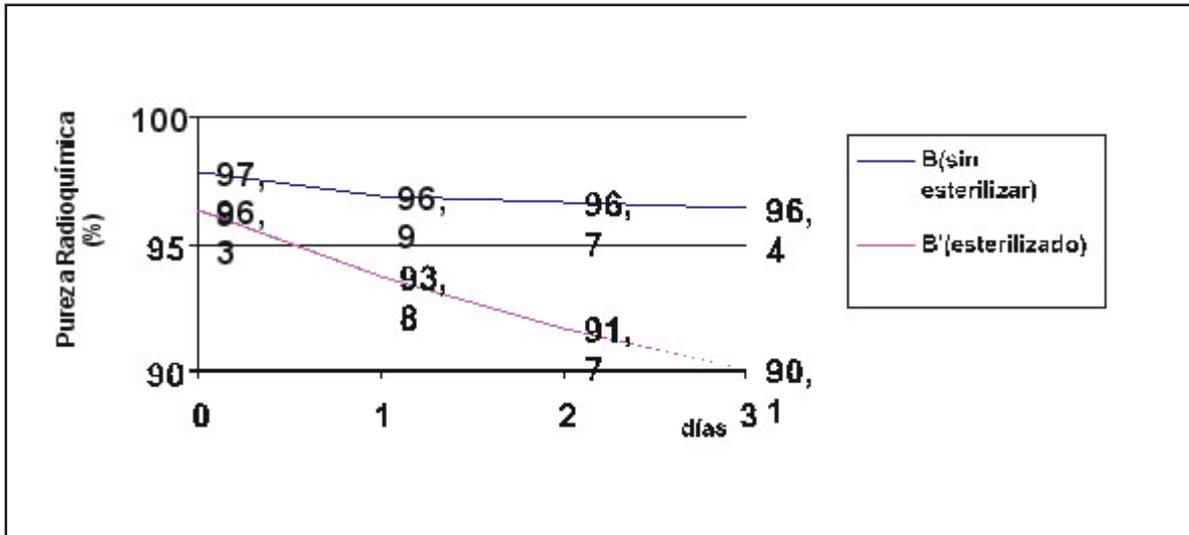
En el preparado B la formación del fosfato crómico es anterior a la incorporación de la gelatina y se obtiene una absorción de las partículas sobre las micelas coloidales. Con esta modificación del método de Anghileri (con exceso de ácido ortofosfórico) se obtiene el fosfato crómico con un rendimiento entre un 50-60% de fósforo 32, lo cual es ligeramente superior a lo reportado por Anghileri (30-40%). El objetivo es minimizar la formación de cationes complejos que pueden aparecer como resultado de la hidrólisis de las sales de cromo (III) debido a la acción reductora del sulfito (en exceso) y la temperatura [14]. Otro inconveniente que tiene el exceso de ión cromato es que puede ocurrir la desnaturalización de las proteínas, ya que según explican algunos autores, [9] la carga negativa del mismo disminuye la carga positiva de la proteína coloidal lo que causa su precipitación y eventual desnaturalización.

En las figuras 1 y 2 se observa que por ambos métodos se obtienen preparados con más de un 97% de pureza radioquímica. Los preparados sin esterilizar mantienen una buena estabilidad en el tiempo, lo que corrobora que la gelatina y la dextrosa son buenos estabilizadores. Cuando ocurre la esterilización por autoclave sobre todo para el preparado B, el valor de pureza radioquímica disminuye hasta un 2% lo que hace necesario buscar alternativas de este proceso, ya que el porcentaje de pureza mínimo aceptable según USP es de un 95%. El tamaño de las partículas obtenido para A y B (figura 3) se encuentra en más de un 90% entre 0,22  $\mu\text{m}$  - 1  $\mu\text{m}$ , típicos de soluciones coloidales y que según los valores reportados, en la literatura los hacen potencialmente útiles para tratamiento de artropatías hemofílicas, efusiones intraperitoneales, pleurales y artritis reumatoides. A pesar de la limitación en cuanto a estabilidad en tiempo, ambos productos se encuentran listos para ser ensayados en animales.



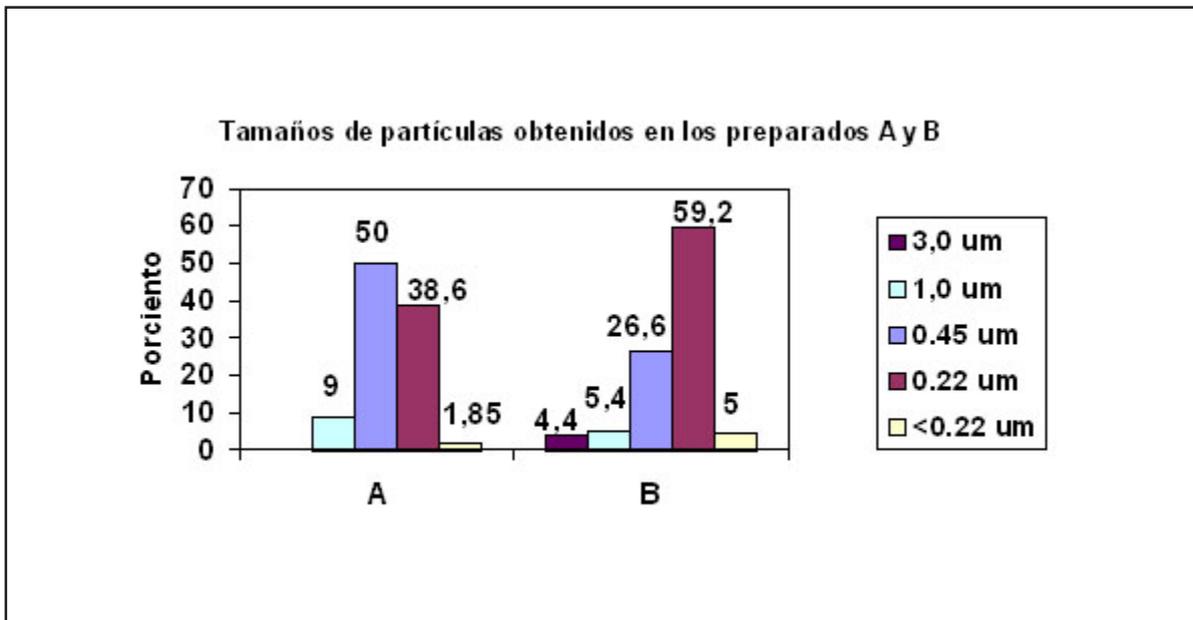
	0	1	2	3
<b>B (sin esterilizar)</b>	97,9±0,30	96,9±0,21	96,7±0,34	96,4±0,27
<b>B' (esterilizado)</b>	96,3±0,20	93,8±0,15	91,7±0,10	90,3±0,18

Figura 1. Preparado Coloidal A antes y después de esterilizado.



	0	1	2	3
<b>B (sin esterilizar)</b>	97,9±0,30	96,9±0,21	96,7±0,34	96,4±0,27
<b>B' (esterilizado)</b>	96,3±0,20	93,8±0,15	91,7±0,10	90,3±0,18

Figura 2. Preparado Coloidal B antes y después de esterilizado.



**CONCLUSIONES**

Se dispone de dos preparados coloidales de un alto porcentaje de pureza radioquímica, útiles para ser ensayados en animales.

**RECOMENDACIONES**

Continuar ajustando las condiciones físico-químicas de los preparados de modo que garanticen una buena estabilidad.

**REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

[1] SILVA, M., LUCK, J.V., SIEGEL, M.E., P32 Chromic phosphate radiosynovectomy for chronic haemophilic synovitis, *Hemofilia Suppl.* 2 (2001), 40-49.  
 [2] RIVARD, G.E., GIRARD, M., GIRARD, M., LAMARRE, C., LAMARRE, C., JUTRAS, M., JUTRAS, M., DANAI, S., GUAY, J.P., BÉLANGER, R.D., Synoviorthesis with colloidal <sup>32</sup>P chromic phosphate for hemophilic arthropathy: clinical follow-up., *Arch Phys Med Rehabil* 66 (noviembre, 1985)66753-6.  
 [3] SOPER, J.T., CREASMAN, W.T., CLARKEPEARSON, D.L., y otros, Intraperitoneal chromic phosphate P-32 suspension therapy of malignant peritoneal cytology in endometrial carcinoma; *Am J Obstet Gynecol* 153 (septiembre, 1985)191-6.  
 [4] PIVER, M.S., LELE, S.B., BAKSHI, S., PARTHASARATHY, K.L., EMRICH, L.J., Five and ten year

estimated survival and disease-free rates after intraperitoneal chromic phosphate, stage I ovarian, adenocarcinoma, *Am J. Clin. Oncol.* 11 oct. (1988)515-9.  
 [5] TAASAN, V., SHAPIRO, B., TAREN, J.A., BEIERWALTES, W.H., MCKEEVER, P., WAHL, R.L., CAREY, J.E., PETRY, N., MALLETT, S., Phosphorus32 therapy of cystic Grade IV astrocytomas: technique and preliminary application., *J. Nucl. Med.*, 26 nov (1985)1335-8.  
 [6] CROLL, M.N., BRADY, L.W., Intracavitary uses of colloids, *Semin. Nucl. Med.* 9 (apr. 1979)108-13.  
 [7] JONES, H.B. y otros, *J. Clin. Invest.*, 28 (1944)783.  
 [8] ANGHILERI, L.J., Rapid Method for obtaining colloidal suspensions of phosphorous 32 as Chromic Phosphate.  
 [9] ANGHILERI, L.J., In vivo distribution of radioactive chromium phosphate: influence of the particle size and route of injection, *International Journal of Applied Radiation and Isotopes* Vol. 16 (1965)623-630.  
 [10] ANGHILERI, L.J., MARQUÉZ, R., New Colloidal Chromic Radiophosphate P-32 for local Irradiation of Central Nervous System, *International Journal of Applied Radiation and Isotopes*, Vol. 18 (1967)97-100.  
 [11] ANGHILERI, L.J., Studies on Colloidal Chromic Phosphate: An Improved Method of preparation and in situ precipitation by injection of papain, *International Journal of Applied Radiation and Isotopes*, Vol. 19 (1968)415-420.  
 [12] Brauer Rukovostvo po neorganicheskomu sintezu, V shesti Tomax, T. 5 Per s Nem./Pod red. G Brauerra, M. Mir (1985)360.  
 [13] United States pharmacopoeia, XXII (1990)1077-1078.  
 [14] Gazo, Química general e inorgánica, 605.

# REVISTAS NUCLEARES DE IMPACTO

- ANNUAL REVIEW OF NUCLEAR SCIENCE (5.471)\*
- JOURNAL OF NUCLEAR MEDICINE (4.015)
- RADIOLOGY (3.800)
- NUCLEAR PHYSICS B (3.722)
- EUROPEAN JOURNAL OF NUCLEAR MEDICINE (2.690)
- ATOMIC DATA AND NUCLEAR DATA TABLES (2.545)
- NUCLEAR FUSION (2.475)
- INTERNATIONAL JOURNAL OF RADIATION ONCOLOGY BIOLOGY PHYSICS (2.321)
- RADIATION RESEARCH (2.314)
- PHYSICAL REVIEW C-NUCLEAR PHYSICS (1.842)
- NUCLEAR PHYSICS A (1.821)
- ANTIBODY IMMUNOCONJUGATES AND RADIOPHARMACEUTICALS (1.800)
- RADIOTHERAPY AND ONCOLOGY (1.799)
- AMERICAN JOURNAL OF NEURORADIOLOGY (1.733)
- ADVANCES IN RADIATION BIOLOGY (1.714)
- SEMINARS IN NUCLEAR MEDICINE (1.603)
- PROGRESS IN PARTICLE AND NUCLEAR PHYSICS (1.354)
- ZEITSCHRIFT FUR PHYSIK A-HADRONS AND NUCLEI (1.326)
- RADIOLOGIC CLINICS OF NORTH AMERICA (1.316)
- JOURNAL OF NUCLEAR MATERIALS (1.264)
- NUCLEAR INSTRUMENTS & METHODS IN PHYSICS RESEARCH SECTION A-ACCELERATORS  
SP (1.188)
- IEEE TRANSACTIONS ON NUCLEAR SCIENCE (1.183)
- JOURNAL OF PHYSICS G-NUCLEAR AND PARTICLE PHYSICS (1.142)
- NUCLEAR MEDICINE AND BIOLOGY (1.132)
- NUCLEAR MEDICINE COMMUNICATIONS (1.078)
- RADIOGRAPHICS (1.078)
- CARDIOVASCULAR AND INTERVENTIONAL RADIOLOGY (1.073)
- NUCLEAR INSTRUMENTS & METHODS IN PHYSICS RESEARCH SECTION B-BEAM  
INTERACTION (1.073)

( ) \* **Factor de Impacto**

## INSTRUCCIONES A LOS AUTORES

### PARA PUBLICAR EN CIENCIAS NUCLEARES

Los artículos deben tener una extensión máxima de 10 cuartillas incluidas tablas (un máximo de 5) e ilustraciones (un máximo de 5). Se entregarán en disquete, en Word y en Arial 11. El total de líneas por páginas es 30 como máximo.

Los artículos tendrán el siguiente orden: Resumen (en español e inglés), Introducción, Materiales y métodos, Resultados, Discusión, Conclusiones, Recomendaciones (opcional), Agradecimientos (opcional), Referencias Bibliográficas y Bibliografía Consultada. Estas secciones deben estar bien definidas, aunque no necesariamente con subtítulos.

Los artículos están sujetos a arbitraje y a la aprobación del Consejo Editorial.

**Autor (es):** Especificar nombres y dos apellidos así como la institución de procedencia. Los autores deben enumerarse por orden de importancia en relación con los experimentos e investigaciones realizadas (el primero como autor principal).

**Título:** No debe exceder de 100 letras, o 15 palabras, ni contener abreviaturas, fórmulas químicas, ni nombres patentados (en lugar de genéricos). Debe aparecer en español e inglés.

**Resumen:** No debe exceder de 150 palabras, ni contener siglas, abreviaturas ni referencias bibliográficas. Debe aparecer en pretérito, en español e inglés.

**Introducción:** Exponer con toda la claridad posible, la naturaleza y alcance de la investigación, revisar las publicaciones pertinentes, indicar el método de investigación si se estima necesario, mencionar los principales resultados de la investigación y expresar la conclusión o conclusiones principales sugeridas por los resultados.

**Materiales y métodos:** La mayor parte de esta sección debe escribirse en pasado y dar toda clase de detalles. La finalidad principal es describir y que los resultados obtenidos sean reproducibles. En los materiales hay que incluir las especificaciones técnicas y las cantidades exactas, así como la procedencia o el método de preparación. Se deben emplear los nombres genéricos o químicos.

**Resultados:** Debe hacerse una descripción amplia, clara y sencilla de los experimentos, ofreciendo un panorama general pero sin repetir los detalles experimentales de los Materiales y Métodos. Se deben presentar los datos más representativos. La exposición debe redactarse en pretérito.

**Discusión:** Deben presentarse de forma expositiva los principios, relaciones y generalizaciones que los Resultados indican. Se deben señalar las excepciones o las faltas de correlación y delimitar los aspectos no resueltos. Mostrar cómo concuerdan (o no) los resultados e interpretaciones con los trabajos anteriormente publicados. Deben exponerse las consecuencias teóricas del trabajo y sus posibles aplicaciones prácticas. Resume las pruebas que respaldan cada conclusión. Los tiempos verbales oscilarán entre el presente y el pasado.

**Conclusiones:** Deben formularse lo más clara posible. Pueden estar incluidas en la Discusión.

Recomendaciones (opcional)

**Agradecimientos** (opcional): Se debe agradecer cualquier ayuda técnica importante recibida de cualquier persona que haya colaborado en el trabajo, experimento, o provisión de equipos, materiales especiales, y otros. Pueden utilizarse frases como «doy las gracias a ...»

**Referencias bibliográficas:** Deben enumerarse solo obras importantes y publicadas. Si una referencia parece absolutamente esencial, se podrá añadir al texto entre paréntesis o como nota de pie de página. Deben cotejarse todas las partes de cada referencia contra la publicación original antes de presentar el artículo. Las referencias en el texto deben hacerse con números entre corchetes en el lugar en que se apliquen y siguiendo un orden consecutivo.

## INSTRUCCIONES A LOS AUTORES

**Bibliografía consultada:** Debe enumerarse con números arábigos entre corchetes al final del trabajo. Los títulos de las publicaciones periódicas deben adecuarse al sistema INIS (véase EAEA-INIS-11). No deben incluirse las referencias a trabajos no publicados.

**Abreviaturas, siglas y símbolos:** Deben ser los aceptados internacionalmente. Las abreviaturas y siglas deben explicarse la primera vez que se mencionan. Los símbolos y caracteres griegos, al igual que los subíndices y supraíndices, deben definirse claramente.

**Tablas:** Deben ordenarse con numeración arábica e incluirse al final del trabajo. Los términos, las abreviaturas y los símbolos utilizados en las figuras deben ser los mismos que aparecen en el texto. No utilice caracteres, ni símbolos poco frecuentes (son preferibles los círculos, cuadrados o triángulos en blanco o rellenos). Si son muy complejos deben aclararse en una leyenda concisa. Los símbolos y caracteres deben ser claros y de tamaño suficiente, de manera que al reducirlos para la publicación sean legibles.

**Ecuaciones y fórmulas:** Deben escribirse con precisión, en especial los subíndices y supraíndices. Evite el uso de exponentes complicados y la repetición de expresiones elaboradas.

**Unidades:** Como norma general deberá emplearse el Sistema Internacional de Unidades y prescindir de símbolos y abreviaturas inadecuados.

### PARA PUBLICAR EN OTRAS SECCIONES

Los artículos de las demás secciones de la revista deben tener como objetivo la difusión, con rigor científico y de forma asequible al público en general, de temas relacionados con la energética nuclear, las diversas aplicaciones de las técnicas nucleares, la seguridad nuclear, la protección radiológica, salvaguardias y no proliferación, energía nuclear e información pública, entre otros. Los trabajos no deben exceder las 10 cuartillas, incluidas ilustraciones y tablas. En las tablas e ilustraciones se seguirán las mismas indicaciones que rigen para los artículos de la sección Ciencias Nucleares. Las secciones son las siguientes: Panorama, Ámbito Regulatorio, Salvaguardias y No Proliferación, y En la Espiral.

Los artículos están sujetos a la aprobación del Consejo Editorial.

### INFORMACIÓN GENERAL

Los trabajos que no se acepten se devolverán al autor.

Los autores recibirán de forma gratuita un ejemplar de la revista donde aparece publicado su artículo.

### VÍAS DE PRESENTACIÓN

**En la redacción de la revista:**

Calle 20, No. 4111-4113 e/ 18A y 47, Playa, Ciudad de La Habana  
por fax: (537) 204 1188

**correo electrónico:** nucleus@cubaenergia.cu