

I RADIOFARMACI



FARMACO

- Un medicinale viene definito come
 - ” *ogni sostanza o composizione presentata come avente proprietà curative o profilattiche delle malattie umane o animali, nonché ogni sostanza o composizione da somministrare all’uomo o all’animale allo scopo di stabilire una diagnosi medica o di ripristinare, correggere o modificare funzioni organiche dell’uomo o dell’animale*”



DEFINIZIONE DI RADIOFARMACO

- per radiofarmaco “*qualsiasi medicinale che, quando è pronto per l’uso, include uno o più radionuclidi, incorporati per uso sanitario*” (direttiva CEE 89/343, decreto legislativo 187).

Composto costituito da un vettore (**farmaco**) e da un **radionuclide** impiegato a scopo diagnostico o terapeutico

I radiofarmaci impiegati a scopo diagnostico sono detti anche **traccianti**, in quanto sono impiegati per tracciare processi fisiologici e patologici



RADIOFARMACI

Impiegati in medicina nucleare a scopo diagnostico o terapeutico

Hanno tutte le caratteristiche di purezza e atossicità necessarie per l'uso nell'uomo

Sono dei prodotti medicinali

Devono essere preparati e somministrati seguendo

- le normative in vigore per l'uso di qualunque farmaco
- norme che regolano l'uso di sorgenti radioattive.



RADIOFARMACI

il termine “pronto per l’uso” si riferisce al momento e alla sede in cui il radiofarmaco risulta idoneo all’impiego nell’uomo, si tratta spesso di eseguire nel servizio di medicina nucleare delle operazioni di chimica sui costituenti che richiedono assicurazione di qualità delle fasi di preparazione



RADIOFARMACI

Un radiofarmaco per sua definizione non deve indurre modificazioni nell'organismo in cui viene introdotto, generalmente la quantità ponderale di sostanza è estremamente piccola , una volta introdotta nell'organismo se non fosse radioattiva, sarebbe difficilmente rilevabile chimicamente.

Anche per questa ragione le reazioni avverse sono da ritenersi eventi eccezionali e quando occorrono, sono di entità molto limitata.

Tali concetti si applicano anche ai radiofarmaci per uso terapeutico in radioterapia metabolica, infatti non è la sostanza introdotta ad esercitare l'effetto terapeutico, ma la radioattività legata alla molecola che ne determina l'affinità per taluni tessuti.



RADIOFARMACI

I radiofarmaci sono da considerare preparazioni farmaceutiche contenenti uno o più radionuclidi, somministrabili :

per via endovenosa (ev)

via orale (po)

via intradermica / sottocutanea

per inalazione

per via endocavitaria

localmente “in situ” (solo per terapia)



RADIOFARMACI

Secondo il tipo di radionuclide i radiofarmaci possono essere da uso

Diagnostico:

Per l'imaging (gamma, beta+)

Non-imaging (gamma, beta -, beta+)

Terapeutico (beta-, alfa)



RADIOFARMACI

	<i>DIAGNOSTICI</i>	<i>TERAPEUTICI</i>
Emissione radioattiva	Gamma, beta +	Beta -, EC (elettroni di conversione), alfa
Emivita effettiva	Fitting con il destino metabolico	Fitting con il destino metabolico e residenza nel target
Stabilità in vivo	Tollerabile una degradazione parziale	massimale
Impurità	<5%	<<3%



RADIOFARMACI

La **Forma farmaceutica** finale può essere:

soluzione , ad es Na I131

sospensione colloidale (ad es 99mTc-solfuro colloidale) o **sospensione di particelle**

aerosol

gas (es. Xe 133)

gas in soluzione (es Xe 188 in soluzione fisiologica)

capsule (es di 131 I)



RADIOFARMACI

Presentazione commerciale:

pronti per l'uso, quindi già presenti nella forma fisica e chimica utilizzabile direttamente

generatore, l'utilizzatore otterrà il radiofarmaco o meglio il nuclide in forma ionica, eluendo il generatore stesso

kit inattivo, di solito in forma liofila, l'utilizzatore dovrà provvedere alla marcatura della sostanza



I Nuclidi

Nuclide:

Un nucleo caratterizzato da una precisa **struttura atomica** con un determinato numero di protoni (p) e di neutroni (n).

Radionuclide:

Un nuclide instabile che possiede un decadimento nucleare spontaneo o una trasformazione nucleare spontanea.

Isotopi:

Nuclidi con lo stesso numero atomico e con le medesime proprietà chimiche.

Isomeri:

Nuclidi con lo stesso numero di protoni e neutroni ma diverso stato energetico.



Identificazione di un radiofarmaco

- **radionuclide** (simbolo e numero di massa) ad es ^{111}In
- **forma chimica**, ad es ioduro di sodio (Na I)
- **radioattività** alla data ed ora specificata, a sua volta definita da
 - **radioattività totale** in Bq o multipli (di frequente è ancora presente il corrispettivo in Ci)
 - **attività specifica**, cioè il rapporto tra radioattività e massa (grammo o mole) della molecola radioattiva, ad es MBq / nmole
 - **concentrazione radioattiva**, cioè rapporto tra la radioattività e il volume della soluzione (MBq/ml)
- **volume** totale della soluzione



- **radioattività totale** in Bq o multipli (di frequente è ancora presente il corrispettivo in Ci)
- **attività specifica** , cioè il rapporto tra radioattività e massa (grammo o mole) della molecola radioattiva, ad es MBq / nmole
- **concentrazione radioattiva**, cioè rapporto tra la radioattività e il volume della soluzione (MBq/ml)



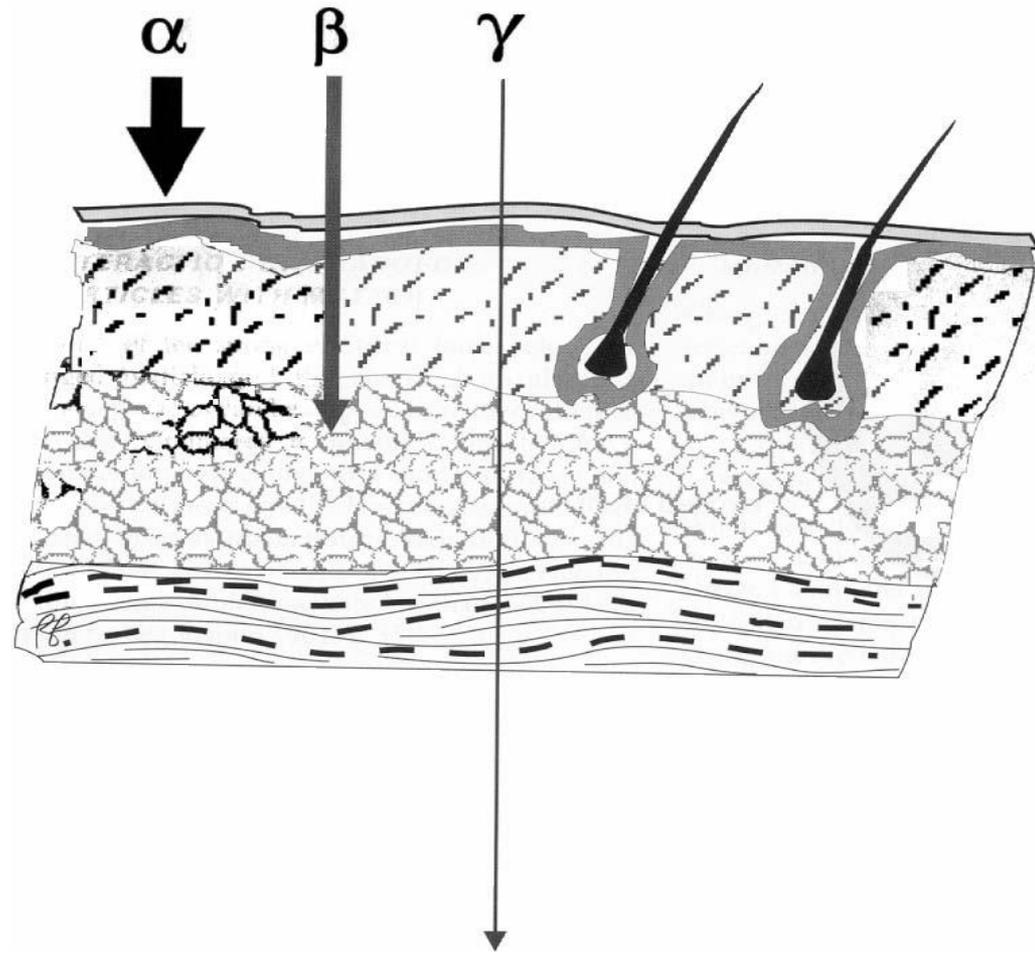
Caratteristiche ottimali di un radiofarmaco per uso diagnostico

- Disponibilità costante
- Facile sintesi
- Breve emivita
- Emissione γ
- Localizzazione esclusiva nell'organo in esame
- Bassa dosimetria



CARATTERISTICHE OTTIMALI DI RADIAZIONI PER L'USO DI UN RADIONUCLIDE A SCOPO DIAGNOSTICO

Le radiazioni corpuscolate sono poco penetranti e ad alto LET (linear energy transfer). Non permettono di ottenere immagini e producono ionizzazioni ed effetti dannosi sulle molecole degli organismi direttamente e indirettamente attraverso la produzione di radicali liberi



Caratteristiche ottimali di un radionuclide per uso diagnostico

Tipo di Emissione:

Gamma puro: (Particelle Alfa e Beta non permettono di ottenere immagini e danno dosi di radiazioni elevate)

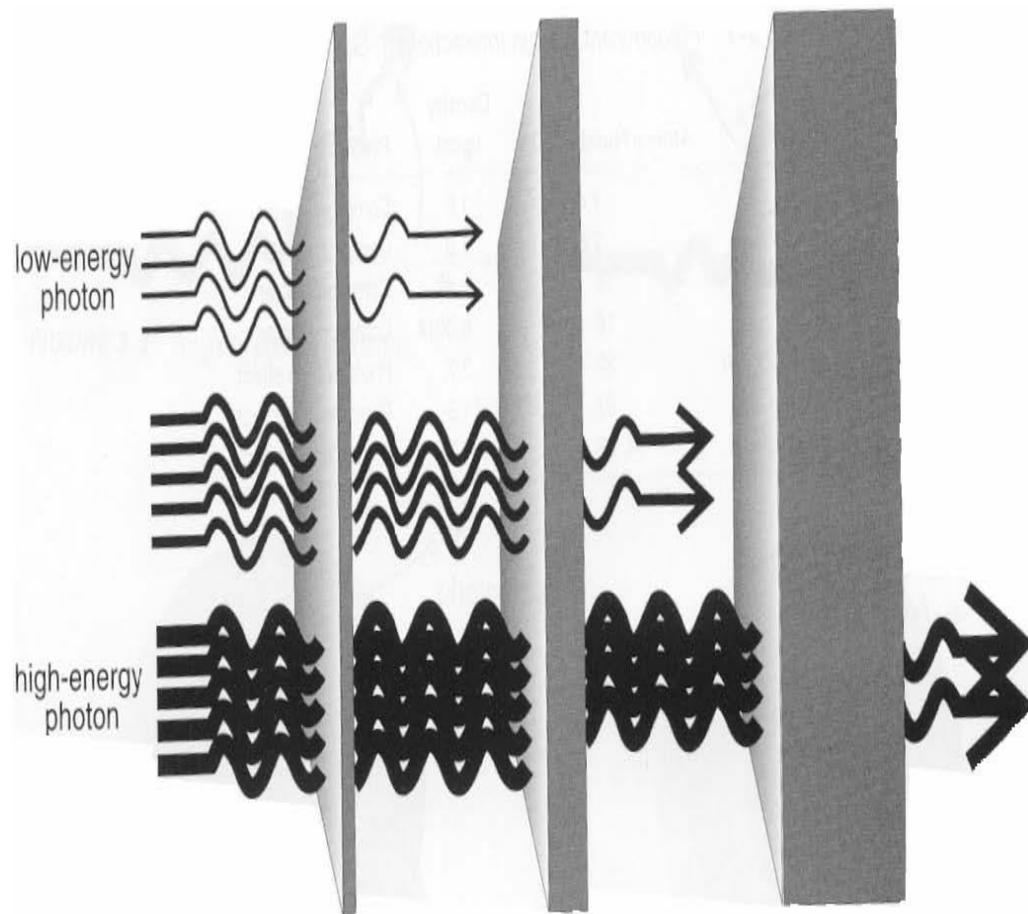
Energia gamma:

- Ideale: 100-250 keV e.g. ^{99m}Tc , ^{123}I , ^{111}In
- Subottimale: <100 keV e.g. ^{201}Tl
>250 keV e.g. ^{67}Ga & ^{131}I
- **Elevata abbondanza di fotoni**



Caratteristiche ottimali di un radionuclide per uso diagnostico

- Ideale 100-250 keV
 - ^{99m}Tc
 - ^{123}I
 - ^{111}In
- Subottimale <100 keV
 - ^{201}Tl
- Subottimale >250 keV
 - ^{67}Ga
 - ^{131}I



Proprietà dei farmaci iniettabili

- Sterile
- apirogeno
- Isotonico
- pH fisiologico

Come controllo che i radiofarmaci abbiano queste proprietà?

ATTRAVERSO I CONTROLLI DI QUALITA'



CONTROLLO DI QUALITA' DEI RADIOFARMACI

- **Serie di saggi, analisi e osservazioni che permettono di:**
 - Stabilire oltre ogni ragionevole dubbio la identità, qualità e quantità di un radiofarmaco e dei suoi componenti
 - Dimostrare che la tecnologia impiegata nella formulazione porta ad un radiofarmaco con le caratteristiche di massima sicurezza, purezza ed efficacia.



PROPRIETA' DEI RADIOFARMACI

- **I radiofarmaci NON HANNO:**
 - Effetto farmacologico
 - Meccanismo d'azione
 - Azione terapeutica radiante se diagnostici
- **I radiofarmaci HANNO**
 - Funzione diagnostica
 - Funzione terapeutica
 - Meccanismo di localizzazione
 - Energia fisica liberata significativa se terapeutici



CRITERI DI SELEZIONE DEI RADIOFARMACI

- **Farmacocinetica**
 - Apparato, organo e processo in esame
 - Meccanismo di localizzazione
 - Emivita biologica

- **Tipo di emissione radioattiva**
 - Energia
 - Tipo di decadimento
 - Emivita fisica



Principi per l'impiego dei radiofarmaci

- L'uso di un radiofarmaco richiede che si conosca quali sono i parametri fisiologici e biochimici che ne determinano la **biodistribuzione**, **captazione**, **il metabolismo** ed **eliminazione** sistemica e regionale
- La descrizione dei comportamenti dei radiofarmaci si basa sulle correnti metodiche di farmacocinetica
- I radiofarmaci sono somministrati in **quantità traccianti**, in dosi sufficienti a seguire il processo in esame, ma **irrilevanti** dal punto di vista biologico e farmacologico



Proprietà dei radiofarmaci-traccianti

- Massa del tracciante non superiore all'1% della massa del substrato tracciato, perché i processi esaminati non siano perturbati
- Elevata attività specifica (alta concentrazione d'attività per unità di massa del tracciante) per essere rivelabili a basse concentrazioni
- Comportamento identico alle sostanze di cui tracciano il comportamento in vivo, o differenze prevedibili



Proprietà dei radiofarmaci-traccianti

- L'attività specifica é diversa dalla concentrazione specifica (l'attività per volume del veicolo del radiofarmaco)
- La sostituzione di un atomo stabile con un suo radioisotopo, può alterare la struttura molecolare producendo una variazione delle caratteristiche chimico-fisiche, di biodistribuzione e cinetiche della molecola marcata (effetto isotopico)



Forme farmaceutiche dei radiofarmaci

- **Forma**
 - Solida
 - Liquida
 - Gassosa

- **Somministrati secondo la formulazione per via**
 - Orale
 - Inalatoria
 - Intravascolare
 - Intratecale
 - Intraperitoneale



Classificazione dei radiofarmaci rispetto ai substrati e ai processi di cui seguono il comportamento

- **Omogenei**
 - Comportamento identico a quello di un normale costituente dell'organismo
- **Ad equivalenza eterogenea**
 - Hanno un comportamento simile ma non identico a quello di una sostanza normalmente presente nell'organismo
- **Indicatori**
 - Non sono normali costituenti dell'organismo, ma permettono di tracciare processi poco specifici



Radiofarmaci omogenei

- **Comportamento identico** a quello di un normale costituente dell'organismo

ESEMPI:

- Iodio radioattivo, utilizzato in luogo dello iodio stabile
- Composti che contengono atomi di carbonio, azoto e ossigeno, tutti elementi che sono normalmente presenti nelle molecole degli organismi viventi e che sono facilmente sostituibili con i rispettivi isotopi radioattivi: **carbonio-11, azoto-13, ossigeno-15.**



- Tutti i normali costituenti dell'organismo marcati con radionuclidi in modo che **non ne sia alterata la struttura**, (es.: glucosio marcato con uno o più atomi di carbonio radioattivo in luogo degli atomi di carbonio stabile)
- Necessari per lo studio di processi chimici molto specifici, nei quali variabili come la polarità ottica, l'angolo di un legame interatomico, la conformazione molecolare, possono determinare differenze rilevanti tra il substrato di cui si vuole esaminare il comportamento e il tracciante impiegato a tale scopo.



Traccianti ad equivalenza eterogenea

- Hanno, per analogie chimiche, un **comportamento simile ma non identico** a quello di una sostanza normalmente presente nell'organismo (es.: stronzio rispetto al calcio)
- Ovvero **analogie di comportamento metabolico** pur appartenendo a gruppi chimici diversi (es.: tallio rispetto al potassio)
- Sono radiofarmaci molto simili ai normali costituenti dell'organismo, e si comportano in maniera analoga ad un costituente dell'organismo, (es.: desossiglucosio)
- Presentano spesso **minime differenze rispetto all'elemento o al composto di cui seguono il comportamento**, che possono essere sfruttate per esaminare specifici passaggi in una sequenza metabolica o un processo biochimico



Indicatori

- **Non sono normali costituenti dell'organismo**, ma permettono di tracciare processi poco specifici (funzione renale, perfusione, escrezione, volume intravascolari etc.)
- **Positivi**, se si accumulano in siti patologici (es. il gallio-67 citrato si concentra nei siti d'infezione)
- **Negativi**, se elettivamente non si localizzano nei siti patologici (es. il tecnezio-99 metastabile nei noduli tiroidei maligni)
- Frequentemente marcati con atomi di massa relativamente elevata, come lo I-123 ($Z=53$) o il Tc-99m ($Z=43$),
- **Hanno comportamento diverso da quello di qualunque altra molecola presente normalmente nell'organismo.**



MECCANISMI DI LOCALIZZAZIONE DEI RADIOFARMACI

- I meccanismi che regolano la concentrazione dei radiofarmaci sono molto eterogenei e comprendono:
 - **la semplice permanenza di un radiofarmaco all'interno di un determinato compartimento** (spazio) per il tempo necessario ad ottenere informazioni utili
 - **l'embolizzazione** microvascolare con aggregati e particelle
 - **trasporto** di sostanze chimiche attraverso le membrane cellulari
 - **legame in siti recettoriali**
 - **rimozione dal sangue di cellule intenzionalmente modificate**
 - reazioni **antigene-anticorpo**



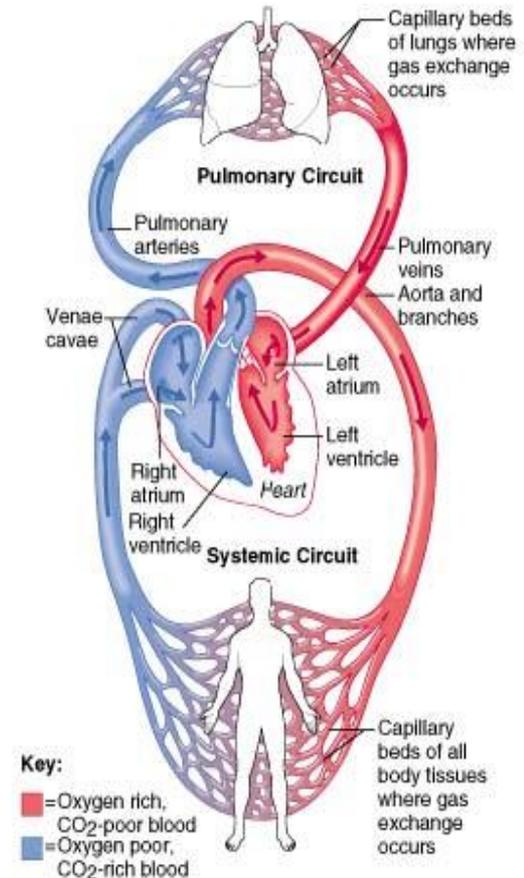
MECCANISMI SELETTIVI DI LOCALIZZAZIONE DEI RADIOFARMACI

- Trasporto attivo
- Intrappolamento nei capillari
- Fagocitosi
- Scambio ionico
- Assorbimento chimico
- Compartimentalizzazione
- Diffusione
- Intrappolamento metabolico
- Legame recettoriale
- Reazione Ag-Ab
- Escrezione
- Diluizione



MECCANISMI SELETTIVI DI LOCALIZZAZIONE DEI RADIOFARMACI: MICROEMBOLIZZAZIONE

- Il **blocco capillare** implica la **microembolizzazione** volontaria del letto microvascolare mediante particelle con dimensioni di poco superiori a quelle dei capillari (mediamente un capillare ha diametro di $7\ \mu\text{m}$; le particelle di **macroaggregati d'albumina per la scintigrafia perfusoria polmonare** hanno diametro compreso tra 10 e $90\ \mu\text{m}$). Il numero di particelle iniettate deve essere conosciuto, al fine di evitare che l'embolizzazione sia eccessiva e possa far precipitare le condizioni cliniche in pazienti critici



Copyright © 2001 Benjamin Cummings, an imprint of Addison Wesley Longman, Inc.



MECCANISMI SELETTIVI DI LOCALIZZAZIONE DEI RADIOFARMACI: MICROEMBOLIZZAZIONE

■ **Aspecifico**

- Intrappolamento fisico di particelle più grandi dei capillari periferici
- Il numero dei capillari embolizzati (1%) dipende dalle dimensioni e numero delle particelle

■ **^{99m}Tc MAA**

- Distribuzione in funzione dell' anatomia vascolare polmonare
- Emivita effettiva nei polmoni 3-4 ore
- Eliminazione per fagocitosi e degradazione metabolica



MECCANISMI SELETTIVI DI LOCALIZZAZIONE DEI RADIOFARMACI: FAGOCITOSI

La **fagocitosi** implica la localizzazione di particelle all'interno di cellule; in questo caso, **le dimensioni fisiche delle particelle determinano il tipo di cellule che potranno fagocitare il radiofarmaco**. Ad esempio i traccianti colloidali con dimensioni 0.1-2 μ m sono captati dalle cellule del sistema reticolo-endoteliale del fegato dopo la loro somministrazione per via endovenosa. Se le dimensioni delle particelle sono inferiori, aumenta la quota fagocitata dalle cellule del midollo osseo.



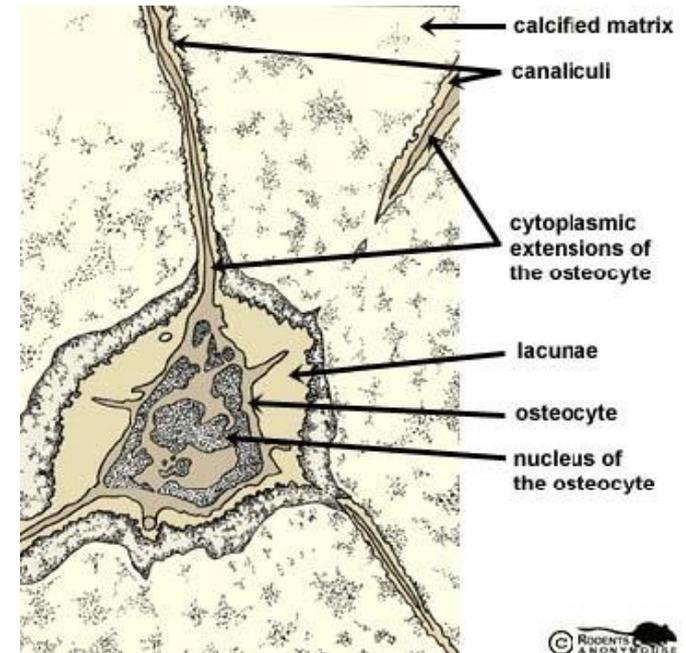
MECCANISMI SELETTIVI DI LOCALIZZAZIONE DEI RADIOFARMACI: FAGOCITOSI

- **Piccole particelle**
 - Sistema reticolo-endoteliale (fegato, milza, midollo osseo e sistema linfatico)
 - Il numero dei capillari embolizzati (1%) dipende dalle dimensioni e numero delle particelle
- **^{99m}Tc Zolfo colloidale**
 - Alto margine di sicurezza (volume di distribuzione molto grande)
 - Emivita effettiva praticamente uguale all' emivita fisica

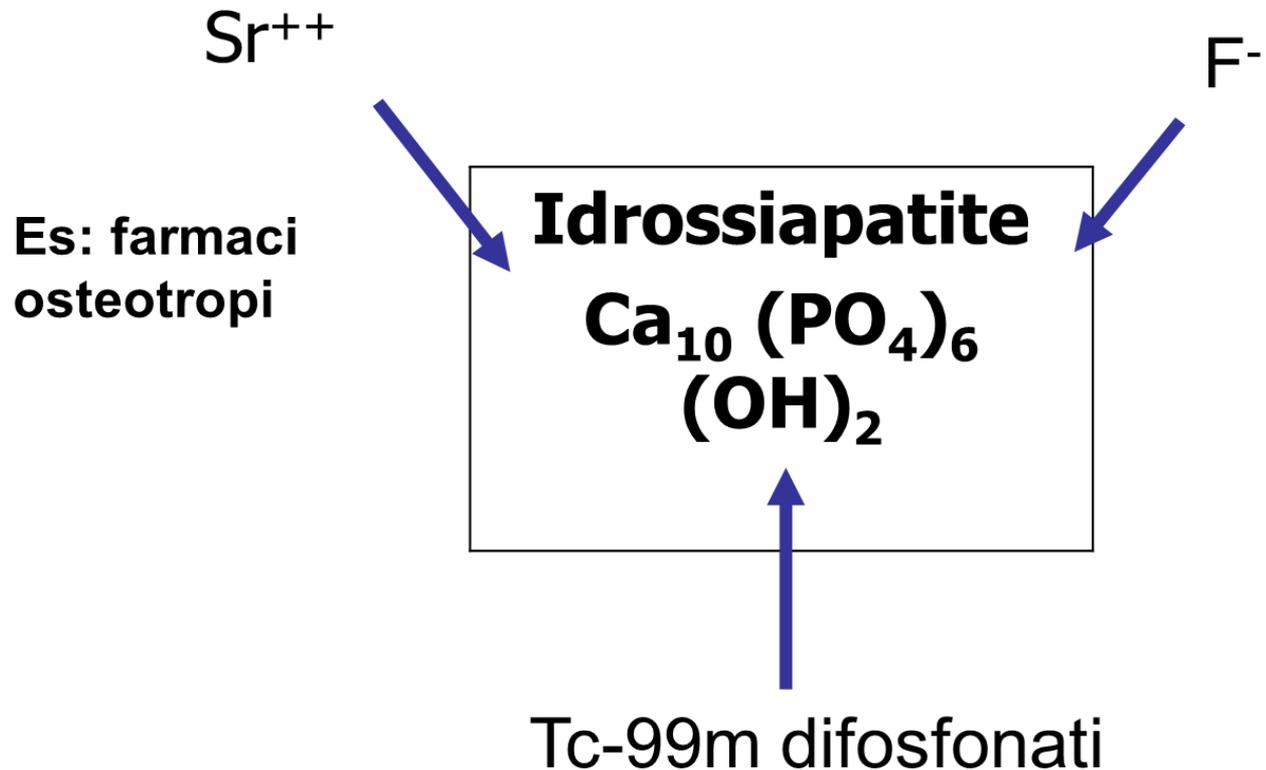


MECCANISMI SELETTIVI DI LOCALIZZAZIONE DEI RADIOFARMACI: RADIOFARMACI: LEGAME CHIMICO-FISICO

Legame e adsorbimento chimico-fisico, come quello che regola la concentrazione dei difosfonati nel tessuto osseo: I difosfonati si legano alla struttura della idrossiapatite rapidamente e in modo essenzialmente irreversibile per oltre il 50% dell'attività iniettata

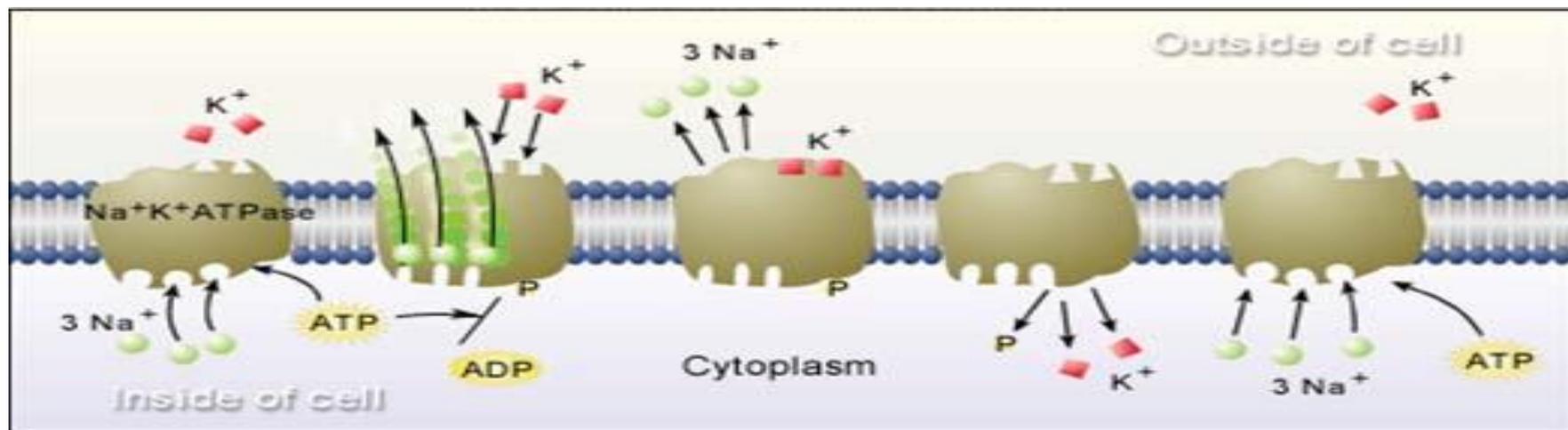


MECCANISMI SELETTIVI DI LOCALIZZAZIONE DEI RADIOFARMACI: LEGAME CHIMICO-FISICO



MECCANISMI SELETTIVI DI LOCALIZZAZIONE DEI RADIOFARMACI: TRASPORTO ATTIVO

Il **trasporto attivo**, richiede la presenza di una via metabolica in grado di fornire energia per spostare il radiofarmaco attraverso le membrane cellulari



ESEMPLI: Iodio (tiroide) Tallo-201(cuore) $^{99\text{m}}\text{Tc-MAG3}$ (rene)



MECCANISMI SELETTIVI DI LOCALIZZAZIONE DEI RADIOFARMACI: TRASPORTO ATTIVO

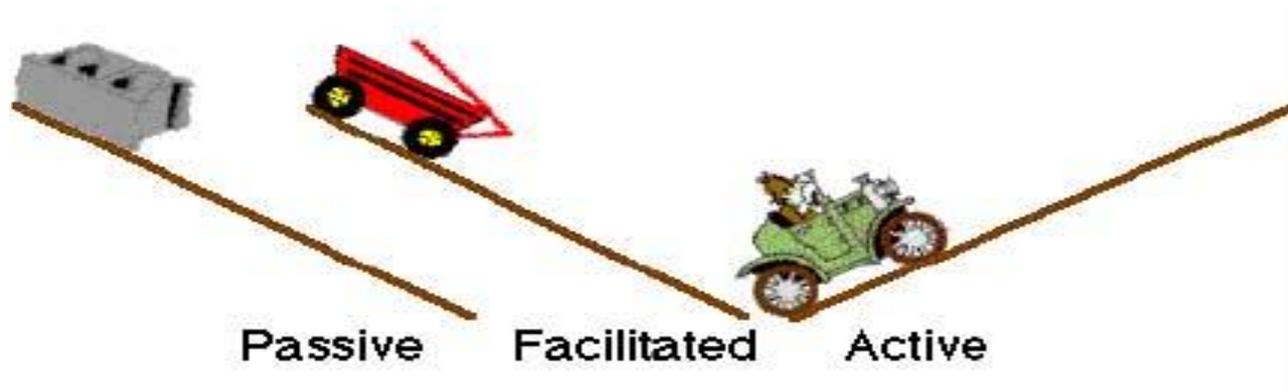
Altamente specifico e energeticamente dispendioso

- Determina un elevato gradiente di concentrazione
- ^{201}Tl cloruro
 - Analogo del K
 - Pompa Na^+ / K^+ ATPasi
- Iodio
 - Pompa degli ioduri
 - Elevata concentrazione intracellulare



MECCANISMI SELETTIVI DI LOCALIZZAZIONE DEI RADIOFARMACI: TRASDIFFUSIONE SEMPLICE

- La **diffusione semplice** descrive il meccanismo d'attraversamento delle membrane cellulari senza intervento di meccanismi di trasporto, e la sua distribuzione diffusa nell'organismo



- Esempio: Xenon-133 che, essendo molto liposolubile, attraversa facilmente i capillari polmonari e si distribuisce con il sangue a tutto l'organismo. (ventilazione polmonare)



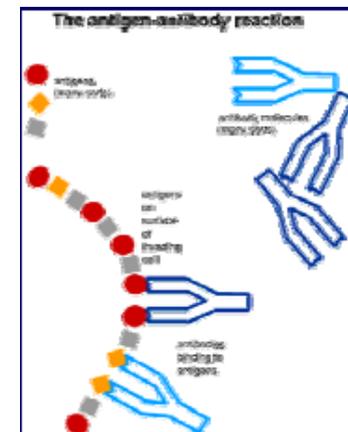
MECCANISMI SELETTIVI DI LOCALIZZAZIONE DEI RADIOFARMACI: INTRAPPOLAMENTO METABOLICO

- **Metabolismo parziale di un analogo di un substrato fisiologico**
 - Proprietà biochimiche sono importanti
 - ESEMPI:
- **2-[¹⁸F]fluoro-2-desossi-D-glucosio**
 - Trasportato e parzialmente metabolizzato come il glucosio (FDG-6-P)
- **-[¹⁸F]fluoroDOPA**
 - Precursore della sintesi di dopamina
- **^{99m}Tc-bicisato (ECD)**
 - Metabolismo intracellulare (esterasi) e trasformazione in una molecola carica



MECCANISMI SELETTIVI DI LOCALIZZAZIONE DEI RADIOFARMACI: REAZ. ANTIGENE-ANTICORPO

- La **reazione antigene-anticorpo** rappresenta il meccanismo di concentrazione di anticorpi monoclonali altamente purificati e selettivi per bersagli determinati, come proteine di superficie tumore-specifiche. Questa metodica costituisce la base delle tecniche immunoscintigrafiche



MECCANISMI SELETTIVI DI LOCALIZZAZIONE DEI RADIOFARMACI: REAZ. ANTIGENE-ANTICORPO

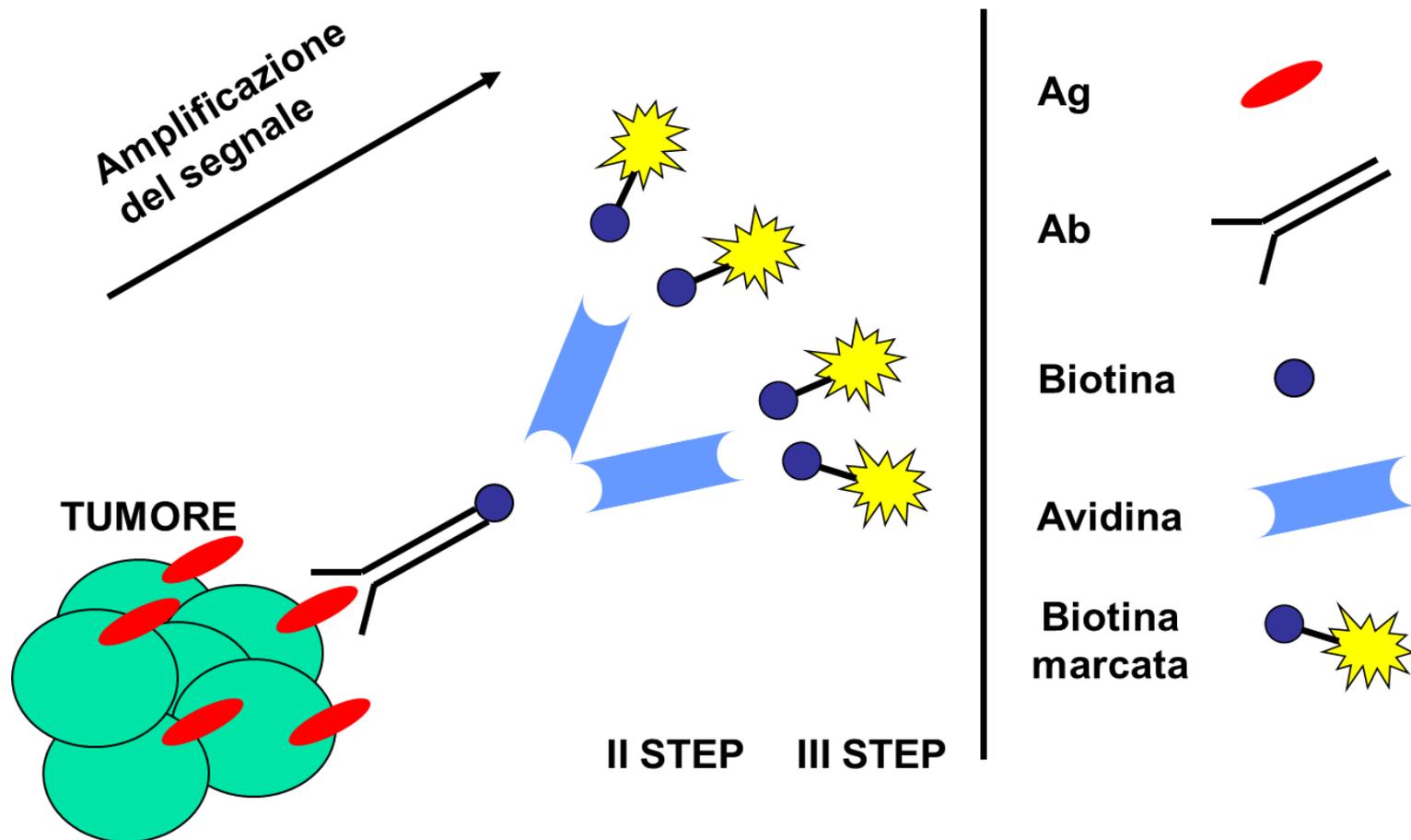
- **Interazione altamente specifica**
- **Basso rapporto segnale rumore (alta captazione epatica e renale – problemi di alto rumore ma anche di dosimetria)**

ESEMPI DI UTILIZZO:

- **RID** (Radio Immuno Diagnostica)
- **RIT** (Radio Immuno Terapia)
- **Tumori**
 - CEA
 - HER2

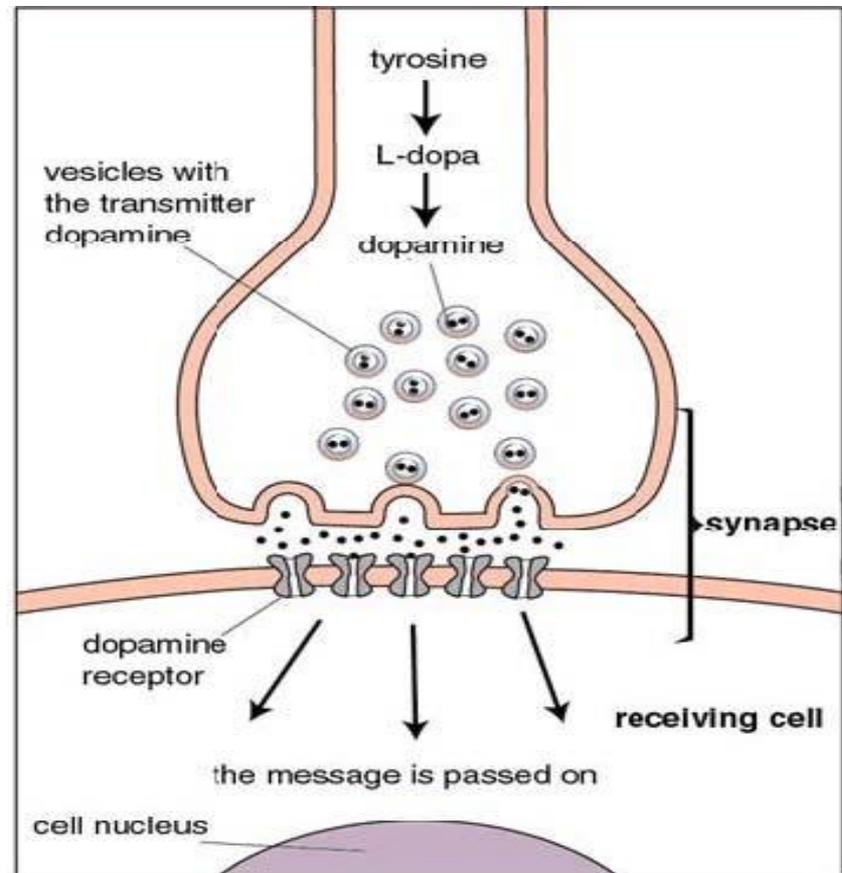


MECCANISMI SELETTIVI DI LOCALIZZAZIONE DEI RADIOFARMACI: REAZ. ANTIGENE-ANTICORPO



MECCANISMI SELETTIVI DI LOCALIZZAZIONE DEI RADIOFARMACI: RADIOFARMACI: LEGAME RECETTORIALE

- **Il legame recettoriale:** alcuni radiofarmaci si legano selettivamente ad alcune proteine presenti sulla superficie di alcune popolazioni cellulari. Questa tecnica è impiegata soprattutto per lo studio del sistema nervoso centrale e periferico



MECCANISMI SELETTIVI DI LOCALIZZAZIONE DEI RADIOFARMACI: LEGAME RECETTORIALE

- **Interazione altamente specifica**
- **Elevata attività specifica**

ESEMPI DI UTILIZZO:

- **SNC**
 - Dopamina
 - Serotonina
 - Acetilcolina
 - Etc
- **Tumori**
 - Somatostatina (caratterizzazione tumori neuroendocrini)



MECCANISMI SELETTIVI DI LOCALIZZAZIONE DEI RADIOFARMACI: COMPARTIMENTALIZZAZIONE

- **Radiofarmaco Relegato e distribuito nello spazio di deposizione iniziale**
 - Proprietà fisiche e/o chimiche importanti
- **Eritrociti marcati**
 - Spazio vascolare
- **^{111}In -DTPA (molecola idrosolubile)**
 - Spazio liquorale, non passa la BEE



MECCANISMI SELETTIVI DI LOCALIZZAZIONE DEI RADIOFARMACI: ESCREZIONE

- **Iniezione e monitoraggio dell' escrezione**
 - Dipende dal peso molecolare delle molecole impiegate
 - Lipofilicità
 - Legame alle proteine plasmatiche
 - Struttura molecolare



MECCANISMI SELETTIVI DI LOCALIZZAZIONE DEI RADIOFARMACI: ESCREZIONE

ESEMPI:

^{99m}Tc -DTPA

Filtrazione glomerulare

Peso molecolare 300-400

Specie chimiche cariche

Minimo legame alle proteine

^{99m}Tc -MAG3

Secrezione tubulare

Componente strutturale lipofilica

Captazione cellulare a seguito di spiazzamento attivo delle
molecole dai siti di legame plasmatici



Controlli di qualità dei radiofarmaci



Lo scopo dei Controlli di Qualità (QC) dei radiofarmaci è quello di assicurare che un prodotto abbia gli standard necessari

alla somministrazione ed
all'uso che se ne intende fare.

Serie di saggi, analisi e osservazioni che permettono di:

Stabilire oltre ogni ragionevole dubbio la identità, qualità e quantità di un radiofarmaco e dei suoi componenti

Dimostrare che la tecnologia impiegata nella formulazione porta ad un radiofarmaco con le caratteristiche di massima sicurezza, purezza ed efficacia.



Controlli di qualità radiofarmaci

Controlli di qualità dei radiofarmaci devono essere conformi a quanto stabilito nelle monografie di farmacopea o nel RTC (riassunto caratteristiche tecniche) del radiofarmaco.

Farmacopea:

Monografia generale

Radiopharmaceutical preparation(0125)

- Purezza chimica
- Sterilità
- Endotossine batteriche
- Identificazione (del radionuclide):
 - Misura periodo di dimezzamento
 - Determinazione natura ed energia emissione
- Purezza radionuclidica
- Purezza radiochimica



Controlli di qualità radiofarmaci

NORME DI BUONA PREPARAZIONE DEI RADIOFARMACI PER MEDICINA NUCLEARE*

I radiofarmaci sono medicinali e devono quindi rispondere a requisiti di qualità, sicurezza ed efficacia.

tezione. L'obiettivo primario del sistema di assicurazione della qualità deve pertanto essere la protezione del paziente da ogni tipo di esposizione indebita al rischio radiologico, assicurando contemporaneamente la massima efficacia diagnostica e terapeutica possibile del radiofarmaco. Attenzione particolare dovrà essere data al calcolo dell'attività specifica, alla prevenzione della contaminazione crociata con altri radionuclidi, al controllo delle impurezze radionuclidiche e allo smaltimento dei rifiuti radioattivi.



Controlli di qualità radiofarmaci

Alcuni di questi controlli sono effettuabili su piccole quantità di soluzione o sospensione; lo stesso preparato su cui si effettua il controllo potrà essere somministrato al paziente.

Altri controlli devono invece essere effettuati su tutto il preparato o su quantità importanti: sono **controlli distruttivi** che devono essere effettuati su un campione rappresentativo del lotto e non sullo stesso preparato da somministrare.



Controlli di qualità radiofarmaci

In generale un test di QC deve essere:

semplice

rapido (soprattutto il tempo di esecuzione deve essere tale da permettere l'utilizzo del radiofarmaco stesso)

non-distruttivo

richiedere una strumentazione /reagenti di comune utilizzo



Controlli di qualità radiofarmaci

Generalmente in una radiofarmacia si effettuano controlli della purezza radiochimica.(RP)

il QC dei radiofarmaci, in particolare di quelli tecneziati, dovrebbe essere routinario.

La F.U. e i produttori di radiofarmaci forniscono solitamente la documentazione che descrive la procedura raccomandata per il QC.

E' stata sviluppata una serie di test veloci, efficaci e discriminanti applicabili ai radiofarmaci prima dell'uso Infatti spesso i radiofarmaci devono essere prodotti, testati e somministrati in un periodo di tempo molto breve.

In generale è desiderabile una purezza radiochimica del 95 % (anche se non sempre ottenibile) poichè impurezze radiochimiche hanno una diversa biodistribuzione che altera l'imaging e riduce l'accuratezza del test

La PR % viene determinata sia per verificare la qualità delle formulazioni standard o dei kit, sia per stabilire gli standard di una preparazione "in house".



Purezza

- Purezza radionuclidica:
 - Assenza contaminanti radionuclidici (altro radionuclide)
- Purezza radiochimica
 - Assenza contaminanti radiochimici (stesso radionuclide, struttura diversa marcata)
- Purezza chimica
 - Assenza contaminanti non marcati (impurezze fredde non contenenti radionuclidi)



CONTROLLO DI QUALITA' DEI RADIOFARMACI: PUREZZA RADIONUCLIDICA

Presenza di radionuclidi indesiderati in un radiofarmaco

- Possibile aumento della dose assorbita dal paziente
- Possibile degradazione della qualità delle immagini per la presenza di fotoni ad alta energia
- **Purezza radionuclidica**: cioè il rapporto tra la radioattività del radionuclide considerato e la radioattività totale espresso come percentuale; un concetto analogo è la purezza radioisotopica , ovvero il rapporto tra il nuclide considerato e la radioattività totale dovuta agli isotopi dello stesso elemento



Purezza radionuclidica:

radioattività dovuta al radionuclide prescelto x 100

radioattività totale del prodotto

- Impurezze radionuclidiche derivano ad esempio da:
- metodo di produzione del radionuclide (es. attivazione dei materiali durante il bombardamento col ciclotrone;)
- • presenza nuclidi padre/figlio (es. generatori Mo99/Tc99m)



Presenza radionuclidi indesiderati nel radiofarmaco:

- Possibile aumento della dose assorbita dal paziente
- Potenziale degradazione della qualità delle immagini

I radionuclidi contaminanti possono avere tempi di dimezzamento più lunghi del radionuclide di interesse

L'attività percentuale delle impurezze, sul totale, aumenta nel tempo.

Generatore Mo99/Tc99m

Purezza radionuclidica del Tc-99m (Breakthrough di Mo99) ovvero presenza di Mo99 nell'eluato. Può dipendere dalle condizioni di utilizzo del generatore

I controlli possono essere di due livelli:

Controllo di routine

- metodo della schermatura

Controllo di processo

- spettrometria gamma sull'eluato dopo che il Tc99m è decaduto



CONTROLLO DI QUALITA' DEI RADIOFARMACI: PUREZZA RADIOCHIMICA

Purezza radiochimica, rapporto percentuale tra la radioattività del nuclide nella forma chimica dichiarata e la radioattività totale del medesimo radionuclide presente nel radiofarmaco



Identità e purezza radiochimica

Identità: presenza del prodotto desiderato

Purezza: assenza di contaminanti

Identità: Isomero attivo è D, non ho verificato identità e inietto isomero L e non vedo segnale desiderato

Purezza: Inietto racemo D,L (L è impurezza): immagine è degradata

I CONTROLLI RADIOCHIMICI hanno lo scopo:

valutare la **RP**, cioè la **% di attività dovuta al radionuclide nella forma chimica desiderata rispetto all'attività totale** che può comprendere oltre al radiofarmaco desiderato ed il radionuclide precursore, eventuali sottoprodotti che si formano durante la fase di preparazione.

La RP

dipende dalla stabilità del radiofarmaco,
evolve nel suo periodo di validità.

Varia con il tempo trascorso dalla marcatura

Possono esserci variazioni nei lotti



Identificare impurezze radiochimiche (sostanze diverse dal prodotto) dovute a sottoprodotti di reazione e mal funzionamento purificazione in una procedura di marcatura o a malfunzionamento marcatura (Kit). Possono ridurre qualità immagini riducendo rapporto segnale/rumore, provocando radiotossicità o non dare immagine desiderata (se impurezza presente in quantità elevata)-

I-123 libero come sale di iodio viene captato dalla tiroide

TcO₄⁻ viene captato dalla tiroide

F-18 come fluoruro viene captato da ossa



I tipi di **impurezze radiochimiche** che possono essere presenti nel radiofarmaco variano a seconda dello specifico prodotto in esame, del radionuclide e del metodo di marcatura.

Possono essere presenti per esempio

molecole marcate dovute a reazioni collaterali alla marcatura o perché già presenti nel prodotto inattivo di partenza

molecole marcate in posizioni non desiderate
radionuclide libero che non si è legato alla molecola da marcare (per es.: $^{111}\text{-InCl}_3$ nella preparazione di $^{111}\text{-In-DTPA}$ oppure $^{131}\text{-I}$ nella preparazione di $^{131}\text{-I-norcolesterolo}$).



Nei radiofarmaci marcati con Tc99m sono sempre presenti due tipi di impurezze (dovute alla chimica del tecnezio ed al riducente utilizzato):

99m-Tc-IDROLIZZATO RIDOTTO (HR,RU), costituito da biossido di tecnezio, 99-mTcO_2 , che ha la forma fisica di colloide

99m-Tc LIBERO NON-RIDOTTO (F), costituito dall'anione pertecnectato, 99-mTcO_4^-

I kit per la marcatura di prodotti tecneziati sono costituiti non solo dal ligando e dal riducente, ma anche vari eccipienti quali soluzioni tampone (buffer), antiossidanti ecc.

L'identificazione chimica di questi eccipienti è teoricamente possibile, ma raramente soddisfa le caratteristiche sopra riportate. Da un punto di vista pratico è più appropriato considerare la componente radioattiva.

L'analisi chimica è generalmente inappropriata in relazione alla quantità molto piccola di materiale presente nel kit.



QC - Test rapidi per la valutazione della purezza radiochimica

cromatografia su strato sottile (instant thin-layer chromatography - ITLC)

CROMATOGRAFIA

DI ADSORBIMENTO

DI RIPARTIZIONE

SCAMBIO IONICO

ESCLUSIONE MOLECOLARE

HPLC

elettroforesi

filtrazione



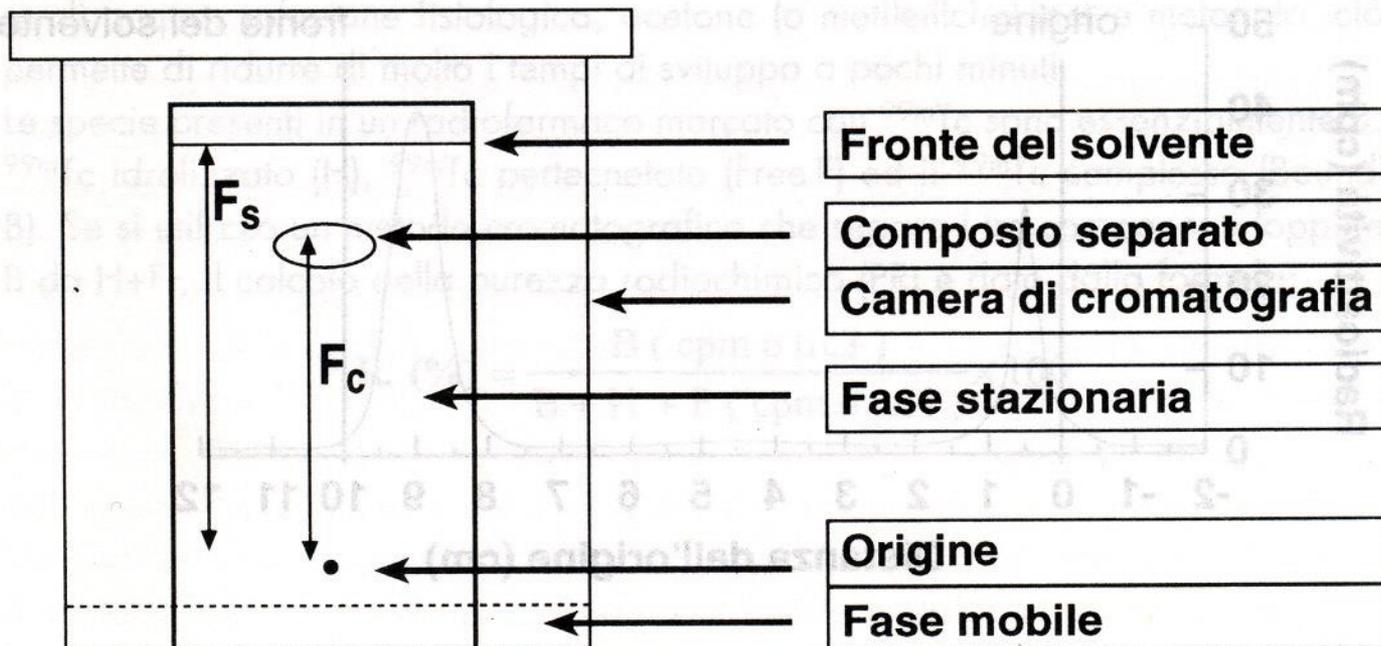
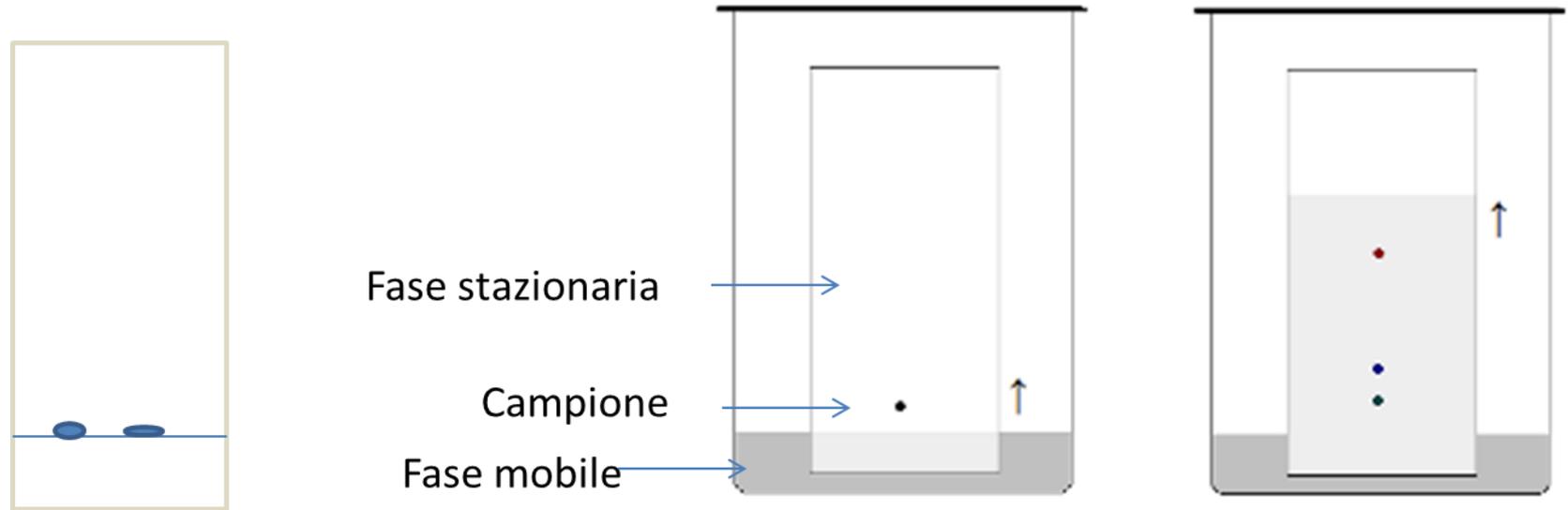


Fig. 1 Istant thin layer chromatography (I.T.L.C.)

Dove: F_s è la distanza dal punto di origine al fronte del solvente;
 F_c è la distanza dal punto di origine al centro della macchia del composto

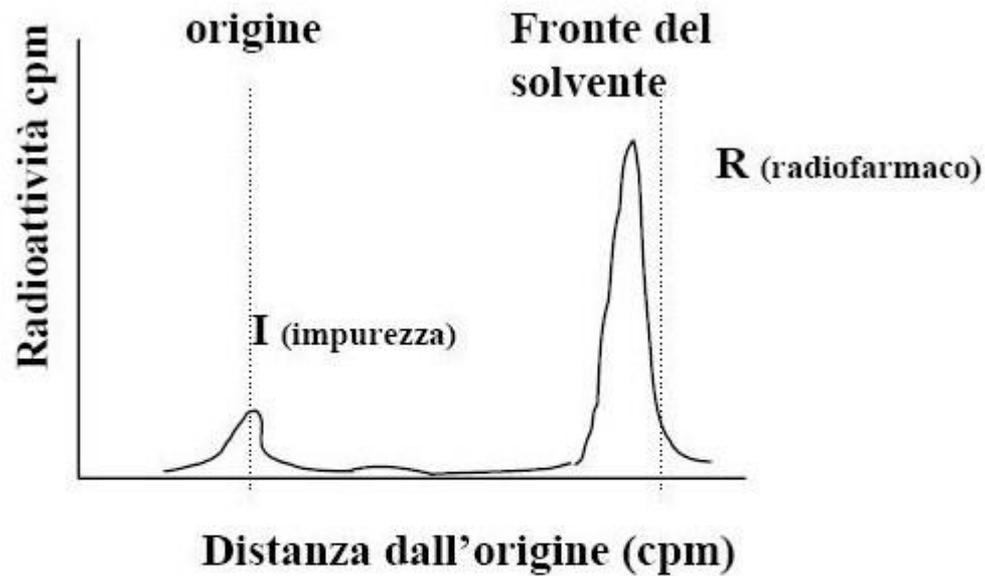


Cromatografia su strato sottile per fare controlli di qualità



Deposito con un capillare il campione **sopra linea segnata** con matita. Inserire in un recipiente la fase mobile **sotto il campione depositato**. Questa per capillarità verrà assorbita sciogliendo e «*facendo muovere*» le sostanze depositate secondo diversa solubilità nella fase mobile. Coprire e lasciare correre, togliendo la trina prima che la soluzione esca. Rilevare «macchie» con opportuna metodica (scanner per radioattività o un imager al fosforo). Calcolare la lunghezza della corsa rispetto a una linea di base.





Per calcolare purezza
utilizzo le aree dei due picchi

$$R (\%) = \frac{F \text{ (cpm o } \mu\text{Ci)}}{R+I \text{ (cpm o } \mu\text{Ci)}} \times 100$$



CONTROLLO DI QUALITA' DEI RADIOFARMACI: PUREZZA RADIOCHIMICA

Difficoltà di interpretazione delle immagini per la presenza di attività in organi diversi da quello in esame

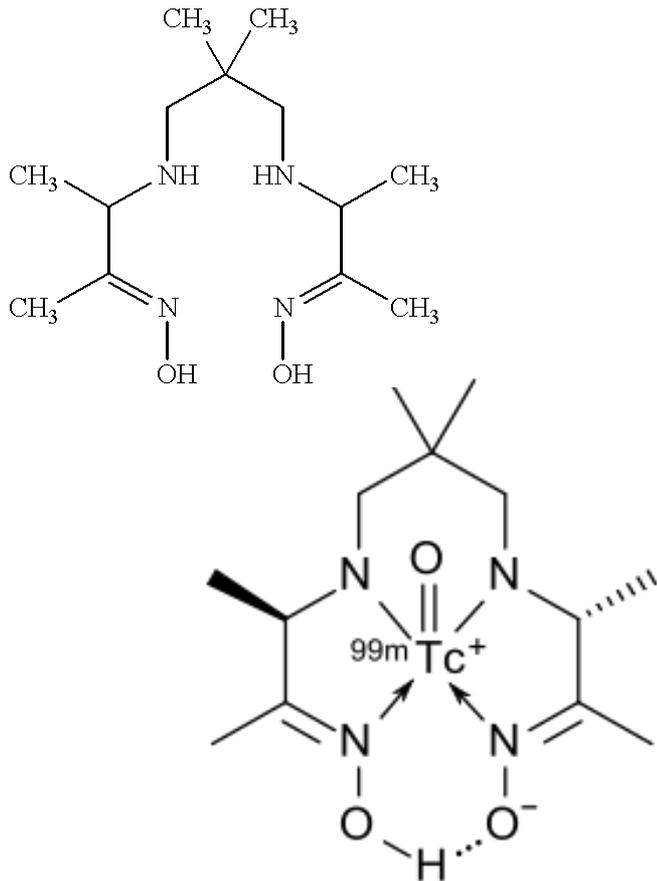
- Tc-99m pertecnetato contaminante Tc-99m MDP
- Complessi secondari della Tc -99m esametazima

Radiocromatografia

- Fase solida
 - Cromatografia istantanea su strato sottile
 - Estrazione in fase solida
- Fase mobile
 - Organica
 - Acquosa



Esempio: CERETEC (TC-99mHMPAO)



(Pertecnetato di sodio Tc= +7)

Più agente riducente SnCl

Più agente chelante

Impurezze:

Complesso secondario

Tc idrolizzato-ridotto

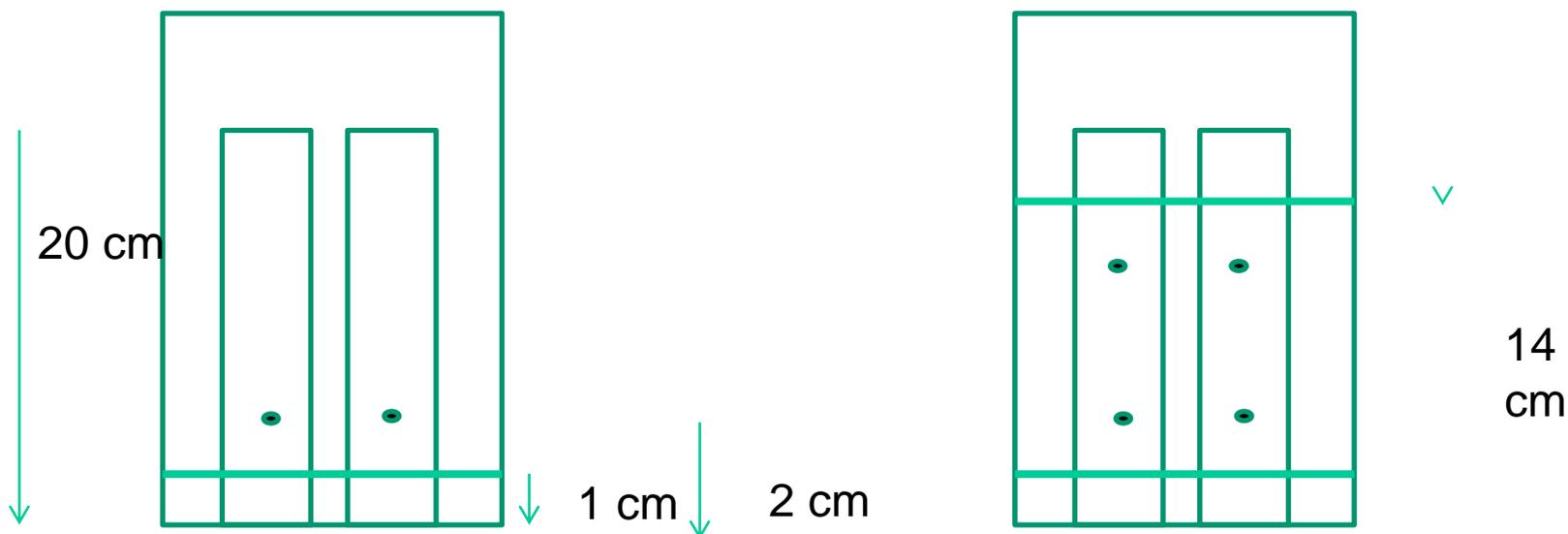
TcO_4^-

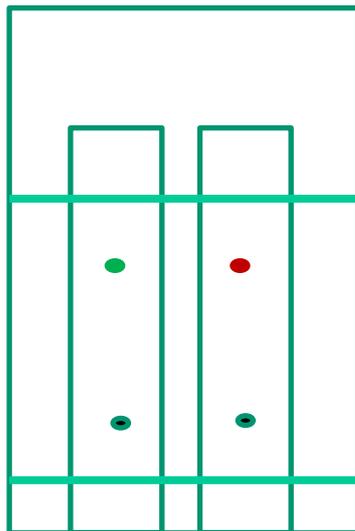
TcO_4^- può essere captato dalla tiroide



CERETEC (TC-99mHMPAO)

Campioni di sostanza vengono posti a 2,5 cm dall'estremità di 2 strisce TLC-SA (SILICIC ACID COATED): (2 cm (\pm 2 mm) x 20 cm). Porre immediatamente le strisce nelle vasche per cromatografia ascendente contenenti solvente fresco, una contenente butan-2-one e l'altra una soluzione acquosa di sodio cloruro 0,9% (1 cm di profondità). Dopo un'eluizione di 14 cm le strisce vengono rimosse, vengono segnati i fronti del solvente e vengono asciugate. La distribuzione dell'attività viene determinata utilizzando un'apposita apparecchiatura di conteggio.





A B

A: migra pertechnetato + campione – restano alla base: complesso secondario e Tc idrolizzato

B: migra solo pertechnetato (% pertechnetato)

Purezza radiochimica: $100 - (A\% + B\%)$ dove:

$\%A = \%$ pertechnetato

$\%B = \%$ idrolizzato + complesso secondario



ESEMPIO: Nanocol: colloidi per linfonodo sentinella

Controllo di qualità

A - Purezza radiochimica tramite cromatografia su carta ascendente:

Supporto	carta Whatman No. 1
eluente	metanolo : acqua 85 : 15 v/v
tempo	1 ora
^{99m}Tc (nanocolloide)	$\geq 95 \%$
Rf	0,0 %
Rf $^{99m}\text{TcO}_4$ libero:	$0,7 \pm 10\%$

B - Purezza radiochimica tramite cromatografia ascendente su strato sottile con lastre ricoperte da acido silicico (TLC-SA):

supporto	TLC-SA (strisce 2 x 12 cm, depositare una piccola goccia di preparazione a 2,5 cm dal fondo)
eluente	metanolo : acqua 85 : 15 v/v
tempo	25-30 min (approssimativamente a 7 cm dall'origine, rimuovere la striscia dalla vaschetta e lasciarla asciugare)
^{99m}Tc (nanocolloide)	$\geq 95 \%$
Rf	0,0 – 0,1
Rf $^{99m}\text{TcO}_4$ libero:	0,8 – 1,0

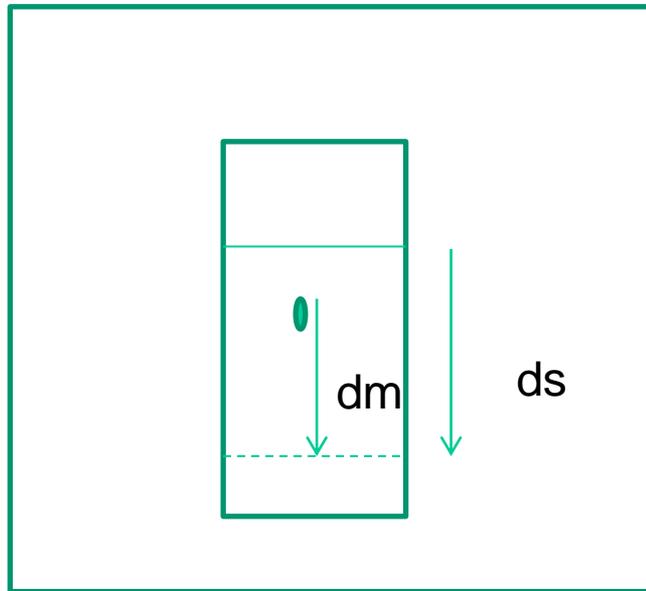
Applicare un campione di 5-10 μl di prodotto marcato all'origine della striscia. Introdurre la striscia nella vaschetta per cromatografia e coprire. Assicurarsi che il campione depositato non sia immerso nella fase eluente e che la striscia non aderisca alle pareti della vaschetta; Dopo lo sviluppo della striscia, estrarre dalla vaschetta, lasciare asciugare e determinare la distribuzione della radioattività.



RF: fattore di ritenzione (RF) Ritenction Factory) o di ritardo RF definito come:

$$R_f = d_m/d_s$$

D_m = distanza della macchia rispetto alla linea di semina e d_s = distanza del fronte del solvente rispetto a linea di semina



Tc-colloide $R_f=0$

Pertecnetato $R_f= 1$

$d_s= 7$ cm

Indicare d_m per Tc colloidale e pertecnetato



CONTROLLO DI QUALITA' DEI RADIOFARMACI: PUREZZA CHIMICA

Eluati dal generatore

Contaminazione di ioni di alluminio (<10 µg/ml)

Aumento delle dimensioni dei colloidi

Impurità insolubili nel Tc-99m MDP

Radiofarmaci PET

Solventi organici volatili residui di sintesi

Impurità chimiche dovute a presenza di reagenti



Purezza chimica: rapporto percentuale tra massa della molecola nella forma dichiarata e la massa totale, fatta eccezione per solventi ed eccipienti

Assenza contaminanti chimici non contenenti radionuclidi

Può derivare da contaminanti presenti nel precursore freddo (kit)

Precursore non separato durante purificazione

Contaminanti non previsti (prodotti degradazione precursore freddo, contaminanti non previsti e non contrallati durante processo purificazione.

Si usano come test:

HPLC, TLC, Spet Massa, NMR dipende da fase di sviluppo processo e rivelatori per HPLC o TLC UV-Visibile; elettrochimico etc..)



CONTROLLO DI QUALITA' DEI RADIOFARMACI: PUREZZA BIOLOGICA

La maggior parte dei radiofarmaci sono per somministrazione parenterale e devono essere:

- Sterili
- Apirogeni
- Preparati mediante kit industriali, sterili e apirogeni
- Non è necessaria ulteriore sterilizzazione
- Devono essere seguite strette procedure e tecniche che garantiscano l'asepsi durante la marcatura e l'uso.



EMIVITA

Si definisce il concetto di emivita ($T_{1/2}$) *fisica, biologica ed effettiva*.

L'emivita fisica è quell'unità di tempo dopo la quale la radioattività si è dimezzata per il decadimento fisico. E' indipendente dal fatto che un radiofarmaco stia nel suo contenitore o sia stato introdotto in un organismo.

L'emivita biologica è quell'unità di tempo dopo la quale la radioattività si è dimezzata per fenomeni di eliminazione dall'unità biologica (organismo, tessuto, unità cellulare ecc.) in cui il radiofarmaco è stato introdotto

L'emivita effettiva è quell'unità di tempo dopo la quale la radioattività si è dimezzata sia per i fenomeni fisici (decadimento radioattivo) sia per quelli biologici. E' definita da questa formula:

$$(T_{1/2} \text{ fisico} \times T_{1/2} \text{ biologico})$$

$$(T_{1/2} \text{ fisico} + T_{1/2} \text{ biologico})$$

