



Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares
Autarquia associada à Universidade de São Paulo

**DESENVOLVIMENTO DO RADIOFÁRMACO ^{18}F -ACETATO PARA DETECÇÃO DE
TUMORES PRIMÁRIOS ATRAVÉS DO PET/CT.**

LARISSA GOMES DE CARVALHO

Dissertação para obtenção do grau de
Mestre em Ciências na Área de
Tecnologia Nuclear – Aplicações

Orientador:
Dr. João Alberto Osso Júnior

SÃO PAULO
2012

“Dedico este trabalho aos meus pais, Valter e Roseli.
À mim mesma por todas as dificuldades superadas.
A todos os pacientes que, em algum momento, poderão
se beneficiar com o uso deste radiofármaco.”

AGRADECIMENTOS

- Ao Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN) pela infraestrutura.
- Ao Dr. João Alberto Osso Júnior, meu orientador, pelo incentivo, pela paciência, pela dedicação e pelo ótimo trabalho. Foi muito importante ter essa convivência e aprender muito com um profissional tão experiente, com vontade e determinação para repassar o conhecimento, ao mesmo tempo, tão modesto/simples.
- À Radiofarmácia do IPEN
 - Evandro Ivanov
 - Marycel Rosa F.F. de Barbosa
 - Natanael Gomes da Silva
 - Patrícia de Andrade Martins
 - Vivian Mendonça
 - Wilson Aparecido Bruzinga
- À toda equipe do Ciclotron
 - Valdir Sciani
- Ao Biotério do IPEN.
 - Ismária de Sousa Reis
- Ao Laboratório de Cultura Celular e Biomateriais – Centro de Biotecnologia/IPEN.
 - Ana Paula Manetta
 - Tatiana Franco da Cunha
- Ao Laboratório de Oncologia Experimental-LIM 24 Departamento de Radiologia e Oncologia da FMUSP.
 - Dra. Maria Lucia Hirata Katayama
 - Paulo Roberto Del Valle
- Aos meus colegas de mestrado que sempre me apoiaram quando necessário.
- Ao Laboratório de Biologia Molecular da Unicamp pelas células tumorais.
- Ao Dr. Eduardo Nóbrega Pereira Leite, Medicina Nuclear – Hospital AC-Camargo, SP.
- À Dra. Mitzi Brentani, Hospital AC-Camargo, SP.
- À CNEN pela bolsa de estudos.
- À FAPESP pela bolsa de estudos e taxa de bancada para o desenvolvimento do trabalho.

DESENVOLVIMENTO DO RADIOFÁRMACO ^{18}F -ACETATO PARA DETECÇÃO DE TUMORES PRIMÁRIOS ATRAVÉS DO PET/CT.

Larissa G.Carvalho

RESUMO

A tomografia por emissão de pósitrons associada à tomografia computadorizada (PET/CT) é um dispositivo que combina as características de medicina nuclear (PET) e de radiologia (CT) obtendo imagens metabólicas (PET) e anatômicas sobrepostas (CT). Combinando as duas tecnologias de exames, o exame PET / CT permite aos médicos diagnosticar com maior precisão e identificar o câncer, doenças cardíacas e distúrbios cerebrais. O radiofármaco ^{18}F -FAc (fluoroacetato) é promissor para a detecção de tumores primários de próstata e de mama, utilizando a técnica de PET/CT. Estudos recentes mostram a eficácia do ^{18}F -FAc na detecção de tumores que têm baixa captação de ^{18}F -FDG (fluordesoxiglicose). O fluoroacetato é um substrato para a acetil-CoA sintase, enzima que metaboliza ácido fluorocitrato que não é mais metabolizado, levando à inibição da aconitase e do ácido tricarbóxico. O objetivo deste trabalho foi desenvolver um radiofármaco emissor de pósitron, ^{18}F -FAc no IPEN-CNEN/SP em um acordo com o Hospital AC-Camargo / São Paulo. O íon fluoreto ($^{18}\text{F}^-$) foi produzido, usando os ciclotrons Cyclone 30 e 18 da IBA localizados no IPEN-CNEN/SP, através da irradiação de água enriquecida em ^{18}O com prótons e dose integrada de $30\mu\text{Ah}$. A marcação do ^{18}F -FAc foi realizada em um módulo de síntese TRACERlab M_xFDG (GE), utilizando kits adquiridos da ABX. O controle de qualidade radioquímico de ^{18}F -FAc foi realizado por cromatografia em camada fina TLC-SG 25 folhas de alumínio em tiras (1,5 x 12 cm) usando como solvente clorofórmio:metanol (1:1). Para o controle de qualidade radionuclídico, amostras de ^{18}F -FAc e ^{18}F -Fluoreto foram analisadas por espectroscopia de raios-gama. A avaliação dos solventes residuais foi realizada por cromatografia em fase gasosa e a análise de kryptofix foi realizada por TLC utilizando tiras de TLC-SG, metanol:clorofórmio (9:1) como solvente e padrões de kryptofix 2.2.2. Os estudos de biodistribuição foram realizados com ^{18}F -FAc injetado em camundongos swiss sadios. Um procedimento reprodutível foi desenvolvido para o preparo do ^{18}F -FAc com um rendimento de marcação de 37% (não corrigido) e 52% (corrigido para o decaimento) e estabilidade de 19 horas. A análise de controle de qualidade mostrou que o produto tinha as exigências adequadas para utilização, com pureza

radioquímica superior a 99,9%. Os estudos de biodistribuição em animais sadios mostraram a esperada captação em todos os órgãos medidos com eliminação renal e intestinal.

DEVELOPMENT OF THE RADIOPHARMACEUTICAL ^{18}F -ACETATE FOR DETECTION OF PRIMARY TUMOURS THROUGH PET/CT.

Larissa G.Carvalho

ABSTRACT

PET / CT (positron emission tomography / computed tomography) is a device that combines the features of diagnostic nuclear medicine (PET) and Radiology (CT) superimposing metabolic (PET) and anatomical (CT) images. By combining the two technologies examinations, the PET/CT scan allows physicians to diagnose more accurately and identify cancer, heart disease and brain disorders. The radiopharmaceutical ^{18}F -FAc (fluoroacetate) is promising for application in detection of primary tumors of prostate and breast, using PET-CT techniques. Recent studies are showing the efficacy of the ^{18}F -FAc in the detection of tumors that have low uptake of ^{18}F -FDG (fluorodeoxyglucose). The fluoroacetate is a substrate for the enzyme acetyl-CoA synthase that metabolizes acid fluoricitric that, not being metabolized, causes inhibition of aconitase and inhibition of tricarboxylic acid. The aim of this work was to develop a positron emitting radiopharmaceutical, ^{18}F -FAc at IPEN-CNEN/SP in agreement with Hospital AC-Camargo/ São Paulo. The ^{18}F -fluoride ion was produced using the Cyclone 30 and 18 cyclotrons from IBA located at IPEN-CNEN/SP, by irradiating enriched ^{18}O water with protons with integrated dose $30\mu\text{Ah}$. The labelling of ^{18}F -FAc was performed in a synthesis module TRACERlab M_xFDG (GE), using kits purchased from ABX. The radiochemical quality control of ^{18}F -FAc was performed by Thin Layer Chromatography using TLC-SG 25 aluminium sheets strips (1.5 x 12 cm) and chloroform:methanol (1:1) as the solvent. For the radionuclidic quality control, samples of ^{18}F -FAc and ^{18}F -Fluoride were analysed by gama-ray spectroscopy. The evaluation of the residual solvents was performed by gas chromatography and the analysis of kryptofix was performed by TLC using TLC-SG strips, methanol:chloroform (9:1) as solvent and kryptofix 2.2.2 standards. Biodistribution studies were performed with ^{18}F -FAc injected into healthy Swiss mice. A reliable procedure was developed for preparation of ^{18}F -FAc with a labelling yield of 37% (uncorrected) and 52% (corrected for decay) and stability of 19 hours. The quality control analysis showed that the product had the proper requirements for use, with radiochemical purity exceeding 99.9%.

The biodistribution studies in healthy animals showed the expected uptake results in all the measured organs with intestinal and renal elimination.

SUMÁRIO

	Página
CAPÍTULO 1	14
1. INTRODUÇÃO	14
1.1 Medicina nuclear	14
1.2 Histórico da Medicina Nuclear	15
1.3 Radioisotopoterapia	17
1.4 Diagnósticos	17
1.4.1 <i>Single Photon Emission Computed Tomography</i> – Tomografia Computadorizada por Emissão de Fóton único (SPECT)	19
1.4.2 <i>Positron Emission Tomography</i> – Tomografia por Emissão de Póstron (PET)	21
1.5 Radionuclídeos Emissores de Póstron	26
1.5.1 ¹⁸F (Flúor)	28
1.5.2 Flúor-18-fluorodeoxiglicose (¹⁸F-FDG)	29
1.5.3 Flúor-18-fluoroacetato (¹⁸F-FAc)	30
1.6 Aprovação de radiofármacos PET	33
1.7 Aceleradores	34
1.7.1 Cíclotron	34
1.8 Ciclo Celular e Neoplasia	37
1.9 Câncer de Próstata	42
1.9.1 Diagnóstico do câncer de próstata	47
1.10 Câncer de Mama	51
1.10.1 Diagnóstico do câncer de mama	55

CAPÍTULO 2	60
2.1 OBJETIVOS	60
2.2 JUSTIFICATIVA	60
CAPÍTULO 3	61
3. MATERIAIS E MÉTODOS	61
3.1 Infraestrutura	61
3.2 Lista de Reagentes e Materiais	61
3.3 Lista de Equipamentos	62
3.4 Produção e Controle de Qualidade do ¹⁸F-FDG	63
3.4.1 Controle Radioquímico do ¹⁸F-FDG (Fluorodeoxiglicose) e ¹⁸F⁻ (Fluoreto)	65
3.4.2 Controle Radionuclídico do ¹⁸F-FDG (Fluorodeoxiglicose) e ¹⁸F⁻ (Fluoreto)	66
3.5 Metodologia de Marcação do ¹⁸F-FAc (Fluoroacetato)	66
3.5.1 Variáveis de Marcação do ¹⁸F-FAc (Fluoroacetato)	69
3.5.1.1 Temperatura	69
3.5.1.2 Atividade de ¹⁸F⁻	70
3.5.2 Estabilidade do ¹⁸F-FAc	70
3.5.3 Controle Radioquímico do ¹⁸F-FAc	70
3.5.4 Controle Radionuclídico do ¹⁸F-FAc (Fluoroacetato)	71
3.5.5 Controle de Pureza Química do ¹⁸F-FAc (Fluoroacetato)	71
3.5.5.1 Cromatografia à Gás (CG)	72
3.5.5.2 ICP-OES (Vista-MPX)	73
3.5.5.3 Análise de Kryptofix	73
3.5.6 Determinação de pH	73
3.6 Biodistribuição em animais	74

CAPÍTULO 4	76
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	76
4.1 Controle Radioquímico do ^{18}F -FDG (Fluorodeoxiglicose)	76
4.2 Controle Radionuclídico do ^{18}F -FDG (Fluorodeoxiglicose) e $^{18}\text{F}^-$ (Fluoreto)	78
4.3 Variação do Rendimento de Marcação do ^{18}F -FAc com a Temperatura da Marcação	82
4.4 Variação da Atividade de $^{18}\text{F}^-$ na Marcação do ^{18}F -FAc	84
4.5 Estabilidade do ^{18}F -FAc	85
4.6 Controle Radionuclídico do ^{18}F -FAc (Fluoroacetato)	86
4.7 Controle Radioquímico do ^{18}F -FAc (Fluoroacetato)	86
4.7.1 TLC (Cromatografia TLC-Silica Gel)	86
4.7.2 CLAE (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência)	88
4.8 Controle de Pureza Química do ^{18}F -FAc	89
4.9 Biodistribuição do ^{18}F -FAc em animais sadios	90
CAPÍTULO 5	94
5. CONCLUSÃO	94
CAPÍTULO 6	96
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	96

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1- <i>Comparativo entre SPECT e PET.</i>	25
Tabela 2- <i>Os núclídeos emissores de pósitron e suas características.</i>	26
Tabela 3- <i>Radiofármacos PET no Câncer de Próstata.</i>	51
Tabela 4- <i>Principais impurezas encontradas nas amostras de ^{18}F-FDG e ^{18}F.</i>	79
Tabela 5- <i>Níveis de impurezas radionuclídicas em amostras de ^{18}F.</i>	81
Tabela 6- <i>Níveis de impurezas radionuclídicas em amostras de ^{18}F-FDG.</i>	81
Tabela 7- <i>Rendimento de marcação em diferentes temperaturas de marcação.</i>	83
Tabela 8- <i>Níveis de impurezas radionuclídicas em amostras de ^{18}F-FAc.</i>	86
Tabela 9- <i>Tempo de retenção do ^{18}F-FAc, solvente ácido fosfórico 10 mol.L⁻¹ com diferentes vazões.</i>	88
Tabela 10- <i>Resultados da cromatografia gasosa de amostras do ^{18}F-FAc.</i>	89
Tabela 11: <i>Resultado da biodistribuição em camundongos fêmeas Swiss sadios, % dose/g/órgão e o seu desvio padrão.</i>	90
Tabela 12: <i>Resultado da biodistribuição em camundongos machos Swiss sadios, % dose/g/órgão e o seu desvio padrão.</i>	91

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1- Câmara SPECT/CT do Hospital Ac-Camargo.	20
Figura 2- Decaimento por emissão de pósitron.	22
Figura 3- Câmara PET/CT do Hospital Ac-Camargo.	23
Figura 4- Folha de carbono para a extração do feixe.	36
Figura 5- Os vales e os montes do campo magnético e a diferença do campo elétrico (positivo e negativo).	36
Figura 6- Cyclone 18 da IBA, IPEN.	37
Figura 7- Cyclone 30 da IBA, IPEN.	37
Figura 8- Divisão do parênquima prostático.	43
Figura 9 - Estrutura do tecido mamário.	52
Figura 10- Linhas de transferência para a célula de marcação.	64
Figura 11- Módulo de marcação da ABX.	65
Figura 12- Módulo de síntese do ^{18}F -FAc adquirido da ABX.	67
Figura 13- Cíclotron – Porta alvo.	68
Figura 14- Células de Marcação, onde encontra-se o módulo automatizado da ABX.	68
Figura 15- Germânio modelo GX1518 hiperpuro (HPGe) do IPEN.	71
Figura 16- Aparelho ICP-OES do controle de qualidade do IPEN.	72
Figura 17- Cromatógrafo Gasoso (Shimadzu), IPEN.	72

Figura 18- Fitas de pH de 0-14, da merck.	74
Figura 19- Cromatograma ITLC-SG do ^{18}F FDG + ^{18}F , solvente 100% acetonitrila. Rf=5.	76
Figura 20- Cromatograma ITLC-SG do ^{18}F FDG, solvente 95% acetonitrila: 5% água. Rf=7.	77
Figura 21- Cromatograma ITLC-SG do ^{18}F FDG, solvente 80% acetonitrila: 20% água. Rf=8.	77
Figura 22- Cromatograma ITLC-SG do ^{18}F FDG, solvente 70% acetonitrila: 30% água. Rf= 9.	77
Figura 23- Cromatograma ITLC-SG do ^{18}F FDG + ^{18}F , solvente 80% acetonitrila: 20% água.	78
Figura 24- Variação do rendimento de marcação de ^{18}F -FAc com a temperatura. (n=10).	82
Figura 25- Rendimento de marcação x atividade de ^{18}F .	85
Figura 26- Estabilidade do ^{18}F -FAc.	85
Figura 27- Cromatograma ITLC-SG do ^{18}F -FAc, solvente 95% acetonitrila: 5% de água.	87
Figura 28- Cromatograma ITLC-SG do ^{18}F -FAc, solvente 80% acetonitrila:20% de água.	87
Figura 29- Cromatograma ITLC-SG do ^{18}F -FAc, solvente clorofórmio:metanol (1:1).	87
Figura 30- Gráfico da relação %dose/órgão em camundongos fêmeas, 15 e 30 minutos após a administração do radiofármaco ^{18}F -FAc.	91
Figura 31- Gráfico da relação %dose/órgão, em camundongos machos, 15 e 30 minutos após a administração do radiofármaco ^{18}F -FAc.	92

CAPÍTULO 1

1. INTRODUÇÃO

1.1 Medicina nuclear

A radioatividade é a base da medicina nuclear, apresentando como característica a transformação de núcleos instáveis em núcleos mais estáveis, que podem, também ser instáveis e decaírem mais através de uma cadeia de decaimento, com o objetivo de alcançarem uma configuração nuclear estável [1].

A Medicina Nuclear utiliza fontes abertas de radiação com fins diagnósticos e terapêuticos. É a única especialidade de diagnóstico por imagem que permite realizar estudos fisiológicos, além dos morfológicos [2].

Radiofármaco, utilizado na medicina nuclear, é um fármaco marcado com material radioativo. Este fármaco exerce sua determinada função metabólica no organismo e, por estar ligado ao material radioativo, permite obter imagens de órgãos ou sistemas para o diagnóstico de doenças. O radiofármaco pode também ser empregado em terapia, dependendo do tipo de emissão do radionuclídeo.

A detecção externa da radiação emitida pelo radioisótopo presente no radiofármaco permite diagnosticar precocemente muitas doenças, enquanto que as alterações anatômicas, muitas vezes, se manifestam em estágios relativamente avançados, como no caso de diversos tipos de câncer [3].

A principal vantagem dos dispositivos de medicina nuclear é a sensibilidade física elevada. A massa do radiofármaco administrado em humanos é cerca de 10^{-10} g. Outras técnicas de imagem requerem, em alguns casos, o uso de altas concentrações de contraste [4].

1.2 Histórico da Medicina Nuclear

A história da medicina nuclear começa com as descobertas da radioatividade natural por Henri Becquerel, em 1896, e de elementos radioativos naturais (Polônio e Rádio) por Marie e Pierre Curie, em 1898 (os três cientistas receberam o Prêmio Nobel de Física de 1903) [3;5].

A primeira aplicação prática de um radioisótopo foi feita por George de Hevesy em 1911, que em 1913 propôs o "princípio do traçador", fornecendo o fundamento biológico para a especialidade. Ele confirmou o princípio por meio de experiências com nitrato de chumbo marcado com o nuclídeo radioativo ^{210}Pb , mostrando sua absorção e seu movimento em plantas [8].

O uso clínico do material radioativo iniciou-se em 1927, com Herrmann Blumgart e Soma Weiss que injetaram intravenosamente em um voluntário o radioisótopo natural Rádio C, e mediram o intervalo de tempo que esse levou para chegar até o outro braço, utilizando como detector uma câmara de Wilson [9].

Ernest O. Lawrence e M. Stanley Livingstone, em 1932, com a construção do ciclotron, possibilitaram a produção de radionuclídeos artificiais, através do bombardeamento de núcleos-alvos por partículas positivas aceleradas [8].

A utilização dos radiotraçadores produzidos artificialmente continuou, e em 1937 ocorreu o uso clínico de sódio radioativo com Hamilton e Stone. Hertz, Roberts e Evans, em 1938, utilizaram iodo radioativo no estudo de fisiologia da tireóide. Em 1939 JH Lawrence, Scott e Tuttle tratavam leucemia com fósforo radioativo. Hamilton, em 1940, estudava o metabolismo do iodo na glândula tireóide, através da aplicação do iodo radioativo em indivíduos normais e em pacientes com vários tipos de bócio [5].

Em 1939 a energia liberada na fissão do átomo passa a ser chamada de energia atômica. A partir disso começou a construção de reatores e de explosivos nucleares [5].

O reator de Oak Ridge, nos Estados Unidos, começou sua operação e produção comercial de isótopos radioativos em 1946, e o de Harwell (Reino Unido), em 1947 [8].

M.Prinzmetal, E.Corday e colaboradores, em 1948 injetaram intravenosamente cloreto de sódio marcado com o sódio radioativo ^{24}Na e obtiveram o primeiro radiocardiograma com um contador Geiger-Muller acoplado a um registrador [9].

Em 1951, Benedict Cassen desenvolveu o conceito do *scanner* retilíneo. Em 1958 Hal Anger, construiu a gama-câmara, sendo um sistema de formação de imagens que não exigia movimento do detector e que apresentava maior resolução geométrica, além da possibilidade de se obter projeções diferentes de uma mesma distribuição de radiofármaco. Os princípios ainda estão em uso hoje [9].

Em 1960, passou-se a adquirir, armazenar e processar as imagens obtidas com as câmaras de cintilação, obtendo-se parâmetros fisiológicos e corrigindo distorções associadas ao processo de formação de imagens [8].

Nos anos de 1970, surgiram novos avanços no desenvolvimento e na implementação de métodos de reconstrução para a realização de tomografias por emissão de fótons únicos (SPECT - *single photon emission computed tomography*), que foram realizadas por David E. Kuhl e sua equipe na Universidade da Pensilvânia. No mesmo ano os avanços na tomografia por emissão de pósitron (PET - *positron emission tomography*), por Gordon L. Brownell e colaboradores no Hospital Geral de Massachusetts e por Michael E. Phelps e colegas na Universidade da Califórnia em Los Angeles [8;11].

Em 1971, David Chesler propôs a reconstrução por cortes tomográficos de emissão e transmissão pelo método da retroprojeção. As reconstruções ainda são muito usadas na rotina clínica [8].

O PET, que era usado principalmente para a investigação clínica, passa a ser utilizado como ferramenta de rotina clínica no final dos anos 1980. Na década de

1990 um avanço significativo na tecnologia PET, foi a combinação com a Tomografia computadorizada (CT-*computed tomography*) por David Townsend e colegas de trabalho [10].

No momento o híbrido PET/CT é a configuração dominante para imagens PET. Além dessa hibridização, surgiu também o PET/RM, ou seja, a junção do PET com a ressonância magnética.

1.3 Radioisotopoterapia

O conceito da utilização do radiofármaco na terapia é baseado no desejo de ligar um radionuclídeo que tem uma elevada transferência de energia linear (LET) associada com seus produtos de desintegração, como os elétrons Auger, partículas beta ou partículas alfa, a uma molécula biologicamente ativa, que pode ser direcionado para o local do tumor [11].

A radioatividade empregada na radioisotopoterapia é maior do que a atividade utilizada para fins diagnósticos, podendo ser até 1.000 vezes maior.

Os radiofármacos mais utilizados em terapia são o ^{131}I , na forma de iodeto, para ablação de câncer diferenciado de tireóide ou em doses menores para tireoidites e $^{153}\text{Sm-EDTMP}$ para alívio das dores ósseas em metástases e o ^{177}Lu -octreotato utilizado para tumores neuroendócrinos.

Nos dias atuais, 5% dos radiofármacos são utilizados na terapia e 95% são utilizados para fins de diagnóstico [12].

1.4 Diagnósticos

A Medicina Nuclear possui detectores que são classificados pelo tipo de informação que produzem. Os detectores que indicam o número de interações que ocorrem no detector são chamados de contadores, como exemplo os detectores

Geiger-Mueller. Detectores que produzem informação sobre a distribuição da energia da radiação incidente, como os detectores de cintilação de iodeto de sódio (NaI), são chamados espectrômetros. Detectores que indicam a quantidade líquida de energia depositada no detector por múltiplas interações são chamados de dosímetros [12].

A utilização de detectores de radiação para produzir sinais distintos, deve ter entre duas interações um intervalo finito de tempo conhecido como tempo morto. Caso uma interação aconteça neste intervalo, o sinal será perdido.

A eficiência de um detector é a relação número de detecções por número de emissões.

Os cintiladores são materiais que emitem luz visível ou ultravioleta, após a interação da radiação ionizante com o material. Além disso, são os tipos detectores de radiação mais antigos, dentre eles encontram-se as câmaras de cintilação.

As imagens planares da medicina nuclear são imagens de projeção, uma vez que, cada ponto da imagem é representativo da atividade do radioisótopo ao longo de uma linha de projeções pelo paciente. As imagens planares são mapas bidimensionais da distribuição do radioisótopo, e são úteis na avaliação de um grande número de distúrbios. As imagens planares de medicina nuclear são formadas por pixel que é a representação da imagem por um número de contagens detectadas pelo cristal de uma câmara de cintilação. A alta resolução espacial necessita de mais pixel por imagem, para o formato da imagem não degradar a resolução [12].

A cintilografia convencional utiliza técnicas de projeção de imagens com baixo contraste de imagem devido à sobreposição de estruturas. Avanços nas técnicas de tomografia trouxeram a cintilografia para uma nova era. Dentre os novos métodos estão o SPECT e o PET [13].

A câmara planar de cintilação apresenta o formato do pixel de 64x64 ou 128x128 com fatias por pixel de 8 ou 16; o SPECT tem o formato do pixel também de 64x64 ou 128x128 com fatias por pixel de 8 ou 16; já o PET apresenta formato 128x128 e 16 fatias por pixel [12].

O conceito de resolução espacial, utilizada na imagenologia, está associado à capacidade de ver pequenos detalhes na imagem, um sistema de imagem tem maior

resolução espacial se pode demonstrar a presença de pequenos objetos na imagem. A resolução espacial limite é o tamanho do menor objeto que um sistema de imagem pode resolver [12].

O SPECT possui uma resolução espacial de aproximadamente 7 mm que piora para o centro da fatia transversal da imagem; a imagem planar possui resolução espacial de 7 mm, porém a resolução espacial é degradada com a distância do detector (colimador); o PET apresenta resolução espacial de aproximadamente 5 mm portanto melhor resolução do que em outras modalidades de imagem nuclear, além de não depender da colimação física [12].

1.4.1 *Single Photon Emission Computed Tomography* – Tomografia Computadorizada por Emissão de Fóton único (SPECT)

É um sistema que gera imagens transversais que descrevem a distribuição de raios X ou raios gama emitidos pelo paciente. O padrão de imagens planares de projeção é adquirido a partir de um arco de 180° ou 360° sobre o paciente.

O sistema SPECT está baseado em gama-câmaras convencionais, possuindo detectores de cristais de Iodeto de Sódio com Tálcio (NaI[Tl]) em desenho hexagonal e com espessura de 0,65cm (1,4 polegada), colimadores dispostos em forma de leque ou em forma de cone, podendo ter até 90 fotomultiplicadoras, são utilizadas matriz de 64x64 ou 128x128 e uma resolução espacial de 7 milímetros, além disso possui circuito de coincidência para detecção de fótons. Adquire, normalmente, 60 ou 120 projeções com incremento angular de 6° ou 3°. Os cristais de iodeto de sódio são apropriados para imagens de fótons entre as energias de 70 e 365 keV.

A aquisição das imagens ocorre em formato pixel de 64x64 ou 128x128, além disso, o uso de um menor pixel reduz a resolução espacial na projeção das imagens. Quanto menos projeções forem criadas maior é a possibilidade de criar artefatos radiais nas imagens transversais reconstruídas.

A cabeça da câmara de um sistema SPECT gira em torno do paciente, adquirindo imagens de projeção a partir de ângulos espaçados. A cabeça ou as cabeças da câmara podem adquirir as imagens em movimento ou pode parar em

ângulos pré-definidos para adquirir as imagens em um computador (Bushberg et.al., 2002). A **Figura 1** mostra uma câmara SPECT/CT.



Figura 1: Câmara SPECT/CT do Hospital AC-Camargo.

Os fótons vindos do paciente incidem no cristal através do colimador, e são absorvidos fotoelétricamente. As fotomultiplicadoras estão acopladas ao cristal (NaI[Tl]) e geram uma corrente elétrica que será processada no circuito de posicionamento para o cálculo das coordenadas e do pulso. Após esses processos, o evento é gravado espacialmente.

A reconstrução das imagens ocorre utilizando retroprojeção filtrada ou métodos de reconstruções iterativas. Um estudo de SPECT produz imagens transversais que abrangem todo o campo de visão (*Field of view-FOV*) da câmara na direção axial de cada mudança de posição da cabeça da câmara. Os métodos iterativos assumem a distribuição de uma atividade inicial no paciente, seguida pelo cálculo das imagens de projeção através da distribuição da atividade assumida. As imagens de projeção calculadas são comparadas às imagens reais de projeção e, com base nesta comparação, a distribuição da atividade assumida é ajustada. Este processo é repetido várias vezes, com sucessivos ajustamentos para a distribuição

da atividade assumida, até que as imagens de projeção calculadas aproximam-se das imagens reais de projeção.

A retroprojeção filtrada baseia-se no pressuposto de que as imagens de projeção são projeções perfeitas de um objeto tridimensional, isto está longe de ser verdade em medicina nuclear pelos seguintes fatores: atenuação de fótons no paciente, inclusão de fótons Compton dispersos na imagem, a degradação da resolução espacial com a distância do colimador.

O SPECT/CT possui sistema de correção da atenuação. Esta correção de atenuação utiliza fontes de transmissão e tem sua significativa aplicação em estudos de perfusão miocárdica, onde artefatos de atenuação podem imitar os defeitos de perfusão.

O fato do SPECT usar a colimação para formar imagens, faz com que a resolução espacial e a eficiência na detecção sejam determinadas pela distância do colimador. A resolução espacial é deteriorada com a distância do dispositivo.

Os radioisótopos mais utilizados em SPECT são emissores gama como ^{99m}Tc , ^{123}I , ^{131}I , ^{67}Ga e ^{201}Tl [6].

A associação do SPECT com a tomografia computadorizada (TC) contribui, dentre outras práticas de aplicação, na localização pré-operatória de linfonodos sentinela (primeiro linfonodo de drenagem de um tumor), principalmente em pacientes obesos com quadro clínico de câncer de mama. O linfonodo sentinela retirado através de cirurgia radioguiada, é analisado em estudo histopatológico [14].

O menor custo e a utilização de radiofármacos convencionais fez com que a aquisição de aparelhos SPECT se tornasse mais interessante do que aparelhos PET em termos econômicos.

1.4.2 Positron Emission Tomography – Tomografia por Emissão de Póstron (PET)

Póstrons são partículas similares aos elétrons, porém com carga positiva, vindos do decaimento de radionuclídeos.

Os pósitrons emitidos na matéria perdem a maior parte de sua energia cinética causando excitação e ionização. Quando um pósitron perde a maior parte de sua energia cinética, ele interage com um elétron por um processo chamado de aniquilação. Toda a massa da aniquilação elétron-pósitron é convertida em dois fótons de 511 keV, emitidos em direções opostas. Em sólidos e líquidos, os pósitrons viajam apenas distâncias muito curtas antes da aniquilação [12]. A **Figura 2** ilustra o decaimento por emissão de pósitron.

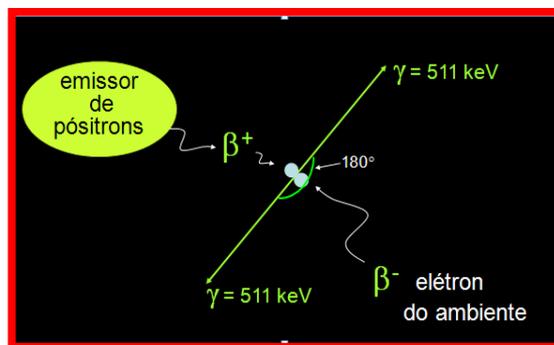


Figura 2: Decaimento por emissão de pósitron.

Em 2001 ocorreu a associação do PET com a TC tendo o objetivo de aumentar a resolução espacial e a sensibilidade devido a uma maior precisão loco-regional, acelerando a aquisição de dados e diminuindo a dose de radiação nos pacientes [15].

Os PET *scanners* usam o sistema detecção de aniquilação de coincidência (ACD) e reconstroem as imagens, igualmente ao SPECT, a partir dos dados de projeção.

Alguns fabricantes desenvolveram sistemas dedicados de PET que são menos caros do que os sistemas PET com dois arcos detectores completos, opostos 180°, formado por anéis de Germanato de Bismuto ($\text{Bi}_4\text{Ge}_3\text{O}_{12}$), mas que proporcionam uma sensibilidade de detecção muito melhor do que os sistemas de coincidência das câmaras de cintilação com duas cabeças. Os PET não-dedicados possuem fotomultiplicadoras com cristais de Iodeto de Sódio (NaI), além do detector

não girar em torno do paciente. Ambos, PET dedicados e não dedicados, utilizam a detecção de coincidência em vez da colimação para obter a projeção dos dados.

Nos PET não-dedicados os cristais de cintilação acoplados a tubos fotomultiplicadores (PMTs) são usados como detectores em PET. Os sinais provenientes das PMTs são processados usando o modo de pulso para criar sinais de identificação da posição, energia depositada e tempo de cada interação.

Os modernos sistemas de PET dedicados são formados por mais de 15.000 elementos de detecção, dispostos em 32 anéis adjacentes que vão registrar os eventos de coincidência com janela (um intervalo de tempo selecionado para os sinais provenientes de dois detectores ocorrer, então uma coincidência é gravada) de 10 a 12 nanossegundos. Os elementos de detecção são pequenos cristais de cintilação, geralmente germanato de bismuto, que possui alta densidade e bom poder de frenamento dos fótons de 511keV, agrupados e acoplados a tubos fotomultiplicadores. Estes sistemas permitem a aquisição simultânea de até 45 fatias de mais de 16 cm de distância axial. A resolução para imagens clínicas é de 4 a 6 milímetros, portanto imagens menores de 1cm podem não serem observadas no diagnóstico. Utiliza a retroprojeção filtrada ou métodos interativos para a reconstrução das imagens. O PET, por não ter colimação física, tem maior sensibilidade comparado ao SPECT. A **Figura 3** apresenta um sistema PET/CT dedicado.



Figura 3: PET/CT Philips do Hospital Ac-Camargo.

As imagens podem ser apresentadas como fatias tomográficas ou como dados 3D.

Nas aquisições bidimensionais de dados, as coincidências são detectadas e registradas dentro de cada anel de detecção ou em pequenos grupos de anéis de detectores adjacentes. Os PET *scanners* desenvolvidos para aquisição apresentam finos colimadores anulares, geralmente feitos de tungstênio, para evitar que mais radiação emitida por atividade fora da fatia transaxial alcance o anel detector. Após a aquisição bidimensional dos dados, as imagens sofrem a reconstrução parecida com a do SPECT por retroprojeção filtrada (reconstrução analítica 3D) ou reconstrução interativa [12].

Nas aquisições tridimensionais de dados (volume), os colimadores axiais não são usados e as coincidências são detectadas entre muitos ou todos os anéis de detectores, aumentando consideravelmente o número de coincidências verdadeiras detectadas e pode permitir que menores atividades sejam administradas nos pacientes. No PET é possível fazer a correção da atenuação da não-uniformidade antes da reconstrução, dessa forma não apresenta complicações na reconstrução como no caso do SPECT [12].

A atenuação em PET não difere da atenuação em SPECT, porque ambos os fótons aniquilados devem escapar do paciente para causar um evento coincidente para ser registrado. A atenuação é mais grave no PET do que no SPECT. A grande maioria das interações com os tecidos são espalhamento Compton. Atenuação provoca uma perda de informação e, como a perda não é a mesma para todas as linhas de resposta, origina artefatos nas imagens transversais reconstruídas. A perda de informação também contribui para o ruído de estatística nas imagens [12].

A correção da atenuação pode reduzir a sensibilidade de alguns estudos clínicos, não sendo necessário em todos os procedimentos PET, nos procedimentos em que é realizado o médico deve rever também a interpretação da imagem reconstruída não corrigida.

As imagens PET são quantitativas, embora não perfeitamente exatas, mas importantes em estudos em animais e em humanos. A prática clínica utiliza o *Standardized Uptake Value* (SUV) que define a razão da concentração do

radiofármaco em uma região para a concentração média no corpo. Em tumores o SUV é, geralmente, maior que 2 em tecidos malignos, porém não é um valor de *cut-off* que separa com precisão captação maligna de não-maligna.

SPECT atualmente requer colimadores de chumbo para fornecer a resolução adequada, o que reduz a atividade que atinge o detector. Em PET, as contagens/IMC (contagens/índice de massa corpórea) do traçador são mais elevadas porque a imagem PET é formada sem um colimador de chumbo entre o paciente e o detector, isso determina melhor resolução comparada ao SPECT. Além disso, o PET oferece índices quantitativos do radiofármaco captado.

A **Tabela 1** apresenta uma comparação entre as características dos aparelhos SPECT e PET.

Tabela 1: Comparativo entre SPECT e PET [12].

	SPECT	PET
Aquisição da imagem	Colimação	Deteção por coincidência
Reconstrução da imagem	Retroprojeção filtrada ou métodos iterativos	Retroprojeção filtrada ou métodos iterativos
Radionuclídeos	Emissores de raios-x, gama, excelente para fótons com energia de 70 – 365 keV	Apenas emissores de pósitrons
Resolução espacial	Depende do colimador e da órbita da câmara; dentro da imagem transaxial a resolução na direção radial é uniforme, mas a degradação ocorre na direção do centro; 10 mm FWHM para o centro; quanto maior a órbita da câmara pior é a resolução.	Relativamente constante através de imagem transaxial, 4,5 – 5,0 mm FWHM para o centro.
Atenuação	Menos severa e sem utilidade clínica.	Mais severa.

O PET apresentou uma expansão clínica rápida no mundo, devido à disponibilidade dos ciclotrons compactos e dos módulos de síntese química automatizados, entretanto no Brasil este crescimento foi mais lento, sendo adquirido por apenas grandes hospitais.

1.5 Radionuclídeos Emissores de Póstron

A maioria dos radionuclídeos emissores de pósitrons utilizados na medicina nuclear são produzidos por ciclotrons, mas também existe uma minoria de radionuclídeos que são produzidos por geradores. Os principais produzidos em ciclotrons são ^{11}C , ^{13}N , ^{15}O , ^{18}F , ^{124}I , ^{64}Cu e ^{89}Zr . O ^{68}Ga e ^{82}Rb são produzidos em gerador, como pode ser visto na **Tabela 2** [8].

Tabela 2: Nuclídeos emissores de póstron de interesse clínico e suas características [8].

Nuclídeo	Meia-vida (min)	Atividade específica (Ci/ μmol)	Decaimento (% β^+)	Energia β^+ (MeV)		Penetração na água (mm)	
				Máximo	Mínimo	Máximo	Mínimo
^{82}Rb	1,27	150,400	96,0	3,36	1,50	16,5	4,0
^{11}C	20,4	9220	99,77	0,9601	0,3856	4,1	1,1
^{68}Ga	68,3	2766	87,7	1,8991	0,836	8,2	2,9
^{18}F	110	1710	96,7	0,6335	0,2498	2,4	0,6
^{64}Cu	768	245	17,87	0,6529	0,2781	2,9	0,64
^{89}Zr	4704	39,9	23,0	0,897	0,397	4,0	1,18
^{124}I	6048	31	11,0	1,5323	0,6859	6,3	2,3
			12,0	2,1350	0,9736	8,7	3,5

Os metais, gálio, índio e ítrio são trivalentes e com química similar. Os metais de transição tais como o cobre, escândio e zircônio apresentam químicas complexas. Os radionuclídeos emissores de pósitrons desses metais (^{68}Ga , ^{64}Cu e ^{89}Zr) podem ser usados para marcar peptídeos e proteínas usando agentes quelantes bifuncionais.

Os radio-metais ^{64}Cu e ^{89}Zr são mais promissores para o desenvolvimento de anticorpos e fragmentos radiomarcados para estudos imunológicos em PET.

Os radionuclídeos orgânicos como ^{11}C , ^{13}N , ^{15}O são isótopos de elementos naturais que fazem parte da maioria das moléculas bioquímicas e de medicamentos. Os radiofármacos PET desenvolvidos são ideais para imagem molecular porque os radionuclídeos são bioquimicamente indistinguíveis de seus componentes naturais. Entretanto a meia-vida física curta desses radionuclídeos PET torna difícil a comercialização para o uso clínico.

Os radiofármacos PET consistem em dois componentes: uma estrutura molecular (vetor, veículo ou ligante) e um radionuclídeo emissor de pósitron. Para uma ligação estável das duas partes, um ligante pode ser quimicamente necessário. O veículo define as características biológicas, além de ser responsável por interações químicas e bioquímicas dentro do organismo vivo [16].

As moléculas “veículo” tem de fornecerem um elevado grau de especificidade e seletividade para o sítio alvo. Essas moléculas “veículo” podem ser: sistemas receptores, antígenos, receptores, transportadores, alterações metabólicas específicas, hipoxigenação do tecido, diferente energia demandada da célula, alterações na expressão do gene e da proteína, diferenças na vascularização e perfusão [16].

Radiofármacos PET marcados com ^{11}C e principalmente ^{18}F , devido a maior meia-vida física, continuarão sendo úteis em protocolos de pesquisa para estudar a fisiopatologia e para avaliar o potencial de utilidade clínica.

A dose administrada do radiofármaco varia de acordo com o radionuclídeo utilizado na marcação da molécula, além disso, três importantes conceitos devem ser analisados:

- energia transmitida: a quantidade total de energia depositada na matéria, é o produto da dose e da massa ao longo do qual a energia é transmitida. A unidade é J (Joule).
- dose equivalente: nem todos os tipos de radiação causam danos biológicos mesmo por dose unitária. Modificar a dose para refletir a eficácia relativa do tipo de radiação leva à produção de dano biológico, um fator de ponderação da radiação (w_R) foi estabelecido pela Comissão Internacional de Proteção Radiológica (ICRP), que para emissores de pósitron é >2 MeV.

- dose efetiva: nem todos os tecidos são igualmente sensíveis aos efeitos da radiação ionizante. Fatores de ponderação tecidual (wT) foram estabelecidos em ICRP 60 para atribuir à um tecido ou órgão específico (T) a proporção de detrimento de efeitos estocásticos, resultante da irradiação do tecido em comparação com a irradiação uniforme do corpo inteiro.

1.5.1 ^{18}F (Flúor)

O grupo de elementos conhecidos como halogênios (F, Cl, Br e I) são muito comuns na natureza. Entretanto, íons cloreto e iodeto são comuns no corpo humano, átomos de flúor e bromo geralmente não fazem parte de moléculas naturais. Dentre todos os halogênios, o átomo de flúor é o único que imita o átomo de hidrogênio em seu tamanho. Os raios de van der Waals, tanto do flúor quanto do hidrogênio são muito similares 1,35 e 1,2 Angstrom, respectivamente. O resultado, é que em qualquer molécula orgânica, a ligação C-F imita o comportamento biológico da ligação C-H. O átomo de flúor é também o mais eletronegativo dos halogênios e introduz uma polaridade mais semelhante a uma substituinte hidroxila em uma molécula. Com essas características o radionuclídeo ^{18}F continua sendo o emissor de pósitron ideal para radiofármacos PET, além disso, os outros halogênios são maiores em tamanho e menos eletronegativos comparados ao flúor [17].

O ^{18}F é um radionuclídeo ideal pela baixa energia de pósitrons (0,64 MeV), curto alcance tecidual (max.2,4 mm), fatores que ajudam a fornecer imagens com alta resolução. Além disso, é produzido com alta atividade específica e em altas atividades, possuindo rendimentos de marcação adequados na síntese de traçadores PET. O decaimento ocorre mais de 97% por emissão de pósitrons e tem meia-vida física de aproximadamente 110 minutos, fatores que aumentam a sensibilidade no diagnóstico [18].

O radionuclídeo ^{18}F é produzido livre de carregador pela reação nuclear ^{18}O (p,n) ^{18}F que ocorre em cíclotron, sendo geralmente utilizado um alvo de H_2O enriquecida em ^{18}O .

1.5.2 Flúor-18-fluorodeoxiglicose (^{18}F -FDG)

A DG (2-Deoxi-D-Glicose) foi desenvolvida em 1960 como um agente quimioterápico inibidor de células cancerígenas. Em 1976 o Dr. Wolf e colegas do Laboratório Nacional Brookhaven desenvolveram o radiofármaco ^{18}F -FDG para estudo de metabolismo cerebral da glicose através do PET [18].

^{18}F -FDG é transportado para as células através do facilitador no transporte de glicose (GLUT1), é fosforilado pela hexoquinase (HKII) tornando-se ^{18}F -FDG-6-fosfato, um material polar que é retido nas células cancerígenas e, portanto a base da imagem com PET/CT. O grau de absorção celular de ^{18}F -FDG tem relação com a taxa metabólica celular e com o número de transportadores de glicose [19; 20].

As aplicações do ^{18}F -FDG estão baseadas no fato das células tumorais serem altamente glicolíticas, mesmo em condições aeróbicas. O ^{18}F -FDG permite a obtenção de imagens e a quantificação fisiológica do metabolismo glicolítico.

A dose administrada de ^{18}F -FDG varia entre 350-550 MBq (10-15 mCi), dependendo do material do detector (BGO, GSO-oxiortosilicato de Gadolinio ou LSO-oxiortosilicato de Lutécio), do comportamento da taxa de contagem do tomógrafo PET, e do modo de aquisição utilizado (2D ou 3D), além do tamanho do paciente [10].

No Brasil os estudos de PET/CT com ^{18}F -FDG estão voltados para a oncologia, para diferenciação de doença benigna e maligna; identificação do local da doença para planejamento de biópsia ou cirurgia; detecção de alguns tumores primários; classificação da malignidade baseado no volume de radiofármaco captado; estadiamento da doença; diferenciação entre tumor residual e cicatrizados após o tratamento; detecção de recidiva; medida da resposta terapêutica e para guiar a radioterapia [18].

O ^{18}F -FDG não apresenta uma captação específica para inflamação ou lesões granulomatosas, além de ter a captação influenciada tanto pela insulina quanto pelos níveis de glicose no sangue [24].

^{18}F -FDG apresenta impacto limitado em doenças com baixa avidéz por glicose, como o câncer de próstata, câncer de mama e gânglios linfáticos, assim novas vias

metabólicas, como aminoácidos ou metabolismo lipídico, tem sido exploradas [15; 21].

1.5.3 Flúor-18-fluoroacetato (^{18}F -FAc)

O ^{18}F -FAc é conhecido como um marcador para PET/CT em estudos de metabolismo miocárdico e estudos de metabolismo cerebral. Recentemente, estudos estão comprovando sua eficácia na detecção de tumores que apresentam baixa captação de glicose. O acetato participa na síntese lipídica citoplasmática, que aparece aumentada nos tumores [22;23].

O fluoroacetato é um composto altamente tóxico em altas doses, entretanto nas imagens PET/CT é utilizado em baixa concentração. O mecanismo para a toxicidade é devido à formação do fluorocitrato e bloqueio irreversível da enzima mitocondrial aconitase, enzima importante no ciclo do ácido tricarboxílico para converter citrato em isocitrato. O ^{18}F -FAc é um substrato dos transportadores monocarboxila e enzima acetil-CoA2 mitocondrial. A formação do fluorocitrato é lenta, portanto os sintomas de uma super dosagem só apareceriam horas após a sua administração. Caso o ^{18}F -FAc seja, enzimaticamente, convertido para [^{18}F] acetil-CoA no citosol, poderia ser útil para avaliar a atividade anabólica em tecidos lipogênicos incluindo cânceres. Em estudo comparativo com roedores, o ^{18}F -FAc apresentou pouca retenção em tecidos moles e maior acúmulo em osso, indicando a defluorinação, fato não observado quando utilizado em animais mamíferos [24].

Estudos relataram absorção significativa do $^{18}\text{F}^-$ no osso de roedores, sugerindo alguma inativação da aconitase. No entanto, estudos em babuínos não apresentam absorção óssea detectável do íon fluoreto e sugerem que o acúmulo de radioatividade nos tecidos é o resultado de uma taxa mais lenta do metabolismo de ^{18}F -FAc antes da inativação aconitase, embora não seja claro que é o passo limitante [25].

A síntese de lipídeos é um dos principais papéis dos astrócitos, fornecendo colesterol essencial para os neurônios e os ácidos graxos necessários para a síntese

de fosfolípidos cerebrais. Portanto, é possível que as quantidades relativas de radioatividade após a injeção de ^{18}F -FAc, associada com o metabolismo oxidativo e biosíntese de lípidos, seja diferente entre as regiões do cérebro e substratos patológicos [25].

Existem também estudos com acetato marcado com ^{11}C (^{11}C -Ace), sendo este um traçador de fluxo de carbono através do ciclo do ácido tricarboxílico (TCA). O ciclo do ácido tricarboxílico (TCA), lipídios e síntese de colesterol representam as vias metabólicas para o acetato [21; 24].

O ^{11}C -Ace entra dentro das células por transportadores monocarboxilato ou difusão e rapidamente é eliminado na corrente sanguínea. Nas células é facilmente ativado para ^{11}C -acetil-CoA pela enzima acetil-CoA sintetase, tanto no citosol como nas mitocôndrias. A enzima acetil-CoA sintetase 1 é encontrada no citosol e principalmente expressa nas células com alta atividade lipogênica, como glândulas salivares, baço, fígado e alguns cânceres. A enzima acetil CoA sintetase 2 é expressa na mitocôndria e integrada dentro do complexo piruvato desidrogenase. O ^{11}C -acetil-CoA formado na mitocôndria entra no ciclo do ácido tricarboxílico e o carbono é oxidado para ^{11}C -CO₂ com a taxa de fosforilação oxidativa ou é transferido para outro intermediário e usado para geração anabólica de lípidos ou aminoácidos [24].

O acetil-CoA é incorporado na membrana intracelular nos microdomínios de fosfatidilcolina, importantes para o crescimento tumoral e metastático [18].

A excreção do fluoroacetato ocorre por duas vias, urinária e biliar. Já o acetato marcado com o ^{11}C (^{11}C -Ace) apresentou baixa atividade na urina e muito exalado pelos pulmões na forma de CO-CO₂ metabolizado. Esta diferença nas vias de excreção ocorre porque o ^{18}F -FAc não é oxidado. Em algumas espécies pode ocorrer defluorinação, ou seja, acúmulo do radiofármaco nos ossos [24].

A vantagem é que, embora a maior parte do marcador radioativo associado com ^{11}C -Ace é liberado como ^{11}C -CO₂ por metabolismo oxidativo no ciclo do ácido tricarboxílico (TCA), o metabolismo do ^{18}F -FAc, no ciclo do ácido tricarboxílico, é incompleto e resulta no acúmulo de radioatividade nos tecidos. No entanto, não é

claro se o ^{18}F -FAc ou algum metabólito é responsável pelo acúmulo de radioatividade observada no cérebro [25].

Estudos *in vitro* demonstraram que o acetato foi muito melhor como um marcador de proliferação celular do que a colina. As diferenças na sensibilidade para a detecção de tumores destes dois marcadores podem ser devido às diferentes enzimas e mecanismos envolvidos na absorção e retenção de tumor destes dois substratos [18].

Segund Jadvar (2010), a razão da captação do fluoroacetato em tumor-coração e tumor-próstata foi similar. Estudos em macacos e porcos demonstraram que o fluoroacetato não é um análogo funcional do ^{11}C -acetato em fisiologia normal.

Em células normais o acetil-CoA é oxidado na mitocôndria para dióxido de carbono e água, através do ciclo do ácido tricarboxílico. Já em células tumorais, a maior parte do acetato é convertida em ácidos graxos pela enzima sintetase de ácido graxo (SAG), que é super-expressa em células tumorais [18].

Em muitos cânceres ocorre a superexpressão da FAS (sintase de ácido graxo), especialmente no câncer de próstata, onde o grau de superexpressão está relacionada com a agressividade do tumor. O ^{18}F -FAc apresenta alta sensibilidade na detecção de câncer de próstata recorrente. No câncer de mama ^{18}F -FAc tem sua utilidade na detecção de pequenos tumores e na redução de falsos negativos [21; 26].

O ^{11}C -Ace também foi apresentado em alguns estudos como potencial radiofármaco para diferenciar graus tumorais em gliomas, sendo superior à ^{11}C -metionina. Além disso, o fluoroacetato não invade o metabolismo glial, portanto não é o radiofármaco indicado para estudos cerebrais [25].

Comparado com o ^{18}F -FDG, tanto o ^{18}F -FAc quanto o ^{11}C -Ace apresentam uma eliminação renal insignificante, portanto a concentração na bexiga é mínima.

A biodistribuição do ^{11}C -Ace e do ^{18}F -FAc difere, um exemplo é o fato da captação tumoral ser cinco vezes maior com ^{18}F -FAc do que com ^{11}C -Ac, no período de 30 minutos após a injeção intravenosa [21].

Há evidência para a existência de um tumor específico não associado ao ciclo do ácido tricarboxílico, mas associado a uma elevada taxa de glutaminolises e

lipogéneses. Sendo assim, a glutamina e glutamato desempenham papéis fundamentais no metabolismo intermediário de tumores [17].

^{18}F -FAc é um marcador útil de PET com alta sensibilidade para detectar o câncer de próstata e outros tipos de câncer que apresentam baixa captação com ^{18}F -FDG. A alta captação de ^{18}F -FAc ocorre em tumores, mas também em lesões inflamatórias [26].

As etapas químicas para preparar o fluoroacetato são semelhantes às usadas para ^{18}F -FDG.

1.6 Aprovação de radiofármacos PET

Durante as três últimas décadas alguns radiofármacos PET foram usados em estudos clínicos com a aprovação do *Radioisotope Drug Research Committee* (RDRC) ou com o *Investigational New Drug* (IND). Como algumas outras drogas ou fármacos, a aprovação pelo *Food and Drug Administration* (FDA) de um novo radiofármaco PET envolve a submissão do *New Drug Application* (NDA) por um fabricante ou uma empresa que documenta claramente dois aspectos principais da droga: 1-fabricação de drogas PET; 2-segurança e eficácia da droga com indicações específicas para o seu uso clínico. Após uma extensa revisão de um registro para os ensaios clínicos do NDA, o FDA aprova o NDA para o uso na rotina clínica [17].

O primeiro radiofármaco PET que recebeu a aprovação do FDA, em 1989, foi o gerador $^{82}\text{Sr} \rightarrow ^{82}\text{Rb}$ (*Cardiogen-82*, *Bracco Diagnostics*) utilizado para estudos de imagem de perfusão do miocárdio [17].

Atualmente os radiotraçadores ^{18}F e ^{11}C são facilmente preparados em ciclotrons e as regras do FDA e do NDA sofreram algumas modificações. Hoje, nos Estados Unidos, toda clínica que trabalha com FDG-PET opera sob as leis da *Practice of Medicine and Pharmacy*, através da prescrição por um físico e a distribuição por um farmacêutico registrado.

O FDA requer que todas as drogas PET, incluindo drogas IND para administração em humanos, devem ser fabricadas de acordo com Current Good

Manufacturing Practices (cGMPs). Embora a farmacopéia americana, *United States Pharmacopeia* (USP), ter servido como as exigências cGMPs para a produção de drogas PET por muitos anos, ela foi substituída pelo regulamento 21 CFR-212, efetivo em Dezembro de 2011 para a produção comercial de drogas PET em estágios avançados de desenvolvimento. Desde Dezembro de 2011 todos os radiofármacos PET devem ter uma NDA para uso em rotina clínica [17].

A aprovação do FDA exige ensaios clínicos multicêntricos que demonstram a eficácia, segurança e toxicidade da droga, o que depende de grande investimento financeiro.

A produção de radiofármacos PET fica estabelecida em cGMPs e para aprovação pelo FDA são necessários os estudos clínicos de fase I, II e III que documentam a segurança, toxicidade e eficácia do radiofármaco PET.

O Brasil produz radiofármacos desde 1959 no IPEN seguindo apenas as normas internas de qualidade. Atualmente no Brasil a ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) tem sua própria regulamentação para radiofármacos, as resoluções nº 63 e nº 64 (RDC 63 e 64), em vigor desde Dezembro de 2009.

1.7 Aceleradores

Os cíclotrons são os aceleradores mais utilizados para a produção de radioisótopos emissores de pósitrons utilizados na Medicina Nuclear.

1.7.1 Cíclotron

O cíclotron é um equipamento que acelera partículas carregadas, no qual íons produzidos no centro são submetidos a um campo elétrico e magnético [27].

Em uma câmara sob baixa pressão, ou seja, vácuo, estão dois eletrodos chamados de “Dês”, que produz um campo magnético perpendicular aos planos dos eletrodos. Esses “Dês” estão conectados à uma fonte de tensão alternada criando

um campo elétrico de direção paralela ao plano dos eletrodos. No centro do ciclotron existe uma fonte de íons geradora de partículas carregadas que são introduzidas entre os “Dês”, onde são influenciadas pelo campo elétrico e, portanto inicia-se o processo de aceleração [27].

No interior dos “Dês” as partículas sofrem influência apenas do campo magnético e formam uma trajetória circular (**Figura 4**), como não modifica a velocidade das partículas, não altera a energia das mesmas. É um campo magnético apenas para alterar a direção das partículas. Após o término do percurso nos “Dês”, as partículas saem invertendo a polaridade do campo elétrico, portanto causando a aceleração e o aumento da velocidade das partículas em direção ao próximo “Dê”. Este segundo “Dê” obriga a partícula a voltar para uma trajetória circular, porém com o raio menor. Alternar o campo elétrico, quando a partícula sae dos “Dês”, permite à ela maior velocidade e aumento dos raios das suas órbitas. Esse processo se repete até o ponto em que as partículas são extraídas e direcionadas para o alvo e para o bombardeamento [27].

A partícula carregada mais utilizada é o íon H^- , obtido através do bombardeamento de hidrogênio para o interior de uma câmara e aquecido por meio de uma corrente de feixe de elétrons. As colisões entre os elétrons e o gás hidrogênio produzem grandes quantidades de íon H^- (feixe), e por meio da diferença de potencial elétrico esse feixe é injetado no interior do ciclotron para dar início a aceleração, até obter a energia desejada [27].

A extração mais comum é aquela que utiliza uma fina membrana de carbono na trajetória do feixe, que pode ser observada na **Figura 5**. A interação entre os H^- e a folha de carbono causa a retirada dos dois elétrons do H^- , seguindo para a troca de carga da partícula de H^- para H^+ (próton). Essa mudança no mesmo campo magnético leva a uma inversão da direção de rotação, portanto extração do campo de aceleração. Os ciclotrons que utilizam essa técnica são denominados de ciclotrons de íons negativos [27].

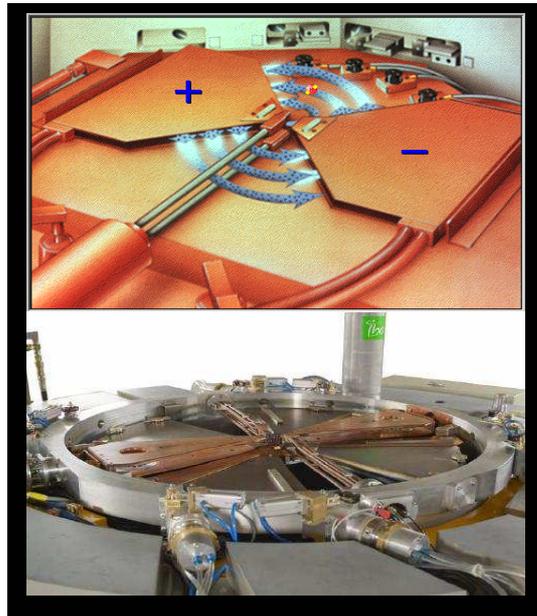


Figura 4: Os vales e os montes do campo magnético e a diferença do campo elétrico (positivo e negativo) [28].



Figura 5: Folha de carbono para a extração do feixe.

O IPEN possui dois cíclotrons operantes:

- O Cyclone 18 da IBA (**Figura 6**), para íons negativos, prótons de 18 MeV e corrente de 150 μA . É um cíclotron horizontal, portanto a trajetória da partícula é no plano horizontal, além disso, possui 4 porta-alvos.



Figura 6: Cyclone 18 da IBA, IPEN.

- O Cyclone 30 da IBA apresentando energia de 30 MeV e corrente de $350\mu\text{A}$, apresentado na **Figura 7**.



Figura 7: Cyclone 30 da IBA, IPEN.

1.8 Ciclo Celular e Neoplasia

A proliferação celular pode ser estimulada por lesão, morte celular e deformação mecânica dos tecidos. A replicação celular é controlada, em sua maior parte, por fatores químicos no meio ambiente que inibem ou estimulam a proliferação

celular. No caso do câncer ocorre o crescimento descontrolado, onde existe excesso de fatores que estimulam o crescimento ou deficiência de inibidores.

O ciclo celular é formado pelas fases G_1 (pré-síntese), S (síntese de DNA), G_2 (pré-mitótica) e M (mitótica). As células quiescentes (em repouso) encontram-se no estado G_0 .

As células do corpo são divididas em três grupos, baseados na sua capacidade proliferativa e relação com o ciclo celular [29].

- ✚ **Células em divisão contínua:** seguem o ciclo celular de uma mitose para a próxima e continuam proliferando por toda vida, substituindo as células continuamente destruídas, exemplos útero e glândulas salivares.
- ✚ **Células quiescentes (estáveis):** apresentam baixo nível de replicação, mas podem sofrer rápida divisão frente a estímulos e podem reconstituir o tecido de origem. Estão na fase G_0 , mas podem passar para G_1 , exemplo células parenquimatosas, encontradas em fígado, rins e pâncreas, além das mesenquimatosas que são músculo liso e fibroblasto, também o grupo das endoteliais vasculares.
- ✚ **Células que não se dividem:** não estão no ciclo celular e são incapaz de sofrer divisão mitótica, exemplo é a maioria das células nervosas, da musculatura esquelética e músculo cardíaco, no caso do infarto do miocárdio quando sofre regeneração apresenta cicatriz [29].

As aberrações moleculares podem ser a base para o crescimento descontrolado do câncer e também para respostas celulares anormais em uma variedade de doenças. A sinalização intercelular pode ser autócrina (as células respondem a substâncias de sinalização secretadas por elas mesmas, exemplo são as tumorais e regeneração hepática), parácrina (as células secretoras secretam substâncias para atingir uma célula-alvo exemplo o reparo de feridas por tecido conjuntivo), endócrina (hormônios sintetizados por células de órgãos endócrinos e atuam sobre células-alvo distantes do seu local de síntese, transportadas pelo sangue) [29].

Os tumores podem ser monoclonais ou policlonais. Monoclonais quando o marcador genético está presente em todas as células do tumor, ou seja, todas as

células são descendentes de uma célula inicialmente mutada e que todas as outras herdam o marcador a partir de um único progenitor em comum. O policlonal é um tumor formado por uma série de subpopulação de células geneticamente distintas, portanto não fornecem nenhum indicativo de uma origem em comum [30].

A base genética do câncer está relacionada às mutações genéticas adquiridas pela ação de determinados agentes ambientais, como substâncias químicas, radiação ou vírus ou herdada na linhagem germinativa. A genética do câncer implica que a massa tumoral é resultado da expansão clonal de uma única célula progenitora que sofreu lesão genética [29].

Os genes supressores de tumor BRCA-1 e BRCA-2 estão associados ao câncer de mama, além de outros genes supressores. Mutações do gene BRCA-1, na linha germinativa, apresenta um risco maior de câncer de ovário epitelial, de próstata e de cólon. O gene BRCA-2 aumenta o risco para o câncer de mama em homens, ovário, próstata, pâncreas e laringe. Cerca de 5-10% dos cânceres de mama são familiares e as mutações nos genes BRCA-1 e BRCA-2 representam 80% dos casos familiares. Os cânceres de mama esporádicos/não familiares não estão associados às mutações dos genes BRCA-1 e BRCA-2, já os genes supressores tumorais Rb (retinoblastoma), p53 e NF-1 (neurofibromatose tipo 1) estão associados aos cânceres hereditários e esporádicos [29].

A carcinogênese é formada por várias etapas fenotípicas e genotípicas. A neoplasia maligna é constituída por crescimento excessivo, invasão local e capacidade de formar metástases distantes, fenômenos adquiridos progressivamente, portanto determina a progressão tumoral.

A diferenciação entre maligno e benigno pode ser considerada sob os seguintes aspectos: diferenciação e anaplasia, velocidade de crescimento, invasão local e metástase.

A diferenciação das neoplasias corresponde ao grau de semelhança entre as células parenquimatosas e células normais, tanto na sua morfologia quanto na sua função. Os tumores bem diferenciados são formados por células que se assemelham às células normais maduras do tecido de origem da neoplasia. Os tumores pouco diferenciados ou indiferenciados possuem células não-especializadas com aspecto

primitivo. Em geral, os tumores benignos são bem diferenciados, já as neoplasias malignas variam de células bem diferenciadas até células indiferenciadas [29].

As neoplasias malignas podem ser formadas por células diferenciadas ou indiferenciadas. As neoplasias indiferenciadas são conhecidas por anaplásicas, essa anaplasia é uma característica básica da transformação maligna [29].

As células são classificadas como diferenciadas quando o tumor perde as características tecido-específicas diferenciadas do tecido normal, além disso, esses tumores são chamados de anaplásicos já que não é possível utilizar critérios histopatológicos para identificar os tecidos de origem [30].

O câncer bem diferenciado evolui da maturação ou da especialização de células indiferenciadas que estão proliferando, o tumor maligno indiferenciado deriva da proliferação sem maturação das células transformadas [29].

A velocidade de crescimento dos tumores está correlacionada com o seu nível de diferenciação, assim os tumores malignos crescem, em sua maioria, mais rapidamente do que as lesões benignas. O crescimento dos cânceres é acompanhado de infiltração progressiva, invasão e destruição do tecido circundante, além disso, os tumores malignos de crescimento lento podem desenvolver cápsula fibrosa [29].

A maior parte dos tumores primários que aparecem nos humanos são benignos, portanto inofensivos a não ser que a expansão desses tumores gera uma pressão em um órgão ou tecido. Além disso, os tumores benignos também podem liberar altos níveis de hormônio levando ao desequilíbrio fisiológico do organismo.

Os epitélios semeiam os tipos de cânceres humanos mais comuns chamados de carcinomas, que são responsáveis por 80% dos óbitos por câncer no mundo ocidental. Os carcinomas englobam os tumores que se desenvolvem a partir das camadas celulares epiteliais do trato gastrointestinal (boca, esôfago, intestino delgado e grosso, pele, glândulas mamárias, pâncreas, pulmão, fígado, ovário, vesícula biliar e bexiga) [30].

Todos os tumores têm dois componentes; proliferação de células neoplásicas e o suporte de estroma que é composto de tecido conjuntivo e vasos sanguíneos.

A anaplasia é caracterizada por alterações morfológicas e funcionais: células e núcleos apresentando pleomorfismo (variação de tamanho e forma); núcleos hipercromáticos (grande quantidade de DNA, portanto coloração escura); núcleos desproporcionalmente grandes em relação às células, sendo a relação núcleo-citoplasma 1:1 sendo o normal 1:4 ou 1:6; além da presença de grandes nucléolos dentro dos núcleos. O número de mitoses não determina malignidade e/ou se o tecido é neoplásico. Além das anormalidades citológicas descritas, a orientação das células anaplásicas encontra-se alteradas crescendo de modo anárquico e desorganizado. Tumores anaplásicos são escassos de suprimento sanguíneo, portanto grandes áreas apresentam isquemia [29].

Tecido displásico, ou seja, levemente mais anormal em relação à citologia, ou seja, com alterações citológicas como a variabilidade no tamanho e forma do núcleo, aumento de coloração dos núcleos por corantes, aumento da relação do tamanho do núcleo comparado ao citoplasma, aumento da atividade mitótica e perda de características citoplasmáticas relacionadas às células diferenciadas do tecido normal. A displasia é um estado transitório entre crescimentos completamente benignos e aqueles pré-malignos [30].

A metaplasia um tipo de camada de células normais é substituído por células de outro tipo, geralmente não encontradas nesse tecido. Essas células mesmo encontrando-se em locais errôneos, podem parecer normais à microscopia.

As metástases são crescimentos tumorais descontínuos comparados ao tumor primário, as neoplasias benignas não causam metástase. A disseminação se dá por vasos sanguíneos, linfáticos e cavidades corporais (a cavidade peritoneal é a mais afetada embora outras como a pleura, pericárdia, subaracnóide e espaço articular possam ser o sítio de implantação) [29].

A grande maioria dos cânceres tem seu risco associado diretamente ao ambiente físico e também ao estilo de vida de cada indivíduo.

No passado, os tumores de determinados fenótipos surgiam de células normais. Recentemente, indicações levam a crer que a maioria dos tumores aparece a partir de células imaturas que podem transformar e adquirir características fenotípicas semelhantes às de um ou mais tipos de células normais.

O grau de malignidade é uma avaliação qualitativa da diferenciação do tumor em comparação com o tecido normal, num local específico, o sistema de classificação proporciona uma medida do grau de malignidade. Em geral, um sistema de três graus: Grau I - bem diferenciado, Grau II- moderadamente diferenciado e Grau III – pouco diferenciado.

Estadiamento do câncer depende do tamanho do tumor primário, a sua extensão para os nódulos linfáticos regionais, e a presença ou ausência de metástases. O sistema TNM é uma expressão da extensão anatômica da doença e baseia-se na avaliação de três componentes: T - grau de tumor primário, N - ausência ou presença e a extensão da metástase linfonodo regional e M - ausência ou presença de metástases à distância.

1.9 Câncer de Próstata

No Brasil, o câncer de próstata é a segunda principal causa de morte por câncer entre os homens, perdendo apenas para o câncer de pulmão. Nos Estados Unidos o câncer de próstata perde para o câncer de pulmão e colorretal. A taxa de mortalidade vem caindo devido ao diagnóstico precoce [29].

Carcinomas de próstata são a segunda maior causa de morte por câncer, além de ser a mais comum em homens. Acomete mais homens após os 50 anos de idade, dentre os fatores de risco encontra-se a idade, raça, história familiar, níveis hormonais e as influências ambientais.

Os motivos deste crescimento não são muito claros, entretanto dentre alguns fatores contribuintes estão: o aumento da longevidade da população, maior conscientização da doença por pacientes e médicos, melhores técnicas diagnósticas como antígeno específico prostático (PSA), ultra-sonografia tranretal (TRUS) e dispositivos para biópsia, além disso o aumento dos procedimentos de triagem [31].

A próstata no adulto normal pesa 20g. É um órgão retroperitoneal que circunda o colo da bexiga e uretra e possui uma cápsula nítida. No adulto, o parênquima prostático é dividido em quatro zonas biologicamente e anatomicamente

distintas: periférica/periuretral, central e transicional. A maioria das hiperplasias nasce nas zonas transicional e periuretral, já os carcinomas originam-se na zona periférica, mostradas na **Figura 8** [29].

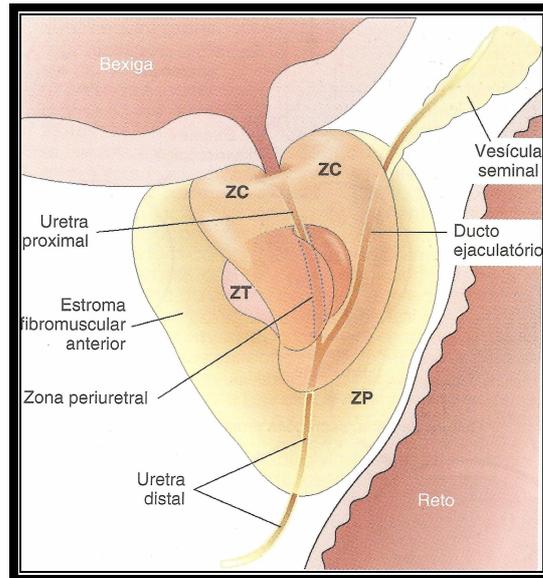


Figura 8: Divisão do parênquima prostático [29].

Os homens mais velhos apresentam um crescimento contínuo da parte da uretra perto da próstata, chamado de hiperplasia prostática benigna (HPB), dificultando a passagem da urina. A próstata é composta por vários tipos de células, mas a maioria dos cânceres de próstata são adenocarcinomas, provenientes de células que produzem o líquido seminal. Na maioria dos casos, seu desenvolvimento é lento, mas existem casos em que há um rápido crescimento.

Os processos patológicos que afetam a glândula prostática com freqüência são três: inflamação, aumento nodular benigno e tumores. O aumento nodular benigno aparece com freqüência em pacientes idosos, é quase considerada uma patologia do envelhecimento [29].

Os processos inflamatórios da próstata, conhecido por prostatite pode ser bacteriana aguda e crônica ou abacteriana crônica.

Hiperplasia/Hipertrofia Prostática Benigna é comum em homens acima de 50 anos de idade, caracterizada pela hiperplasia das células epiteliais e do estroma da próstata, portanto formando nódulos grandes na região periuretral da próstata. Esses nódulos, quando muito grandes, comprimem o canal uretral causando obstrução parcial ou total da uretra. O aumento prostático está relacionado à ação dos androgênios, a diidrotestosterona (DHT) é um metabólito da testosterona, sintetizado na próstata e mediador final do crescimento prostático [29].

As células epiteliais neoplásicas, assim como as células normais possuem receptores androgênicos, portanto respondem a esses hormônios, o que não acontece com os níveis ou metabolismo da testosterona. Lembrando que esses receptores androgênicos são essenciais para a manutenção do epitélio prostático. O tecido neoplásico é firme e arenoso, porém quando misturado à substância prostática, torna-se difícil de visualizar, portanto é mais evidente à palpação [29].

A disseminação do câncer de próstata ocorre por invasão local direta, corrente sanguínea e linfática. Extensão local envolve vesículas seminais e a base da bexiga urinária, obstruindo a uretra. São observados a presença de metástases ósseas osteolíticas ou osteoblásticas, acometimento das vértebras lombares, fêmur proximal, pelve, vértebras torácicas e costelas. A disseminação linfática ocorre para os nodos obturadores (secundário), nodos perivesicais, hipogástricos, íliaco interno (primário) e íliaco externo (terciário), pré-sacrais (quaternários) e para-aórticos. O primário, secundário, terciário e quartenário são as principais vias de disseminação linfática. Histologicamente a maioria é adenocarcinoma com padrões glandulares bem definidos [29].

A classificação em graus e estágios do câncer de próstata é feita por vários sistemas, mas o mais conhecido é o Gleason. Segundo o sistema de Gleason os cânceres prostáticos são estratificados em cinco graus baseados nos padrões glandulares e grau de diferenciação identificado em pequeno aumento. Grau 1 são os tumores mais bem diferenciados, as glândulas neoplásicas são de aparência uniforme e redonda e acondicionadas em nódulos bem circunscritos. Os tumores

grau 5 não mostram diferenciação glandular e as células tumorais infiltram o estroma na forma de cordão, massas e ninhos. Os valores de Gleason 7-10 são para tumores indiferenciados. Os outros graus estão dentro desses extremos. A maioria dos tumores contém mais de um padrão, portanto atribui-se um grau primário ao padrão dominante e um grau secundário ao padrão subdominante. Os dois graus numéricos são somados para obter um grau ou escore de Gleason combinado. A graduação é importante no câncer de próstata devido à boa correlação entre o prognóstico e o grau de diferenciação [32].

O PSA é uma glicoproteína expressa tanto pelo tecido normal quanto pelo tecido maligno da próstata. Mede-se o PSA no soro; uma concentração acima 4 ng/mL é considerado anormal na maioria dos casos, embora um ajuste para a idade do paciente é geralmente considerado. PSA é o marcador mais importante para a detecção precoce do tumor, estadiamento e acompanhamento de homens com câncer de próstata, porém não é determinante no fechamento do diagnóstico, necessitando exames complementares. Na terapia com radiação, níveis iniciais mais baixos de PSA e menor escore de Gleason são, ambos associados, com a melhor sobrevida livre da doença [32].

O diagnóstico, geralmente, ocorre com a dosagem sérica do antígeno prostático específico (PSA), além disso, por biópsia orientada pela ultra-sonografia.

O diagnóstico é o exame retal digital, devido a localização posterior da maioria dos tumores, a ultra-sonografia transretal é um adjuvante para a detecção precoce e avaliação da disseminação local. Uma biópsia transretal ou transperitoneal é fundamental para a confirmação do diagnóstico. O envolvimento dos linfonodos pode ser observado por tomografia computadorizada ou ressonância magnética. As metástases microscópicas podem passar despercebidas nas técnicas de imagem citadas anteriormente, portanto uma linfadenectomia pélvica pode ser indicada como procedimento de estadiamento e, se esses estiverem acometidos não é indicada a prostatectomia radical. As metástases ósseas podem ser detectadas pela cintilografia óssea.

Dentre os diagnósticos encontram-se também os marcadores bioquímicos, a fosfatase ácida prostática (secretada pelo sêmen) e o PSA, ambos são produzidos

pelo epitélio normal e neoplásico. Os homens normais apresentam pouca quantidade de PSA circulante (4 ng/mL), o seu aumento pode estar associado ao câncer localizado e avançado (representa 80% dos casos), entretanto entre 20 e 30% dos pacientes com hiperplasia ou prostatite apresentam aumento nos níveis de PSA. A avaliação do PSA é feita avaliando o PSA sérico, o volume prostático, a variação do PSA ao longo do tempo, faixas de referência específica da idade e a proporção de PSA livre para o ligado no soro. O PSA tem sua importância, por exemplo, em casos de prostatectomia radical, onde o alto nível de PSA determina disseminação da doença, além disso, também apresenta função importante na avaliação após tratamento [29].

O estadiamento do tumor, dos nódulos e das metástases (TNM), para tumores locais, é indicado por numerais romanos I a IV. Atualmente o teste é baseado no sistema de tumor-nódulo-metástase (TNM), T1 são tumores diagnosticados incidentalmente, na maioria dos casos por triagem com PSA. T2 são tumores que ficam dentro da cápsula da próstata. T3 são tumores que se estendem através da cápsula ou para as vesículas seminais. T4 tumores que se espalharam para um órgão adjacente [32].

O tratamento ideal teria que ser efetivo, bem tolerado, conveniente, com o menor impacto na qualidade de vida do paciente, contenção de custos e ter custo-benefício (custo/ano salvo de vida) [31].

O tratamento é cirúrgico ou através de radioterapia ou braquiterapia. Caso não haja envolvimento linfonodal ou metástases, é indicada a prostatectomia radical. O estágio do tumor, a idade do paciente e as condições clínicas do mesmo vão determinar a seqüência do tratamento.

Os cânceres de próstata, geralmente, apresentam de 10-25% de progressão nos pacientes em um período de 10 anos e raramente avança significativamente em 5 anos. É um câncer que geralmente cresce e se espalha muito lentamente [31].

A prostatectomia radical, quando realizada em homens com câncer de próstata localizado e uma expectativa de vida de 15 anos ou mais, é considerado um tratamento aceitável. O benefício refere-se à extensão da doença no momento da detecção. Geralmente, mais de 70% dos casos permanecerão *tumor-free* entre 7 a

10 anos. Para tumores de estágio T2, a probabilidade de permanecer livre de progressão (com base em determinações de PSA) pode ser tão elevada como 90% em pacientes sem margens positivas [31].

As Diretrizes da Sociedade do Câncer recomendam o PSA e toque retal (DRE) sendo realizados anualmente em homens de 50 anos de idade, além de informações sobre os riscos e benefícios da triagem [31].

1.9.1 Diagnóstico do câncer de próstata

A função da imagem no câncer de próstata deve incluir diagnóstico, localização e caracterização do tumor primário, determinação de disseminação extracapsular, orientação e avaliação de linfonodos loco-regionais, a detecção da doença localmente recorrente e metastático em recidiva [23].

O estadiamento T-inicial, ultra-sonografia transretal e ressonância magnética tornaram-se os estudos de imagem estabelecidos em muitas instituições. A ressonância magnética mostra a anatomia interna da próstata, margens da próstata e a extensão dos tumores prostáticos com mais detalhes do que a tomografia computadorizada.

O ^{18}F -FDG sofre eliminação renal, afetando a visualização de lesões em área pélvica devido ao mascaramento causado pelas concentrações fisiológicas. A captação também pode ser afetada pela ablação de andrógeno em pacientes sob terapia hormonal.

O câncer de próstata apresenta baixo crescimento e baixa atividade metabólica dependente de glicose, isso explica porque não é eficiente utilizar a técnica PET/CT com o radiofármaco ^{18}F -FDG na localização de pequenos focos de atividade. Este exame não é recomendado para diagnóstico de tumor primário.

A captação de ^{18}F -FDG é maior em tumores primários pouco diferenciados (Gleason total > 7) e maiores valores de PSA do que em tumores com menor valor de Gleason [23].

A transformação maligna das células está associada com a indução da atividade da enzima colina-quinase que resulta em níveis aumentados de

fosforilcolina. Além disso, os tumores de proliferação rápida contêm grandes quantidades de fosfolípidios, particularmente lecitina. A formação e o acúmulo de fosfolípidios da membrana é coordenado pelo ciclo celular e ocorre durante a fase S. As células com muito acúmulo de colina não podem sintetizar lecitina, resultando parada do ciclo celular na fase G1. Portanto a captação de colina radiomarcada reflete a atividade proliferativa pela estimativa de síntese lipídica. As células tumorais com elevada taxa de proliferação terão a captação elevada de colina para manterem-se crescentes para a síntese de fosfolípidios [18]. Sendo assim, baseado nesse princípio, existe o radiofármaco ^{18}F -FCH (fluorocolina).

O radiofármaco ^{18}F -FCH tem seus estudos voltados para a evolução do câncer de próstata, detectando doença recorrente, entretanto apresenta valores limites para T (tumor) e N (nódulo). É um exame adequado com a capacidade de excluir metástases distantes [33].

O ^{18}F -FCH é excelente para discriminar tumor de tecido normal em cérebro, além de distinguir pela sua captação gliomas de alto-grau, metástases e lesões benignas. Diferencia, também, local tumoral recorrente de injúria induzida por radiação. Apresenta grau de moderado a elevado de captação fisiológica em tecido normal hepático [33].

O ^{18}F -FCH apresenta excreção renal diferente da colina marcada com ^{11}C . Estudos observaram captação prostática, óssea, abdominal e em linfonodos pélvicos. PET/CT verdadeiro-positivo em pacientes com níveis séricos de PSA > 4ng/mL, além disso 46 de 100 pacientes com baixos níveis de PSA não apresentaram captação de fluorocolina. Sendo assim, não se mostrou impactante em pacientes com câncer de próstata recorrente até que o nível de PSA aumente acima de 4 ng/mL, entretanto o radiofármaco pode ser utilizado para avaliar metástases a distância mesmo que seja inicial [34].

O crescente acúmulo de ^{18}F -FCH no esqueleto, em imagens de PET tardias, é altamente preditivo de metástases ósseas, no entanto, a terapia hormonal pode aumentar a dificuldade de interpretar a captação [34].

O ^{18}F -FCH quando utilizado para descobrir metástases ósseas no câncer de próstata apresenta sensibilidade de 79%, especificidade de 97% e 84% de precisão [34].

O radiofármaco ^{11}C -Metionina também utilizado no câncer de próstata, com metabolização hepática e pancreática e pouca excreção renal, facilitando a observação da evolução da glândula prostática e de outras estruturas pélvicas. Apresenta clearance sanguíneo mais rápido do que o ^{18}F -FDG. Em um estudo apresentou SUV de $3,37 \pm 0,77$ para o ^{18}F -FDG e SUV de $6,02 \pm 2,1$ para captação com ^{11}C -Metionina [35]. O grande problema é a baixa meia-vida física do ^{11}C , dificultando a utilização deste radiofármaco na prática clínica.

Outro radiofármaco de interesse é o derivado de amino ácido anti-1-amino-3- ^{18}F -fluorocyclobutil-1-ácido carboxílico (anti- ^{18}F -FACBC), sugerido como um diferenciador de carcinoma de próstata e hipertrofia benigna prostática em modelos animais. Geralmente tecidos benignos prostáticos e prostatites apresentam baixa captação comparados à malignidade [35].

O aminoácido marcado com flúor, ^{18}F -FACBC (anti-1-amino-3- ^{18}F fluorociclobutano-1-ácido carboxílico), é sintético e não-metabolizável. Apresenta absorção celular, tanto através do transportador do tipo L e os transportadores dependentes de energia do tipo A, levando ao seu acúmulo intracelular e retenção de altas concentrações. Os estudos clínicos recentes demonstraram potencial clínico tanto para detecção primária quanto para detecção metastática de carcinoma de próstata e também tumor primário cerebral. A sua comercialização é pela Ge Healthcare, conhecido como fluciclovine/Ge148, porém foi desenvolvido inicialmente pelo Dr. Goodwin e colaboradores na Universidade Emory, Geórgia. Estudos recentes com 83 pacientes com câncer de próstata obtiveram acurácia de 96% na detecção do tumor [17].

Existem os radiofármacos baseados nos receptores andrógenos como 16β - ^{18}F fluoro-5 α -dihidrotestosterona (^{18}F -DHT) que apresentam rápida localização tumoral com retenção prolongada na imagem tardia. Na detecção da doença, o ^{18}F -DHT foi positivo em 46 de 59 pacientes, já o mesmo estudo com ^{18}F -FDG apresentou 57 casos positivos de 59 pacientes avaliados. O SUV_{max} de 5,28 para ^{18}F -DHT e

SUV_{max} de 5,22 para ¹⁸F-FDG. Apresenta diminuição da captação no caso de pacientes tratados [35]. Este radiofármaco necessita de maiores estudos antes de sua recomendação clínica.

O câncer de próstata apresenta um aumento da glicólise, freqüentemente, em fases tardias da doença. No entanto, vários estudos têm mostrado que o metabolismo lipídico é aumentado, mesmo nos estágios iniciais da doença [21].

O acetato marcado com ¹¹C (¹¹C –Ace) é outro radiofármaco PET, estudos demonstram maior valor na avaliação de evolução de metástases do que na detecção de tumor primário de próstata, inclusive achados ocultos pelo radiofármaco ¹⁸F-FDG.

A absorção de ¹¹C-Ace, sob condições anaeróbicas, foi também aumentada em androgeno-dependente, mas não-independente, ao passo que colina teve sua captação reduzida em todas as linhas celulares. Em condições aeróbicas a captação de ¹⁸F-FCH foi maior do que de ¹¹C-Ace, que foi ainda mais de cinco vezes maior do que a de ¹⁸F-FDG. Depleção androgênica resultou em baixa captação de todos os três marcadores [21].

O ¹⁸F-FDG pode ser útil em pacientes que têm câncer de próstata avançado metastático cuja, lesões são susceptíveis de hipóxia e, portanto exibem um fenótipo glicolítico; ¹¹C-Ace ou ¹¹C/¹⁸F-FCH podem ser úteis para detectar precocemente, doenças “bem oxigenadas”. Os três radiofármacos podem ser limitados na sua sensibilidade para a detecção de câncer de próstata em pacientes submetidos a tratamentos anti-androgênico [21].

A detecção primária do câncer de próstata com ¹¹C-Ace é limitada, portanto sugere que ¹¹C-Ace não pode ser proposto para rastrear o câncer de próstata (por causa dos níveis de captação pouco diferenciados do radiofármaco nos casos de câncer, hiperplasia e tecido normal prostático). No entanto, estudos mostram que a captação visível e mensurável de ¹¹C-Ace, através do valor do SUV no tecido da próstata, o torna útil para detectar recorrência do câncer de próstata, sendo assim a especificidade do radiofármaco é menos relevante [21].

A biodistribuição de ¹¹C e ¹⁸F-FAc são diferentes, exemplo o ¹¹C tem menor atividade no sangue do que o fluorado análogo. No entanto a absorção de ¹⁸F-FAc

no tumor foi cinco vezes maior que a do ^{11}C -Ace, após 30 minutos da injeção intravenosa [21].

A **Tabela 3** apresenta um quadro comparativo entre os radiofármacos PET utilizados no câncer de próstata, onde os sinais representam: (-) sem utilidade, (+) com utilidade e (\pm) utilidade variável de acordo com o caso.

Tabela 3: Radiofármacos PET no Câncer de Próstata [35].

Molécula	Radiotraçador	Via metabólica	Sem câncer	Doença Localizada	PSA elevado	Doença Metastática
Glicose	^{18}F	Glicólise, atividade da hexoquinase	-	-	\pm	+
Acetato	^{11}C , ^{18}F	Síntese Lipídica	-	+	\pm	-
Colina	^{11}C , ^{18}F	Síntese Fosfolipídica	-	+	\pm	-
Metionina	^{11}C	Transportador de amino-ácido	-	-	-	+
DHT	^{18}F	Densidade de receptor andrógeno	-	-	-	+

1.10 Câncer de Mama

A mama é constituída por estruturas produtoras de leite (lóbulo), ductos, que são pequenos canais que ligam os lóbulos ao mamilo; gordura, tecido conjuntivo, vasos sanguíneos e vasos linfáticos, observados na **Figura 9**.

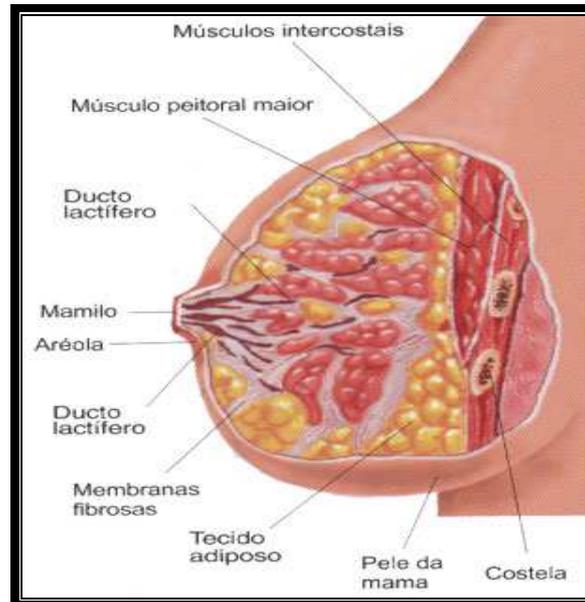


Figura 9: Estrutura do tecido mamário [36].

Os vasos linfáticos transportam linfa, um líquido formado por gordura, proteínas e células de defesa. Dentro dos vasos linfáticos existem os linfonodos que armazenam glóbulos brancos conhecidos por linfócitos. No caso das mamas, em especial, a maioria dos vasos linfáticos leva para os gânglios linfáticos da região axilar. As células cancerígenas podem atingir os gânglios linfáticos axilares, aumentando a probabilidade da doença se espalhar para outros órgãos.

A maioria dos cânceres de mama começa nos ductos (carcinomas ductais), alguns têm início nos lóbulos (carcinoma lobular) e os demais nos outros tecidos.

Os cânceres têm uma variedade de mutações genéticas que manifestam-se como variações fenotípicas do tecido normal. O fluxo sanguíneo do tumor e vascularização muitas vezes diferem dos tecidos normais. No câncer de mama estão, frequentemente, o aumento dos níveis do metabolismo da glicose, o transporte de aminoácidos, a síntese de proteína, a expressão do receptor (como receptor de fator de crescimento epidérmico e receptor de estrogênio), as taxas de DNA sintéticos e redução de Po_2 versus os tecidos normais [20].

O câncer de mama tem como causa alterações genéticas que podem ser estimuladas por fatores ambientais como uso de hormônios sintéticos em reposição

hormonal, tabagismo, menarca (primeira menstruação) em idade muito jovem, menopausa em idade mais tardia, menor número de gravidez ou gravidez em idade tardia, ingestão de bebida alcoólica, excesso de peso, além de fatores genéticos.

Dentro dos fatores genéticos encontram-se as mutações na linhagem germinativa em BRCA 1 e BRCA 2 (supressores tumorais), P53, num *locus* do cromossoma 10q na síndrome de Cowden e no gene ATM (ataxia-telangiectasia) são os responsáveis pela maioria dos casos de câncer de mama familiar de herança autossômica [29].

O câncer de mama apresenta vários tipos:

- **Carcinoma ductal *in situ* (CDIS)**– consiste em um câncer de mama em fase inicial, que a princípio, não teria capacidade de desenvolver metástase. Representa quase a metade dos cânceres diagnosticados pela mamografia. Caracterizado por células malignas incapazes de invadir a membrana basal, portanto não produzindo metástases distantes. Contudo, essas células podem disseminar através de um ducto gerando lesões extensas e comprometendo um setor inteiro da mama [29].
- **Carcinoma ductal invasivo** – este inclui a maioria dos carcinomas, variando entre 70 e 80%. Aumento do estroma de tecido fibroso denso. Formação de nódulos bem delimitados com diâmetro de 1 a 2 cm. À palpação revela aderência infiltrativa às estruturas adjacentes com fixação à parede torácica, enrugamento da pele e retração do mamilo. Evidente invasão dos espaços linfáticos e perineurais. A ausência de receptores hormonais varia com o grau, ocorrendo em mais da metade dos tumores pouco diferenciados e em menos da metade dos bem diferenciados. Metastatiza [29].
- **Carcinoma lobular invasivo** – constitui 5-10% dos carcinomas de mama, sendo o segundo tipo mais comum. Algumas características são relevantes neste caso, dentre elas: multicêntricos na mesma mama; metastatizam freqüentemente para o líquido cefalorraquidiano, superfícies serosas, ovário e útero e medula óssea; tendem a serem bilaterais; padrão difusamente invasivo dificultando a detecção dos tumores primários e das metástases por estudos físicos ou radiológicos [29].

As lesões mamárias podem predispor um câncer de mama, dentre elas estão: Carcinoma Lobular *in situ* ou Neoplasia Lobular, Hiperplasia ductal atípica, Hiperplasia lobular atípica.

A metástase no câncer de mama ocorre por via linfática, em todas as direções: lateralmente para axila, superiormente para os linfonodos acima da clavícula e no pescoço; para a outra mama; inferiormente para linfonodos abdominais e para vísceras; profundo para o tórax e ao longo das artérias mamárias internas. Contudo, mais comumente essa disseminação ocorre para os linfonodos axilares e ao longo da mama interna. A disseminação também pode ocorrer via corrente sanguínea, sendo nomeada de metástase à distância, dentre os locais podem ser citados os pulmões, ossos, fígado, supra-renais, cérebro e meninges. A disseminação varia com a localização original do tumor, um exemplo são os tumores maiores presente nos quadrantes externos que em cerca de 50% migram para os linfonodos axilares, já os tumores que surgem nos quadrantes internos ou centro da mama apresentam uma porcentagem de migração para os linfonodos axilares de 25% [29].

O carcinoma de mama no homem é um caso raro menor do que 1:100. Os fatores de risco são semelhantes aos femininos, além disso, a redução da função testicular que, por exemplo, ocorre na síndrome de Klinefelter, aumenta o risco do câncer de próstata devido à alterações hormonais. O câncer de mama masculino está relacionado ao gene BRCA 2 em algumas famílias, porém não relacionado ao BRCA 1. Os CDIS são raramente encontrados nos homens, além disso os cânceres de mama masculino possuem maior probabilidade de apresentarem receptores de estrogênio. O fato do homem apresentar tecido mamário escasso, faz com que a neoplasia maligna infiltre rapidamente aderindo à pele e à parede torácica subjacente. A disseminação, igualmente nas mulheres, apresenta comprometimento dos linfonodos axilares na metade dos casos diagnosticados. As metástases distantes são comuns para fígado, osso, pulmões e cérebro.

1.10.1 Diagnóstico do câncer de mama

Alguns estudos demonstram que os nódulos primários maiores de 2 cm são observados em mulheres com radiografia de mamas densas.

A mamografia é o método de escolha para o diagnóstico, e tem alta sensibilidade, mas baixo valor positivo de malignidade. Neste caso, muitas mulheres são levadas para a biópsia cirúrgica desnecessariamente. Ela também tem valor negativo baixo em mamas densas, doença fibrocística grave, implantes, e em mulheres que se submeteram à cirurgia ou radioterapia. A utilização da técnica de mamografia aumentou a detecção de casos carcinoma ductal *in situ* e de pequenos tumores invasivos antes de terem um tamanho palpável. As lesões não palpáveis são detectadas através de biópsia com agulha de grande calibre orientada por mamografia ou colocação de um fio no interior da lesão para orientar a cirurgia. Os principais sinais radiológicos observados no carcinoma de mama são densidades, deformação arquitetural, calcificações e alterações com o decorrer do tempo.

A sensibilidade da mamografia para o câncer de mama declina significativamente com o aumento da densidade da mama, independente da faixa etária da mulher. A mamografia digital têm uma maior sensibilidade para mamas densas, comparada à mamografia tradicional. A mamografia digital trouxe: dose mais baixa, maior sensibilidade para mama densa, o aumento da faixa dinâmica, detecção computadorizada/ diagnóstico com cópia eletrônica de revisão, arquivamento digital, técnicas de visualização 3D e redução da pressão de compressão da mama [37].

Outras técnicas de diagnóstico, tais como ultra-sonografia e ressonância magnética estão sendo usadas também. A especificidade da ultra-sonografia é superior à da mamografia, especialmente para distinguir lesões sólidas e císticas. A ultra-sonografia tem uma maior taxa de detecção do que mamografia no caso de nódulos mamários palpáveis, mas não é sensível para excluir o câncer de mama. Além disso, a acurácia diagnóstica da ultra-sonografia é dependente do operador. A sensibilidade da ressonância magnética é maior do que 90%, mas a sua especificidade é menor do que a da mamografia. Vários estudos têm avaliado o

papel do ^{18}F -FDG/PET para detectar o câncer de mama primário e para diferenciar doença benigna de maligna [38].

A ultra-sonografia diferencia, inespecificamente, cistos de tumores sólidos. A ressonância magnética é sensível para detectar tumores através da maior captação do contraste uma vez que a vascularização é aumentada no tumor, mas é pouco específica.

A cintilografia mamária utilizando o $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -MIBI, apresenta maior especificidade do que a ressonância e boa utilidade em mamas densas, mas possui altos valores de falso-negativos [39].

Câncer de mama tem uma maior síntese protéica, super-expressão do receptor (como receptor fator de crescimento epidérmico e receptor de estrogênio), aumento dos níveis de metabolismo da glicose e aumento das taxas de síntese de DNA, além disso existe a expressão do transporte facilitador de glicose (GLUT1) que está associada ao uso de ^{18}F -FDG no diagnóstico PET [20].

O PET/CT com ^{18}F -FDG é utilizado, em casos de câncer de mama, no estadiamento e no monitoramento terapêutico, mas dependendo do caso e bastante recomendado em casos de recorrência do mesmo.

Nos casos de câncer de mama recorrente, o PET/CT apresentou uma precisão de 90%, em comparação com 79% de PET sozinho. A sensibilidade do ^{18}F -FDG-PET/CT é limitada para detecção de metástases osteoblásticas, em pacientes com câncer de mama e de próstata [40].

No estadiamento de carcinoma de mama precoce, as vantagens da ^{18}F -FDG-PET/CT estão voltadas para a detecção de metástases à distância, capacidade de detectar mamária interna e metástases linfonodais do mediastino, além da monitoração terapêutica [3]. No caso do estadiamento a técnica PET/CT com ^{18}F -FDG não pode ser substituída pela técnica convencional de corpo inteiro.

Entretanto, a sensibilidade atinge 90% com uma taxa de falsos positivos de 11% para a detecção de recorrência de câncer da mama e metástases, levando a indicação de PET/CT no câncer da mama [4].

A captação de ^{18}F -FDG *in vitro* e *in vivo* nos cânceres da mama diminui com o aumento dos níveis de glicose, portanto o PET deve ser realizado em jejum.

Aumentos na captação de ^{18}F -FDG são associados com a progressão da doença, enquanto que declínios de ^{18}F -FDG são freqüentemente, mas nem sempre, associados com doença estável ou resolvida.

As lesões benignas geralmente apresentam menor absorção de ^{18}F -FDG do que o câncer, embora são lesões menos comprovadas. Através destas séries, os valores padronizados de captação (SUV) de cânceres variaram de 2,0 a 5 em comparação com um SUV de 1 para as lesões benignas. Condições infecciosas ou inflamatórias podem levar à resultados falso-positivo, como as mudanças pós-operatórias. Alguns trabalhos determinam que o ^{18}F -FDG tem maior captação alvo/background do que $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Sestamibi (6/1 vs 3,5/1).

O ^{18}F -FDG-PET apresenta sensibilidade para metástase de 94% em pacientes com lesão primária > 2cm.

A técnica ^{18}F -FDG- PET/CT não se aplica para diagnóstico inicial, triagem ou avaliação de envolvimento axilar. As micro-metástases podem não ser detectadas, assim a técnica do linfonodo sentinela é mais útil para o estadiamento. Essa técnica não permite determinar a extensão local da doença, além de apresentar baixa sensibilidade em casos de câncer lobular.

Outros radiofármacos estão surgindo, dentre eles os baseados em receptores tumorais, exemplo receptores de esteróides. O radiofármaco mais bem sucedido até o momento em relação ao câncer de mama é o [^{18}F]fluoro-17 β -estradiol (FES), apresentando alta atividade específica, ou seja, boas imagens sendo adquiridas com injeções de menos de 5 μg do FES. Apresenta boa captação nos casos de câncer de mama primários e metastáticos [41].

Alguns outros radiofármacos estão baseados no reconhecimento imunológico para a imagem, exemplo é o HER2 (ErbB2), onde sua expressão é um indicador de prognóstico em câncer de mama e um alvo para a terapia. Estudos utilizando trastuzumab marcado com ^{131}I ou ^{111}In demonstraram a capacidade para a imagem de expressão tumoral de HER2 em tecido tumoral e normal, e para medir a acúmulo de trastuzumab, embora tenha havido alguma controvérsia sobre o significado de

absorção em tecidos normais propensos à toxicidade do trastuzumabe, como o coração. Estudos iniciais em pacientes indicam que a expressão de HER2, em imagens, utilizando a técnica PET/CT com o radiofármaco ^{89}Zr -trastuzumabe pode ser promissora [41].

Outros radiofármacos são os análogos da timidina, como o ^{18}F -FLT (fluorotimidina) que estudos demonstram avaliação precoce no câncer de mama, entretanto ainda sob pesquisa.

Atualmente, o diagnóstico de câncer de mama primário é principalmente com base em mamografia, no entanto, esta técnica tem uma baixa especificidade e sensibilidade, um valor limitado para distinguir lesões benignas de malignas, e é limitado na detecção de câncer em mulheres radiologicamente com mamas densas [38].

A mamografia por emissão de pósitrons (PEM) é a “nova” tecnologia que permite imagens específicas para a mama. Quando comparado com o PET convencional e PET/CT, o PEM tem melhor resolução espacial (W 1,5 mm), requer uma menor dose do radiofármaco (3-5 mCi), e tem um menor tempo de aquisição (2-4 minutos) e menor custo. PEM tem algumas vantagens sobre a ressonância magnética, podendo ser útil em pacientes que apresentam lesões na mama posterior e para distinguir necrose de gordura a partir do câncer de mama. Esta técnica está agora sendo investigada com ensaios clínicos em vários locais, inclusive no Hospital AC-Camargo, para determinar a sua sensibilidade e especificidade. A revisão da literatura mostra que alguns estudos iniciais relataram uma sensibilidade superior a 80% e uma especificidade maior do que 92% na população em geral. O PET/CT com ^{18}F -FDG apresentou acurácia semelhante à ressonância magnética para a detecção de lesões de câncer de mama. Embora as imagens de ressonância magnética apresentarem maior precisão para avaliação da fase de T do tumor, o PET/CT com ^{18}F -FDG parece capaz de definir com mais precisão o local da lesão. Concluindo a técnica PEM pode ter um papel importante no diagnóstico inicial do câncer de mama, devido a melhor resolução espacial, além da sua associação com um radiofármaco de alta especificidade, como o fluoroacetato é proposto [38].

Estudos que comprovem a eficácia das novas técnicas de imagem e radiofármacos específicos fizeram-se necessários com a evolução das técnicas PET. Entretanto até a conclusão destes estudos, a mamografia continua a sendo o método padrão para a detecção de câncer da mama. Baseado nas propriedades funcionais do tumor, a tomografia por emissão de positrões (PET) não é limitada por que recobre a densidade do parênquima ou implantes. Além disso, o PET tem o potencial para descrever alterações funcionais no metabolismo do tumor.

O desenvolvimento de um método de produção do ^{18}F -FAc, para ser aplicado no diagnóstico precoce de tumores de mama e próstata, uma vez que as técnicas convencionais apresentam suas limitações, é de interesse direto da classe nuclear brasileira. Em particular o IPEN assinou um convênio com o Hospital AC-Camargo de São Paulo cujo objeto é a produção deste importante radiofármaco e seu estudo clínico.

Estudos de aplicação do fluoroacetato no câncer de mama não são encontrados em literatura. O radiofármaco ^{18}F -FAc tem sua idéia inicial de aplicação no diagnóstico de tumor primário de mama vinda da união entre Hospital AC-Camargo e o Instituto MD Anderson no Texas.

Existe uma carência em estudos de aplicação do radiofármaco ^{18}F -FAc, portanto estudos de casos clínicos em PET/CT e PET/Mamógrafo são necessários para definir a melhor utilização do radiofármaco proposto neste trabalho. Além disso, o surgimento do PET/Mamógrafo proporciona uma melhor resolução da imagem, facilitando a detecção do tumor primário de mama que, associado ao radiofármaco ^{18}F -FAc, poderá aumentar a sensibilidade e a especificidade do diagnóstico, uma vez que este radiofármaco tem maior afeição pelo câncer de mama do que o ^{18}F -FDG.

CAPÍTULO 2

2.1 OBJETIVOS

O presente trabalho tem o objetivo de estudar o método de marcação do radiofármaco emissor de pósitrons (^{18}F -FAc) e avaliá-lo frente aos seus controles de qualidade baseando-se nos controles do ^{18}F -FDG descritos nas Farmacopéias Americana e Européia. O ^{18}F -FAc será utilizado pela medicina nuclear através da técnica PET/CT com o propósito de detectar tumor primário de mama e de próstata.

2.2 JUSTIFICATIVA

A Diretoria de Radiofarmácia (DIRF) do IPEN tem como missão a produção e distribuição de radiofármacos para uso em Medicina Nuclear. A técnica diagnóstica PET tem trazido uma verdadeira revolução em termos de diagnóstico precoce de tumores, utilizando a princípio o ^{18}F -FDG, cuja produção e viabilização se iniciaram no IPEN. Outros radiofármacos marcados com ^{18}F estão sendo pesquisados e desenvolvidos, dentre eles destaca-se o ^{18}F -FAc para diagnóstico de câncer de mama e de próstata, dois tipos de cânceres que apresentam dificuldade no seu diagnóstico precoce pelos métodos convencionais.

Existe um convênio assinado entre o IPEN e o Hospital AC-Camargo de São Paulo cujo objetivo é a produção deste importante radiofármaco e seu estudo clínico.

CAPÍTULO 3

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Infraestrutura

Foi utilizada a infraestrutura dos laboratórios de pesquisa da DIRF (Diretoria de Radiofarmácia) do IPEN-CNEN/SP, além dos Ciclotrons Cyclone 30 e 18 da IBA localizados na Gerência de Aceleradores Ciclotron da DIRF.

3.2 Lista de Reagentes e Materiais

- ❖ Acetonitrila (LiChrosolv) $\geq 99,9\%$, Merck.
- ❖ Água miliQ.
- ❖ Clorofórmio (EMSURE) 99,0 – 99,4%, Merck
- ❖ Fitas de sílica gel (TLC-Silica Gel 60) 25 Alumínio 20X20 cm, Merck.
- ❖ Etanol (LiChrosolv) $\geq 99,9\%$, Merck.
- ❖ Metanol (pro analysis) $\geq 99,9\%$, Merck.
- ❖ Padrão de $50\mu\text{g.mL}^{-1}$ de kryptofix.
- ❖ Padrão multi-elementar da Merck, para o ICP-OES.
- ❖ Ácido orto-fosfórico (pro analysis) $\geq 85\%$, Merck.
- ❖ Kit da ABX para marcação do ^{18}F -FAc:
 - Acetonitrila para lavagem (7,0mL).
 - Ácido clorídrico 1mol.L^{-1} (3mL).

Água para soluções injetáveis (250mL +/- 10%).

Cartucho alumina light N.

Cartuchos QMA light.

Cartuchos HLB.

Filtros Millipore.

Hidróxido de sódio 1mol.L⁻¹ (2,4mL).

Solução de carbonato de hidrogênio e sódio 0,2mol.L⁻¹ (5,0mL).

Carbonato de Hidrogênio Tetrabutílamônio (0,075 M), solução aquosa estabilizada com Etanol.

Precursor Acetato de Etil – (p – tosiloila) 10 mg.

3.3 Lista de Equipamentos

- ❖ Contador Auto-Gama Cobra II, Packard – Canberra *Company*.
- ❖ Cromatografia Líquida de Alta Performance / Pressão (CLAE/HPLC) usando o equipamento LC-10 AT VP Shimadzu. A coluna utilizada foi C18 de fase reversa - Dionex 4,6 x 150mm, 300 Angstrom 5 μ .
- ❖ Cromatografia gasosa realizada em um cromatógrafo gasoso Shimadzu OO 17AA equipado com um detector de ionização de chama (FID) e um amostrador automático. Foi utilizada uma coluna J & W DBWAX 30m x 0,25mm.
- ❖ Espectroscopia de raios gama usando um detector de Germânio modelo GX1518 hiperpuro (HPGe), acoplado a um sistema analisador multicanal (Canberra Inc., EUA).
- ❖ Espectrometria de emissão óptica equipado com plasma (ICP-OES), Vista – MPX, Varian.

3.4 Produção e Controle de Qualidade do ^{18}F -FDG.

Antes do desenvolvimento da metodologia de produção de ^{18}F -FAc foram realizados os estudos de controle de qualidade (radioquímico e radionuclídico) do ^{18}F -FDG para a validação dos mesmos controles no ^{18}F -FAc.

O íon fluoreto foi produzido usando os cíclotrons Cyclone 30 e 18 da IBA localizado no IPEN-CNEN/SP, pela irradiação de água enriquecida em ^{18}O (com prótons).

Os alvos líquidos, como a água, devem apresentar as seguintes características para irradiação em cíclotron:

- Utilizar o maior ponto de ebulição, para suportar o calor gerado durante a irradiação;
- Uso de material enriquecido como alvo, em função da reação nuclear de interesse;
- Ser líquido e estável em temperaturas obtidas antes e durante a irradiação;
- Ser insensível à radiação, quimicamente e fisicamente;
- Ser compatível com os materiais usados no aparato de produção;
- Ser comercialmente disponível e econômico.

O ^{18}F é produzido em cíclotron no IPEN e apresenta os seguintes dados de produção: alvo – grande volume, volume irradiado de 2,0 mL, reação $^{18}\text{O} (p,n) ^{18}\text{F}$, sem recuperação, energia de 18 MeV, corrente de 50 μA , rendimento de 8,51 GBq/ μA (230 mCi/ μA) e atividade de 240,5 GBq (6500 mCi) em 2 horas de ^{18}F .

A transferência do ^{18}F para as células de marcação ocorre pelas linhas de transferência, conforme ilustrado na **Figura 10**.



Figura 10: Linhas de transferência para a célula de marcação.

As marcações de ^{18}F são divididas em dois grupos distintos: fluorinação direta, na qual o radionuclídeo ^{18}F é introduzido diretamente para a molécula alvo, em uma única etapa, e fluorinação indireta, em que um grupo protetico é utilizado.

A fluorinação direta pode ser subdividida em duas: eletrofílica e nucleofílica. O método eletrofílico, usando o reagente $[^{18}\text{F}]\text{F}_2$ é menos favorável por causa da marcação inespecífica e da baixa atividade específica dos produtos marcados.

A síntese do ^{18}F -FDG economicamente mais viável é a que emprega substituição nucleofílica usando a manose triflato como precursor.

A marcação do ^{18}F -FDG foi realizada em um módulo de síntese MX_{FDG} TRACERlab da GE (**Figura 11**), utilizando kits adquiridos da ABX. O módulo de síntese realiza uma série de passos como aquecimento, refrigeração, filtração, purificação, entre outros. Basicamente o íon $^{18}\text{F}^-$ é preso em uma coluna de troca aniônica e eluído com uma solução contendo bicarbonato e kryptofix. Esta solução é adicionada ao precursor manose triflato. Após a reação o produto é purificado em colunas adequadas.



Figura 11: Módulo de marcação da GE.

3.4.1 Controle Radioquímico do ^{18}F -FDG (Fluorodeoxiglicose) e $^{18}\text{F}^-$ (Fluoreto)

A pureza radioquímica determina a fração de radionuclídeo presente na forma química de interesse. Comumente, utilizam-se técnicas cromatográficas em papel, camada delgada, coluna e CLAE (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência), além de técnicas de extração de solvente e eletroforese.

No controle radioquímico, amostras de ^{18}F -FDG foram analisadas pela cromatografia em camada fina de sílica gel (TLC-SG). As fitas TLC-SG (1.5 x 12 cm) foram estudadas em quatro diferentes sistemas de solventes: 100% acetonitrila; 5% água: 95% acetonitrila (padronizada pela USP e utilizada no IPEN); 20% água: 80% acetonitrila, 30% água: 70% acetonitrila. As fitas foram cortadas em 10 segmentos após a corrida e a atividade do ^{18}F foi medida usando um detector de HPGe (Germânio Hiperpuro).

As impurezas radioquímicas podem originar-se durante a produção do radionuclídeo (reações incompletas, incompleta remoção dos grupos protetores da molécula precursora, reações laterais) ou radiólise [18].

O restante do radionuclídeo pode estar na forma de espécies radioquímicas indesejadas como íon fluoreto $^{18}\text{F}^-$, 2- ^{18}F fluoro-2-deoxy-manose (FDM) e derivados parcialmente acetilados [18].

Altos níveis de impureza radioquímica no produto final podem levar à pobre qualidade das imagens.

3.4.2 Controle Radionuclídico do ^{18}F -FDG (Fluoro-deoxyglicose) e $^{18}\text{F}^-$ (Fluoreto)

É determinado pela fração total, presente na droga final, do radionuclídeo específico.

As impurezas radionuclídicas podem ser de outros radiosótopos de um mesmo elemento ou radionuclídeos de elementos diferentes.

Os radiofármacos PET tem sua identidade radionuclídica determinada através da medida da meia-vida física, por um calibrador de dose. A meia-vida física do $^{18}\text{F}^-$ deve estar no intervalo entre 105 e 115 minutos [42].

No controle radionuclídico, amostras de ^{18}F -FDG e $^{18}\text{F}^-$ (Fluoreto) foram analisadas pela espectroscopia de raios gama usando um detector calibrado (Germânio Hiperpuro modelo GX1518 - HPGe) acoplado a um sistema multicanal de análise (Canberra Inc. USA).

3.5 Metodologia de Marcação do ^{18}F -FAc (Fluoroacetato)

A síntese de ^{18}F -FAc (fluoroacetato) pode ser realizada através do mesmo módulo de síntese automatizada utilizado para a produção rotineira do ^{18}F -FDG no IPEN.

Existem muitos módulos comercializados para a síntese automatizada de ^{18}F -FDG, dentre eles: TRACERlab MX_{FDG} (produzido pela GE); TRACERlab FX_{FDG} (produzido pela GE); Metatrace FDG (produzido por CTIPETNET); FDG-Plus Synthesizer (empresa Bioscan) e Synthera (IBA Molecular) (Vallabhajosula, 2007). Dentre eles, os módulos TRACERlab da GE podem ser utilizados com kits descartáveis para o preparo de outros radiofármacos, como o ^{18}F -FAc.

O presente trabalho utilizou também um módulo TRACERlab da GE para o preparo do ^{18}F -FAc utilizando kits comerciais, a princípio adquiridos da ABX, imagem observada na **Figura 11**.

O kit da ABX para a marcação do ^{18}F -FAc é composto por: ácido clorídrico 1mol.L^{-1} (3mL), hidróxido de sódio 1mol.L^{-1} (2,4mL), solução de hidrogenocarbonato de sódio $0,2\text{mol.L}^{-1}$ (5,0mL), acetonitrila para lavagem (7,0mL), cartuchos QMA light e 4 cartuchos HLB, além do cartucho alumina light N e dois filtros Millipore, água para soluções injetáveis (250mL +/- 10%) e acetonitrila para o precursor (2,2mL).

O íon fluoreto é produzido usando os cíclotrons Cyclone 30 e 18 da IBA localizados no IPEN-CNEN/SP. A marcação do ^{18}F -FAc foi realizada em um módulo de síntese MX_{FDG} TRACERlab, utilizando kits adquiridos da ABX, como pode-se observar na **Figura 12**.

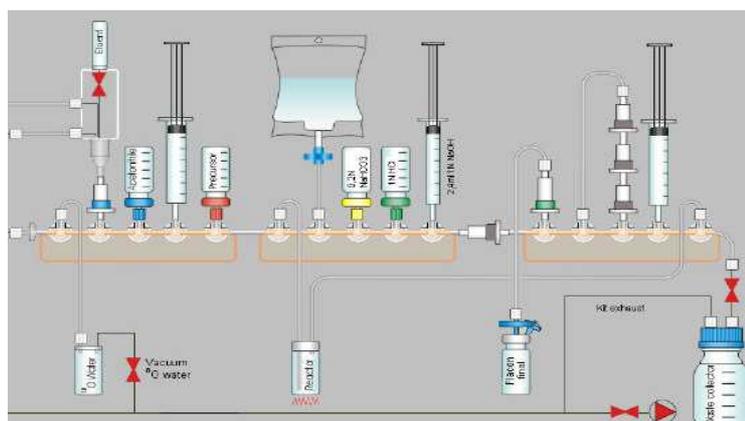


Figura 12: Esquema de síntese do ^{18}F -FAc usando o kit da ABX.

O processo inicia com a produção de $^{18}\text{F}^-$ a partir de um cíclotron que irradia 2 ou 5 mL de água enriquecida em ^{18}O (97%), com prótons no porta-alvo ilustrado na **Figura 13**.

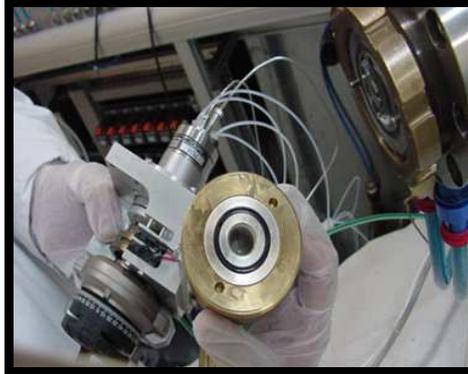


Figura 13: Cíclotron – Porta alvo

A dose integrada utilizada no ciclotron foi entre 20-30 μ Ah. Após a irradiação o $^{18}\text{F}^-$ é transferido para um módulo de síntese automatizada, localizado no interior das células de marcação ilustrado na **Figura 14**, através de um fluxo de hélio. O cartucho contendo uma resina aniônica, o QMA-light, retém a atividade do $^{18}\text{F}^-$.



Figura 14: Células de Marcação, onde encontra-se o módulo automatizado da ABX.

A eluição do $^{18}\text{F}^-$ do cartucho QMA-light é feita com uma solução de carbonato de potássio (K_2CO_3) com concentração de $0,5 \text{ mol.L}^{-1}$ contendo kryptofix 2.2.2. e 7 mL de Acetonitrila.

O eluído é transferido para o frasco de reação e a água é evaporada três vezes a 95°C sob fluxo de gás nitrogênio e acetonitrila anidra (evaporação dos solventes). Após a secagem, uma solução Carbonato de Hidrogênio Tetrabutílamônio ($0,075 \text{ M}$) estabilizada com Etanol e o precursor Acetato de Etil – (p – tosiloila) 10 mg em acetonitrila anidra é adicionada ao frasco de reação.

A reação é feita com aquecimento por um determinado tempo (85°C por 5 min) em frasco fechado, formando o ^{18}F -fluoroacetato de etila. A solução é resfriada até a temperatura ambiente.

A amostra é purificada pela retenção em um cartucho Oasis (Waters HLB-6cc). Qualquer fluoreto não reativo é eliminado com água destilada. O ^{18}F -fluoroacetato de etila, adsorvido no cartucho, é seco com fluxo de gás nitrogênio. Após a secagem, uma solução de hidróxido de sódio, é adicionada ao cartucho para que ocorra a hidrólise. Após a hidrólise, é adicionada uma solução aquosa de 3,0 mL de ácido clorídrico 1 mol.L^{-1} para neutralizar o hidróxido de sódio. O pH é ajustado entre 5,0 e 8,0 com a adição de 5,0 mL de bicarbonato de sódio $0,2 \text{ mol.L}^{-1}$.

A solução é purificada pela passagem através do cartucho Sep-Pak Alumina-N (neutra) e filtrada através de uma membrana de $0,22\mu\text{m}$ (Millipore).

O rendimento de marcação foi medido pela comparação entre a atividade do ^{18}F , que veio do alvo, com a atividade de ^{18}F -FAc no final de síntese, usando um calibrador de dose.

3.5.1 Variáveis de marcação do ^{18}F -FAc:

3.5.1.1 Temperatura

Três diferentes temperaturas de marcação foram estudadas: 75, 85 e 105°C .

3.5.1.2 Atividade de $^{18}\text{F}^-$

A atividade inicial do $^{18}\text{F}^-$, durante os experimentos, variou entre 1,44 e 2,85 Ci (53,28 – 105,45 GBq).

3.5.2 Estabilidade do ^{18}F -FAc

A estabilidade do ^{18}F -FAc foi determinada a temperatura ambiente nos períodos de 1, 2, 5 e 19 horas após o final da síntese de marcação e analisada através da cromatografia fina em sílica gel, utilizando o solvente clorofórmio:metanol (1:1).

3.5.3 Controle Radioquímico do ^{18}F -FAc

No controle de qualidade radioquímico, amostras de ^{18}F -FAc foram analisadas por cromatografia em camada fina em sílica gel (TLC-SG). As fitas TLC-SG (1.5 x 12 cm) foram estudadas usando os solventes: clorofórmio: metanol (1:1), acetonitrila:água (95%:5%) e acetonitrila: água (80%:20%). As tiras foram cortadas em 10 segmentos após o fim da corrida e o $^{18}\text{F}^-$ foi medido usando um detector de Ge (Germânio). A proporção acetonitrila:água (95%:5%) é a padronizada pela USP (*United States Pharmacopeia*) para o ^{18}F -FDG e foi realizada neste trabalho para o ^{18}F -FAc [42].

Outra técnica de análise utilizada foi a Cromatografia Líquida de Alta Performance / Pressão (CLAE/HPLC) usando o equipamento LC-10 AT VP Shimadzu, que utilizou como solventes etanol:água (10:90), de acordo com Sun et.al [22] com uma vazão de 1,0 mL/min e o solvente ácido fosfórico 10 mmol.L⁻¹, de acordo com Mori et.al [43] com as vazões de 0,5; 1,0 e 2,0mL/min. A coluna utilizada foi C18 de fase reversa - Dionex 4,6 x 150mm, 300 Angstrom 5 μ . O comprimento de onda UV utilizado foi de 210nm e um detector de radioatividade ajustado para a radiação de 511 keV.

3.5.4 Controle Radionuclídico do ^{18}F -FAc (Fluoroacetato)

Para o controle de qualidade radionuclídica, amostras de ^{18}F -FAc foram analisadas por espectroscopia de raios gama usando um detector de Germânio modelo GX1518 hiperpuro (HPGe), acoplado a um sistema analisador multicanal (Canberra Inc., EUA), ilustrado na **Figura 15**.



Figura 15: Germânio modelo GX1518 hiperpuro (HPGe) do IPEN.

3.5.5 Controle de Pureza Química do ^{18}F -FAc (Fluoroacetato)

As impurezas que podem estar presentes nas amostras de ^{18}F -FAc são: a presença de solventes orgânicos residuais que tem sua análise feita por cromatografia gasosa, impurezas químicas analisadas pela técnica de espectrometria de emissão óptica equipado com plasma (ICP-OES), ilustrado na **Figura 16**, e a presença de kryptofix analisado por TLC-SG.



Figura 16: Aparelho ICP-OES do controle de qualidade do IPEN.

3.5.5.1 Cromatografia à Gás (CG)

O objetivo da cromatografia gasosa é determinar a quantidade de solventes orgânicos residuais (acetonitrila e etanol residual) que devem apresentar valores abaixo de $410\mu\text{g.mL}^{-1}$ e $5000\mu\text{g.mL}^{-1}$, respectivamente. A cromatografia gasosa foi realizada em um cromatógrafo à gás Shimadzu OO 17AA equipado com um detector de ionização de chama (FID) e um amostrador automático, mostrado na **Figura 17**. A injeção foi configurada para injetar amostra diluída na proporção 10:1 e a chama a 250°C . Foi utilizada uma coluna J & W DBWAX 30m x 0,25mm e a coluna em uma faixa de temperatura entre $50\text{-}85^{\circ}\text{C}$. O gás de transporte usado é Hélio, vazão $2,0\text{mL/ min}$. O detector foi operado a 250°C e volume de amostra de injeção foi de $1,0\text{ mL}$. Curvas de calibração de acetonitrila e etanol foram preparadas com faixa de concentração de $2\text{-}150\ \mu\text{g.mL}^{-1}$.



Figura 17: Cromatógrafo à Gás (Shimadzu), IPEN.

3.5.5.2 ICP-OES (Vista-MPX)

A técnica ICP-OES possibilita a determinação rápida de vários elementos com diferentes faixas de concentração. A análise quantitativa e qualitativa foi realizada utilizando um padrão multielementar da Merck de $100\mu\text{g.mL}^{-1}$, contendo os elementos: Al, S, P, Si, Mg, Na, K, Ca, Cr, Co, Ni, Zn, Se, Ce, Sm, W, Sr, B, Sb, Ti, Bi, As, Mn, Fe, além disso foi utilizado um padrão de $1000\mu\text{g.mL}^{-1}$ para o elemento Mo. O equipamento utilizado foi o Vista-MPX da Varian.

3.5.5.3 Análise de Kryptofix

A análise de kryptofix foi realizada por TLC-SG usando fitas com o solvente, metanol: clorofórmio (9:1) e padrão de $50\mu\text{g.mL}^{-1}$ de kryptofix 2.2.2.

O procedimento é realizado em capela com exaustão devido o uso do iodo metálico. O ensaio é feito em duas fitas, em uma se aplica a amostra e na outra o padrão de $50\mu\text{g.mL}^{-1}$ de kryptofix. Após secagem das fitas, estas são colocadas em vapor de iodo por 15 minutos para revelar a presença ou não do kryptofix na fita. O resultado é a comparação da nódoa formada na fita com padrão e na fita com a amostra $^{18}\text{F-FAC}$, sendo que a fita da amostra deve apresentar nódoa mais clara do que a da fita contendo padrão. O limite permitido é até $50\mu\text{g.mL}^{-1}$ de kryptofix, valor do padrão.

3.5.6 Determinação de pH

O pH das soluções foi medido por fitas de pH (de 0-14) da Merck, demonstradas na **Figura 18**.



Figura 18: Fitas de pH de 0-14, da merck.

O produto final precisa ter um pH entre 4.5 - 7.5 para que possa ser injetado intravenosamente [42].

3.6 Biodistribuição em Animais

O radiofármaco ^{18}F -FAC, em uma atividade entre 5,6 – 7,4 MBq (150-200 μCi) e com pH7,0, foi injetado nos camundongos Swiss saudáveis e a biodistribuição analisada 15, 30 e 60 minutos após a injeção do radiofármaco através da decaptação e retirada dos órgãos de interesse. Este estudo foi feito em triplicata. Os órgãos retirados para análise foram: 100 μL de sangue, coração, pulmão, rins, baço, estômago, fígado, pâncreas, músculo, intestino grosso, intestino delgado, osso (fêmur), cauda, cérebro (sem a caixa craniana), glândula salivar, bexiga e mama/próstata (dependendo do sexo do animal). Os órgãos foram lavados, pesados em balança analítica, colocados em tubos de ensaio e a atividade de $^{18}\text{F}^-$, em cada órgão e no sangue, foi medida em contador gama.

Este trabalho também realizou estudos em animais nude inoculados com as células tumorais pC3, referente ao câncer de próstata e MDA-MB-23, referente ao câncer de mama.

CAPÍTULO 4

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Controle Radioquímico do ^{18}F -FDG(Fluoro-deoxyglicose)

As Figuras 19, 20, 21 e 22 mostram os cromatogramas ITLC-SG do ^{18}F -FDG usando quatro diferentes composições de solventes: 100% acetonitrila (**Figura 19**); 95% acetonitrila: 5% água (**Figura 20**); 80% acetonitrila: 20% água (**Figura 21**) e 70% acetonitrila: 30% água (**Figura 22**). O R_f do ^{18}F é igual a zero em todas as composições de solventes citadas acima.



Figura 19: Cromatograma ITLC-SG do ^{18}F FDG, solvente 100% acetonitrila. $R_f=5$

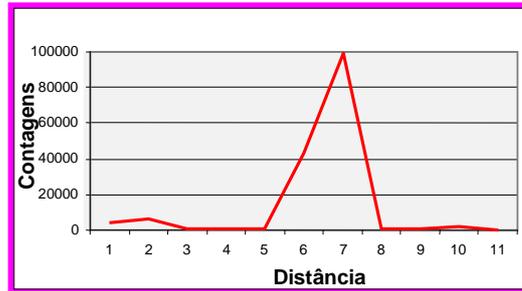


Figura 20: Cromatograma ITLC-SG do ^{18}F FDG, solvente 95% acetoneitrila: 5% água.
Rf=7

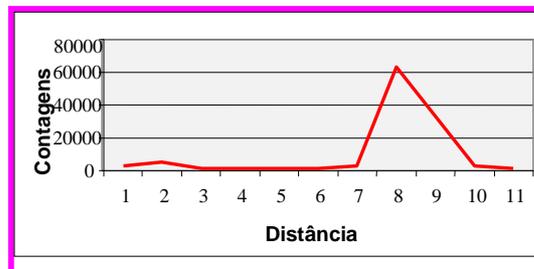


Figura 21: Cromatograma ITLC-SG do ^{18}F FDG, solvente 80% acetoneitrila: 20% água.
Rf=8

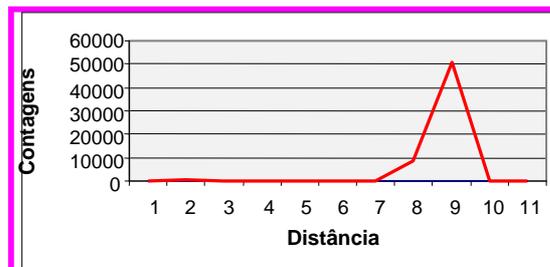


Figura 22: Cromatograma ITLC-SG do ^{18}F FDG, solvente 70% acetoneitrila: 30% água.
Rf= 9

Pode-se ver que o aumento da proporção de água na composição do solvente resulta em um aumento no Rf do ^{18}F -FDG. O Rf para $^{18}\text{F}^-$ foi o mesmo para todos os solventes, Rf=0. O solvente contendo 80% de acetonitrila: 20% de água foi escolhido e a **Figura 23** mostra um cromatograma de uma mistura de $^{18}\text{F}^-$ e ^{18}F -FDG. Observa-se que uma boa separação entre as espécies foi alcançada e a fita cromatográfica pode ser cortada ao meio para a avaliação da pureza radioquímica.



Figura 23: Cromatograma ITLC-SG do ^{18}F -FDG + $^{18}\text{F}^-$, solvente 80% acetonitrila: 20% água.

4.2 Controle Radionuclídico do ^{18}F -FDG (Fluoro-deoxyglicose) e $^{18}\text{F}^-$ (Fluoreto)

As seguintes impurezas radionuclídicas foram encontradas, em ambos, ^{18}F -fluoreto e ^{18}F -FDG: ^{55}Co , ^{56}Co , ^{57}Co , ^{58}Co , ^{60}Co , ^{94}Tc , ^{95}Tc , $^{95\text{m}}\text{Tc}$, ^{96}Tc , $^{99\text{m}}\text{Tc}$, $^{93\text{m}}\text{Mo}$, ^{99}Mo , ^{57}Ni , ^{52}Mn , ^{54}Mn , ^{182}Re , ^{183}Re . Estes contaminantes são provenientes de reações nucleares de elementos componentes do porta alvo e da janela, como destacado na **Tabela 4**.

Tabela 4: Principais impurezas radionuclídicas encontradas nas amostras de ^{18}F -FDG e $^{18}\text{F}^-$.

RADIONUCLIDEO	REAÇÃO NUCLEAR
^{52}Mn	$^{\text{nat}}\text{Cr} (p,xn) ^{52}\text{Mn}$
^{54}Mn	$^{\text{nat}}\text{Cr} (p,xn) ^{54}\text{Mn}$
^{55}Co	$^{\text{nat}}\text{Ni} (p,xn) ^{55}\text{Cu} \rightarrow ^{55}\text{Ni} \rightarrow ^{55}\text{Co}$
^{56}Co	$^{\text{nat}}\text{Ni} (p,xn) ^{56}\text{Cu} \rightarrow ^{56}\text{Ni} \rightarrow ^{56}\text{Co}$
^{57}Co	$^{\text{nat}}\text{Ni} (p,xn) ^{57}\text{Cu} \rightarrow ^{57}\text{Ni} \rightarrow ^{57}\text{Co}$
^{58}Co	$^{60}\text{Ni} (p,2 pn) ^{58}\text{Co}$
^{60}Co	$^{61}\text{Ni} (p,2 pn) ^{60}\text{Co}$
^{57}Ni	$^{58}\text{Ni} (p,pn) ^{57}\text{Ni}$
$^{93\text{m}}\text{Mo}$	$^{94}\text{Mo} (p,pn) ^{93\text{m}}\text{Mo}$
^{99}Mo	$^{100}\text{Mo} (p,pn) ^{99}\text{Mo}$
^{94}Tc	$^{\text{nat}}\text{Mo} (p,xn) ^{94}\text{Tc}$
^{95}Tc	$^{\text{nat}}\text{Mo} (p,xn) ^{95}\text{Tc}$
$^{95\text{m}}\text{Tc}$	$^{\text{nat}}\text{Mo} (p,xn) ^{95\text{m}}\text{Tc}$
^{96}Tc	$^{\text{nat}}\text{Mo} (p,xn) ^{96}\text{Tc}$
$^{99\text{m}}\text{Tc}$	$^{100}\text{Mo} (p,2n) ^{99\text{m}}\text{Tc}$
^{182}Re	$^{\text{nat}}\text{W} (p,xn) ^{182}\text{Re}$
^{183}Re	$^{\text{nat}}\text{W} (p,xn) ^{183}\text{Re}$

O material mais comum usado na janela do alvo, no ciclotron, é Havar por ter resistência a alta tração (1860 MPa), ser uma liga não magnética com alto ponto de fusão (1480°C) e condutividade térmica moderada (14.7 W/m/K em 23°C). Havar é composto por 42% Co; 19,5% Cr; 19,3% Fe; 12,5% Ni; 2,6% W; 2,2% Mo; 1,7% Mn e 0,2% C. A utilização desse material para longas irradiações leva a formação de contaminantes solúveis em água, afetando a reatividade do ^{18}F e levando ao baixo rendimento do radiofármaco [44].

A ativação do Havar exposta a um intenso feixe de prótons e um grande fluxo de nêutrons secundários corresponde à principal contribuinte para induzir a impureza (que também possui atividade) no interior do conjunto alvo/porta-alvo. Além disso, a

folha de Havar necessita de substituição periódica que constitui uma fonte potencial de resíduos radioativos e, o manuseio, a armazenagem e disposição devem ser considerados [45].

Analisando a folha de Havar após decaimento de 18 dias, mostrou a presença de um número de radionuclídeos de curta duração, incluindo ^{48}V , ^{51}Cr , ^{52}Mn , ^{54}Mn , ^{56}Co , ^{57}Co , ^{58}Co , $^{95\text{m}}\text{Tc}$, ^{96}Tc , ^{183}Re e ^{184}Re [45].

A análise de uma amostra de [^{18}O] H_2O da produção de $^{18}\text{F}^-$ identificou algumas impurezas radionuclídicas derivadas da ativação da folha de Havar (exceto ^{109}Cd) como: ^{51}Cr , ^{52}Mn , ^{56}Co , ^{57}Co , ^{58}Co , $^{95\text{m}}\text{Tc}$, ^{96}Tc , ^{109}Cd , ^{183}Re e ^{184}Re . O ^{58}Co foi o que apareceu com maior atividade (MBq), a longo prazo o decaimento do ^{58}Co (meia-vida física 70,86 dias) contribui para o aumento do ^{57}Co que possui meia-vida física de 271,79 dias [44].

Segundo Marengo et.al.(2007) [46], a análise de uma amostra de [^{18}O] H_2O da produção de $^{18}\text{F}^-$ após o final do bombardeamento de prótons identificou as seguintes impurezas radionuclídicas: ^{109}Cd , ^{51}Cr , ^{52}Mn , ^{54}Mn , ^{57}Ni , ^{55}Co , ^{56}Co , ^{57}Co , ^{58}Co , $^{95\text{m}}\text{Tc}$, ^{95}Tc , ^{96}Tc , $^{182\text{m}}\text{Re}$, ^{183}Re e ^{186}Re .

Os resultados do presente trabalho foram os mesmos encontrados nos dados de literatura, pois não se apresenta nas farmacopéias como controle obrigatório.

Os resultados quantitativos das impurezas radionuclídicas estão presentes nas **Tabelas 5 e 6**.

Tabela 5: Níveis de impurezas radionuclídicas em amostras de $^{18}\text{F}^-$.

RADIONUCLIDEO	ENERGIA GAMA (keV)	MEIA-VIDA FÍSICA ($t_{1/2}$)	ABUNDÂNCIA/RAIOS GAMA (/100)	%IMPUREZA/ ^{18}F
^{56}Co	846,75	78,8 d	0,9999	$6,2 \times 10^{-6}$
^{57}Co	122,07	272 d	0,856	$8,5 \times 10^{-4}$
^{58}Co	810,6	70,8 d	0,9944	$4,4 \times 10^{-5}$
^{60}Co	1332,52	5,263 a	1	$1,2 \times 10^{-7}$
^{57}Ni	1377,62	36,1 h	0,849	$3,0 \times 10^{-5}$
^{52}Mn	1434,3	5,6 d	1	$6,3 \times 10^{-6}$
^{54}Mn	834,81	312 d	0,9998	$4,3 \times 10^{-7}$
^{96}Tc	778,3	4,3 d	1	$1,3 \times 10^{-6}$
^{183}Re	203,94	70 d	0,8031	$1,1 \times 10^{-7}$

Tabela 6: Níveis de impurezas radionuclídicas em amostras de ^{18}F -FDG.

RADIONUCLIDEO	ENERGIA GAMA (keV)	MEIA-VIDA FÍSICA ($t_{1/2}$)	ABUNDÂNCIA/RAIOS GAMA (/100)	%IMPUREZA/ ^{18}F
^{55}Co	931,1	17,5 h	0,733	$1,4 \times 10^{-5}$
^{56}Co	846,75	78,8 d	0,9999	$7,7 \times 10^{-6}$
^{57}Co	122,07	272 d	0,856	$3,2 \times 10^{-6}$
^{58}Co	810,6	70,8 d	0,9944	$4,5 \times 10^{-5}$
^{57}Ni	1377,62	36,1 h	0,849	$5,7 \times 10^{-6}$
^{94}Tc	849,7	4,88 h	1	$3,6 \times 10^{-4}$
^{95}Tc	765,82	20 h	0,94	$3,6 \times 10^{-5}$
^{96}Tc	778,3	4,3 d	1	$1,3 \times 10^{-5}$
^{99m}Tc	140,51	6,02 h	0,85	$6,0 \times 10^{-5}$

Como mostrado nestas tabelas, o número de radionuclídeos e do nível de impurezas é diferente para amostras de $^{18}\text{F}^-$ e amostras de ^{18}F -FDG. O nível de impurezas é maior no $^{18}\text{F}^-$ porque as amostras de ^{18}F -FDG são purificadas durante a marcação, no módulo de síntese. Neste caso, como o $^{18}\text{F}^-$ foi retirado através da lavagem do alvo, ou seja, sem haver irradiação, o valor de $^{18}\text{F}^-$ foi menor em relação ao ^{18}F -FDG, uma vez que a quantidade de impureza é diretamente proporcional ao tempo de irradiação.

A maioria desses contaminantes é eliminada ou reduzida à baixas concentrações após a purificação realizada pelos cartuchos C-18 presentes no módulo de síntese da ABX para ^{18}F -FDG.

4.3 Variação do Rendimento de Marcação do ^{18}F -FAc com a Temperatura da Marcação.

A **Figura 24** mostra a variação do rendimento de marcação com a temperatura.

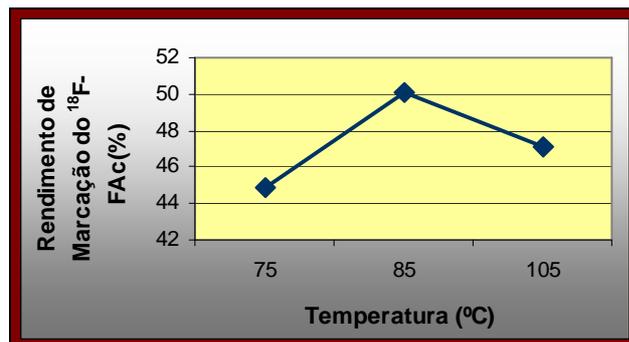


Figura 24: Variação do rendimento de marcação de ^{18}F -FAc com a temperatura. (n=10)

A melhor temperatura foi de 85°C para a síntese de ^{18}F -FAc. A figura mostra uma queda no rendimento entre 85°C e 100°C e também o rendimento mostrou-se satisfatório em 85°C, portanto optou-se por não realizar estudos com a temperatura de 95°C. A partir deste experimento foi adotada a temperatura de 85°C.

Os resultados obtidos nos estudos de marcação com a variável temperatura de reação estão mostrados na **Tabela 7**.

Tabela 7: Rendimento de marcação em diferentes temperaturas de marcação.
(n=10)

IRRADIAÇÃO	ATIVIDADE $^{18}\text{F}^-$		ATIVIDADE ^{18}F -FAc		RENDIMENTO DE MARCAÇÃO (%) (corrigido)	TEMPERATURA DE MARCAÇÃO (°C)
	(Ci)	(GBq)	(mCi)	(GBq)		
1	2,41	89,17	841	31,12	47,3	105
2	1,44	53,28	526	19,46	49,4	105
3	2,06	76,22	703	26,01	45,7	105
4	2,18	80,66	757	28,00	46,2	105
5	2,17	80,29	842	31,15	52,1	85
6	2,48	91,76	903	33,41	48,8	85
7	2,53	93,61	967	35,78	51,4	85
8	2,85	105,45	1.118	41,37	52,4	85
9	2,83	104,71	974	36,04	46,0	85
10	2,40	88,80	804	29,75	44,9	75

A meia-vida física do $^{18}\text{F}^-$ exige a correção pelo decaimento, ou seja, calcular a atividade de $^{18}\text{F}^-$ que entrou no módulo e a atividade que saiu do marcado ^{18}F -FAc no final da síntese, contando com o decaimento durante os 43 minutos de síntese.

A média, utilizando como temperatura de marcação 105°C foi (47±2)% e para 85°C foi (51±3)%.

Segundo Lindhe et.al.(2009) [24], utilizando o módulo de síntese TRACERlab Fx Fn (Ge Healthcare) para marcação do ^{18}F -FAc, com o precursor butil-O-tosil-

glicolato, o rendimento no final da síntese foi de 51% (não corrigido) e 69% (corrigido), pureza radioquímica > 99% com tempo de síntese de 55 minutos.

Ponde et.al.(2007) [47], utilizaram uma marcação manual, utilizando como precursor o Etil O-mesilglicolato com tempo de síntese de 35 minutos, rendimento radioquímico do produto final de $(55 \pm 5)\%$ com pureza química e radioquímica > 99%.

Sun et.al.(2006) [22] utilizaram o módulo TRACERlab MX_{FDG} (GE Medical Systems – Liege, Belgium) para produzir o ¹⁸F-FAc através da fluorinação nucleofílica usando o O-mesil-glicolato de etila como precursor. Esse kit apresentou bom tempo de marcação (32 min) e alto rendimento radioquímico (50% corrigido para o decaimento), levando a sua utilização na marcação do ¹⁸F-FAc, porém com algumas modificações. Algumas mudanças são necessárias no kit de ¹⁸F-FDG para a produção do ¹⁸F-FAc. Dentre elas, a disposição dos reagentes químicos, a reação de marcação com um maior tempo (5 min), o aumento da temperatura para 105°C, o aumento no tempo de hidrólise (5,5 min) e o uso de solução aquosa de bicarbonato de sódio, como tampão, ao invés da solução de citrato. A pureza radioquímica do ¹⁸F-fluoroacetato foi maior que 99%.

A especificação da ABX, produtora do kit utilizado neste trabalho, é rendimento de 35% (não corrigido).

Os estudos realizados neste trabalho mostraram que na temperatura de marcação de 85°C se obteve o melhor rendimento de marcação (50% corrigido). A pureza radioquímica foi maior que 99% e o tempo total de síntese que foi de 43 minutos.

4.4 Variação da Atividade de ¹⁸F⁻ na Marcação do ¹⁸F-FAc.

A **Figura 25** mostra o gráfico de variação de rendimento de marcação do ¹⁸F-FAc (corrigido pelo decaimento) com a atividade inicial de ¹⁸F⁻ (Bq).

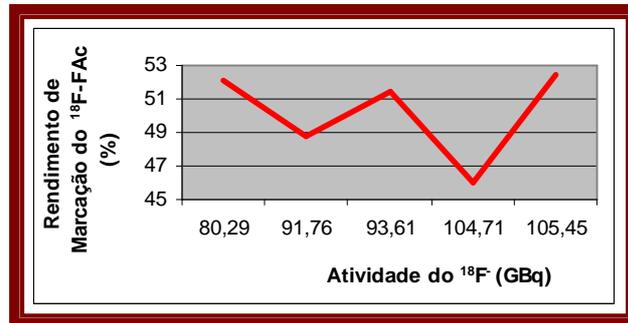


Figura 25: Variação do rendimento de marcação x atividade de ^{18}F .

O gráfico demonstrou que não houve uma variação significativa entre a atividade de ^{18}F e o rendimento de marcação.

4.5 Estabilidade do ^{18}F -FAc

A **Figura 26** mostra os resultados da estabilidade do ^{18}F -FAc.

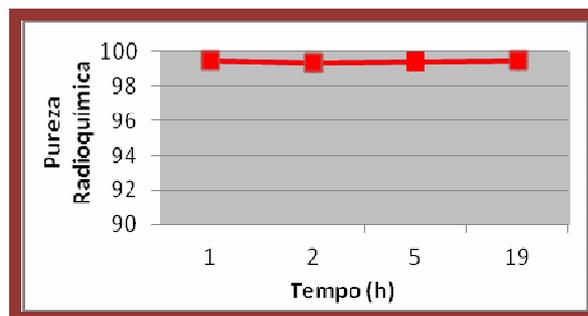


Figura 26: Estabilidade do ^{18}F -FAc

O produto mostrou-se estável até 19 horas. O ponto de 19 horas foi estudado devido à logística do instituto porque até o período de 10 horas já seria suficiente. Além disso, o ponto das 10 horas não foi estudado devido ao horário do final da

síntese de marcação. A temperatura de marcação utilizada neste experimento foi de 85°C.

4.6 Controle Radionuclídico do ^{18}F -FAc(Fluoroacetato)

A **Tabela 8** mostra as impurezas radionuclídicas encontradas nas amostras de ^{18}F -FAc.

Tabela 8: Níveis de impurezas radionuclídicas em amostras de ^{18}F -FAc.

RADIONUCLÍDEO	ENERGIA GAMA (keV)	MEIA-VIDA FÍSICA (t1/2)	ABUNDANCIA RAIOS GAMA (/100)	% IMPUREZA/ ^{18}F
^{182}Re	1120,0	64 h	0.2	$3,7 \times 10^{-4}$
^{56}Co	846,75	78,8 d	0,676	$4,0 \times 10^{-9}$
^{58}Co	810,6	70,8 d	0,9944	$1,9 \times 10^{-8}$

Estas impurezas vêm da ativação de impurezas químicas do porta alvo e da janela, como pode ser visto na **Tabela 4**.

No caso do ^{18}F -FAc o módulo contém um cartucho C18 e três HBL Plus, o que determinou um menor número de contaminantes no produto final em comparação com o ^{18}F -FDG. A % de impurezas encontradas é um controle não determinado pelas farmacopéias, os pequenos valores encontrados não causam problemas no diagnóstico.

4.7 Controle Radioquímico do ^{18}F -FAc (Fluoroacetato)

4.7.1 TLC

As **Figuras 27, 28 e 29** apresentam os cromatogramas ITLC-SG do ^{18}F -FAc utilizando diferentes composições de solventes: 95% acetonitrila: 5% de água, 80% acetonitrila: 20% de água e clorofórmio: metanol (1:1), respectivamente.

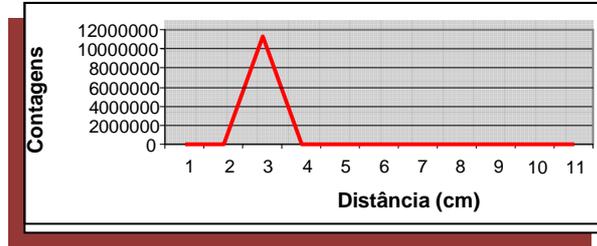


Figura 27: Cromatograma ITLC-SG do ^{18}F -FAC, solvente 95% acetonitrila: 5% de água. $R_f=3$

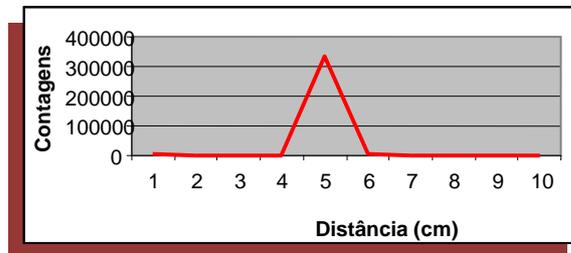


Figura 28: Cromatograma ITLC-SG do ^{18}F -FAC, solvente 80% acetonitrila:20% de água. $R_f=5$

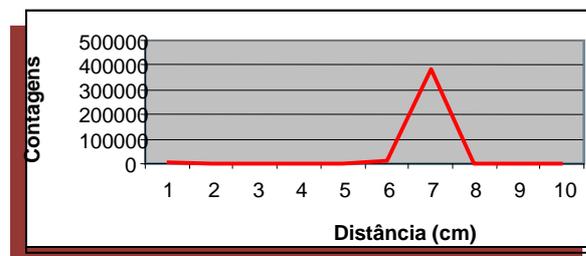


Figura 29: Cromatograma ITLC-SG do ^{18}F -FAC, solvente clorofórmio:metanol (1:1).
 $R_f= 7$

Pode ser visto que o aumento da quantidade de água na composição de solventes resultou em um valor maior para o R_f do ^{18}F -FAC. O R_f do ^{18}F foi o mesmo para todos os solventes, $R_f= 0$.

O solvente contendo clorofórmio: metanol (1:1), na **Figura 29**, foi o escolhido, uma boa separação entre as espécies foi alcançada e a fita pode ser cortada ao meio para a avaliação da pureza radioquímica.

A pureza radioquímica do ^{18}F -FAc, em todos os experimentos, foi maior que 99%.

4.7.2 CLAE

O cromatograma utilizando o solvente etanol:água (10:90) não foi eficiente por não separar as espécies ^{18}F -FAc e $^{18}\text{F}^-$, ambos os picos saíram junto com a frente do solvente, ou seja, logo nos primeiros minutos.

A **Tabela 9** mostra o tempo de retenção do ^{18}F -FAc em diferentes vazões do solvente ácido fosfórico 10 mmol.L⁻¹.

Tabela 9: Tempo de retenção do ^{18}F -FAc, solvente ácido fosfórico 10 mmol.L⁻¹ com diferentes vazões.

VAZÃO (mL/min)	TEMPO DE RETENÇÃO (min)
0,5	6,34
1,0	3,30
2,0	1,6

O $^{18}\text{F}^-$ tem tempo de retenção menor na coluna de CLAE, saindo junto com a frente do solvente. A pureza radioquímica do ^{18}F -FAc pode ser avaliada com este solvente, obtendo o melhor resultado na vazão 0,5 mL/min.

4.8 Controle de Pureza Química do ^{18}F -FAc

A **Tabela 10** mostra os resultados da determinação de solvente residual em amostras de ^{18}F -FAc. (n = 5).

Tabela 10: Resultados da cromatografia à gás de amostras do ^{18}F -FAc.

ETANOL ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	ACETONITRILA ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)
6,09	23,75
5,69	72,34
4,71	35,25
5,53	37,74
4,93	41,18

A quantidade de etanol e acetonitrila estão abaixo dos limites permitidos, 5000 e $410 \mu\text{g.mL}^{-1}$, respectivamente.

A quantidade de kryptofix 2.2.2 foi abaixo do limite permitido pela USP, $50 \mu\text{g.mL}^{-1}$ para todas as amostras de ^{18}F -FAc.

As principais impurezas químicas encontradas nas amostras de ^{18}F -FAc foram Na, Ca, K, Al, Si, B, P, Cr, Ni, W e Zn. As mesmas impurezas aparecem também em amostras de $^{18}\text{F}^-$, mas o nível de impurezas é menor nas amostras de ^{18}F -FAc. O nível total de impurezas foi menor que $1 \mu\text{g.mL}^{-1}$, permitido pela farmacopéia americana [42].

Os elementos Na, Ca, K e P estão presentes na água e nas soluções utilizadas na síntese. B e Si estão presentes nos frascos de vidro e os metais Al, Cr, Ni, W e Zn vêm do porta-alvo e dos materiais da janela.

O produto final precisa ter um pH entre 4.5 - 7.5 para que possa ser injetado intravenosamente [42].

O pH das amostras de ^{18}F -FAc, em todos os experimentos, foi medido por fitas de pH (de 0-14) da Merck e apresentou pH 7,0 após a marcação.

4.9 Biodistribuição do ^{18}F -FAc em animais sadios

As Tabelas 11 e 12 e as Figuras 30 e 31 contêm os dados da biodistribuição do ^{18}F -FAc nos tempos 15 e 30 minutos após a administração do radiofármaco em camundongos Swiss sadios fêmeas (Tabela 1 e Figura 30) e camundongos Swiss sadios machos (Tabela 1 e Figura 31).

Tabela 11: Resultado da biodistribuição em camundongos fêmeas Swiss sadios, % dose/g/órgão e o seu desvio padrão.

Órgãos	%Atividade/g (desvio) 15 minutos	%Atividade/g (desvio) 30 minutos
Sangue	0,0050 ± 0,0005	0,0060 ± 0,0004
Coração	4,0 ± 0,2	4,1 ± 0,7
Pulmão	2,9 ± 0,3	3,0 ± 0,3
Rim	2,7 ± 0,2	2,82 ± 0,08
Baço	2,50 ± 0,06	2,7 ± 0,2
Estômago	1,8 ± 0,4	2,2 ± 0,4
Fígado	2,7 ± 0,3	2,8 ± 0,4
Pâncreas	1,9 ± 0,2	1,80 ± 0,03
Músculo	2,3 ± 0,2	2,1 ± 0,2
Int.grosso	3,4 ± 0,5	3,7 ± 0,5
Int.delgado	3,64 ± 0,08	4 ± 1
Osso	2,5 ± 0,3	3,5 ± 1
Cérebro	3,1 ± 0,2	3,0 ± 0,4
Bexiga	4 ± 1	3,9 ± 0,5
Mama	2,1 ± 0,7	2,1 ± 0,6
Gland.salivar	2,5 ± 0,3	2,5 ± 0,2

Tabela 12: Resultado da biodistribuição em camundongos machos Swiss sadios, % dose/g/órgão e o seu desvio padrão.

Órgãos	%Atividade/g (desvio) 15 minutos	%Atividade/g (desvio) 30 minutos
Sangue	0,0050 ± 0,0001	0,0040 ± 0,0008
Coração	1,5 ± 0,1	1,56 ± 0,04
Pulmão	0,9 ± 0,1	1,04 ± 0,08
Rim	0,93 ± 0,07	0,93 ± 0,09
Baço	1,1 ± 0,3	0,9 ± 0,1
Estômago	0,59 ± 0,09	0,4 ± 0,1
Fígado	0,97 ± 0,04	0,99 ± 0,05
Pancreas	0,58 ± 0,05	0,6 ± 0,1
Músculo	0,81 ± 0,04	1,0 ± 0,2
Intest.grosso	1,6 ± 0,2	2,0 ± 0,4
Intest.delgado	1,1 ± 0,1	1,4 ± 0,2
Ossos	0,9 ± 0,3	1,7 ± 0,2
Cérebro	1,11 ± 0,06	1,08 ± 0,09
Bexiga	1,7 ± 0,2	1,7 ± 0,5
Próstata	1,0 ± 0,2	1,7 ± 0,5
Gland.salivar	0,9 ± 0,2	0,9 ± 0,1

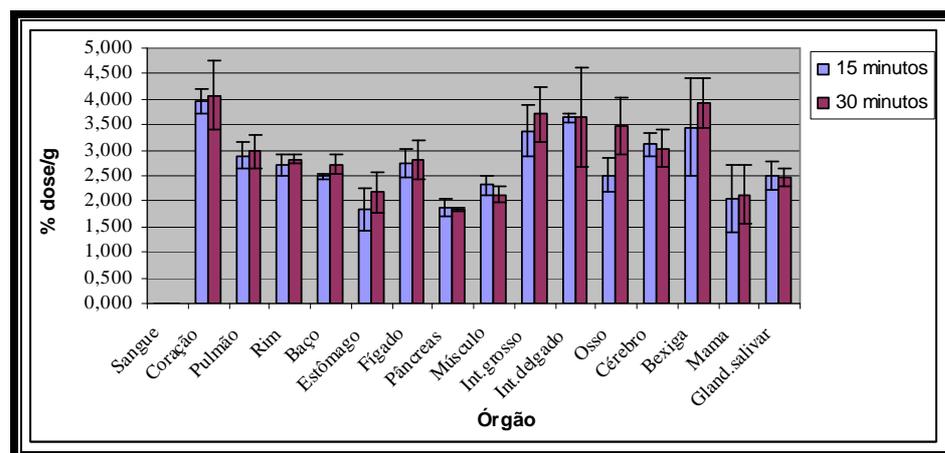


Figura 30: Gráfico da relação %dose/g/órgão em camundongos fêmeas, 15 e 30 minutos após a administração do radiofármaco ^{18}F -FAC.

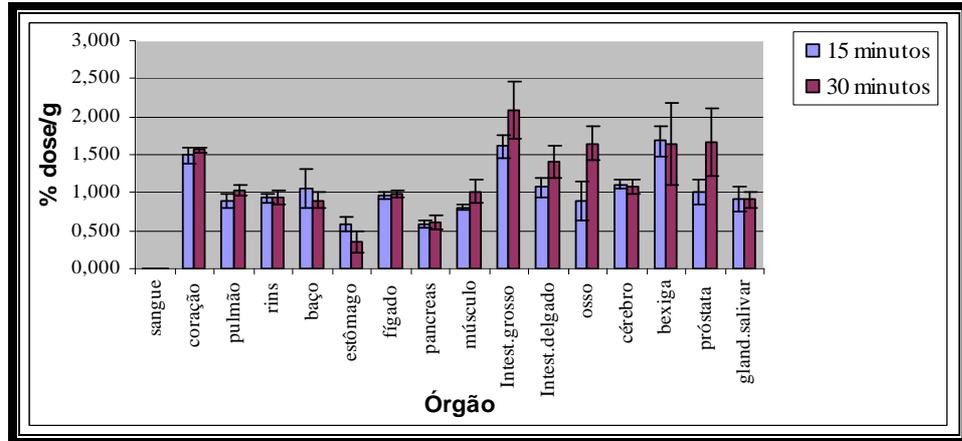


Figura 31: Gráfico da relação %dose/g/órgão, em camundongos machos, 15 e 30 minutos após a administração do radiofármaco ^{18}F -FAC.

Os estudos de biodistribuição em animais foi feito em triplicata, três animais por experimento e o sangue medido em 100 μL de volume devido a atividade de ^{18}F que precisava ser baixa para não ultrapassar o limite do contador. Os cálculos de %Atividade/g foram obtidos através de planilhas de cálculo que excluíam a dose residual na cauda do animal, local da injeção intravenosa no animal.

Os tempos de estudos, segundo literatura, são de 30, 60, 90, 120 e 180 minutos após injeção do radiofármaco, entretanto devido a logística versus horário do final da síntese. Neste trabalho foram utilizados os tempos de 15 e 30 minutos após injeção intravenosa do radiofármaco.

Nos machos de 15 minutos após a administração do radiofármaco foi observada maior captação na bexiga, coração e intestino grosso. A menor captação foi observada no pâncreas, estômago e na corrente sanguínea. Os machos de 30 minutos após a administração do radiofármaco apresentaram uma maior captação óssea, na próstata e muscular, em comparação com os resultados de 15 minutos após a administração do radiofármaco.

As fêmeas apresentaram maior captação em todos os órgãos, em relação aos machos. Não apresentaram alteração significativa entre os tempos de 15 e 30

minutos após a administração do radiofármaco, apenas uma maior captação óssea no estudo de 30 minutos.

Ambos (machos e fêmeas) apresentaram uma boa captação cerebral em todos os tempos estudados. O músculo apresenta, em todos os estudos, uma captação que corresponde a metade do órgão de maior captação.

Lindhe et.al.(2009) [24], realizaram estudos de biodistribuição do ^{18}F -FAc em macacos e porcos sadios nos intervalos de tempo, 30, 60, 90, 120 e 180 minutos após a administração do radiofármaco. O ^{18}F -FAc apresentou nos macacos maior concentração na bexiga, rins, vesícula biliar, cólon e osso. Em macacos 3% da dose injetada foi para o osso, ao contrário dos porcos que obtiveram 39% do radiofármaco captado no osso.

Os camundongos nude fêmeas foram inoculados com tumor MDA-MB-231 (câncer de mama) e os machos com pC3 (câncer de próstata), com inoculação de 2 milhões de células viáveis, entretanto o crescimento foi lento e seguida por rápida internalização tumoral, gerando metástase e necrose. Devido a problemas no funcionamento dos cíclotrons não foi possível adequar o correto estágio tumoral com a produção do ^{18}F -FAc, sendo impossível a realização destes testes.

CAPÍTULO 5

5. CONCLUSÃO

A revisão da literatura mostrou que estudos em animais e clínicos em humanos serão de extrema importância para definir com maior clareza a utilização do radiofármaco ^{18}F -FAc em PET/CT, visando maior sensibilidade e especificidade na detecção de tumores de próstata.

No caso do câncer de mama existe a possibilidade de maior sensibilidade e eficiência na sua detecção, utilizando o radiofármaco ^{18}F -FAc em PET/Mamógrafo do que em PET/CT convencional.

O procedimento para a produção do ^{18}F -FAc mostrou-se reprodutível com um rendimento de marcação de 36% (não corrigido) e $(51\pm 3)\%$ (corrigido pelo decaimento), além de estabilidade de 19 horas e tempo de síntese de 43 minutos.

Os procedimentos de controle de qualidade para o ^{18}F -FAc foram estabelecidos, em particular o controle radioquímico.

Outro ponto importante neste trabalho foi o estudo comparativo de pureza química e radionuclídica entre $^{18}\text{F}^-$, ^{18}F -FDG e ^{18}F -FAc.

O estudo em animais sadios foi realizado para determinar o metabolismo e/ou biodistribuição do radiofármaco, nos tempos 15 e 30 minutos após administração venosa em camundongos machos e fêmeas. Devido a problemas logísticos de produção do radiofármaco, fracionamento e uso dos aparelhos do controle de qualidade os estudos de 60 minutos e 120 minutos não puderam ser realizados.

A análise de controle de qualidade mostrou que o produto tem os requisitos adequados para o uso, de acordo com as farmacopéias americana e européia.

Sugestões de continuidade do trabalho:

- ✚ Estudos com animais sadios para estudo de distribuição dos radiofármacos nos tempos 60 e 120 minutos.
- ✚ Estudos com animais inoculados com os tumores pC3 e MDA-MB-231.
- ✚ Validação da produção de ^{18}F -FAc através de 3 lotes com atividade máxima.
- ✚ A estabilidade no sangue e no PBS, além do estudo toxicológico.
- ✚ Os ensaios clínicos em humanos.

CAPÍTULO 6

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] International Atomic Energy Agency: **Radiation Oncology Physics: A Handbook of Teachers and Students**. Vienna, Austria; p.7;9;10;16, 2005.
- [2] International Atomic Energy Agency: **Salud Humana en América Latina y el Caribe a la luz del PER**. Vienna, Austria; p.1,2008.
- [3] ROBILLOTA, C.C. **Positron Emission Tomography: a new modality in Brazilian nuclear medicine**. Rev Panam Salud Publica v.20 n.2-3, 2006.
- [4] PAPATHANASSIOU, D.; MURAILLE, C.B.; LIEHN, J.C.; NGUYEN, TD.; CURÉ, H. Positron Emission Tomography in Oncology: Present and Future of PET and PET/CT. **Critical Reviews in Oncology/Hematology 1262**, p.1-16, 2008.
- [5] SOARES, J.C. **Princípios de Física em Radiodiagnóstico**. São Paulo, Colégio Brasileiro de Radiologia, 2002. 12-17 p.
- [5] A História da Energia Nuclear,2006. Disponível em:
<<http://www.sbbmn.org.br/tutorial>>. Acesso em: 20 de Julho de 2012.
- [6] THRALL, J.H.; ZIESSMAN, H.A. **Medicina Nuclear**. Tradução: Maria E. Penas. 2ª Edição. Rio de Janeiro; Ed. Guanabara Koogan S.A., p.35-49,2003.
- [7] HENEINE, I.F. **Biofísica Básica**. São Paulo, Atheneu, 2005. 339-350 p.
- [8] ROBILLOTA, C.C. Positron Emission Tomography: a new modality in Brazilian nuclear medicine. **Rev Panam Salud Publica v.20 n.2-3**, 2006.

- [9] OKUNO, E.; CALDAS, I.L.; CHOW, C. Física para Ciências Biológicas e Biomédicas. Copyright – São Paulo, p. 28;29, 41-55, 1986.
- [10] International Atomic Energy Agency: **A Guide to Clinical PET in Oncology: Improving Clinical Management of Cancer Patients**. Vienna, Austria; p.19;24;34, 2008.
- [11] International Atomic Energy Agency: **Cyclotron Produced Radionuclides: Principles and Practice**. Vienna, Austria; p.13;18, 2008.
- [12] BUSHBERG, J.T., SEIBERT, J.A.; LEIDHHOLDT, E.M.; BONE, J.M. **The Essential Physics of Medical Imaging. 2^o edição** Philadelphia-USA, Ed.Lippincott Williams e Wilkins, p.627-735, 2002.
- [13] SHUNG, K.K.; SMITH, M.B.; TSUI, B.M.W. **Principles of Medical Imaging**. California, Ed.Academic Press,p.198-201, 1992.
- [14] BOCKISCH, A.; FREUDENBERG, L.S.; SCHMIDT, D.; KUWERT, T. Hybrid Imaging by SPECT/CT and PET/CT: Proven Outcomes in Cancer Imaging. **Semin Nucl Med** **39**, p. 276-289, 2009.
- [15] ZAIDI, H.; MONTANDON, M.L.; ALAVI, A. The Clinical Role of Fusion Imaging Using PET, CT and MR Imaging. **PET Clin** **3**, p.275-291,2009.
- [16] WADSAK, W.; MITTERHAUSER, M. Basics and Principles of Radiopharmaceuticals for PET/CT. **European Journal of Radiology** **73**, p. 461-469, 2010.
- [17] VALLABHAJOSULA, S. A Broad Overview of Positron Emission Tomography Radiopharmaceuticals and Clinical Applications: What is new?. **Semin Nucl Med** **41**, p. 246-264, 2011.
- [18] VALLABHAJOSULA, S. ¹⁸F-Labeled Positron Emission Tomographic Radiopharmaceuticals in Oncology: An Overview of Radiochemistry and Mechanisms of Tumor Localization. **Semin Nucl Med** **37**, p. 400-419, 2007.

- [19] PALESTRO, C.J. Radionuclide imaging of infection: what the future holds. Curitiba, **Braz. Arch. Biol. Technol.** v.51 n.spe, Dec. 2008.
- [20] WAHL, RL. Current Status of PET in Breast Cancer Imaging, Staging, and Therapy. **Seminars in Roentgenology**; Vol. XXXVI, N. 3, p.250-260, 2001.
- [21] CZERNIN, J.; BENZ, M.R.; ALLEN-AUERBACH, M.S. PET Imaging of Prostate Cancer Using ^{11}C -Acetate. **PET Clin** 4, p.163-172,2009.
- [22] SUN, L.Q.; MORI, T.; DENCE, C.S.; PONDE, D.; WELCH, M.; FURUKAWA, T.; YONEKURA, Y.; FUJIBAYASHI, Y. New approach to fully automated síntesis of sodium [^{18}F]fluoroacetate – a simple and fase method using a comercial synthesizer. **Nucmedbio** 33, p.153-158,2005.
- [23] JADVAR, H. Prostate Cancer: PET with ^{18}F -FDG, ^{18}F - or ^{11}C -Acetate, and ^{18}F - or ^{11}C -Choline. **Journal of Nuclear Medicine** 52, p.81-89, 2010.
- [24] LINDHE, O.; SUN, A.; ULIN, J.; RAHMAN, O.; LANGSTROM, B.; SORENSEN, J. [^{18}F]Fluoroacetate is not a functional analogue of [^{11}C] acetate in normal physiology. **Eur.Journal Nucl. Med. Mol. Imaging**, 2009.
- [25] LOPRESTI, B.J., MASON, N.S. 2- ^{18}F -Fluoroacetate: A Useful Tool for Assessing Gliosis in the Central Nervous System? **The Journal of Nuclear Medicine**, v. 50, N. 6, p. 841-843, 2009.
- [26] LIU, R.S.; CHON, T.K.; CHANG, C.H.; Wu C.Y., CHANG, C.W.; CHANG, T.J.; WANG, S.J.; LIN, W.J.; WANG, H.E. Biodistribution pharmacokinetics and Pet Imaging of [^{18}F] FMISO, [^{18}F] FDG and [^{18}F] FAc in sarcoma and inflamation-bearing mouse model. Taiwan; **Nuclear Medicine and Biology**, p.305; 309; 311; 2009.
- [27] RAMOS C.D., SOARES J.J. **PET e PET/CT em Oncologia: Sociedade Brasileira de Biologia, Medicina Nuclear e Imagem Molecular**. Ed.Atheneu, Cap. 6, p. 57-61, 2011.
- [28] Crump Institute for Biological Imaging. Disponível em: <<http://www.crump.ucla.edu/lpp/lpphome.html>> Acesso em: 20 Julho de 2012.

- [29] COTRAN, M.D.; KUMAR, M.D.; COLLINS, M.D. **Robbins Patologia Estrutural e Funcional**. 6. ed., Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, v. 1., 2007.
- [30] WEINBERG, R.A. **A Biologia do Câncer**. Artmed, Porto Alegre, p.22-56, 2008.
- [31] KIRBY, R. Treatment Options for Early Prostate Cancer. **Elsevier Science Inc., Urology 52**, p. 948-962, 1998.
- [32] DIRIX, P.; HAUSTERMANS, K.; JUNIUS, S.; WITHERS, R.; OYEN, R.; POPPEL, H.V. The role of whole pelvic radiotherapy in locally advanced prostate cancer. **Radiotherapy and Oncology 79**, p. 1-14, 2006.
- [33] MERTENS, K.; SLAETS, D.; LAMBERT, B.; ACOU, M.; DE VOS, F.; GOETHALS, I. PET with ^{18}F -labelled Choline-based Tracers for Tumour Imaging : a review of the literature. **Eur J Nucl Med Imaging 37**, p. 2188-2193, 2010.
- [34] RICE, S.L.; RONEY, C.A.; DAUMAR, P.; LEWIS, J.S. The Next Generation of Positron Emission Tomography Radiopharmaceutical in Oncology. **Semin Nucl Med 41**, p. 265-282, 2011.
- [35] ROHREN, E.M.; MACAPINLAC, H.A. Pet imaging of Prostate Cancer: Other Tracers. **Pet Clin. 4**, p. 185-192, 2009
- [36] Tecido Mamário. Disponível em:
<<http://www.sobiologia.com.br/conteudos/Corpo/sistemagenital4.php>>. Acesso em 20 de Agosto de 2012.
- [37] FASS, L. Imaging and Cancer: A review. **Molecular Oncology 2**, p.115-152, 2008.
- [38] SHAMIM, A.S.; TORIGIAN, D.A.; KUMAR, R. PET, PET/CT and PET/MR Imaging Assessment of Breast Cancer **Pet.Clin. 3**, p. 381-393, 2008.
- [39] SAPIENZA, M.T.; BUCHPIGUEL, C.A.; HIRONAKA, F.H. **Medicina Nuclear em Oncologia**. São Paulo; Ed.Atheneu, p.21-33, 2008.

[40] DELBEKE, D.; SCHODER, H.; MARTIN, W.H.; WAHL, R.L. Hybrid Imaging (SPECT/CT and PET/CT): Improving Therapeutic Decisions. **Semin Nucl Med** **39**, p.308-340,2009.

[41] MANKOFF, D.A.; LEE, J.H.; EUBANK, W.B. Breast Cancer Imaging with Novel PET Tracers. **Pet Clin** **4**, p. 371-381, 2009.

[42] THE UNITED STATES PHARMACOPEIAL. **OFFICIAL MONOGRAPHS: USP 34 Fluorodeoxyglucose ^{18}F injection** Rockville, MD: The United States Pharmacopeial Convention, NF 29, 2011.

[43] MORI, T.; ARAI, R.; LAMBERT, B.; GAMEIRO-PARIS, C.; KOSUGA, T.; ASAI, T.; FUJIBAYASHI, Y.; OKAZAWA, H.; KIYONO, Y. Automated synthesis of [^{18}F]fluoroacetate using a compact FDG synthesizer. Amsterdam, **Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals**, v.54, 2011.

[44] AVILA-RODRIGUEZ, M. A.; WILSON, J. S.; MCQUARRIE, S. A. A Quantitative and Comparative Study of Radionuclidic and Chemical Impurities in Water Samples Irradiated in a Niobium Target with Havar vs. Niobium-Sputtered Havar as Entrance Foils. **Applied Radiation and Isotopes** **66**:1775-1780, 2008.

[45] BOWDEN, L.; VINTRÓ, L.L.; MITCHELL, P.I.; O'DONNELL, R.G.; SEYMOUR, A.M.; DUFFY, G.J. Radionuclide Impurities in Proton-irradiated [^{18}O]H₂O for the production of $^{18}\text{F}^-$: Activities and Distribution in the [^{18}F]FDG Synthesis Process. **Applied Radiation and Isotopes** **67**: 248-255, 2009.

[45] PONDE, D.E.; DENCE, C.S.; OYAMA, N.; KIM, J.; TAI, YC.; LAFOREST, R.; SIEGEL, B.A., WELCH, M.J. ^{18}F -Fluoroacetate: A Potencial Acetate Analog for Prostate Tumor Imaging – In Vivo Evaluation of ^{18}F -Fluoroacetate Versus ^{11}C -Acetate. Missouri, **The Journal of Nuclear Medicine**, v.48, n.3, p. 420-428, 2007.

[46] MARENGO, M.; LODI, F.; MAGI, S., CICORIA, G.; PANCALDI, D.; BOSCHI, S. Assessment of radionuclidic impurities in 2- [^{18}F]fluoro-2-deoxy-D-glucose ([^{18}F]FDG) routine production. **Applied Radiation and Isotopes** **66**, p. 295-302, 2008.