

## Radiofármacos PET

I PEÑUELAS SÁNCHEZ

Unidad de Radiofarmacia. Servicio de Medicina Nuclear. Clínica Universitaria de Navarra.

Distinguido lector:

La Revista Española de Medicina Nuclear ha solicitado al Ministerio la acreditación de la sección Formación Continuada. Ello hace necesario que, a partir de este número, las respuestas al cuestionario de autoevaluación aparezcan en el número siguiente. Los interesados en recibir la acreditación deben rellenar el cuestionario adjunto y enviarlo a la dirección indicada en el mismo.

### PET RADIOPHARMACEUTICALS

#### INTRODUCCIÓN

La tomografía de emisión de positrones es una técnica no invasiva de diagnóstico por imagen en la que se utilizan radiotrazadores marcados que son administrados al sujeto de análisis en cantidades traza, por lo que no se producen efectos farmacodinámicos. La abundancia de los isótopos emisores de positrones de uso más frecuente ( $^{18}\text{F}$ ,  $^{11}\text{C}$ ) en las moléculas biológicas o en los fármacos, permite el cambio del isótopo frío por el radiactivo sin que se vean en absoluto afectadas las características químicas del compuesto. Además, el reducido período de semidesintegración de los emisores de positrones hace posible la realización de múltiples estudios en un mismo sujeto en un intervalo de pocas horas.

La técnica tomográfica posibilita la generación de imágenes volumétricas para obtener una visión glo-

bal de la distribución del radiotrazador en el organismo, siendo además posible la cuantificación absoluta de la radiactividad presente en los tejidos en cada momento. La obtención de imágenes y/o datos dinámicos permite analizar la evolución de la concentración del radiotrazador a lo largo del tiempo, abriendo una nueva dimensión en los estudios farmacocinéticos.

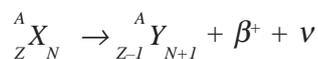
Debido al reducido período de semidesintegración de los radionucleidos empleados para marcar los radiofármacos utilizados, estos deben producirse mediante un ciclotrón situado junto al laboratorio de radiofarmacia. Para los radiofármacos marcados con radionucleidos tales como carbono-11, nitrógeno-13 u oxígeno-15, la radiosíntesis debe llevarse a cabo «a pie de tomógrafo»; sin embargo, los radiofármacos fluorados, y en particular la 2- $(^{18}\text{F})$ -fluoro-2-deoxi-D-glucosa ( $^{18}\text{FDG}$ ), pueden sintetizarse en una Unidad de Radiofarmacia y ser distribuidos regionalmente a centros equipados con una cámara PET o una gammacámara de coincidencia. Dado que en una instalación PET el mayor costo se debe al ciclotrón y los laboratorios de síntesis y control de calidad, la existencia de los mencionados centros satélites ha permitido hacer de la PET un procedimiento diagnóstico cada día más extendido no solo por la mayor disponibilidad de la técnica, sino también por el favorable costo-beneficio que su aplicación ha venido demostrado en la aplicación de un sistema global de salud<sup>1,2</sup>.

Correspondencia:

I PEÑUELAS SÁNCHEZ  
Unidad de Radiofarmacia  
Servicio de Medicina Nuclear  
Clínica Universitaria de Navarra  
Av. Pío XII, 36  
31008 Pamplona  
E-mail: ipenuelas@unav.es

## DESINTEGRACIÓN Y ANIQUILACIÓN

La desintegración de un radionucleido emisor de positrones ocurre según el esquema general siguiente:



La emisión del positrón conlleva la estabilización del nucleido generado, ya que éste está más cerca de la línea de estabilidad. La emisión concomitante de un neutrino ( $\nu$ ) en cada desintegración hace que la energía de la emisión del positrón ( $\beta^+$ ) sea variable, al contrario de lo que ocurre con las emisiones gamma, que tienen una energía fija para un radionucleido dado debido a que se deben a transiciones entre dos estados energéticos con valores definidos. Se habla por lo tanto de energía máxima y de energía media de emisión del positrón para cada radionucleido.

Tras la emisión del positrón, éste recorre una distancia (que será mayor cuanto mayor sea la energía de emisión del mismo) antes de chocar con un electrón y producirse la aniquilación. En este fenómeno la masa de ambas partículas se transforma en energía según la ecuación  $E = mc^2$ . La distancia recorrida por el positrón hasta su aniquilación es de unos pocos mm (en un medio acuoso, asimilable básicamente a un tejido) y ocurre en un tiempo muy corto desde la desintegración (en torno a  $10^{-9}$  segundos).

## PRODUCCIÓN DE RADIONUCLEIDOS EMISORES DE POSITRONES

En Medicina Nuclear se utilizan radionucleidos de origen artificial emisores de radiaciones ionizantes que se obtienen bombardeando núcleos de átomos estables con partículas subatómicas (neutrones, protones, etc.) causando reacciones nucleares y convirtiendo núcleos estables en inestables (radiactivos). Los dispositivos y métodos usados para producir radionucleidos incluyen: reactores nucleares, aceleradores de partículas (lineales, ciclotrones...), generadores y el fenómeno de fotodesintegración.

La obtención de los radionucleidos utilizados en tomografía de emisión de positrones<sup>3</sup> se lleva a cabo fundamentalmente por medio de ciclotrones<sup>4</sup>, aunque existe también la posibilidad, hasta ahora poco explotada, de la utilización de generadores<sup>5,6</sup>, si bien los isótopos obtenidos tienen unas características físicas y químicas desfavorables con respecto a los obtenidos en ciclotrones.

## FUNDAMENTOS MOLECULARES DE LA APLICACIÓN DE LOS RADIOFÁRMACOS PET

La PET se basa en la utilización de radiofármacos marcados con isótopos emisores de positrones que permitan visualizar *in vivo* diversos procesos fisiológicos o fisiopatológicos<sup>7,8</sup>. De este modo, es posible monitorizar la evolución temporal de la distribución regional de la concentración de un radiofármaco tras la administración del compuesto marcado. El número de radiofármacos PET empleados hasta la fecha es muy elevado; no obstante la mayor parte de ellos se han utilizado en estudios de investigación y a excepción de unos pocos (singularmente la <sup>18</sup>FDG, la <sup>18</sup>FDOPA, la <sup>11</sup>C-metionina, el <sup>15</sup>O-agua, y el <sup>13</sup>N-amoníaco) no han logrado introducirse en la práctica clínica habitual, si bien muchos de ellos presentan unas características inmejorables para el estudio de múltiples patologías. En la tabla I se recoge una selección de algunos de los radiofármacos PET utilizados hasta la fecha.

Para su aplicación *in vivo*, las características ideales que debe presentar un radiofármaco PET son:

- Fácil penetración en el tejido diana.
- Baja absorción inespecífica.
- Elevada afinidad por su sitio de unión.
- Disociación suficientemente lenta del lugar de unión como para detectar dicha unión tras la eliminación del compuesto unido inespecíficamente y del presente en el *pool* vascular.
- Metabolización escasa (o nula) para facilitar el modelado matemático.

La PET permite estudiar, visualizar y cuantificar múltiples procesos bioquímicos y fisiológicos tales como el metabolismo glicídico<sup>9</sup>, la tasa de síntesis proteica<sup>10</sup>, la proliferación celular<sup>11,12</sup>, la actividad enzimática<sup>13</sup>, la tasa de consumo de oxígeno<sup>14</sup>, el metabolismo  $\beta$ -oxidativo<sup>15</sup>, el pH intracelular<sup>16</sup>, el flujo sanguíneo<sup>17</sup>, la transmisión de señales e incluso la expresión génica<sup>18,19</sup> y su regulación, entre otros. Pero además es posible mediante PET analizar la densidad de receptores de una zona concreta<sup>20,21</sup>, la cinética de la unión receptor ligando<sup>22</sup> o enzima-sustrato<sup>23</sup>, la afinidad de un compuesto por un receptor determinado<sup>24</sup>, o el efecto de un fármaco en cualquiera de los procesos fisiológicos previamente referidos<sup>25,26</sup>. A pesar de esta gran diversidad, y me-

**Tabla I**  
ALGUNOS RADIOFÁRMACOS EMISORES DE POSITRONES

<i>Radiofármaco</i>	<i>Aplicación</i>	<i>Ref. bibliográficas</i>
( <sup>11</sup> C)acetato	Metabolismo β-oxidativo	100, 101, 102, 103
( <sup>11</sup> C)carfentanil	Receptores opiáceos	104
( <sup>11</sup> C)cocaína y análogos	Transportador de dopamina	105, 106, 107, 108, 109
( <sup>11</sup> C)colina	Síntesis acetilcolina	110, 111
( <sup>11</sup> C)deprenilo	Sustrato MAO-B	112
( <sup>11</sup> C)flumazenil	Receptores benzodiazepínicos	113, 114, 115
( <sup>11</sup> C)harmina	Sustrato MAO-A	116, 117
( <sup>11</sup> C)hidroxiefedrina	Innervación miocárdica	66, 118, 119
( <sup>11</sup> C)MDL-100,907	Receptores serotoninérgicos 5HT <sub>2A</sub>	48
( <sup>11</sup> C)metilfenidato	Transportador de dopamina	120, 121, 122
<i>L</i> -( <sup>11</sup> C)metil-L-metionina	Metabolismo aminoácidos	123, 124
( <sup>11</sup> C)α-metil-L-triptófano	Síntesis serotonina	125, 126, 127
( <sup>11</sup> C)nicotina	Receptores nicotínicos	128
N-( <sup>11</sup> C)metilespiperona	Receptores dopaminérgicos D <sub>2</sub>	129, 130
( <sup>11</sup> C)NMPB	Receptores muscarínicos	131
( <sup>11</sup> C)palmitato	Metabolismo β-oxidativo	132, 133
( <sup>11</sup> C)raclopride	Receptores dopaminérgicos D <sub>2</sub>	134, 135, 136
R-( <sup>11</sup> C)rolipram	Fosfodiesterasa-4 (PDE4).	56
( <sup>11</sup> C)SCH 23390	Receptores dopaminérgicos D <sub>1</sub>	137, 138, 139
( <sup>11</sup> C)timidina	Proliferación	35, 36, 37, 38, 39, 140
L-( <sup>11</sup> C)tirosina	Metabolismo aminoácidos	141, 142, 143
( <sup>11</sup> C)WAY 100635	Receptores serotoninérgicos 5HT <sub>1A</sub>	144, 145, 146, 147, 148
( <sup>13</sup> N)amoníaco	Flujo sanguíneo	75, 149, 150
( <sup>15</sup> O)agua	Flujo sanguíneo	86, 151, 152
( <sup>15</sup> O)butanol	Flujo sanguíneo	85, 153
( <sup>15</sup> O)CO	Pool vascular	83, 84
( <sup>15</sup> O)CO <sub>2</sub>	Flujo sanguíneo	151, 154
( <sup>15</sup> O)O <sub>2</sub>	Consumo de oxígeno	155
( <sup>18</sup> F)fluoroestradiol	Receptores estrogénicos	156, 157, 158
( <sup>18</sup> F)altanserina	Receptores serotoninérgicos 5HT <sub>2A</sub>	159, 160
( <sup>18</sup> F)epibatidina y análogos	Receptores nicotínicos	161, 162
( <sup>18</sup> F)FDG	Metabolismo glicídico	9
( <sup>18</sup> F)FHBG	Expresión génica	163, 164,
2-( <sup>18</sup> F)fluoro-tirosina	Metabolismo aminoácidos	42, 44
3-( <sup>18</sup> F)fluoro-α-metiltirosina	Metabolismo aminoácidos	165, 45
N-( <sup>18</sup> F)fluoroetilespiperona	Receptores D <sub>2</sub> ; Expresión génica	166, 167, 168, 169
6-( <sup>18</sup> F)FDOPA	Metabolismo dopaminérgico	170, 171, 172
6-( <sup>18</sup> F)fluoro-L-m-tirosina	AAAD	173, 174
( <sup>18</sup> F)fluoromisonidazol	Hipoxia tumoral/isquemia	175, 176, 177
( <sup>18</sup> F)fluorouracilo	Evaluación terapia antitumoral	178, 179
( <sup>18</sup> F)fluoruro	Metabolismo óseo	180
( <sup>18</sup> F)Fluoxetina	Recaptación serotonina	181
( <sup>18</sup> F)FP-TZTP	Receptores muscarínicos	51, 182
( <sup>18</sup> F)FTHA	Metabolismo beta oxidativo	15, 34
( <sup>18</sup> F)halotano	Biodistribución anestésico	183
( <sup>18</sup> F)fluorotimidina	Proliferación	11, 12

Al margen de unos pocos radiofármacos utilizados como sustratos metabólicos (<sup>18</sup>FDG, <sup>11</sup>C-metionina, <sup>11</sup>C-palmitato, <sup>18</sup>F-fluorotimidina...) y otros empleados para el estudio del flujo sanguíneo regional (<sup>13</sup>N-amoníaco, <sup>15</sup>O-agua...), la mayoría de los radiofármacos se han desarrollado como ligandos de procesos de neurotransmisión.

diante una simplificación que quizá pudiera resultar excesiva, se pueden clasificar los radiofármacos PET en tres grandes grupos:

1. Sustratos de vías metabólicas.
2. Ligandos que interactúan selectivamente en un proceso de neurotransmisión.

3. Radiofármacos para la medida del flujo sanguíneo regional.

#### **Punto clave 1**

*Características ideales radiofármacos PET:*

- Fácil penetración en tejido diana.
- Baja absorción inespecífica.
- Elevada afinidad por su sitio de unión.

- *Disociación lenta.*
- *Metabolización escasa.*

## SUSTRATOS DE VÍAS METABÓLICAS

### <sup>18</sup>FDG

La <sup>18</sup>FDG es sin duda el radiofármaco PET más importante<sup>9</sup>. Esto se debe no sólo a su aplicación al estudio de patologías muy diversas, sino también a sus características metabólicas y a la rapidez de su síntesis. Tanto la glucosa como la FDG atraviesan la barrera hematoencefálica y entran fácilmente en las células, aunque este paso de incorporación es ligeramente más rápido en el caso del análogo fluorado. Tras su entrada en la célula, ambos compuestos inician la vía glicolítica, con la fosforilación por la enzima hexoquinasa en el carbono 6.

El siguiente paso de la vía glicolítica es la isomerización por acción de la enzima fosfoglucoisomerasa para formar fructosa-6-fosfato. Puesto que tanto la glucosa-6-fosfato, como la fructosa-6-fosfato existen predominantemente en su forma cíclica, la reacción requiere la apertura del anillo, seguidamente la isomerización y finalmente el cierre del nuevo anillo de furanosa formado.

La intervención del grupo hidroxilo de C<sub>2</sub> es fundamental para que pueda llevarse a cabo la isomerización; por lo tanto, la 2-<sup>18</sup>FDG-6-P, que carece de dicho grupo funcional, no es un sustrato adecuado para la fosfoglucoisomerasa, por lo que la <sup>18</sup>FDG sufre únicamente el primer paso de la vía glicolítica: la fosforilación en C<sub>6</sub> por acción de la hexoquinasa, ya que el compuesto resultante sufre atrapamiento metabólico por no poder ser metabolizado.

La reacción de desfosforilación de los derivados fosforilados (glucosa-6-P y <sup>18</sup>FDG-6-P) es catalizada por la enzima glucosa-6-fosfatasa, cuya actividad solo es significativa en el hígado, dado que este órgano no emplea glucosa como fuente principal de energía y es además el encargado de regular la concentración de glucosa en sangre liberando la glucosa obtenida en la reacción de desfosforilación referida. Por otra parte, las características de la glucocinasa hepática (la enzima encargada de fosforilar la glucosa a glucosa-6-P en este órgano, dado que la hexoquinasa prácticamente no se expresa en los hepatocitos) son bastante diferentes de las de la hexoquinasa. La hexoquinasa tiene una elevada afinidad por la glucosa ( $K_M < 0,1$  mM) y es inhibida por el producto

de la reacción que cataliza. En contraposición, la glucocinasa tiene una afinidad mucho menor por la glucosa ( $K_M = 10$  mM), de tal modo que su actividad es proporcional a la concentración de glucosa en sangre. Además, la glucocinasa no es inhibida por la glucosa-6-P. Con todo esto, no puede decirse que en el hígado la FDG sufra atrapamiento metabólico ya que las tasas de fijación en forma de FDG-6-P e hidrólisis a FDG son significativamente diferentes a las de otros tejidos.

#### *Punto clave 2*

*Tras la fosforilación en C<sub>6</sub> por la hexoquinasa, el derivado fosforilado (<sup>18</sup>FDG-6P) sufre atrapamiento metabólico por no ser un sustrato adecuado para la fosfoglucoisomerasa por carecer del -OH en C<sub>2</sub>.*

Sin embargo, en el resto de los tejidos, se puede asumir que toda la FDG que entra en la célula queda fijada en su interior por sufrir atrapamiento metabólico: su conversión a FDG-6-P impide su difusión atravesando la membrana celular, y una vez que se encuentra en la forma fosforilada, esta molécula no puede ser metabolizada, por lo que el resultado final del proceso es el acúmulo progresivo del derivado fosforilado en el interior de la célula.

#### *¿Por qué se acumula <sup>18</sup>FDG en las células tumorales?*

A pesar de la amplia utilización de la FDG como radiofármaco principal en el estudio de la patología tumoral, debe quedar claro que este radiofármaco no es en absoluto un marcador de proliferación celular, sino del metabolismo glicídico celular. La concentración de la <sup>18</sup>FDG en las células tumorales es un reflejo del aumento de su metabolismo glicídico para poder mantener una elevada tasa de crecimiento y/o proliferación<sup>27</sup>. La necesidad de ATP para los procesos anabólicos referidos se traduce en un incremento de la captación de glucosa. Por lo tanto, la utilización de la <sup>18</sup>FDG en oncología se fundamenta en la observación de que las células tumorales muestran una glicolisis aumentada, debido a tres factores:

1. El incremento en el número de transportadores de membrana para la glucosa<sup>28,29</sup>—los denominados GLUT-1 a GLUT-9— originado por un incremento de la expresión de sus genes (tal es así que para algunos autores el incremento de la expresión del gen GLUT-1 es uno de los marcadores más tempranos de transformación tumoral).

2. El aumento de la actividad de varias enzimas de

la vía glicolítica<sup>30</sup> (entre ellas la hexokinasa, fosfofructokinasa y piruvato deshidrogenasa) tanto por modificaciones alostéricas como por un incremento de la expresión de sus genes.

3. A todo esto se une el hecho de que la degradación de la glucosa en las células tumorales tiene lugar mediante una vía anaeróbica, en la que el rendimiento energético es de únicamente 2 moléculas de ATP por molécula de glucosa, mientras que mediante la oxidación aeróbica de la glucosa a CO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>O se obtienen 38 ATP. El motivo de que la célula tumoral utilice preferentemente el metabolismo anaeróbico (a pesar de su menor rendimiento energético) se debe fundamentalmente a la velocidad con que se obtiene la energía en uno y otro caso, siendo ésta casi 100 veces mayor en la fermentación que en el catabolismo oxidativo. De este modo, y siempre que el aporte del sustrato energético sea suficiente, una célula tumoral en crecimiento compensa el menor rendimiento energético del proceso anaeróbico con su mayor velocidad, de tal modo que el consumo de glucosa es muy elevado.

En conjunto, estos tres factores conllevan la sustancial diferencia en el acúmulo de <sup>18</sup>FDG entre las células tumorales y las que no lo son, y posibilita la utilización de este radiofármaco como un indicador indirecto de proliferación celular.

### Sustratos para el estudio de la β-oxidación

El estudio del metabolismo oxidativo miocárdico es de gran interés clínico porque permite la identificación del miocardio viable. En condiciones fisiológicas existe una estrecha relación entre la perfusión y el metabolismo miocárdicos y la función contráctil cardíaca. A pesar de que el corazón es capaz de metabolizar diversos sustratos, tiene clara preferencia por los ácidos grasos, aunque en determinadas circunstancias puede producirse una disminución de la beta-oxidación mitocondrial de los ácidos grasos en beneficio de un incremento del catabolismo de la glucosa.

Los radiofármacos más utilizados para el estudio del metabolismo oxidativo cardíaco son ácidos grasos marcados con carbono-11 (tales como el <sup>11</sup>C-palmitato<sup>31</sup> o el propio <sup>11</sup>C-acetato<sup>32,33</sup>). No es sin embargo sencillo el análisis cuantitativo de las imágenes obtenidas con estos radiofármacos, puesto que sufren una metabolización rápida con la generación de gran

cantidad de productos intermediarios marcados (entre ellos <sup>11</sup>CO<sub>2</sub>).

Para simplificar el análisis cuantitativo, se ha utilizado un radiotrazador marcado con flúor-18, el ácido 14(R,S)-[<sup>18</sup>F]fluoro-6-tio-heptadecanoico<sup>15,34</sup> (<sup>18</sup>FTHA). En este caso la presencia del átomo de azufre en el carbono 6 detiene la catabolización del compuesto, dando lugar al atrapamiento metabólico.

El <sup>18</sup>FTHA entra en la vía β-oxidativa por su similitud con un ácido graso natural, sufriendo la activación al acil-coenzima A correspondiente y posteriormente las dos primeras vueltas completas de la β-oxidación, con lo que se eliminan los carbonos 1 a 4 en forma de 2 moléculas de acil-CoA y queda el derivado fluorado activado como un acil CoA de 13 carbonos, con el azufre en la posición 2. En la siguiente vuelta, no puede llevarse a cabo ni siquiera la primera reacción de deshidrogenación catalizada por la acil-CoA deshidrogenasa, ya que la presencia del átomo de azufre imposibilita la formación del doble enlace. De este modo, se va acumulando progresivamente el metabolito fluorado en función de la tasa del metabolismo β-oxidativo.

### Sustratos para el estudio de la proliferación: medida de la síntesis de DNA

El modo más preciso de medir la proliferación celular es determinando directamente la tasa de síntesis del DNA, ya que tanto el incremento de la glicólisis como de la tasa de síntesis de proteínas son indicadores indirectos que pueden por tanto dar lugar a diagnósticos erróneos en determinadas circunstancias.

Los radiofármacos ideales para visualizar proliferación celular mediante PET son por lo tanto análogos de las bases del DNA cuya incorporación a éste (esto es, su fijación intracelular) sí es una medida directa de la proliferación celular. La elección de la timidina como el nucleósido ideal es evidente, ya que la utilización de guanosina, citidina o adenosina conllevaría la incorporación del átomo radiactivo no sólo al DNA, sino también al RNA. Puesto que se intenta ver replicación (biosíntesis de DNA) y no síntesis de RNA, debe elegirse la base que es diferente entre ambos tipos de ácido nucleico.

Entre los radiofármacos utilizados destaca la <sup>11</sup>C-timidina<sup>35</sup>, pero la dificultad de su síntesis y su rápido catabolismo<sup>36,37</sup> dificultan en gran medida su aplica-

ción clínica<sup>38,39</sup>. La introducción de otros análogos de la timidina marcados con flúor (especialmente la fluoro-timidina<sup>11,12</sup>) y que no sean degradados tan rápidamente *in vivo* ha supuesto un avance considerable en este campo.

### **Punto clave 3**

*El modo más preciso de medir la proliferación celular es determinando directamente la tasa de síntesis del DNA, ya que tanto el incremento de la glicolisis como de la tasa de síntesis de proteínas son indicadores indirectos que pueden dar lugar a diagnósticos erróneos en determinadas circunstancias.*

## **Síntesis de proteínas**

Los aminoácidos no sólo se utilizan para la síntesis de proteínas, sino que además son los precursores de muchos compuestos nitrogenados, como por ejemplo nucleótidos, coenzimas, el grupo hemo, varias hormonas o neurotransmisores (epinefrina, norepinefrina, dopamina, serotonina, histamina...).

Por lo tanto, el destino final de un aminoácido va a depender de muchos factores, y sus productos de degradación o de biosíntesis van a ser muy diversos.

La mayor parte de los estudios PET con aminoácidos marcados se centran en su incorporación a las proteínas en el cerebro o en tejidos tumorales<sup>40</sup>. Antes de incorporarse a las proteínas cerebrales, el aminoácido debe atravesar la barrera hematoencefálica, mediante un sistema específico de transportadores de aminoácidos. Estos transportadores son saturables, por lo que la tasa de transporte va a depender de la relación entre el aminoácido marcado inyectado y la concentración en la sangre de aminoácidos endógenos que puedan competir con éste por su unión al transportador.

Los aminoácidos L-fenilalamina, L-leucina, L-tirosina y L-metionina tienen las tasas de captación cerebral más alta, por lo que se consideran los aminoácidos ideales para la medida de la tasa de síntesis proteica en el cerebro<sup>41,42</sup>.

El problema del destino del aminoácido marcado (fundamentalmente la disyuntiva entre la síntesis de proteínas y el metabolismo no proteico del precursor) y la eliminación de los metabolitos radiactivos, es el problema fundamental cuando se quiere llevar a cabo un análisis cuantitativo<sup>10</sup>, pero puede solventarse mediante la utilización combinada de varios radiofármacos.

En cuanto a la posición del marcaje radiactivo, lo más sencillo es marcar el carbono carboxílico del aminoácido, pero el catabolismo de los aminoácidos así

marcados conlleva la rápida producción de <sup>11</sup>CO<sub>2</sub>, que va a dificultar tanto el análisis visual de la imagen como el cálculo de parámetros semicuantitativos<sup>43</sup>.

Respecto a su aplicación clínica principal, la dinámica de incorporación diferencial a los tejidos la L-[metil-<sup>11</sup>C]metionina puede ser de utilidad para analizar cualitativamente diferencias metabólicas entre distintos tejidos, o para identificar transformaciones tumorales.

Además de participar en la síntesis de proteínas, el metabolismo de la L-[metil-<sup>11</sup>C]metionina es complejo y conlleva la aparición del carbono radiactivo en otros múltiples compuestos, ya que es éste carbono el que se transfiere a otras moléculas en las reacciones de transmetilación mediadas por la S-adenosilmetionina (SAM), uno de los agentes metilantes de mayor importancia biológica por la reactividad del metilo unido al ion sulfonio y que se produce *in vivo* a partir de metionina. La SAM actúa, p. ej. como dador de metilos en la síntesis de fosfatidilcolina a partir de fosfatidiletanolamina, o de epinefrina a partir de norepinefrina. Las reacciones de transmetilación que implican a la SAM producen finalmente homocisteína, que puede transformarse de nuevo en metionina mediante una reacción de transmetilación con N<sup>5</sup>-metil-tetrahidrofurano, o finalmente en alfa-cetobutirato, y succinil-CoA, un sustrato del ciclo de los ácidos tricarbónicos, por lo que finalmente el carbono-11 aparecerá también en forma de <sup>11</sup>CO<sub>2</sub>.

Los análogos de aminoácidos marcados con <sup>18</sup>F (especialmente los derivados fluorados de la tirosina<sup>44-46</sup>, e incluso la propia <sup>18</sup>FDOPA<sup>47</sup>) presentan varias ventajas con respecto a los marcados con <sup>11</sup>C, fundamentalmente en relación con el mayor período de semidesintegración del flúor-18 —que permite llevar a cabo estudios en tejidos con tasas de síntesis proteica reducidas—, y con la menor metabolización de los análogos fluorados, ya que al no tratarse de aminoácidos naturales han sido diseñados para poder obtener datos cuantitativos con mayor facilidad. Sin embargo, los procedimientos de síntesis son relativamente complejos, lo que hace que los aminoácidos fluorados no se utilicen profusamente para estudios PET.

### **Punto clave 4**

*La dinámica de incorporación diferencial a los tejidos de la L-[metil-<sup>11</sup>C]metionina puede ser de utilidad para analizar cualitativamente diferencias metabólicas entre distintos tejidos, o para identificar transformaciones tumorales.*

## LIGANDOS QUE INTERACTÚAN SELECTIVAMENTE EN UN PROCESO DE NEUROTRANSMISIÓN

La evaluación cuantitativa, semicuantitativa o simplemente el análisis visual de la unión de un ligando a un receptor, es quizá la aplicación más clara de la tomografía de emisión de positrones al análisis farmacológico *in vivo*.

Los estudios de unión a receptores se pueden clasificar en tres grandes áreas:

1. Determinación de la interacción del fármaco con un receptor, de tal modo que la utilización como radiotrazador del propio fármaco marcado no produce alteración alguna en los parámetros bioquímicos que se quieren determinar<sup>48</sup>.

2. En otros casos se procede a la co-administración del radiotrazador con el fármaco de interés para determinar, mediante la competición entre ambos, si el compuesto frío es capaz de disminuir la unión del marcado, lo que implicaría la unión de aquél al receptor con mayor afinidad que éste<sup>49</sup>.

3. Se pueden determinar de manera indirecta los cambios en la concentración de un neurotransmisor endógeno en respuesta a un fármaco; si un fármaco actúa, p. ej., mediante el incremento de la liberación de dopamina, haciendo estudios PET con <sup>11</sup>C-raclopride (un antagonista D<sub>2</sub>) se puede comprobar que la ocupación de receptores por el compuesto marcado disminuye tras la administración de la droga, puesto que al liberarse el neurotransmisor éste ocupa los receptores<sup>50</sup>. Una variación de este último método permite medir la inhibición de una enzima por un fármaco determinando la concentración del neurotransmisor que degrada aquélla; esto se ha hecho midiendo el incremento de la concentración de acetilcolina en respuesta a la inhibición de la acetilcolinesterasa por distintas drogas; el incremento del neurotransmisor se mide indirectamente utilizando un agonista muscarínico marcado<sup>51</sup>.

### Punto clave 5

*Para la determinación de la interacción de un fármaco con un receptor se puede usar la PET de tal modo que la utilización como radiotrazador del propio fármaco marcado no produce alteración alguna en los parámetros bioquímicos que se quieren determinar.*

Para demostrar la actividad enzimática *in vivo* mediante PET se pueden utilizar dos aproximaciones experimentales distintas. La primera se basa en la utilización de un sustrato marcado cuyo producto sufre

atrapamiento metabólico en el lugar de la catálisis, mientras que la segunda implica la utilización de un inhibidor marcado que se une a la enzima con una tasa de disociación lenta. Entre los enzimas utilizados como dianas se incluyen la monoamina oxidasa<sup>52,53</sup>, la acetilcolinesterasa<sup>54</sup>, la dopamina descarboxilasa<sup>55</sup>, o la fosfodiesterasa<sup>56</sup>. La utilización de un sustrato PET puede permitirnos localizar los lugares donde una enzima se expresa, en qué concentración aparece e incluso cuál es su actividad. Este tipo de estudios aportan valiosa información sobre la actividad enzimática en diversos estados fisiológicos y patológicos y permite estudiar *in vivo* el efecto de distintas drogas sobre estos sistemas enzimáticos.

Un ejemplo clásico de los estudios de ocupación de receptores son los llevados a cabo con neurolépticos<sup>57</sup>. Se ha propuesto que la inducción de efectos extrapiramidales por los antipsicóticos clásicos se debe a una ocupación de receptores dopaminérgicos superior al 80%, mientras que el efecto antipsicótico sólo se manifiesta clínicamente cuando la ocupación es superior al 70%<sup>58</sup>. Existe por lo tanto un estrecho margen en el que el fármaco debe funcionar<sup>49</sup>. La acción simultánea sobre receptores D<sub>2</sub> y 5HT<sub>2</sub> de algunos compuestos (como p. ej. risperidona o clozapina<sup>59,60</sup>) podría ser la causa que hace disminuir los efectos extrapiramidales. La única forma de determinar la ocupación de receptores *in vivo* tras el tratamiento con distintos neurolépticos, es mediante PET: utilizando como radiotrazadores <sup>11</sup>C-raclopride y <sup>11</sup>C-N-metil-espiperona (un antagonista 5HT<sub>2</sub>) se puede determinar el porcentaje de receptores a los que se une el radiofármaco<sup>61</sup>.

En ocasiones no es posible marcar con un isótopo emisor de positrones el compuesto de interés, pero incluso en estos casos puede ser útil la PET. La estrategia a seguir se basa habitualmente en cuantificar en qué medida la administración del fármaco no marcado reduce la incorporación del compuesto marcado. Si se utiliza una molécula selectiva por un subtipo de receptor concreto y se comprueba una disminución de la fijación del compuesto marcado tras la administración del fármaco frío, se demuestra que *in vivo* éste se fija al mismo receptor que el compuesto marcado, con lo que se obtiene una información de gran utilidad para las fases subsiguientes de desarrollo del proceso<sup>62</sup>.

### Punto clave 6

*La utilización de un radiofármaco PET adecuado permite localizar los lugares donde una enzima se ex-*

*presa en el SNC, en qué concentración aparece e incluso cuál es su actividad.*

Si bien el estudio de receptores con PET se ha dedicado mayoritariamente al SNC, son también numerosos los trabajos que mediante tomografía de emisión de positrones han permitido la caracterización *in vivo* de diversos tipos de receptores en el corazón. Se han estudiado de este modo receptores muscarínicos<sup>63</sup>, alfa-<sup>64,65</sup> y beta-adrenérgicos<sup>66,67</sup> y se ha podido visualizar *in vivo* la innervación del corazón con falsos neurotransmisores como <sup>18</sup>F-6-fluorometaraminol<sup>68</sup>, o <sup>18</sup>F-6-fluorodopamina<sup>69</sup>. Estos estudios han permitido un conocimiento más preciso de la neurofisiología cardíaca y posibilitado el análisis *in vivo* del efecto de diversas drogas sobre la función del corazón, con la consiguiente aplicación al desarrollo de nuevos fármacos más seguros, potentes y específicos.

## RADIOFÁRMACOS PARA LA MEDIDA DEL FLUJO SANGUÍNEO REGIONAL

Entre los trazadores difusibles, esto es, que son lavados del tejido por difusión simple, cabe destacar el H<sub>2</sub><sup>15</sup>O, radiofármaco aplicado para la determinación y cuantificación del flujo sanguíneo, bien sea para el análisis de la perfusión de una lesión tumoral<sup>70</sup> o para estudios de activación cerebral en respuesta a un estímulo<sup>71</sup> o a un tratamiento farmacológico<sup>72</sup>.

Los radiofármacos extraíbles son atrapados en el tejido diana por un mecanismo dependiente de energía. Entre ellos cabe destacar el rubidio-82<sup>73</sup> —cuyo mecanismo de acción se basa en la similitud del Rb<sup>+</sup> con el K<sup>+</sup>— y el <sup>13</sup>N-amoníaco<sup>74,75</sup>.

## SÍNTESIS DE RADIOFÁRMACOS EMISORES DE POSITRONES

### Generalidades

La síntesis de radiofármacos PET presenta unas características muy peculiares que la diferencian notablemente de los procedimientos de preparación de radiofármacos en Medicina Nuclear convencional.

Debe considerarse en primer lugar el tiempo de síntesis, ya que al trabajar con isótopos de vida media muy corta, deben buscarse necesariamente procedi-

mientos en los que se reduzca al máximo el número de pasos, en los que cada uno de ellos transcurra con una gran eficiencia, y en los que la reacción de incorporación del isótopo tenga lugar en los pasos finales de la síntesis. De este modo se consiguen dos objetivos: reducir el tiempo total de síntesis y disminuir el número de sustancias obtenidas como producto secundario de la reacción.

Las síntesis de radiofármacos PET se llevan siempre a cabo a muy pequeña escala desde el punto de vista de la cantidad del compuesto producido (habitualmente tan solo unas pocas decenas de microgramos), lo que implica que siempre va a existir un gran exceso del precursor, y que por lo tanto es necesario utilizar un sistema de purificación adecuado del producto final. Estos han de ser rápidos y eficientes, por lo que lo más habitual es recurrir a la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), aunque en los casos en que sea posible, la utilización de sistemas de cartuchos de extracción en fase sólida es más adecuado ya que requiere un equipamiento más sencillo.

Cuando se desea afrontar un procedimiento de síntesis debe tenerse también en cuenta si el precursor necesario está disponible en el mercado; si no lo estuviera, debería sintetizarse *in situ*, lo que complica notablemente el proceso global, puesto que se requiere un equipamiento adicional costoso.

Es sin duda de gran importancia la posición del isótopo en el compuesto marcado, ya que esto puede condicionar el comportamiento biológico de la molécula, o los metabolitos marcados que se originen a partir del radiotrazador, lo que a su vez es importante cuando se llevan a cabo estudios de cuantificación absoluta.

La existencia de estereoisómeros de los que uno es activo y el otro no, hace que sea la estereoselectividad de las reacciones de síntesis un punto importante a tener en cuenta. En caso de existir la posibilidad, siempre es mejor utilizar un precursor en el que el centro quiral esté ya establecido y no se altere durante la síntesis, puesto que la obtención de una mezcla de isómeros implicaría un sistema de purificación mediante HPLC quiral que es bastante complejo.

Los procedimientos de síntesis deben además ser fácilmente automatizables, dado que el manejo de actividades muy elevadas (varios curios) hace inviable la utilización de procesos manuales; de ahí la importancia del establecimiento de procesos de manipulación adecuados a las actividades manejadas y la necesidad de utilizar sistemas de protección apropiados.

A todo esto debe añadirse que los radiofármacos deben ser estériles y apirógenos, ya que se van a administrar a los pacientes por vía endovenosa, por lo que todo el sistema de síntesis debe estar diseñado para obtener un producto final de las características referidas.

Finalmente, y cuando es necesario utilizar reacciones de sustitución electrofílica con  $F_2$ , debe considerarse la dificultad para obtener cantidades elevadas del radioisótopo en esta forma química, como veremos más adelante.

Con todas estas consideraciones previas, es patente la necesidad de un equipamiento complejo tecnológicamente avanzado para la síntesis de radiofármacos PET, a lo que hay que añadir los requerimientos de personal altamente especializado formado en los campos de la radiofarmacia, radioquímica, química orgánica, bioquímica, farmacología, informática, micromecánica, gestión de calidad, etc.

### Automatización

La aplicación de sistemas de síntesis automatizada o de sistemas robotizados para la realización de diversas tareas en el laboratorio PET permite por una parte reducir extraordinariamente la exposición del personal a la radiación —protección al personal—, llevar a cabo las síntesis en condiciones fijadas y exactamente reproducibles —reproducibilidad—, minimizar la posibilidad del fallo humano —seguridad—, lo que a su vez redundará en la obtención de rendimientos mayores —eficiencia— de radiofármacos de calidad asegurada y constante, todo lo cual facilita el cumplimiento de las buenas prácticas de laboratorio y las buenas prácticas radiofarmacéuticas y por lo tanto el funcionamiento de la unidad de acuerdo a un sistema global de aseguramiento y control de calidad.

La automatización o la robotización puede incluir diversos procesos, tales como síntesis, purificación del compuesto, control de calidad, preparación de monodosis listas para la administración, administración de dosis al paciente...

Las ventajas de la automatización son evidentes, y sólo tiene un inconveniente fundamental: su elevado costo. Por ello cuando se diseña un laboratorio de síntesis de radiofármacos PET debe considerarse el objetivo global del centro en el que la unidad PET está encuadrada: si se trata de un centro fundamentalmente clínico dedicado casi exclusivamente a estudios de

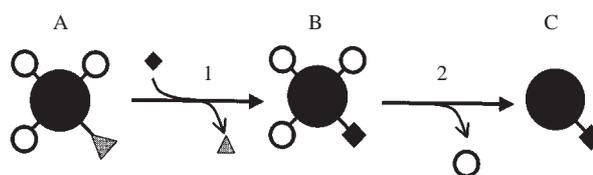


FIG. 1.—Esquema general de reacción para la síntesis de radiofármacos PET. El precursor (A) cuenta con grupos protectores (○) y un grupo saliente (Δ) que puede considerarse el centro reactivo. En la reacción de incorporación del radionucleido (1) éste, o una forma reactiva del mismo (■) reacciona con el precursor uniéndose a él covalentemente, produciéndose la eliminación del grupo saliente. Se obtiene de este modo un producto intermedio (B) que es sometido a una reacción de desprotección (2) para eliminar los grupos protectores y obtener de esta forma el producto final (C), que debe a continuación ser purificado para separarlo de los restos del precursor y el radionucleido sin reaccionar, los productos intermedios y restos de otros subproductos de la reacción.

$^{18}F$ FDG, un centro clínico con capacidad de utilizar radiofármacos marcados con otros isótopos distintos del  $^{18}F$ , un centro de investigación de nuevos radio-trazadores e incluso un centro dedicado exclusivamente a la producción centralizada de radiofármacos PET ( $^{18}F$ FDG) para su distribución a centros satélites equipados con tomocámaras adecuadas. La inversión será diferente en cada caso, condicionando el tipo de centro no solo qué se automatiza, sino también cómo se lleva a cabo la automatización.

La automatización y los problemas anteriormente referidos relativos a la síntesis de radiofármacos PET, básicamente el del reducido período de semi-desintegración de los isótopos utilizados, hace muy necesaria la existencia de una coordinación muy precisa entre el personal encargado de la preparación de los radiofármacos y el encargado de la administración de las dosis y la adquisición de las imágenes. Deben por tanto programarse cuidadosamente las exploraciones que se llevan a cabo, lo que en definitiva afectará a la programación de la producción de isótopos en el ciclotrón y a la síntesis de radiofármacos.

#### Punto clave 7

*La automatización puede incluir diversos procesos, tales como síntesis, purificación del radiofármaco, control de calidad, preparación de monodosis listas para la administración, administración de dosis al paciente...*

### Esquema general de síntesis

La aproximación a la síntesis química de un radio-

fármaco PET, teniendo en cuenta todas las consideraciones anteriormente apuntadas, podría no obstante reducirse a un esquema de síntesis que conceptualmente es muy sencillo (Fig. 1):

- Se debe disponer de un compuesto (precursor frío) adecuado que tenga tres características básicas: un centro reactivo sobre el que se produzca el ataque del isótopo emisor de positrones durante la síntesis, en el que los grupos que no deben reaccionar estén protegidos con algún sustituyente adecuado, y que tenga los carbonos asimétricos en la configuración adecuada y que ésta no se altere en el transcurso de la reacción.

- El radionucleido (o una forma química reactiva derivada de éste) reacciona con el precursor frío, atacando el centro reactivo e incorporándose a la molécula.

- Una vez producida la reacción de incorporación del radionucleido, deben eliminarse los grupos protectores, para de esta forma obtener ya el producto deseado.

- Puesto que las reacciones químicas no transcurren con una eficiencia del 100%, siempre tendremos en la mezcla de reacción productos secundarios, por lo que el paso final de la síntesis consistirá en la purificación del compuesto y su formulación como solución inyectable.

Si bien la idea es muy sencilla, existen dificultades notables en cada uno de los pasos, empezando por la dificultad para obtener el precursor adecuado, conseguir una reacción directa con pocos productos secundarios y en la que no se den alteraciones de la configuración de los centros quirales, lograr un sistema de purificación que permita separar eficientemente el producto final de otros productos secundarios o restos de reactivos, y finalmente, que todo el proceso sea fácilmente automatizable.

### Radiofármacos marcados con flúor-18

El flúor-18 es sin duda el radionucleido que cuantitativamente más se utiliza en tomografía de emisión de positrones. No obstante, este hecho se debe casi exclusivamente a la utilización de la  $^{18}\text{F}$ FDG, el radiofármaco que ha posibilitado el salto del PET del ámbito de la investigación a la aplicación clínica diaria con gran impacto en el manejo del paciente<sup>76,77</sup>.

Por otra parte, es sorprendente que con la excep-

ción de la  $^{18}\text{F}$ FDG y en cierta medida de la  $^{18}\text{F}$ DOPA, la utilización de otros radiofármacos PET marcados con flúor-18 sea muy escasa<sup>78</sup>, a pesar de que las características nucleares y químicas de este radioisótopo son excelentes:

- Puede producirse en cantidades de hasta varios curios sin dificultad (en el caso del  $^{18}\text{F}^-$ , no así en el del  $^{18}\text{F}_2$  para cuya producción existen dificultades importantes que hacen muy difícil la producción rutinaria de actividades elevadas).

- Su energía de emisión del positrón es de tan sólo 0,64 MeV (la menor de todos los emisores de positrones con aplicación en PET), lo que conlleva diversas ventajas:

- La dosis recibida por el paciente será menor que en los casos en que la energía de emisión del positrón sea mayor; dado que la energía depositada hasta la aniquilación será menor en el caso del  $^{18}\text{F}$ , la dosis absorbida será también inferior.

- La distancia recorrida por el positrón hasta su aniquilación será asimismo reducida, lo que permitirá obtener imágenes con mayor resolución porque la incertidumbre entre el punto de desintegración del radionucleido y de aniquilación del positrón será menor.

- En la desintegración del  $^{18}\text{F}$  no se emiten rayos gamma que puedan interferir la detección de los fotones de aniquilación, ni partículas ( $\beta^-$ ,  $\alpha$ ) que puedan suponer un incremento en la dosis recibida por el paciente.

- Su período de semidesintegración (109,8 minutos) permite:

- Llevar a cabo síntesis complejas.
- Aplicar protocolos de estudio mediante PET que se prolonguen varias horas, lo que facilita la realización de estudios de farmacocinética (estudios dinámicos) y análisis de metabolitos.

- El transporte de radiofármacos marcados con flúor-18 a centros satélite u hospitales que dispongan de un tomógrafo PET o una gammacámara de coincidencia.

En cuanto a la presencia del flúor en las moléculas biológicas, hay que tener en cuenta que no es un átomo frecuente; sin embargo, muchos fármacos contienen flúor, ya que la introducción de este elemento en la estructura de una molécula pequeña lleva por lo general a una prolongación de la vida media de ésta en el organismo porque se dificulta su metabolización mediante reacciones de hidroxilación o conjugación, ya

que el enlace C-F es más fuerte que el C-H, lo que lo hace más estable *in vivo*. Por otra parte, el átomo de flúor y el de hidrógeno tienen un radio muy similar (ligeramente mayor el primero), por lo que el cambio de H por F no conlleva habitualmente modificaciones sustanciales en la estructura molecular por impedimentos estéricos. La electronegatividad del átomo de flúor es bien distinta de la del H (4,0 frente a 2,1), por lo que la presencia del F sí que va a afectar sustancialmente a muchas de las propiedades fisicoquímicas de la molécula en cuestión: efecto sobre los pKa de grupos cercanos, reactividad, posibilidad de formar puentes de hidrógeno (con todo lo que esto conlleva), etc.

La introducción de un átomo de flúor aumenta generalmente la lipofilicidad del compuesto, por lo que la repercusión en la biodistribución del radiotrazador va a ser notable, especialmente en lo que a la incorporación cerebral respecta.

#### **Punto clave 8**

*El flúor-18 es el radionucleido más utilizado en PET, pero con la excepción de la <sup>18</sup>FDG y en cierta medida de la <sup>18</sup>FDOFA, la utilización de otros radiofármacos marcados con flúor-18 es muy escasa a pesar de que las características nucleares y químicas de este radioisótopo son excelentes*

No es por lo tanto posible asumir que el comportamiento biológico de una molécula y de su análogo fluorado vaya a ser similar, ya que es previsible que se altere su biodistribución, unión a proteínas, afinidad por receptores y/o transportadores específicos, metabolización, etc. Sin embargo, en muchos casos estas modificaciones son beneficiosas desde el punto de vista de la utilización del análogo fluorado como radiofármaco PET, dado que el cambio de H por F, que es probablemente la forma más sencilla de diseñar un nuevo radiofármaco fluorado, con frecuencia lleva a la producción de un compuesto que se comporta como un antimetabolito, sufre atrapamiento metabólico y por lo tanto presenta una farmacocinética que puede asimilarse a un modelo matemático sencillo que permita la cuantificación.

El flúor-18 puede obtenerse en dos formas químicas diferentes: ion fluoruro y flúor molecular, que poseen características químicas bien distintas y que van a utilizarse para la síntesis de radiofármacos fluorados mediante estrategias de síntesis diferentes.

#### **Sustitución nucleofílica. Síntesis de <sup>18</sup>FDG**

La utilización de <sup>18</sup>F<sup>-</sup> permite llevar a cabo reacciones de sustitución nucleofílica. El ejemplo más característico es sin duda la síntesis de <sup>18</sup>FDG.

El método más usado es la sustitución nucleofílica del triflato de manosa (1, 3, 4, 6-tetra-O-acetil-2-O-trifluorometanosulfonil-β-D-manopiranososa) con <sup>18</sup>F<sup>-</sup> promovido o bien por el aminopoliéter Kryptofix 2.2.2<sup>79</sup> o bien por carbonato de tetrabutil-amonio (TBA)<sup>80,81</sup>. En ambos casos, la hidrólisis —ácida o básica— del producto fluorado, seguida de la purificación de la <sup>18</sup>FDG mediante extracción en fase sólida, produce finalmente <sup>18</sup>FDG epiméricamente pura. A continuación se describen brevemente cada uno de los pasos de la síntesis.

- Separación del <sup>18</sup>F<sup>-</sup>, recuperación del H<sub>2</sub><sup>18</sup>O y elución del <sup>18</sup>F<sup>-</sup>. El <sup>18</sup>F<sup>-</sup> se separa del H<sub>2</sub><sup>18</sup>O mediante una resina de intercambio iónico. Cuando el material del blanco (<sup>18</sup>F<sup>-</sup> en H<sub>2</sub><sup>18</sup>O) pasa a través de la resina, el fluoruro queda retenido en la misma. Una vez recuperada el H<sub>2</sub><sup>18</sup>O, se eluye la resina con una solución que libere el <sup>18</sup>F<sup>-</sup> para su utilización en la reacción de sustitución.

- Reacción con el precursor e hidrólisis. Para solventar el problema de la solubilización del fluoruro en un medio no acuoso y que a su vez mantenga al <sup>18</sup>F<sup>-</sup> en una forma altamente reactiva, se utiliza uno de los catalizadores de transferencia de fase mencionados (Kryptofix 2.2.2 o TBA). La utilización de la forma carbonatada del catalizador se debe a la escasa nucleofilia del anión, por lo que no interferirá en la reacción de sustitución nucleofílica compitiendo con el <sup>18</sup>F<sup>-</sup>. Puesto que la reacción debe desarrollarse en medio anhidro (la elevada electronegatividad del ion fluoruro hace que en un medio acuoso esté fuertemente solvatado), se utiliza como disolvente acetonitrilo seco. Para la síntesis de <sup>18</sup>FDG se utiliza un derivado en el que el ataque nucleofílico del <sup>18</sup>F<sup>-</sup> se produce sobre un grupo trifluorometanosulfonato (triflato). El ácido trifluorometanosulfónico y sus derivados se usan profusamente en síntesis química, ya que es uno de los ácidos orgánicos monopróticos más fuertes que se conocen, y en consecuencia el anión trifluorometanosulfonato es un excelente grupo saliente. En el proceso de síntesis de <sup>18</sup>FDG mediante sustitución nucleofílica, la utilización del triflato de manosa como precursor permite una síntesis muy rápida, en condiciones suaves y con escasas o nulas reacciones colaterales. La incorporación del <sup>18</sup>F<sup>-</sup> tiene lugar únicamente en el carbono 2 del precursor, porque los otros carbonos están protegidos por grupos acetilo. Dichos grupos deben eliminarse para obtener el producto final marcado, lo que se lleva a cabo me-

diente hidrólisis ácida con HCl o bien mediante hidrólisis básica con NaOH.

- Purificación y formulación. Los productos colaterales de la reacción (tales como los grupos acetato, el  $^{18}\text{F}^-$  no reaccionado, subproductos parcialmente acetilados...) deben eliminarse, lo que se lleva a cabo mediante varios cartuchos de extracción en fase sólida. El producto final ( $^{18}\text{F}$ FDG) se hace isotónico con NaCl concentrado y se esteriliza a través de un filtro de  $0,22\ \mu\text{m}$  antes de su administración.

#### **Punto clave 9**

*Pasos de la síntesis de  $^{18}\text{F}$ FDG:*

- Separación del  $^{18}\text{F}$  y recuperación del  $\text{H}_2^{18}\text{O}$ .
- Reacción con el precursor (triflato de manosa).
- Hidrólisis de los grupos protectores.
- Purificación (SPE) y formulación.

#### **Sustitución electrofílica con $^{18}\text{F}$ F<sub>2</sub>. Síntesis de $^{18}\text{F}$ DOPA**

Para la síntesis de radiofármacos fluorados mediante sustitución electrofílica se utiliza  $^{18}\text{F}$  en forma de  $^{18}\text{F}_2$  (gas), cuya producción en elevadas cantidades es muy complicada como se ha comentado anteriormente. Además, la utilización  $^{18}\text{F}_2$  plantea problemas adicionales, relacionados con la reactividad y toxicidad de esta forma química, por lo que la síntesis de radiofármacos PET mediante sustitución electrofílica con  $^{18}\text{F}_2$  se lleva a cabo en pocos centros PET, a pesar de las enormes posibilidades que esta vía de síntesis nos abre.

En cuanto a la síntesis de  $^{18}\text{F}$ DOPA, solo recientemente se ha sintetizado un precursor que mediante una reacción de fluorodesmetalación permita obtener el radiofármaco enantioméricamente puro en un sistema automatizado<sup>82</sup>, ya que los procedimientos de síntesis anteriores producían una mezcla de isómeros fluorados que complicaba la obtención del producto deseado puesto que se hacían imprescindibles complejos sistemas de purificación mediante HPLC quirral. A continuación se describen brevemente los pasos de la síntesis de  $^{18}\text{F}$ DOPA.

- Producción de  $^{18}\text{F}$ F<sub>2</sub> y captura en el módulo de síntesis. La obtención de  $^{18}\text{F}$ F<sub>2</sub> se lleva a cabo mediante el bombardeo con deuterones de una mezcla de  $^{19}\text{F}_2$  al 0,5% en Neón. La reacción nuclear  $^{20}\text{Ne}(d,\alpha)^{18}\text{F}$  tiene una sección eficaz muy reducida, por lo que a las energías disponibles en un ciclotrón de uso clínico la actividad de saturación del blanco, y por lo tanto la cantidad de  $^{18}\text{F}$ F<sub>2</sub> producido, será

pequeña. El  $^{18}\text{F}$ F<sub>2</sub> se atrapa en triclorofluorometano (enfriado a  $-20\ ^\circ\text{C}$  con nitrógeno líquido) en el que se ha disuelto previamente el precursor (4,5-di[(1,1-dimetiletoxicarbonil)oxi]-N-formil-2-trimetilestanil-L-fenil-alanina etil éster).

- Reacción con el precursor e hidrólisis de los grupos protectores. La reacción de sustitución electrofílica se produce al aumentar la temperatura. El átomo de  $^{18}\text{F}$  sustituye en el anillo aromático a un grupo  $-\text{Sn}(\text{CH}_3)_3$ , tras lo cual se produce la hidrólisis con ácido bromhídrico de los grupos protectores de otros carbonos no implicados en la reacción. La solución resultante se neutraliza con  $\text{NH}_3$  y se ajusta el pH a un valor próximo a 4 con un tampón fosfato adecuado.

- Purificación y formulación. La solución tampónada obtenida se purifica mediante radio-HPLC preparativa, consiguiéndose la separación de la  $^{18}\text{F}$ -DOPA de otros productos secundarios (básicamente dopa) y se esteriliza por filtración a través de un filtro de  $0,22\ \mu\text{m}$ .

#### **Punto clave 10**

*Pasos de la síntesis de  $^{18}\text{F}$ DOPA:*

- Captura del  $^{18}\text{F}_2$  en freón.
- Reacción con el precursor.
- Hidrólisis de los grupos protectores.
- Purificación (HPLC) y formulación.

### **Radiofármacos marcados con carbono-11**

El carbono-11 es un radionucleido emisor de positrones caracterizado por un período de semidesintegración de tan sólo 20,4 minutos. La posibilidad de sustituir el carbono presente en la práctica totalidad de las moléculas biológicas por un isótopo emisor de positrones, permite obtener compuestos marcados con unas propiedades (químicas, farmacológicas...) exactamente iguales a la molécula sin marcar. El reducido período de semidesintegración del  $^{11}\text{C}$  hace que la aplicación de este isótopo en estudios *in vivo* en humanos no suponga una dosis de radiación de importancia para el sujeto, y que además se puedan llevar a cabo estudios repetitivos en un mismo individuo en un corto intervalo de tiempo. Los compuestos marcados con  $^{11}\text{C}$  deben sintetizarse justo antes de su utilización, lo que requiere en primer lugar la producción del radionucleido en un ciclotrón situado en el propio centro donde se lleve a cabo el estudio.

El  $^{11}\text{C}$  decae mediante la emisión de un positrón con una energía máxima de 960 KeV, un valor que

hace que la distancia recorrida por el positrón hasta su aniquilación con un electrón sea pequeña.

### **Precursores primarios**

La reacción más habitual de obtención del  $^{11}\text{C}$  es  $^{14}\text{N}(\text{p},\alpha)^{11}\text{C}$  sobre un blanco de nitrógeno natural con una pequeña cantidad de  $\text{O}_2$ . El carbono-11 se obtiene en forma de  $^{11}\text{CO}_2$ , una forma química muy poco reactiva, por lo que es necesario transformar esta molécula en un precursor primario adecuado que sea reactivo y que permita la incorporación del carbono inorgánico a una molécula orgánica.

El yoduro de metilo ( $^{11}\text{CH}_3\text{I}$ ) es hasta la fecha el precursor primario más ampliamente utilizado para el marcaje con carbono-11, debido a su versatilidad en las reacciones de metilación, preferentemente para formar enlaces  $\text{N}-^{11}\text{CH}_3$ ,  $\text{S}-^{11}\text{CH}_3$ , y  $\text{O}-^{11}\text{CH}_3$ . El desarrollo de nuevos precursores más reactivos (como p. ej. el triflato de metilo) está desplazando en los últimos años al yoduro de metilo como precursor. A pesar de todo, la investigación de nuevas técnicas de marcaje en las que se desarrollen las propiedades electrofílicas del yoduro de metilo frente a los carbaniones podría en un futuro cercano ampliar el abanico de reacciones en las que esta molécula se puede utilizar como precursor.

La forma más habitual de preparar el  $^{11}\text{CH}_3\text{I}$  es mediante la reacción del  $^{11}\text{C}$ -metanol con ácido yodhídrico concentrado, aunque existen métodos de producción del  $^{11}\text{CH}_3\text{I}$  en fase gaseosa con los que se obtienen rendimientos superiores, pero que requieren un equipamiento adicional complejo.

### **Síntesis de L-[metil- $^{11}\text{C}$ ]metionina**

Como ejemplo de la síntesis de un radiofármaco PET marcado con carbono-11, vamos a describir brevemente la de la L-[metil- $^{11}\text{C}$ ]metionina, quizá el radiofármaco PET marcado con  $^{11}\text{C}$  más utilizado.

El  $^{11}\text{C}$ , obtenido en forma de  $^{11}\text{CO}_2$  en el blanco mediante la reacción  $^{14}\text{N}(\text{p},\alpha)^{11}\text{C}$ , se hace pasar por una trampa de frío mantenida a  $-150\text{ }^\circ\text{C}$  con nitrógeno líquido, con lo que se puede condensar una gran cantidad de  $^{11}\text{CO}_2$  en un volumen muy pequeño. Una vez conseguida la cantidad adecuada de  $^{11}\text{CO}_2$  en la trampa de frío, se incrementa la temperatura y se transfiere el  $^{11}\text{CO}_2$  liberado hasta el primer re-

activo de reacción, donde se produce la reducción con tetrahidruro de litio y aluminio en tetrahidrofuran. La adición de ácido yodhídrico produce [ $^{11}\text{C}$ ]yoduro de metilo, que se destila a un segundo reactor donde se produce la reacción de metilación del precursor, en este caso la lactona de L-homoserina —que ya tiene el centro quiral en la configuración adecuada para producir únicamente el isómero L de la metionina—, en un medio hidroalcohólico fuertemente básico.

Tras la reacción de metilación, se neutraliza la solución con un tampón fosfato y se inyecta la solución resultante en un sistema de HPLC preparativa provisto de detectores de UV y de radiactividad, se recoge la fracción que contiene el compuesto deseado y se procede a la formulación del radiotrazador como una solución isotónica estéril.

#### **Punto clave 11**

*Pasos de la síntesis de L-[metil- $^{11}\text{C}$ ]metionina:*

- Captura del  $^{11}\text{CO}_2$ .
- Producción del precursor primario ( $^{11}\text{CH}_3\text{I}$ ).
- Reacción con el precursor (tiolactona de L-homoserina).
- Purificación (HPLC) y formulación.

### **Radiofármacos marcados con oxígeno-15**

El  $^{15}\text{O}$  es un radionucleido emisor de positrones caracterizado por un período de semidesintegración de tan sólo 2,05 minutos, por lo que su aplicación fundamental se basa en la posibilidad de llevar a cabo múltiples estudios repetidos en un mismo sujeto dejando transcurrir entre cada estudio tiempos tan cortos como 16-20 minutos.

La energía de emisión del positrón es en el caso del  $^{15}\text{O}$  de 1.720 KeV (casi tres veces superior a la del  $^{18}\text{F}$ ), lo que implica que las imágenes obtenidas en estudios con radiofármacos PET marcados con  $^{15}\text{O}$  van a tener necesariamente una resolución peor que las obtenidas con radiofármacos fluorados.

Debido al reducido período de semidesintegración de este radionucleido, la síntesis de radiofármacos complejos es imposible. De hecho los únicos radiofármacos PET marcados con  $^{15}\text{O}$  que se utilizan son compuestos sencillos, tales como monóxido de carbono<sup>83</sup>, dióxido de carbono<sup>84</sup>, butanol<sup>85</sup> o agua<sup>86</sup>, con aplicación en estudios del metabolismo del oxígeno y del flujo sanguíneo.

### Gases marcados con oxígeno-15: $C^{15}O$ , $C^{15}O_2$ , y $^{15}O_2$

La producción de gases marcados con oxígeno-15 para su utilización como radiofármacos PET puede llevarse a cabo directamente en el blanco (lo que en ocasiones puede presentar diversos problemas químicos) o más frecuentemente, mediante la producción de  $^{15}O_2$  y su posterior conversión a los gases carbonados referidos mediante reacciones en línea con distintos catalizadores. El producto de la reacción se dirige directamente al paciente para su administración en forma gaseosa. En estos casos es extremadamente importante el control del proceso de producción, puesto que se están manejando gases potencialmente tóxicos para el paciente. Asimismo, es complicado controlar con precisión la dosis del compuesto radiactivo administrada al paciente (incluso incluyendo un activímetro en la línea de administración), lo que junto con otra serie de dificultades técnicas —como p. ej. la emisión de gases radiactivos— hace que los gases marcados con oxígeno-15 se utilicen en pocos centros.

### $^{15}O$ -agua

La producción de  $^{15}O$ -agua es muy sencilla, puesto que se reduce a la obtención de vapor de agua mediante la reacción del oxígeno radiactivo —que viene del blanco en forma de  $^{15}O_2$ — con hidrógeno gaseoso en un horno a 150 °C. La reacción se favorece mediante un catalizador metálico tal como el paladio. El vapor de  $^{15}O$ -agua se condensa haciéndolo burbujear en un vial con suero salino fisiológico a temperatura ambiente.

Como característica diferencial de este sistema de obtención de agua marcada debe destacarse que en este caso el blanco no es una cavidad cerrada, sino que en él existe un flujo de gas que se va dirigiendo continuamente al laboratorio a medida que es bombardeado. Pueden de este modo obtenerse varios lotes del producto en muy poco tiempo, lo que es fundamental para la realización de estudios de activación cerebral utilizando este radiofármaco.

#### Punto clave 12

*Síntesis de  $^{15}O$ -agua.*

*Producción de  $^{15}O_2$  en continuo.*

*Reacción con  $H_2$  a 150 °C catalizada por paladio.*

*Condensación del vapor de  $^{15}O$ -agua en suero salino.*

### Radiofármacos marcados con nitrógeno-13

Los radiofármacos PET marcados con nitrógeno-13 se limitan casi exclusivamente al amoníaco ( $^{13}NH_3$ ). La posibilidad de incorporar  $^{13}N$  a moléculas orgánicas, tales como aminoácidos, que pudieran ser utilizadas en el diagnóstico de diversas patologías (como los análogos marcados con  $^{11}C$ ) tras su administración en humanos, es prácticamente inviable por varios factores: en primer lugar, el período de semidesintegración del  $^{13}N$  es de tan sólo 9,97 minutos, lo que impide llevar a cabo síntesis largas; en segundo lugar la incorporación de un átomo de nitrógeno a una molécula orgánica no es demasiado sencilla si se quiere obtener un producto puro; finalmente, debe considerarse que aunque en ocasiones se han llevado a cabo síntesis enzimáticas de algunos aminoácidos —utilizando enzimas adsorbidas en una columna— es casi imposible obtener en un tiempo razonable el compuesto marcado libre completamente de restos de proteína proveniente de la columna, por lo que su administración en humanos ha sido muy cuestionada.

### Síntesis de $^{13}N$ -amoníaco

Para la producción de este radiotrazador existen dos métodos diferentes mediante el bombardeo de  $H_2^{16}O$  con protones: la reducción de los óxidos de nitrógeno obtenidos y la producción en el blanco. Existen además sistemas de obtención de  $^{13}N$  mediante bombardeo de carbono-13 con protones de baja energía.

En el primer método (el más ampliamente utilizado), el  $^{13}NH_4^+$  puede obtenerse o bien directamente en el blanco<sup>87</sup>, o bien mediante reducción de los óxidos de nitrógeno formados tras el bombardeo. Si se añade una pequeña cantidad de etanol al agua que va a ser bombardeada, el alcohol actúa como *scavenger* de los radicales libres producidos y posibilita la obtención directa de  $^{13}NH_4^+$  en el blanco, ya que se produce la reducción *in situ* de los óxidos de nitrógeno generados. No obstante, es recomendable retener el catión radiactivo en una resina de intercambio catiónico, que es posteriormente eluída con una solución isotónica para la obtención de la solución inyectable de  $^{13}N$ -amoníaco. Sin embargo, si no se coloca en el blanco el mencionado *scavenger*, tras el bombardeo se transfiere el material irradiado a un reactor que contiene un agente reductor en medio alcalino, de tal

modo que los nitratos y nitritos producidos pueden reducirse para obtener  $^{13}\text{NH}_4^+$ . Los medios reductores más empleados son el cloruro de titanio (III), el hidróxido de titanio (III) o la aleación de DeVarda en solución acuosa de hidróxido sódico. El  $^{13}\text{NH}_3$  así obtenido se destila y es atrapado en una solución ligeramente ácida en forma de  $^{13}\text{NH}_4^+$ .

## GARANTÍA Y CONTROL DE CALIDAD

El reducido período de semidesintegración de los radiofármacos PET les dota de unas características excepcionales, fundamentalmente en lo que se refiere a la necesidad de síntesis rápidas y eficientes, que tienen lugar justo antes de la administración (excepto en algunos casos para los productos marcados con  $^{18}\text{F}$ ), y en los que cada lote se usa para una sola administración (con excepción una vez más de algunos radiofármacos marcados con  $^{18}\text{F}$ ). En muchos casos, la realización de un control de calidad exhaustivo en cada lote no es posible, o muchos de los controles sólo podrán estar terminados una vez que el radiofármaco haya sido administrado al paciente. Estos factores hacen que la validación del proceso de síntesis de los radiofármacos PET sea crucial para la obtención de compuestos con la calidad y pureza requeridas, por lo que debe desarrollarse un sistema de gestión de calidad que incluya no sólo los controles de calidad analíticos en el producto terminado, sino también un programa de garantía de calidad que permita controlar todo el proceso de preparación del radiofármaco, especialmente en lo que se refiere al sistema automatizado empleado para la síntesis.

La garantía de calidad es un concepto muy amplio que se refiere a todos los temas que afectan, individual o colectivamente, a la calidad de un producto, y que consiste en la suma total de las actividades organizadas con el objetivo de garantizar que los medicamentos posean la calidad requerida para el uso previsto<sup>88</sup>. La garantía de calidad incluye cinco aspectos esenciales<sup>89</sup>:

- Las normas de correcta fabricación.
- Las buenas prácticas de laboratorio.
- El sistema de control de calidad.
- El sistema de documentación.
- La autoinspección.

Las normas de correcta fabricación son la parte de la garantía de calidad que garantiza que los productos se producen de forma homogénea y se controlan para conseguir los niveles de calidad adecuados. Estas normas se refieren tanto a la producción como al

control de calidad.

### **Punto clave 13**

*La garantía de calidad es un concepto muy amplio que se refiere a todos los temas que afectan, individual o colectivamente, a la calidad de un producto, y que consiste en la suma total de las actividades organizadas con el objetivo de garantizar que los medicamentos posean la calidad requerida para el uso previsto.*

## Normas generales

Para la preparación y manipulación de radiofármacos deberá implantarse en las Unidades de Radiofarmacia un sistema de garantía de calidad que asegure que los radiofármacos PET poseen la calidad requerida para el uso previsto, y por tanto que se elaboran y controlan según las normas de correcta elaboración y control de calidad de medicamentos radiofármacos en las que se describen las condiciones que deben reunir las materias primas, los locales, el utillaje, la documentación, el personal, la elaboración, la dispensación, y en suma todos los procesos o factores que afecten al resultado final, tanto desde el punto de vista material como humano.

El sistema de garantía de calidad debe asegurar que los radiofármacos se diseñan y desarrollan teniendo en cuenta las normas de protección radiológica, las normas de correcta fabricación y las buenas prácticas de laboratorio; que la producción, el control y las responsabilidades del personal están especificadas claramente; que se realizan todos los controles necesarios durante los procesos y la validación del método, tanto en cuanto a la calidad de los materiales como a la idoneidad y estado del equipamiento; que se certifica la calidad de cada lote; que todo el proceso se documenta adecuadamente y que existe un procedimiento interno de auditoría de la calidad para la evaluación de la efectividad y aplicabilidad del sistema de garantía de calidad.

## Controles de calidad

El control de calidad puede definirse como la parte de las normas de correcta fabricación relacionada con el muestreo, especificaciones, ensayos, y con la organización de la documentación que asegura que la calidad del producto ha sido juzgada como satisfactoria.

Los controles de calidad a efectuar a los radiofármacos PET en cada lote podrán en ocasiones finalizar después de la administración al paciente. En el caso de los radiofármacos PET existe disparidad de criterios sobre qué debe considerarse un lote: para los radiofármacos marcados con un radionucleido con un período de semidesintegración menor de 20 minutos, puede considerarse un lote a todas las preparaciones de ese radiofármaco llevadas a cabo en un mismo día, mientras que para los radiofármacos marcados con radionucleidos con período de semidesintegración superior a 20 minutos, cada síntesis corresponde a un lote distinto<sup>90</sup>.

Para aquellos radiofármacos PET que cuentan con monografía en la Real Farmacopea Española, se deberá cumplir lo especificado en la misma; en su defecto se deberá emplear la Farmacopea Europea, cualquiera de las farmacopeas de los estados miembros de la Unión Europea, la Farmacopea Americana, u otros textos científicos de reconocido prestigio.

Como norma general, los controles de calidad que deberán llevarse a cabo en cada lote para los radiofármacos PET son:

- pH.
- Inspección visual (presencia de partículas, color...).
- Pureza radioquímica: para calcularla es necesario separar las diferentes especies químicas que contienen el radionucleido de interés para poder estimar el porcentaje de radiactividad asociado a la forma química del radiofármaco. Los métodos más empleados son la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) y la cromatografía en capa fina (TLC), aunque debido a la mayor sensibilidad de la primera para la detección y cuantificación de cantidades muy pequeñas, es la más utilizada en radiofarmacia PET.
- Pureza química: permite identificar y cuantificar las sustancias no radiactivas presentes en la muestra (restos de los materiales de partida y reactivos empleados...); se emplean habitualmente sistemas cromatográficos (HPLC y TLC).
- Pureza radionucleídica: el método más ampliamente utilizado es la espectrometría gamma, aunque no es un método completamente fiable por varios motivos. En primer lugar, es difícil detectar impurezas emisoras de partículas alfa o beta; en segundo lugar, cuando se emplean detectores de yoduro sódico no es posible identificar con claridad los picos correspondientes a impurezas emisoras gamma sobre el espectro del radionucleido principal; y finalmente, los

espectros gamma de muchos emisores de positrones son indistinguibles con el equipamiento utilizado habitualmente, ya que únicamente se identifica un pico principal a 511 KeV (y en ocasiones un pico secundario a 1.022 KeV en función de la geometría del detector). Por ello es importante en los radiofármacos emisores de positrones determinar además el período de semidesintegración de la muestra, lo que nos permite tener una aproximación bastante certera de la identidad radionucleídica.

- Actividad específica:
- Presencia de disolventes residuales: en el caso de que pudieran aparecer, deberá determinarse su cantidad, generalmente mediante cromatografía de gases, y comprobar que no se superan los límites establecidos en la legislación vigente<sup>91</sup>.
- Test de endotoxinas (valor límite).
- Esterilidad.

La frecuencia de los ensayos límite de endotoxinas y de esterilidad podrá modificarse y adaptarla a una periodicidad distinta a la de cada lote, en el caso de que después de una documentación exhaustiva se obtengan siempre resultados negativos<sup>90</sup>.

### Certificación prospectiva de la calidad

El sistema global de garantía de calidad en la producción de radiofármacos PET tiene como objetivo principal la certificación prospectiva de la calidad y pureza de cada lote. Sólo es posible garantizar la calidad de un medicamento mediante un sistema de garantía de calidad diseñado adecuadamente, correctamente implantado, que comprenda un sistema de documentación completo y bien organizado, en el que las operaciones son llevadas a cabo por personal cualificado que disponga de los medios e instalaciones adecuados, y todo ello monitorizado con los necesarios controles antes, durante y después de la producción.

Las singulares características de los radiofármacos PET y la necesidad de tomar la decisión de liberar un lote antes de haber finalizado muchos de los controles de calidad necesarios, hacen de la consecución del objetivo global de calidad en la preparación de radiofármacos PET una necesidad ineludible para asegurar que son adecuados para el uso previsto, seguros y efectivos y que por lo tanto permiten la obtención de datos diagnósticos de la máxima fiabilidad.

**Punto clave 14**

*El sistema global de garantía de calidad en la producción de radiofármacos PET tiene como objetivo principal la certificación prospectiva de la calidad y pureza de cada lote.*

**LA PET EN LA INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO DE NUEVOS FÁRMACOS**

Existen campos de la investigación biomédica en el desarrollo de nuevos fármacos en los que la valoración de los resultados es muy compleja y costosa; podrían citarse como ejemplo paradigmático las enfermedades cerebrales crónicas, en las que es necesario el estudio de un gran número de pacientes y períodos de observación muy prolongados, con la inversión que ello conlleva, para poder obtener conclusiones científicamente validables. En estos casos, para las empresas farmacéuticas la decisión de comenzar ensayos clínicos a gran escala debe fundamentarse en evidencias suficientes para casi asegurar el éxito de la inversión, por lo que son necesarios muchos estudios previos *in vitro* y en animales de experimentación que no solo prolongan la investigación durante mucho tiempo, sino que además tienen un costo muy notable. La tomografía de emisión de positrones constituye en este sentido una técnica con un incalculable valor añadido<sup>92,93</sup> ya que es el único método que permite obtener datos cuantificables objetivamente sobre variables fisiológicas o patológicas relacionadas con la gravedad, evolución y pronóstico de dichos trastornos.

Esta tecnología abre por lo tanto una nueva era en la investigación farmacéutica y biológica en múltiples campos<sup>94,95</sup>; sin embargo, para que la aplicación de la imagen metabólica en la investigación y desarrollo de nuevos fármacos tenga utilidad, debe aplicarse un método en el que estén perfectamente definidos diversos parámetros que van a afectar al resultado final.

Por otra parte, debe destacarse el desarrollo de los tomógrafos construidos para su utilización con animales pequeños (microPET), que permiten la aplicación de la tecnología PET con una resolución de pocos milímetros<sup>96,97</sup>. Estos nuevos tomógrafos han sido diseñados para la investigación en animales de experimentación como ratas y ratones, lo que junto con la posibilidad de utilizar ratones quiméricos genéticamente modificados, abre una nueva vía a la investigación en el campo de las ciencias biomédicas que sin

duda va a tener en los próximos años gran impacto en la estrategia de I + D de las empresas farmacéuticas<sup>98</sup>.

Dada la tasa actual de evolución de la biología molecular de los receptores del SNC, la diferencia entre el número de radiotrazadores disponibles y las drogas potenciales va creciendo rápidamente<sup>99</sup>. Debemos por tanto insistir en que la utilidad de la tecnología PET en la búsqueda de nuevos agentes terapéuticos descansa sin duda en la obtención de compuestos marcados, por lo que la potenciación de la radioquímica y la radiofarmacia van a ser puntos clave en el desarrollo de este apasionante campo.

**BIBLIOGRAFÍA**

1. Clinical PET: its time has come? Editorial. *J Nucl Med* 1993; 34:1132-3.
2. Practical procedures and pharmacological applications of quantitative PET. Editorial. *J Nucl Med* 1993;34:1006-8.
3. Fowler JS, Wolf AP. Positron emitter-labeled compounds: priorities and problems, en *Positron Emission Tomography and autoradiography: principles and applications for the brain and heart*. Phelps M, Mazziota J and Schelbert H ed. New York: Raven Press; 1986.
4. Martí-Climent J, Penuelas I, Calvo R, Giménez M, Gámez C, Richter JA. Utilización de un ciclotrón para la producción de radionucleidos emisores de positrones. *Rev Esp Med Nucl* 1999;18(4):261-7.
5. Knapp FF, Mirzadeh S. The continuing important role of radionuclide generator systems for nuclear medicine. *Eur J Nucl Med* 1994;21:1151-65.
6. Green MA. The potential for generator-based PET perfusion tracers. *J Nucl Med* 1990;31:1641-5.
7. Phelps ME. Inaugural article: positron emission tomography provides molecular imaging of biological processes. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000;97(16):9226-33.
8. Phelps ME. PET: the merging of biology and imaging into molecular imaging. *J Nucl Med* 2000;41(4):661-81.
9. Gambhir SS, Czernin J, Schwimmer J, Silverman DHS, Coleman E, Phelps ME. A tabulated Summary of the FDG PET literature. *J Nucl Med* 2001;42:1S-93S.
10. Ishiwata K, Kubota K, Murakami M, Kubota R, Sasaki T, Ishii S, et al. Re-evaluation of amino acid PET studies: can the protein synthesis rates in brain and tumor tissues be measured *in vivo*? *J Nucl Med* 1993;34(11):1936-43.
11. Shields AF, Grierson JR, Dohmen BM, Machulla HJ, Stayanoff JC, et al. Imaging proliferation *in vivo* with [F-18]FLT and positron emission tomography. *Nat. Med* 1998;4(11):1334-6.
12. Shields AF, Grierson JR, Kozawa SM, Zheng M. Development of labeled thymidine analogs for imaging tumor proliferation. *Nucl Med Biol* 1996;23(1):17-22.
13. Fowler JS, MacGregor RR, Wolf AP. Mapping human brain monoamine oxidase A and B with 11C-labeled suicide inactivators and PET. *Science* 1987;235:481-5.
14. Ukkonen H, Knuuti J, Katoh C, Iida H, Sipila H, Lehtikoinen P, et al. Use of [11C]acetate and [15O]O2 PET for the assessment of myocardial oxygen utilization in patients with chronic myocardial infarction. *Eur J Nucl Med* 2001;28(3):

- 334-9.
15. Taylor M, Wallhaus TR, Degrado TR, Russell DC, Stanko P, et al. An evaluation of myocardial fatty acid and glucose uptake using PET with [18F]fluoro-6-thia-heptadecanoic acid and. *J Nucl Med* 2001;42(1):55-62.
  16. Jarden JO. Pathophysiological aspects of malignant brain tumors studied with positron emission tomography. *Acta Neurol Scand Supl*; 1994. p. 1561-35.
  17. Muzik O, Beanlands R, Hutchins GD, et al. Validation of Nitrogen-13-ammonia tracer kinetic model for quantification of myocardial blood flow using PET. *J Nucl Med* 1993;34: 83-91.
  18. Gambhir SS, Barrio JR, Herschman HR, Phelps ME. Assays for noninvasive imaging of reporter gene expression. *Nucl Med Biol* 1999;26(5):481-90.
  19. Ghambir SS, Barrio JR, Wu L, Iyer M, Navamuri M, et al. Imaging of adenoviral-directed herpes simplex virus tipe 1 thymidine kinase reporter gene in mice with radiolabeled ganciclovir. *J Nucl Med* 1998;39:2003-11.
  20. Volkow WD, Wang GJ, Fowler JS, Logan J. Dopamine transporter occupancies in the human brain induced by therapeutic doses of oral methylphenidate. *Am J Psychiatry* 1998;155:1325-31.
  21. Syrota A, Comar D, Paillotin G, et al. Muscarinic cholinergic receptors in the human heart evidenced under physiological conditions by positron emission tomography. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985;82:584-8.
  22. Carson RE, Kiesewetter DO, Jagoda E, Der MG, Herscovitch P, Eckelman WC. Muscharinic cholinergic receptor measurements with [18F]FP-TZTP: control and competition studies. *J Cereb Blood Flow Metab* 1998;18:1130-42.
  23. Iyo M, Namba H, Fukushi K, Shinoto H, et al. Measurements of acetylcholinesterase by positron emission tomography in the brains of healthy controls and patients with Alzheimer's disease. *Lancet* 1997;349:1805-9.
  24. Offord SJ, Wong DF, Nyberg S. The role of positron emission tomography in the drug development of M100907, a putative antipsychotic with a novel mechanism of action. *J Clin Pharmacol* 1999;39:17S-24S.
  25. Nyberg S, Farde L, Eriksson L, Halldin C, Eriksson B. 5HT2 and D2 dopamine receptor occupancy in the living human brain. a PET study with risperidone. *Psychopharmacology* 1993; 110:265-72.
  26. Fowler JS, Volkow ND, Logan J. Monoamine oxidase B (MAO B) inhibitor therapy in Parkinson's disease: the degree and reversibility of human brain MAO B inhibition by RO 19 6327. *Neurology* 1993;43:1984-92.
  27. Haberkorn U, Ziegler SI, Oberdorfer F, Trojan H, Haag D, Peschke P, et al. FDG uptake, tumor proliferation and expression of glycolysis associated genes in animal tumor models. *Nucl Med Biol* 1994;21(6):827-34.
  28. Zierler K. Whole body glucose metabolism. *Am J Physiol* 1999;276:E409-26.
  29. Aloj L, Caraco C, Jagoda E, Eckelman WC, Neumann RD. Glut-1 and hexokinase expression: relationship with 2-fluoro-2-deoxy-D-glucose uptake in A431 and T47D cells in culture *Cancer Res* 1999;59(18):4709-14.
  30. Smith TA. FDG uptake, tumour characteristics and response to therapy: a review. *Nucl Med Commun* 1998;19(2):97-105.
  31. Bergmann SR, Weinheimer CJ, Markham J, Herrero P. Quantitation of myocardial fatty acid metabolism using PET. *J Nucl Med* 1996;37(10):1723-30.
  32. Buxton DB, Nienaber CA, Luxen A, et al. Noninvasive quantitation of regional myocardial oxygen consumption in vivo with <sup>11</sup>C-acetate and dynamic positron emission tomography. *Circulation* 1989;79:134-142.
  33. Chan SY, Brunken RC, Phelps ME, et al. Use of metabolic tracer <sup>11</sup>C-acetate for evaluation of regional myocardial perfusion. *J Nucl Med* 1991;32:665-672.
  34. DeGrado TR, Coenen HH, Stocklin G. 14(R,S)-[18F]fluoro-6-thia-heptadecanoic acid (FTHA): evaluation in mouse of a new probe of myocardial utilization of long chain fatty acids. *J Nucl Med* 1991;32(10):1888-96.
  35. Goethals P, Lameire N, van-Eijkeren M, Kesteloot D, Thierens H, Dams R. [Methyl-carbon-11] thymidine for *in vivo* measurement of cell proliferation. *J Nucl Med* 1996;37(6):1048-52.
  36. Shields AF, Mankoff D, Graham MM, Zheng M, Kozawa SM, Link JM, et al. Analysis of 2-carbon-11-thymidine blood metabolites in PET imaging. *J Nucl Med* 1996;37(2):290-6.
  37. Mankoff DA, Shields AF, Link JM, Graham MM, Muzi M, Peterson LM, Eary JF, Krohn KA. Kinetic analysis of 2-[11C]thymidine PET imaging studies: validation studies. *J Nucl Med* 1999;40(4):614-24.
  38. Mankoff DA, Shields AF, Graham MM, Link J-M, Eary JF, Krohn KA. Kinetic analysis of 2-[carbon-11]thymidine PET imaging studies: compartmental model and mathematical analysis *J Nucl Med* 1998;39(6):1043-55.
  39. Shields AF, Mankoff DA, Link JM, Graham MM, Eary JF, Kozawa SM, et al. Carbon-11-thymidine and FDG to measure therapy response. *J Nucl Med* 1998;39(10):1757-62.
  40. Jager PL, Vaalburg W, Pruim J, de-Vries EG, Langen KJ, Piers DA. Radiolabeled amino acids: basic aspects and clinical applications in oncology. *J Nucl Med* 2001;42(3):432-45.
  41. Vaalburg W, Coenen HH, Crouzel C, Elsinga PH, Langstrom B, Lemaire C, et al. Amino acids for the measurement of protein synthesis *in vivo* by PET. *Int J Rad Appl Instrum B*. 1992;19(2):227-37.
  42. Ishiwata K, Kubota K, Murakami M, Kubota R, Senda MAD. A comparative study on protein incorporation of L-[methyl-3H]methionine, L-[1-14C]leucine and L-2-[18F]fluorotyrosine in tumor bearing mice. *Nucl Med Biol* 1993;20(8): 895-9.
  43. Ishiwata K, Vaalburg W, Elsoinga Ph H, Paans AMJ, Woldring MG. Comparison of L-[1-11C]methionine and L-methyl-[11C]methionine for measuring *in vivo* protein synthesis rates with PET. *J Nucl Med* 1988;29:1419-27.
  44. Wienhard K, Herholz K, Coenen HH, Rudolf J, Kling P, Stocklin G, et al. Increased amino acid transport into brain tumors measured by PET of L-(2-18F)fluorotyrosine. *J Nucl Med* 1991;32(7):1338-46.
  45. Inoue T, Tomiyoshi K, Higuichi T, Ahmed K, Sarwar M, Aoyagi K, et al. Biodistribution studies on L-3-[fluorine-18]fluoro-alpha-methyl tyrosine: a potential tumor-detecting agent. *J Nucl Med* 1998;39(4):663-7.
  46. Wester HJ, Herz M, Weber W, Heiss P, Senekowitsch-Schmidtker R, Schwaiger M, et al. Synthesis and radiopharmacology of O-(2-[18F]fluoroethyl)-L-tyrosine for tumor imaging. *J Nucl Med* 1999;40(1):205-12.
  47. Heiss WD, Wienhard K, Wagner R, Lanfermann H, Thiel A, Herholz K, et al. F-Dopa as an amino acid tracer to detect brain tumors. *J Nucl Med* 1996;37(7):1180-2.
  48. Ito H, Nyberg S, Halldin C, Lundkvist C, Farde L. PET imaging of central 5-HT2A receptors with carbon-11-MDL 100,907. *J Nucl Med* 1998;39(1):208-14.
  49. Nyberg S, Eriksson B, Oxenstierna G, Halldin C, Farde L. Suggested minimal effective dose of risperidone based on PET-measured D2 and 5-HT2A receptor occupancy in schizophrenic patients. *Am J Psychiatry* 1999;156(6):869-75.
  50. Breier A, Su TP, Saunders R, Carson RE, Kolchana BS, et al. Schizophrenia is associated with elevated amphetamine-induced synaptic dopamine concentrations: evidence from a novel

- positron emission tomography method. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94:2569-70.
51. Carson RE, Kiesewetter DO, Jagoda E, Der MG, Herscovitch P, Eckelman WC. Muscarinic cholinergic receptor measurements with [18F]FP-TZTP: control and competition studies. *J Cereb Blood Flow Metab* 1998;18:1130-42
  52. Fowler JS, Way GJ, Volkow ND. Inhibition of monoamine oxidase B in the brain of smokers. *Nature* 1996;379:733-6.
  53. Mukherjee J, Yan ZY, Lew R. N-(6-18F-fluorohexyl)-N-methyl propargylamine: a fluorine-18-labeled monoamine oxidase B inhibitor for potential use in PET studies. *Nucl Med Biol* 1999; 26:111-6.
  54. Iyo M, Namba H, Fukushi K, Shinoto H, et al. Measurements of acetylcholinesterase by positron emission tomography in the brains of healthy controls and patients with Alzheimer's disease. *Lancet* 1997;349:1805-9.
  55. Gjedde A, Reith J, Dyve S, Legar G, et al. Dopa decarboxylase activity of the living human brain. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991;88:2721-5.
  56. Lourenco CM, DaSilva JN, Warsh JJ, Wilson AA, Houle S. Imaging of cAMP-specific phosphodiesterase-IV: comparison of [11C]rolipram and [11C]Ro 20-1724 in rats. *Synapse* 1999;31(1):41-50.
  57. Remington G, Kapur S. D2 and 5-HT2 receptor effects of antipsychotics: bridging basic and clinical findings using PET. *J Clin Psychiatry* 1999;60(Supl 10):15-9.
  58. Farde L, Nordström AL, Wiesel FA, Pauli S, Halldin C, Sedvall G. Positron emission tomography analysis of central D1- and D2-dopamine receptor occupancy in patients treated with classical neuroleptics and clozapine: relation to extrapyramidal side effects. *Arch Gen Psych* 1992;49:538-44.
  59. Kapur S, Zipursky RB, Remington G. Clinical and theoretical implications of 5-HT2 and D2 receptor occupancy of clozapine, risperidone, and olanzapine in schizophrenia. *Am J Psychiatry* 1999;156:286-93.
  60. Kapur S, Remington G, Zipursky R-B, Wilson A-A, Houle S. The D2 dopamine receptor occupancy of risperidone and its relationship to extrapyramidal symptoms: a PET study. *Life Sci* 1995;57(10):PL103-7.
  61. Nordstrom AL, Farde L, Nyberg S, Karlsson P, Halldin C, Sedvall G. D1, D2, and 5-HT2 receptor occupancy in relation to clozapine serum concentration: a PET study of schizophrenic patients. *Am J Psychiatry* 1995;152(10):1444-9.
  62. Volkow ND, Way GJ, Fowler JS, Wolf AP. Imaging endogenous dopamine competition with 11C-raclopride in the human brain. *Synapse* 1994;16:255-62.
  63. Delforge J, Le-Guludec D, Syrota A, Bendriem B, Crouzel C, Slama M, et al. Quantification of myocardial muscarinic receptors with PET in humans. *J Nucl Med* 1993;34(6):981-91.
  64. Law MP, Osman S, Pike VW, Davenport RJ, Cunningham VJ, Rimoldi O, et al. Evaluation of [11C]GB67, a novel radioligand for imaging myocardial alpha 1-adrenoceptors with positron emission tomography. *Eur J Nucl Med* 2000;27(1):7-17.
  65. Hume S-P, Hirani E, Opacka-Juffry J, Osman S, Myers R, Gunn R-N, et al. Evaluation of [O-methyl-11C]RS-15385-197 as a positron emission tomography radioligand for central alpha2-adrenoceptors. *Eur J Nucl Med* 2000;27(5):475-84.
  66. Wieland DM, Hutchins GD, Rosensopire KC, Brown LE. (C11)hydroxyephedrine: a high specific activity alternative to 18F-6-fluorometaraminol for heart neuronal imaging. *J Nucl Med* 1989;30:767-82.
  67. Ungerer M, Hartmann F, Karoglan M, Chlistalla A, Ziegler S, Richardt G, et al. Regional *in vivo* and *in vitro* characterization of autonomic innervation in cardiomyopathic human heart. *Circulation* 1998;97(2):174-80.
  68. Wieland DM, Rosenpire KC, Hutchkins GD, et al. Neuronal mapping of the heart with 18F-6-fluorometaraminol. *J Med Chem* 1990;33:956-64.
  69. Ding Y, Fowler JS, Dewey S. Comparison of high specific activity (-) and (+)-6[18F]fluoronorepinephrine and 6[18F]fluorodopamine in baboons: heart uptake, metabolism and the effect of desipramine. *J Nucl Med* 1993;34:619-29.
  70. Dimitrakopoulou-Strauss A, Strauss LG, Schlag P, Hohenberger P, Inrgartinger G, Oberdorfer F, et al. Intravenous and intra-arterial oxygen-15-labeled water and fluorine-18-labeled fluorouracil in patients with liver metastases from colorectal carcinoma. *J Nucl Med* 1998;39(3):465-73.
  71. Da-Silva EA, Muller RA, Chugani DC, Shah J, Shah A, Watson C, et al. Brain activation during intermittent photic stimulation: a [15O]-water PET study on photosensitive epilepsy. *Epilepsia* 1999;40(Supl 4):17-22.
  72. Ito H, Kinoshita T, Tamura Y, Yokoyama I, Iida H. Effect of intravenous dipyridamole on cerebral blood flow in humans. *Stroke* 1999;30:1616-20.
  73. Marwick TH, Shan K, Patel S, Go RT, Lauer MS. Incremental value of rubidium-82 positron emission tomography for prognostic assessment of known or suspected coronary artery disease. *Am J Cardiol* 1997;80(7):865-70.
  74. Gewirtz H, Skopicki HA, Abraham SA, Castano H, Dinsmore RE, Alpert NM, et al. Quantitative PET measurements of regional myocardial blood flow: observations in humans with ischemic heart disease. *Cardiology* 1997;88(1):62-70.
  75. Muzik O, Beanlands RS, Hutchins GD, Mangner TJ, Nguyen N, Schwaiger M. Validation of nitrogen-13-ammonia tracer kinetic model for quantification of myocardial blood flow using PET. *J Nucl Med* 1993;34(1):83-91.
  76. Rigo P, Paulus P, Kaschten BJ, Hustinx R, Bury T, et al. Oncological applications of positron emission tomography with fluorine-18 fluorodeoxyglucose. *Eur J Nucl Med* 1996;23(12):1641-74.
  77. Bar-Shalom R, Valdivia AY, Blafox MD. PET imaging in oncology. *Semin Nucl Med* 2000;30(3):150-85.
  78. Stocklin GL. Is there a future for clinical fluorine-18 radiopharmaceuticals (excluding FDG)? *Eur J Nucl Med* 1998;25(12):1612-6.
  79. Hamacher K, Caenen HH, Stöcklin G. Efficient stereospecific synthesis of no-carrier-added 2-[18F]-fluoro-2-deoxy-D-glucose using aminopolyether supported nucleophilic substitution. *J Nucl Med* 1986;27:235.
  80. Brodack JW, Dence CS, Kilbourn MR, Welch MJ. Robotic production of 2-[18F]-fluoro-2-deoxy-D-glucose: a routine method of synthesis using tetrabutylammonium [18F]fluoride. *Appl Radiat Isot* 1988;39:699-703.
  81. Hamacher K, Nebeling B, Blessing G. Computer aided synthesis of no-carrier-added 2-18F-fluoro-2-deoxy-D-glucose: an efficient automated system for the aminopolyether-supported nucleophilic fluorination. *Appl Radiat Isot* 1990;41(1):49-55.
  82. De Vries EFJ, Luurtsema G, Brüßermann M, Elsinga PH, Valburg W. Fully automated synthesis module for the high yield one-pot preparation of 6-[18F]fluoro-L-DOPA. *Appl Radiat Isot* 1999;51:389-394.
  83. Taniguchi H, Masuyama M, Koyama H, Oguro A, Takahashi T. Quantitative measurement of human tissue hepatic blood volume by C15O inhalation with positron-emission tomography. *Liver* 1996;16(4):258-62.
  84. Jackson JR, Dembowski BS, Ehrenkauffer RL, McIntyre E, Reich M. Oxygen-15-containing water, oxygen and carbon monoxide gas production, monitoring and quality-control system. *Appl Radiat Isot* 1993;44(3):631-634.
  85. Berridge MS, Cassidy EH, Terris AH. A routine, automated synthesis of oxygen-15-labeled butanol for positron tomography.

- J Nucl Med 1990;31(10):1727-31.
86. Van-Naemen J, Monclus M, Damhaut P, Luxen A, Goldman S. Production, automatic delivery and bolus injection of [15O]water for positron emission tomography studies. Nucl Med Biol 1996;23(4):413-6.
  87. Wieland B, Bida G, Padgett H, Hendry G, Zippi E, Kabalka G, et al. In-target production of [13N]ammonia via proton irradiation of dilute aqueous ethanol and acetic acid mixtures. Int J Rad Appl Instrum [A]. 1991;42(11):1095-8.
  88. Normas de correcta fabricación: medicamentos de uso humano y medicamentos veterinarios. Normas sobre medicamentos de la Unión Europea, Vol. 4. Comisión Europea. Dirección General III; 1999.
  89. Salazar R. Normas de correcta fabricación (GMP) de medicamentos y normas de buenas prácticas de laboratorio (GCLP y GLP). En Tratado de Farmacia Galénica, Faulí i Trillo. Madrid: Luzán 5, SA de ediciones, 1993.
  90. Radiopharmaceuticals for positron emission tomography-compounding. United States Pharmacopoeia XXIV; 2000. p. 1988-90.
  91. Impurities: guidelines for residual solvents (CPMP/ICH/283/95). European Pharmacopoeia- Supplement; 2001. p. 335-344.
  92. Peñuelas I. La tomografía de emisión de positrones en la investigación y desarrollo de nuevos psicofármacos. Archivos de Psiquiatría 2000;63(4):369-84.
  93. Wolf W. Introduction and overview of noninvasive drug monitoring. Adv Drug Deliv Reviews 2001;41:1-5.
  94. Fowler JS, Volkow ND, Wang GJ, Ding YS, Dewey SL. PET and drug research and development. J Nucl Med 1999;40(7):1154-63.
  95. Price P. Monitoring response to treatment in the development of anticancer drugs using PET. Nucl Med Biol 2000;27(7):691.
  96. Small-animal PET. New era of PET research. Editorial. J Nucl Med 1999;40:1176-9.
  97. Chatziioannou AF, Cherny SR, Shao Y, Silverman RW, Meaders K, et al. Performance evaluation of microPET: a high-resolution lutetium oxyorthosilicate PET scanner for animal imaging. J Nucl Med 1999;40:1164-75.
  98. Phelps ME, Coleman RE. Nuclear medicine in the new millennium. J Nucl Med 2000;41(1):1-4.
  99. Jones T. Present and future capabilities of molecular imaging techniques to understand brain function. J Psychopharmacol 1999;13(4):324-9.
  100. Choi Y, Huang SC, Hawkins RA, Hoh CK, Krivokapich J, Buxton D-B, et al. A refined method for quantification of myocardial oxygen consumption rate using mean transit time with carbon-11-acetate and dynamic PET. J Nucl Med 1993;34(11):2038-43.
  101. Sciacca RR, Akinboboye O, Chou RL, Epstein S, Bergmann SR. Measurement of myocardial blood flow with PET using 1-11C-acetate. J Nucl Med 2001;42(1):63-70.
  102. Wolpers HG, Burcher W, van-den-Hoff J, Weinhardt R, Meyer GJ, Lichtlen PR. Assessment of myocardial viability by use of 11C-acetate and positron emission tomography. Threshold criteria of reversible dysfunction. Circulation 1997;95(6):1417-24.
  103. Sciacca RR, Akinboboye O, Chou RL, Epstein S, Bergmann SR. Measurement of myocardial blood flow with PET using 1-11C-acetate. J Nucl Med 2001;42(1):63-70.
  104. Zubieta JK, Gorelick DA, Stauffer R, Ravert HT, Dannals RF, Frost JJ. Increased mu opioid receptor binding detected by PET in cocaine-dependent men is associated with cocaine craving. Nat Med 1996;2(11):1225-9.
  105. Volkow ND, Fowler JS, Wolf AP, Wang GJ, Logan J, MacGregor R, et al. Distribution and kinetics of carbon-11-cocaine in the human body measured with PET. J Nucl Med 1992;33(4):521-5.
  106. Halldin C, Farde L, Lundkvist C, Ginovart N, Nakashima Y, Karlsson P, et al. [11C]beta-CIT-FE, a radioligand for quantitation of the dopamine transporter in the living brain using positron emission tomography. Synapse 1996;22(4):386-90.
  107. Wilson AA, DaSilva JN, Houle S. *In vivo* evaluation of [11C]- and [18F]-labelled cocaine analogues as potential dopamine transporter ligands for positron emission tomography. Nucl Med Biol 1996;23(2):141-6.
  108. Helfenbein J, Sandell J, Halldin C, Chalon S, Emond P, Okubo Y, et al. PET examination of three potent cocaine derivatives as specific radioligands for the serotonin transporter. Nucl Med Biol 1999;26(5):491-9.
  109. Volkow ND, Ding YS, Fowler JS, Wang GJ, Logan J, Gatley SJ, et al. A new PET ligand for the dopamine transporter: studies in the human brain. J Nucl Med 1995;36(12):2162-8.
  110. Hara T, Kosaka N, Kishi H. PET imaging of prostate cancer using carbon-11-choline. J Nucl Med 1998;39(6):990-5.
  111. Kotzerke J, Prang J, Neumaier B, Volkmer B, Guhlmann A, Kleinschmidt K, et al. Experience with carbon-11 choline positron emission tomography in prostate carcinoma. Eur J Nucl Med 2000;27(9):1415-9.
  112. Fowler JS, Volkow ND, Logan J, Schlyer DJ, MacGregor RR, Wang GJ, et al. Monoamine oxidase B (MAO B) inhibitor therapy in Parkinson's disease: the degree and reversibility of human brain MAO B inhibition by Ro 19 6327. Neurology 1993;43(10):1984-92.
  113. Duncan JS, Koeppe MJ. PET: central benzodiazepine neuroreceptor mapping in localization-related epilepsies. Adv-Neurol 2000;83:131-6.
  114. Niimura K, Muzik O, Chugani DC, Shen C, Chugani HT. [11C]flumazenil PET: activity images versus parametric images for the detection of neocortical epileptic foci. J Nucl Med 1999;40(12):1985-91.
  115. Koutroumanidis M, Binnie CD, Panayiotopoulos CP. Positron emission tomography in partial epilepsies: the clinical point of view. Nucl Med Commun 1998;19(12):1123-6.
  116. Bergstrom M, Westerberg G, Kihlberg T, Langstrom B. Synthesis of some 11C-labelled MAO-A inhibitors and their *in vivo* uptake kinetics in rhesus monkey brain. Nucl Med Biol 1997;24(5):381-8.
  117. Bergstrom M, Westerberg G, Langstrom B. 11C-harmine as a tracer for monoamine oxidase A (MAO-A): *in vitro* and *in vivo* studies. Nucl Med Biol 1997;24(4):287-93.
  118. Munch G, Nguyen NT, Nekolla S, Ziegler S, Muzik O, Chakraborty P, et al. Evaluation of sympathetic nerve terminals with [(11)C]epinephrine and [(11)C]hydroxyephedrine and positron emission tomography. Circulation 2000;101(5):516-23.
  119. Pietila M, Malmimiemi K, Ukkonen H, Saraste M, Nagren K, Lehtikoinen P, et al. Reduced myocardial carbon-11 hydroxyephedrine retention is associated with poor prognosis in chronic heart failure. Eur J Nucl Med 2001;28(3):373-6.
  120. Fowler JS, Volkow ND, Ding YS, Wang GJ, Dewey S, Fischman MW, et al. Positron emission tomography studies of dopamine-enhancing drugs. J Clin Pharmacol 1999; Supl 13S-16S.
  121. Volkow ND, Ding YS, Fowler JS, Wang GJ, Logan J, Gatley SJ, et al. J Nucl Med 1996;37(4):554-9.
  122. Ding YS, Fowler JS, Volkow ND, Dewey SL, Wang GJ, Logan J, et al. Chiral drugs: comparison of the pharmacokinetics of [11C]d-threo and L-threo-methylphenidate in the human and baboon brain. Psychopharmacology (Berl) 1997;131(1):71-8.
  123. Jager PL, Vaalburg W, Pruijm J, de-Vries EG, Langen KJ, Piers DA. Radiolabeled amino acids: basic aspects and clinical applications in oncology. J Nucl Med 2001;42(3):432-45.
  124. Inoue T, Kim EE, Wong FC, Yang DJ, Bassa P, Wong WH, et

- al. Comparison of fluorine-18-fluorodeoxyglucose and carbon-11-methionine PET in detection of malignant tumors. *J Nucl Med* 1996;37(9):1472-6.
125. Shoaf SE, Carson RE, Hommer D, Williams WA, Higley JD, Schmall B, et al. The suitability of [<sup>11</sup>C]-alpha-methyl-L-tryptophan as a tracer for serotonin synthesis: studies with dual administration of [<sup>11</sup>C] and [<sup>14</sup>C] labeled tracer. *J Cereb Blood Flow Metab* 2000;20(2):244-52.
  126. Benkelfat C, Young SN, Okazawa H, Leyton M, Diksic M. The validity of the PET/alpha-[<sup>11</sup>C]methyl-L-tryptophan method for measuring rates of serotonin synthesis in the human brain. *Neuropsychopharmacology* 1999;21(1):153-7.
  127. Chugani DC, Muzik O, Chakraborty P, Mangner T, Chugani HT. Human brain serotonin synthesis capacity measured *in vivo* with alpha-[<sup>11</sup>C]methyl-L-tryptophan. *Synapse* 1998;28(1):33-43.
  128. Nyback H, Halldin C, Ahlin A, Curvall M, Eriksson L. PET studies of the uptake of (S)- and (R)-[<sup>11</sup>C]nicotine in the human brain: difficulties in visualizing specific receptor binding *in vivo*. *Psychopharmacology-(Berl)* 1994;115(1-2):31-6.
  129. Nyberg S, Eriksson B, Oxenstierna G, Halldin C, Farde L. Suggested minimal effective dose of risperidone based on PET-measured D2 and 5-HT2A receptor occupancy in schizophrenic patients. *Am J Psychiatry* 1999;156(6):869-75.
  130. Goyer PF, Berridge MS, Morris ED, Semple WE, Compton-Toth BA, Schulz SC, et al. PET measurement of neuroreceptor occupancy by typical and atypical neuroleptics. *J Nucl Med* 1996;37(7):1122-7.
  131. Sudo Y, Sahara T, Suzuki K, Okubo Y, Yoshikawa K, Uchida S, et al. Muscarinic receptor occupancy by biperiden in living human brain. *Life-Sci* 1999;64(8):PL99-104.
  132. Bergmann SR, Weinheimer CJ, Markham J, Herrero P. Quantitation of myocardial fatty acid metabolism using PET. *J Nucl Med* 1996;37(10):1723-30.
  133. Geltman EM. Assessment of myocardial fatty acid metabolism with 1-<sup>11</sup>C-palmitate. *J Nucl Cardiol* 1994;1:S15-22.
  134. Brooks DJ, Piccini P, Turjanski N, Samuel M. Neuroimaging of dyskinesia *Ann Neurol* 2000;47(4 Supl 1):S154-8.
  135. Breier A, Su TP, Malhotra AK, Elman I, Adler CM, Weisenfeld NI, et al. Effects of atypical antipsychotic drug treatment on amphetamine-induced striatal dopamine release in patients with psychotic disorders. *Neuropsychopharmacology* 1999;20(4):340-5.
  136. Schlosser R, Brodie JD, Dewey SL, Alexoff D, Wang GJ, Fowler JS, et al. Long-term stability of neurotransmitter activity investigated with <sup>11</sup>C-raclopride PET. *Synapse* 1998;28(1):66-70.
  137. Chan GL, Holden JE, Stoessl AJ, Doudet DJ, Wang Y, Dobko T, et al. Reproducibility of the distribution of carbon-11-SCH 23390, a dopamine D1 receptor tracer, in normal subjects. *J Nucl Med* 1998;39(5):792-7.
  138. Nordstrom AL, Farde L, Nyberg S, Karlsson P, Halldin C, Sedvall G. D1, D2, and 5-HT2 receptor occupancy in relation to clozapine serum concentration: a PET study of schizophrenic patients. *Am J Psychiatry* 1995;152(10):1444-9.
  139. Farde L. Selective D1- and D2-dopamine receptor blockade both induces akathisia in humans—a PET study with [<sup>11</sup>C]SCH 23390 and [<sup>11</sup>C]raclopride. *Psychopharmacology-(Berl)* 1992;107(1):23-9.
  140. Shields AF, Mankoff DA, Link JM, Graham MM, Eary JF, Kozawa SM, et al. Carbon-11-thymidine and FDG to measure therapy response. *J Nucl Med* 1998;39(10):1757-62.
  141. Kole AC, Pruijm J, Nieweg OE, van-Ginkel RJ, Hoekstra HJ, Schraffordt-Koops H, et al. PET with L-[1-carbon-11]-tyrosine to visualize tumors and measure protein synthesis rates. *J Nucl Med* 1997;38(2):191-5.
  142. Ishiwata K, Enomoto K, Sasaki T, Elsinga PH, Senda M, Okazumi S, et al. A feasibility study on L-[1-carbon-11]tyrosine and L-[methyl-carbon-11]methionine to assess liver protein synthesis by PET. *J Nucl Med* 1996;37(2):279-85.
  143. Willemsen AT, van-Waarde A, Paans AM, Pruijm J, Luurtsema G, Go KG, et al. *In vivo* protein synthesis rate determination in primary or recurrent brain tumors using L-[1-<sup>11</sup>C]-tyrosine and PET. *J Nucl Med* 1995;36(3):411-9.
  144. Passchier J, van-Waarde A. Visualisation of serotonin-1A (5-HT1A) receptors in the central nervous system. *Eur J Nucl Med* 2001;28(1):113-29.
  145. Houle S, DaSilva J.N, Wilson A.A. Imaging the 5-HT(1A) receptors with PET: WAY-100635 and analogues. *Nucl Med Biol* 2000;27(5):463-6.
  146. Lang L, Jagoda E, Schmall B, Sassaman M, Ma Y, Eckelman WC. Fluoro analogs of WAY-100635 with varying pharmacokinetics properties. *Nucl Med Biol* 2000;27(5):457-62.
  147. Carson RE, Lang L, Watabe H, Der MG, Adams HR, Jagoda E, et al. PET evaluation of [(18)F]FCWAY, an analog of the 5-HT(1A) receptor antagonist, WAY-100635. *Nucl Med Biol* 2000;27(5):493-7.
  148. Andree B, Halldin C, Thorberg SO, Sandell J, Farde L. Use of PET and the radioligand [carbonyl-(11)C]WAY-100635 in psychotropic drug development. *Nucl Med Biol* 2000;27(5):515-21.
  149. Choi Y, Huang SC, Hawkins RA, Kim JY, Kim BT, Hoh CK, et al. Quantification of myocardial blood flow using <sup>13</sup>N-ammonia and PET: comparison of tracer models. *J Nucl Med* 1999;40(6):1045-55.
  150. Grandin C, Wijns W, Melin J-A, Bol A, Robert A-R, Heyndrickx GR, et al. Delineation of myocardial viability with PET. *J Nucl Med* 1995;36(9):1543-52.
  151. Iida H, Takahashi A, Tamura Y, Ono Y, Lammertsma AA. Myocardial blood flow: comparison of oxygen-15-water bolus injection, slow infusion and oxygen-15-carbon dioxide slow inhalation. *J Nucl Med* 1995;36(1):78-85.
  152. Gerber BL, Melin JA, Bol A, Labar D, Cogneau M, Michel C, et al. Nitrogen-13-ammonia and oxygen-15-water estimates of absolute myocardial perfusion in left ventricular ischemic dysfunction. *J Nucl Med* 1998;39(10):1655-62.
  153. Herzog H, Seitz RJ, Tellmann L, Rota-Kops E, Julicher F, Schlaug G, et al. Quantitation of regional cerebral blood flow with <sup>15</sup>O-butanol and positron emission tomography in humans. *J Cereb Blood Flow Metab* 1996;16(4):645-9.
  154. Strijkmans K, Vandecasteele C, Sambre J. Production and quality control of oxygen-15 and [<sup>15</sup>O]carbon dioxide for medical use. *Int J Appl Radiat Isot* 1985;36(4):279-283.
  155. Iida H, Rhodes CG, Araújo L-I, Yamamoto Y, de-Silva R, Maseri A, et al. Noninvasive quantification of regional myocardial metabolic rate for oxygen by use of <sup>15</sup>O2 inhalation and positron emission tomography. Theory, error analysis, and application in humans. *Circulation* 1996;94(4):792-807.
  156. Jonson SD, Bonasera TA, Dehdashti F, Cristel ME, Katzenellenbogen JA, Welch MJ. Comparative breast tumor imaging and comparative *in vitro* metabolism of <sup>16</sup>alpha-[<sup>18</sup>F]fluoroestradiol-17beta and <sup>16</sup>beta-[<sup>18</sup>F]fluoromoxestrol in isolated hepatocytes. *Nucl Med Biol* 1999;26(1):123-30.
  157. Flanagan FL, Dehdashti F, Siegel BA. PET in breast cancer. *Semin Nucl Med* 1998;28(4):2.
  158. VanBrocklin HF, Carlson KE, Katzenellenbogen JA, Welch MJ. <sup>16</sup> beta-([<sup>18</sup>F]fluoro)estrogens: systematic investigation of a new series of fluorine-18-labeled estrogens as potential imaging agents for estrogen-receptor-positive breast tumors. *J Med Chem* 1993;36(11):1619-29.
  159. Van-Dyck CH, Tan PZ, Baldwin RM, Amici LA, Garg PK, Ng CK, et al. PET quantification of 5-HT2A receptors in the human brain: a constant infusion paradigm with [<sup>18</sup>F]altanserin.

- J Nucl Med 2000;41(2):234-41.
160. Sadzot B, Lemaire C, Maquet P, Salmon E, Plenevaux A, De-gueudre C, et al. Serotonin 5HT<sub>2</sub> receptor imaging in the hu-man brain using positron emission tomography and a new ra-dioli-gand [<sup>18</sup>F]altanserin: results in young normal controls. J Cereb Blood Flow Metab 1995;15(5):787-97.
  161. Villemagne VL, Horti A, Scheffel U, Ravert HT, Finley P, Clough DJ, et al. Imaging nicotinic acetylcholine receptors with fluo-rine-18-FPH, an epibatidine analog. J Nucl Med 1997;38(11):1737-41.
  162. Sihver W, Langstrom B, Nordberg A. Ligands for *in vivo* ima-ging of nicotinic receptor subtypes in Alzheimer brain. Acta Neurol Scand Suppl 2000;17:627-33.
  163. Alauddin MM, Conti PS. Synthesis and preliminary evaluation of 9-(4-[<sup>18</sup>F]-fluoro-3-hydroxymethylbutyl)guanine ([<sup>18</sup>F]FHBG): a new potential imaging agent for viral infection and gene the-rapy using PET. Nucl Med Biol 1998;25(3):175-80.
  164. Yu Y, Annala AJ, Barrio JR, Toyokuni T, Satyamurthy N, Na-mavari M, et al. Quantification of target gene expression by ima-ging reporter gene expression in living animals Nat Med 2000;6(8):933-7.
  165. Inoue T, Shibasaki T, Oriuchi N, Aoyagi K, Tomiyoshi K, Ama-no S, et al. 18F alpha-methyl tyrosine PET studies in patients with brain tumors. J Nucl Med 1999;40(3):399-405.
  166. Araújo DM, Cherry SR, Tatsukawa KJ, Toyokuni T, Kornblum HI. Deficits in striatal dopamine D(2) receptors and energy me-tabolism detected by *in vivo* microPET imaging in a rat model of Huntington's disease. Exp Neurol 2000;166(2):287-97.
  167. MacLaren DC, Gambhir SS, Satyamurthy N, Barrio JR, Sharfs-tein S, Toyokuni T, et al. Repetitive, non-invasive imaging of the dopamine D2 receptor as a reporter gene in living animals. Gene Ther 1999;6(5):785-91.
  168. Gambhir SS, Barrio JR, Herschman HR, Phelps ME. Assays for noninvasive imaging of reporter gene expression. Nucl Med Biol 1999;26(5):481-90.
  169. MacLaren DC, Gambhir SS, Satyamurthy N, Barrio JR, Sharfs-tein S, Toyokuni T, et al. Repetitive, non-invasive imaging of the dopamine D2 receptor as a reporter gene in living animals. Gene Ther 1999;6(5):785-91.
  170. Garnett ES, Firnau G, Nahmias C. Dopamine visualizad in the basal ganglia of living man. Nature 1983. p. 305:137
  171. Rakshi JS, Uema T, Ito K, Bailey DL, Morrish PK, Ashburner J, et al. Frontal, midbrain and striatal dopaminergic function in early and advanced Parkinson's disease A 3D [(18F)dopa-PET study. Brain 1999;122:1637-50.
  172. Ishikawa T, Dhawan V, Chaly T, Margouleff C, Robeson W, Dahl JR, et al. Clinical significance of striatal DOPA decar-boxylase activity in Parkinson's disease. J Nucl Med 1996;37(2):216-22.
  173. Brown WD, DeJesus OT, Pyzalski RW, Malischke L, Roberts AD, Shelton SE, et al. Localization of trapping of 6-[(18F)fluoro-L-m-tyrosine, an aromatic L-amino acid decarboxylase tra-cer for PET. Synapse. 1999;34(2):111-23.
  174. DeJesus OT, Endres CJ, Shelton SE, Nickles RJ, Holden JE. Noninvasive assessment of aromatic L-amino acid decarboxy-lase activity in aging rhesus monkey brain *in vivo*. Synapse 2001;39(1):58-63.
  175. Martin GV, Caldwell JH, Graham MM, Grierson JR, Kroll K, Cowan MJ, et al. Noninvasive detection of hypoxic myocar-dium using fluorine-18-fluoromisonidazole and positron emis-sion tomography. J Nucl Med 1992;33(12):2202-8.
  176. Nunn A, Linder K, Strauss HW. Nitroimidazoles and imaging hypoxia. Eur J Nucl Med 1995;22(3):265-80
  177. Sinusas AJ. The potential for myocardial imaging with hypo-xia markers. Semin Nucl Med 1999;29(4):330-8.
  178. Moehler M, Dimitrakopoulou-Strauss A, Gutzler F, Raeth U, Strauss LG, Stremmel W. 18F-labeled fluorouracil positron emission tomography and the prognoses of colorectal carcino-ma patients with metastases to the liver treated with 5-fluo-rou-racil. Cancer 1998;83(2):245-53.
  179. Dimitrakopoulou A, Strauss LG, Clorius JH, Ostertag H, Sch-lag P, Heim M, et al. Studies with positron emission tomo-graphy after systemic administration of fluorine-18-uracil in patients with liver metastases from colorectal carcinoma. J Nucl Med 1993;34(7):1075-81.
  180. Cook GJ, Fogelman I. The role of positron emission tomo-graphy in skeletal disease. Semin Nucl Med 2001;31(1):50-61.
  181. Mukherjee J, Das MK, Yang ZY, Lew R. Evaluation of the bin-ding of the radiolabeled antidepressant drug, 18F-fluoxetine in the rodent brain: an *in vitro* and *in vivo* study. Nucl Med Biol 1998;25(7):605-10.
  182. Kiesewetter DO, Carson RE, Jagoda EM, Herscovitch P, Ec-kelman WC. *In vivo* muscarinic binding of 3-(alkylthio)-3-thia-diazolyl tetrahydropyridines. Synapse 1999;31(1):29-40.
  183. Satter M, Martin CC, Oakes TR, Christian BF, Nickles RJ. Synt-hesis of the fluorine-18 labeled inhalation anesthetics. Appl Ra-diat Isot 1994;45(11):1093-100.