

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI
PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA
Laboratoř růstových regulátorů



**Studium farmakokinetiky vybraných radiofarmak
ve zvířecích modelech s využitím zobrazovacích metod**

Michaela KUČERKOVÁ

Bakalářská práce

Vedoucí práce: PharmDr. Miloš Petřík, Ph.D.

Olomouc 2014

BIBLIOGRAFICKÁ IDENTIFIKACE

Jméno a příjmení autora:	Michaela Kučerková
Název práce:	Studium farmakokinetiky vybraných radiofarmak ve zvířecích modelech s využitím zobrazovacích metod
Typ práce:	Bakalářská
Pracoviště:	Ústav molekulární a translační medicíny, Olomouc
Vedoucí práce:	PharmDr. Miloš Petřík, Ph.D.
Rok obhajoby:	2014
Abstrakt:	<p>Tato bakalářská práce se věnuje studiu farmakokinetiky vybraných radiofarmak, která byla aplikována laboratorním zvířatům. V teoretické části jsou popsány jednak fyzikální základy radioaktivity, dále jsou zde shrnuty obecné informace o studovaných radiofarmacích a v neposlední řadě jsou v této části bakalářské práce uvedeny zobrazovací metody využívané v radiologii. V experimentální části této práce je popsáno, jak se studovaná radiofarmaka připravují a jak jsou distribuována v organismu laboratorních myší. Měření byla prováděna pomocí zobrazovacího systému pro malá laboratorní zvířata a výsledkem byla sada příslušných SPECT/CT anebo PET/CT snímků.</p>
Klíčová slova:	Radiofarmaka, technecium-99m, fluo-18, jednofotonová emisní tomografie (SPECT), pozitronová emisní tomografie (PET)
Počet stran:	48
Jazyk:	Český

BIBLIOGRAPHICAL IDENTIFICATION

Author's first name and surname: Michaela Kučerková

Title of thesis: Small animal imaging of selected radiopharmaceuticals

Type of thesis: Bachelor

Department: Institute of molecular and translational medicine, Olomouc

Supervisor: PharmDr. Miloš Petřík, Ph.D.

The year of presentation: 2014

Abstract: This thesis is dedicated to the study of the pharmacokinetics of selected radiopharmaceuticals, which were administered to laboratory animals. The theoretical part of the thesis consists of the description of physical basis of radioactivity, summarizes general information about the studied radiopharmaceuticals and presents imaging methods used in radiology. The experimental part of this work describes the preparation of studied radiopharmaceuticals and their biodistribution in laboratory animals. *In vivo* imaging was performed using small animal imaging system resulting in a set of relevant SPECT/CT or PET/CT images.

Keywords: Radiopharmaceuticals, technetium-99m, fluorine-18, single photon emission tomography (SPECT), positron emission tomography (PET)

Number of pages: 48

Language: Czech

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně pod vedením PharmDr. Miloše Petříka, Ph.D. s použitím citované literatury.

V Olomouci, 28. 7. 2014

.....

Podpis

Poděkování:

Na tomto místě bych především chtěla poděkovat vedoucímu mé bakalářské práce PharmDr. Miloši Petříkovi, Ph.D. za cenné rady, připomínky a zvláště za velkou ochotu a vstřícnost během vypracování celé této práce. Dále bych také chtěla poděkovat Klinice nukleární medicíny Fakultní nemocnice Olomouc za poskytnutí radiofarmak.

OBSAH

SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK	8
ÚVOD	10
TEORETICKÁ ČÁST	11
1 FYZIKÁLNÍ ZÁKLADY RADIOAKTIVITY	11
1.1 Struktura atomu	11
1.1.1 Elektronový obal	11
1.1.2 Jádro atomu	11
1.2 Radioaktivita	11
1.2.1 Typy radioaktivních přeměn	12
1.2.1.1 Přeměna alfa	12
1.2.1.2 Přeměny beta	12
1.2.1.3 Přeměna gama	13
2 RADIOFARMAKA	14
2.1 Diagnostická radiofarmaka	14
2.1.1 Technecium a radiofarmaka značená ^{99m}Tc	14
2.1.1.1 ^{99m}Tc -hydroxymetylen difosfonát (HDP)	16
2.1.1.2 ^{99m}Tc -methoxyisobutylisonitrát (MIBI)	17
2.1.1.3 ^{99m}Tc -makroagregovaný albumin (MAA)	17
2.1.1.4 ^{99m}Tc -dimerkaptojantarová kyselina (DMSA)	18
2.1.2 Fluor a radiofarmaka značená ^{18}F	19
2.1.2.1 ^{18}F -fluorodeoxyglukosa (FDG)	20
2.2 Terapeutická radiofarmaka	20
3 RADIOLOGICKÉ ZOBRAZOVACÍ METODY	22
3.1 Počítačová tomografie (CT)	23
3.2 Magnetická rezonance (MR)	23
3.3 Jednofotonová emisní počítačová tomografie (SPECT)	24
3.4 Pozitronová emisní tomografie (PET)	25
3.5 Zobrazovací metody v preklinickém výzkumu	26

EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	27
4 MATERIÁL A METODY	27
4.1 Pomůcky a chemikálie	27
4.2 Příprava studovaných radiofarmak	27
4.2.1 ^{99m} Tc-hydroxymetylen difosfonát (HDP)	27
4.2.2 ^{99m} Tc-methoxyisobutylisonitrát (MIBI)	27
4.2.3 ^{99m} Tc-makroagregovaný albumin (MAA)	27
4.2.4 ^{99m} Tc-dimerkaptojantarová kyselina (DMSA)	28
4.2.5 ¹⁸ F-fluordeoxyglukosa (FDG)	28
4.3 Experimenty na zvířatech	28
4.4 SPECT/CT zobrazování	29
4.5 PET/CT zobrazování	29
5 VÝSLEDKY	30
5.1 ^{99m} Tc-hydroxymetylen difosfonát (HDP)	30
5.2 ^{99m} Tc-methoxyisobutylisonitrát (MIBI)	31
5.3 ^{99m} Tc-makroagregovaný albumin (MAA)	33
5.4 ^{99m} Tc-dimerkaptojantarová kyselina (DMSA)	34
5.5 ¹⁸ F-fluordeoxyglukosa (FDG)	36
DISKUZE	40
ZÁVĚR	44
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	45

SEZNAM ZKRATEK A SYMBOLŮ

CT	počítačová tomografie
DMSA	dimerkaptojantarová kyselina
DTPA	dietyltriainin pentaacetát
ECD	ethylencysteindimer
EDTA	ethylendiaminotetraoctová kyselina
EZ	elektronový záchyt
FDG	2-(¹⁸ F)fluor-2-deoxy-D-glukosa
FDOPA	6- ¹⁸ F-fluoro-3,4-dihydroxyfenylalanin
FET	O-(2-[¹⁸ F]fluoroethyl)-L-tyrosin
FLT	fluorothymidin
GIT	gastrointestinální trakt
HDP	hydroxymetylen difosfonát
HMPOA	hexamethylenpropylenaminoxim
HSA	lidský sérový albumin
i.v.	intravenózně
IP	izomerický přechod
L	ledvina
M	mozek
MAA	makroagregovaný albumin
MAG3	merkptoacetyltriglycin
MDP	methylen difosfonát
MIBI	methoxyisobutylisonitrát
MM	močový měchýř
MR	magnetická rezonance
N	nádor
PET	pozitronová emisní tomografie
PYP	pyrofosfonát
r.o.	retroorbitálně

RES	retikuloendoteliální systém
SC	koloidní síra
SPECT	jednofotonová emisní tomografie

ÚVOD

V současné době se v medicíně stále více uplatňují nukleární zobrazovací metody. Umožňují zobrazit strukturu orgánů a tkání a také poskytují informace o jejich funkci. Výhodou těchto metod je především jejich vysoká citlivost a neinvazivnost vyšetření. Při vyšetření je pacientovi podáno radiofarmakum, jehož součástí je radionuklid. Ten při své přeměně na stabilní izotop emituje ionizující záření, které je následně detekováno. V emisní tomografii existují dvě odlišné zobrazovací metody - jednofotonová emisní počítačová tomografie (SPECT) a pozitronová emisní tomografie (PET). Tyto metody se od sebe liší používanými radionuklidy, vybavením přístrojů i klinickými aplikacemi (Kupka, 2007).

Radiofarmaka jsou léčivé přípravky obsahující chemické nebo biologicky aktivní látky, jejichž účinnou složkou je radionuklid, který je zdrojem ionizujícího záření (Lázníček, 1998). O způsobu použití daného radiofarmaka rozhodují vlastnosti navázaného radionuklidu - především poločas jeho přeměny, druh a energie emitovaného záření (Kupka, 2007). Můžeme rozlišit dva typy radiofarmak a to terapeutická a diagnostická. U terapeutických radiofarmak jejich účinek spočívá v biologickém účinku emitovaného záření, které svým působením vyvolá vratné nebo nevratné poškození buněk, popřípadě jejich usmrcení. Radiofarmaka používaná k diagnostickým účelům slouží především ke zobrazení a studiu funkce tkání a orgánů vyšetřovaného pacienta.

Nejpoužívanějším radionuklidem využívaným k přípravě diagnostických radiofarmak je metastabilní izotop technecia (^{99m}Tc). Fluor-18 (^{18}F) je zase nejrozšířenějším radionuklidem pro pozitronovou emisní tomografii (Coenen, 2010). V mé bakalářské práci jsem se zabývala studiem farmakokinetiky vybraných radiofarmak značených těmito radionuklidy. Cílem této závěrečné práce bylo zabývat se studiem farmakokinetiky vybraných radiofarmak aplikovaných laboratorním zvířatům s využitím zobrazovacího systému pro malá laboratorní zvířata. Dále se seznámit s přípravou radioaktivně značených látek, aplikací studovaných látek laboratorním zvířatům a následným snímáním, zpracováním a vyhodnocením získaných dat.

TEORETICKÁ ČÁST

1 FYZIKÁLNÍ ZÁKLADY RADIOAKTIVITY

1.1 Struktura atomu

První představy o struktuře hmoty pocházely již ze starého Řecka, ale až na začátku 20. století bylo fyzikálními pokusy zjištěno, že se každý atom skládá z atomového jádra a elektronového obalu (Lázníček, 1998). Velikost celého atomu je 10^{-10} m. Přitom téměř všechna jeho hmotnost je soustředěna do samotného jádra, které má velikost 10^{-15} m.

1.1.1 Elektronový obal

V elektronovém obalu se nacházejí záporně nabitě částice - elektrony (e^-). Elektrony obíhají kolem jádra atomu po energetických hladinách. Tyto energetické hladiny jsou charakterizovány hlavním kvantovým číslem n , které udává energii orbitalu, tedy místa nejpravděpodobnějšího výskytu elektronu. Dále vedlejším kvantovým číslem l , které vyjadřuje tvar orbitalu; magnetickým kvantovým číslem m , jež určuje prostorovou orientaci elektronu a nakonec spinovým kvantovým číslem s , které udává směr rotace elektronu kolem vlastní osy (Lázníček, 1998).

Počet elektronů v elektronovém obalu atomu určuje chemické vlastnosti prvku. Vnější vrstva elektronů, tzv. valenční, a počet elektronů v této vrstvě jsou důležité pro tvorbu chemických vazeb.

1.1.2 Jádro atomu

Jádro atomu je tvořeno kladně nabitými částicemi - protony (p^+) a elektricky neutrálními neutrony (n^0). Protony a neutrony bývají také souhrnně označovány jako nukleony. Počet protonů v jádře udává atomové číslo (Z) a počet nukleonů v jádře vyjadřuje nukleonové (hmotnostní) číslo (A). Každý chemický prvek je určen těmito čísly, jejichž zápis je znázorněn na následujícím schématu:



Konkrétní složení jádra určuje nuklid. Radionuklid je potom nuklid s nestabilním jádrem. Izotopy jsou nuklidy se stejným atomovým číslem, ale různým nukleonovým číslem (např.: ${}^{123}\text{I}$, ${}^{125}\text{I}$, ${}^{127}\text{I}$ a ${}^{131}\text{I}$). Izobary jsou naopak nuklidy s různým atomovým číslem, ale stejným nukleonovým číslem (např.: ${}^{99}\text{Mo}$, ${}^{99}\text{Tc}$). Izomery mají stejné atomové i nukleonové číslo, ale mají různý energetický stav jádra. Jako metastabilní izotop se označují jádra s vyšším energetickým stavem, která po vyzáření energie ve formě fotonů přecházejí do nižšího energetického stavu (např.: ${}^{99m}\text{Tc}$, ${}^{113m}\text{In}$, ${}^{131m}\text{Xe}$) (Lázníček, 1998; Ullmann, 2002).

1.2 Radioaktivita

V roce 1896 francouzský fyzik H. Becquerel jako první pozoroval, že krystaly uranu vyzařují neviditelné záření, které proniká i světlotěsným materiálem a následně způsobuje

zčernání fotografické desky. Toto záření nazval jako uranové. Jeho tvrzení upravili v roce 1898 manželé Curierovi a zavedli pojem radioaktivita (Ullmann, 2002).

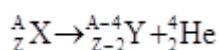
Radioaktivita je tedy jev, kdy dochází k samovolné přeměně radionuklidů na stabilní jádra za současného vyzáření vysokoenergetického záření. Jednotkou radioaktivity je 1 Becquerel (1 Bq), který je definován jako jeden rozpad atomového jádra za sekundu. Dříve používanou jednotkou radioaktivity je 1 Curie (1 Ci), kdy 1 mCi odpovídá 37 MBq (Lang, 1998).

1.2.1 Typy radioaktivních přeměn

Radionuklidy se mohou přeměňovat jedním nebo i více způsoby radioaktivních přeměn. Rozeznáváme tyto typy přeměn: alfa, beta a gama.

1.2.1.1 Přeměna alfa

Přeměnou alfa rozumíme jev, kdy při přeměně radionuklidu na stabilní jádro dochází k vyzařování částic α , tedy jader hélia. Jádra atomů, která jsou schopná vyzařovat α částice označujeme jako alfa-zářiče, např. radium (^{226}Ra), plutonium (^{239}Pu) a americium (^{241}Am) (Ullmann, 2002). Přeměnu alfa charakterizuje tato obecná rovnice:

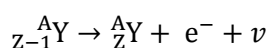


Vyzářením α částice dochází tedy ke vzniku atomu jiného prvku, který má o 4 nukleony a o 2 protony méně. Tato přeměna je charakteristická pro těžké prvky a bývá doprovázena zářením gama. Alfa záření není tolik pronikavé a je zadržováno např. i listem papíru.

1.2.1.2 Přeměny beta

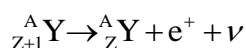
K přeměnám beta patří β^- a β^+ přeměna, zvláštním typem přeměny beta je pak elektronový záchyt (EZ).

Při přeměně β^- jsou emitovány β^- částice, tedy elektrony (e^-). Elektrony vznikají rozpadem neutronů podle rovnice: $n^0 \rightarrow p^+ + e^- + \bar{\nu}$. Kromě elektronů vznikají také protony (p^+) a antineutrino ($\bar{\nu}$). Po vyzáření elektronu vzroste počet protonů v atomu o 1 a nukleonové číslo se nezmění. Vzniká tak izobar původního atomu podle schématu:



Beta- zářiči jsou např. cesium ^{137}Cs , kobalt ^{60}Co , jód ^{131}I , iridium ^{192}Ir (Ullmann, 2002).

Při přeměně β^+ dochází k vyzařování β^+ částic, neboli pozitronů (e^+). Pozitrony vznikají při rozpadu protonů podle rovnice: $p^+ \rightarrow n^0 + e^+ + \bar{\nu}$. Současně jsou uvolňovány také neutrony (n^0) a neutrino ($\bar{\nu}$). Po vyzáření pozitronu klesne počet protonů v atomu o 1 a nukleonové číslo se nezmění, čímž vznikne izobar původního atomu. Přeměnu β^+ lze vyjádřit obecnou rovnicí:



Záření β^- a β^+ je několikanásobně pronikavější než záření α . Přeměny beta bývají také doprovázeny gama zářením.

Elektronový záchyt (EZ) je další možností β^+ přeměny. Dochází k němu při nadbytku protonů v jádře, kdy přebytečný proton zachytí elektron z hladiny K, L, nebo M (Ullmann, 2002). Tímto se přemění na neutron za současné emise neutrina podle schématu: $p^+ + e^- \rightarrow n^0 + \bar{\nu}$. Volné místo je poté zaplněno elektronem z vyšší energetické hladiny za současného vyzáření charakteristického Roentgenova záření. Elektronovým záchytem se přeměňuje např. kobalt ^{57}Co : $^{57}_{27}\text{Co} + e^- \rightarrow ^{57}_{26}\text{Fe} + \bar{\nu}$ (Lázníček, 1998).

1.2.1.3 Přeměna gama

Záření gama je elektromagnetické záření o vlnové délce 10^{-11} až 10^{-13} m. Gama záření doprovází jaderné přeměny α nebo β . Vzniká také při tzv. izomerickém přechodu (IP), kdy metastabilní formy jádra přechází na základní energetický stav za současného vyzáření gama záření. Izomerický přechod se vyskytuje např. u radionuklidu $^{99\text{m}}\text{Tc}$ (Lázníček, 1998).

Může také dojít k jevu, kdy je emise gama záření nahrazena emisí elektronů. Foton gama záření zaniká a jeho energii přejímá elektron. Díky této energii může být uvolněn z vazby a následně vyzářen. Takové elektrony se nazývají konverzní elektrony a tento jev se označuje jako vnitřní konverze, nebo také vnitřní fotoefekt (Lázníček, 1998).

V důsledku uvolnění konverzního elektronu vznikne ve vnitřní vrstvě obalu volné místo, na které přeskočí elektron z vyšší energetické hladiny za současného vyzáření charakteristického X-záření. Při Augerově jevu však k vyzáření rentgenového záření nedochází, nýbrž je jeho energie předána elektronu. Tento elektron je následně emitován a označuje se jako tzv. Augerův elektron (Ullmann, 2002).

2 RADIOFARMAKA

Radiofarmaka jsou léčivé přípravky obsahující chemické nebo biologicky aktivní látky, jejichž účinnou složkou je radionuklid, který je zdrojem ionizujícího záření (Lázníček, 1998). Použití daného radiofarmaka závisí na jeho chemické struktuře, ale také na typu navázaného radionuklidu. Rozlišujeme radiofarmaka určená pro diagnostické účely, které poskytují informace o kinetice, orgánové distribuci, metabolismu a vylučování aplikovaných sloučenin (Lázníček, 1998). A dále radiofarmaka používaná pro terapeutické účely.

Radiofarmaka jsou tvořena dvěma částmi - radionuklidem a farmakem. Farmakum je vybráno na základě své farmakokinetiky. Musí se buď přednostně hromadit v daném orgánu, nebo se musí účastnit příslušné fyziologické funkce (Lang, 1998). Na dané farmakum je navázán radionuklid. Radiofarmaka obsahují vždy jeden radionuklid, který je určen svým poločasem přeměny a také druhem a energií záření (Lázníček, 1998).

Radiofarmaka bývají většinou připravována na pracovištích nukleární medicíny. K tomuto účelu jsou často používány zásobní neradioaktivní soupravy neboli kity, které se v čase použití označí patřičným radionuklidem.

Většina radiofarmak se podává injekčně, ale mohou být také podávána perorálně ve formě roztoků a želatinových tobolek, nebo se podávají inhalačně (Lázníček, 1998).

2.1 Diagnostická radiofarmaka

V nukleární medicíně jsou radiofarmaka používána především k diagnostickým účelům. Tato radiofarmaka slouží především ke zobrazení a studiu funkce tkání a orgánů vyšetřovaného pacienta. Používají se čisté nebo smíšené gama zářiče pro jednofotonovou emisní tomografii (SPECT), a pro pozitronovou emisní tomografii (PET) se používají radiofarmaka značená β^+ zářiči.

Nejpoužívanějším radionuklidem využívaným k přípravě diagnostických radiofarmak je metastabilní izotop technecia (^{99m}Tc). Radiofarmaka značená ^{99m}Tc tvoří asi 70% všech radiofarmak (Lang, 1998). ^{99m}Tc má široké spektrum uplatnění. Používá se například pro zobrazení kostí, plic, srdce, ledvin, štítné žlázy, lymfatických cest a uzlin, mozku, jater apod.

Kromě technecia jsou pro diagnostiku v nukleární medicíně uplatňovány i jiné radionuklidy. Například pro zobrazení skeletu se používají také radiofarmaka značená fluorem (^{18}F). Pro scintigrafii srdce se používá thallium (^{201}Tl), jód (^{123}I) a pozitronové (β^+) zářiče jako uhlík (^{11}C), rubidium (^{82}Rb) nebo fluor (^{18}F). K lokalizaci zánětů se běžně používá gallium (^{67}Ga) nebo fluor (^{18}F). U endokrinologického vyšetření je používán také jód (^{123}I nebo ^{131}I) (Seidl, 2012). Další diagnostická radiofarmaka jsou značená např.: indiem (^{111}In), dusíkem (^{13}N), kyslíkem (^{15}O), galliem (^{67}Ga), apod. (Kupka, 2007; Shuang, 2008; Lang, 1998).

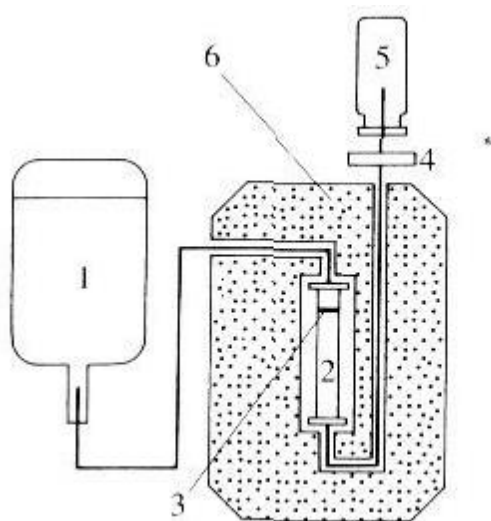
2.1.1 Technecium a radiofarmaka značená ^{99m}Tc

Technecium se nachází v periodické tabulce prvků mezi přechodnými kovy 7. skupiny. Je to šedý kov s teplotou tání 2156,85 °C. V přírodě se vyskytuje jen ve stopovém množství. Ve sloučeninách nabývá oxidačních čísel od +I po +VII, kdy

nejstálejší jsou sloučeniny s oxidačním číslem +IV a +VII. Technecium se získává z odpadních roztoků štěpných produktů po zachycení plutonia a uranu (Cotton, 1973). Technecium se používá k zabránění koroze oceli a také v lékařství, zejména v nukleární medicíně.

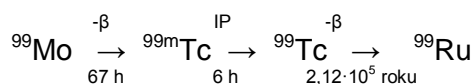
V nukleární medicíně jsou nejčastěji používána radiofarmaka značená metastabilním izotopem technecia (^{99m}Tc) (Lázníček, 1998). Je tomu tak pro jeho výhodné fyzikálně-chemické vlastnosti. ^{99m}Tc emituje gama záření s průměrnou energií 140 keV, což je optimální energie pro detekci, a má také relativně krátký poločas přeměny ($t_{1/2} = 6$ hod). Radiační zátěž organismu při vyšetření není tudíž velká a přitom jsou získávány kvalitní diagnostické informace (Lázníček, 1998).

Metastabilní izotop technecia se připravuje v $^{99}\text{Mo}/^{99m}\text{Tc}$ generátoru (Obr. 1). Jeho základem je kolona s oxidem hlinitým, na niž je navázaný mateřský radionuklid molybdenu ^{99}Mo . Tato kolona je odstíněná olověným krytem. Na kolonu je napojen zásobník s elučním činidlem, kterým je izotonický roztok chloridu sodného a také lahvička, do níž je jímán eluát, tedy technecium. Z mateřského jádra ^{99}Mo ($t_{1/2} = 67$ hod), které je na kolonu vázáno ve formě molybdenanu amonného, vzniká β^- přeměnou ^{99m}Tc ve formě technecistanu amonného. Zatímco technecium, které je slabě vázáno na kolonu, je z kolony vymýváno elučním činidlem, pevně vázaný molybden zůstává na koloně a přeměnou poskytuje další ^{99m}Tc .

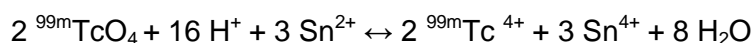


Obr. 1: $^{99}\text{Mo}/^{99m}\text{Tc}$ generátor (1 - zásobník s elučním roztokem, 2 - kolona, 3 – mateřský radionuklid ^{99}Mo , 4 – filtr, 5 – lahvička s eluátem ^{99m}Tc , 6 – olovněné stínění) (Chalabala, 2001)

Dceřiné jádro ^{99m}Tc ($t_{1/2} = 6$ hod) se dále izomerickým přechodem (IP) přeměňuje na ^{99}Tc . Tento produkt však není stabilní a dále se přeměňuje na stabilní izotop ^{99}Ru . Poločas této přeměny je ovšem velice dlouhý ($t_{1/2} = 2,12 \cdot 10^5$ let). Příprava ^{99m}Tc je znázorněna na následujícím schématu:



Technecium je z $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$ generátoru získáváno v podobě technecistanu sodného. Technecistan sodný nevykazuje ale téměř žádnou reaktivitu, proto musí být redukován z oxidačního stavu +VII nejčastěji na +IV. Redukčními činidly jsou dihydrát chloridu cínatého, tetrahydridoboritan sodný, kyselina chlorovodíková, kyselina bromovodíková, kyselina jodovodíková, kyselina askorbová s chloridem železitým nebo chloridem železnatým. Nejčastěji se ale používá kyselý roztok cínatých iontů (Lázníček, 1998). Redukce cínatými ionty je znázorněna následující rovnicí:



Redukovaná forma technecia se poté váže na chelatační činidlo, čímž vzniká termodynamicky i kineticky stabilní komplex $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -chelát. Technecium lze vázat na hydrofilní látky, které obsahují určité funkční skupiny (např.: OH, COOH, NH₂, SH), nebo na biologicky aktivní látky, často lipofilní povahy derivatizované bifunkčními cheláty obsahující funkční skupiny (např.: EDTA, DTPA, -SH, apod.) schopné vázat kovový radionuklid a další funkční skupiny tvořící vazbu s makromolekulou (Lázníček, 1998).

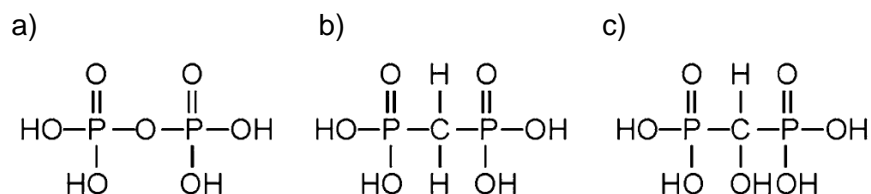
Mezi klinicky nejčastěji používaná radiofarmaka značená $^{99\text{m}}\text{Tc}$ patří např.: makroagregovaný albumin (MAA), který slouží k zobrazení plicní perfúze; dále hydroxymetylen difosfonát (HDP), který se používá pro zobrazení skeletu; k zobrazení mozku se používá hexamethylenpropylenaminoxim (HMPAO) a ethylencysteindimer (ECD); koloidní síra (SC) se používá pro zobrazení jater a sleziny; k vyšetření ledvin se používá dietyltriamin pentaacetát (DTPA) a merkptoacetyltriglycin (MAG3); methoxyisobutylisonitrát (MIBI) a tetrafosmin slouží k detekci abnormalit perfúze myokardu, MIBI se také používá k detekci karcinomu prsní tkáně a štítné žlázy; dimerkaptojantarová kyselina (DMSA) se používá k zobrazení kůry ledvin nebo se používá k detekci karcinomu štítné žlázy; apod. (Sharp, 2005; Lang, 1998). Ve své bakalářské práci jsem se zabývala studiem farmakokinetiky následujících $^{99\text{m}}\text{Tc}$ značených radiofarmak v laboratorních myších.

2.1.1.1 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -hydroxymetylen difosfonát (HDP)

Hydroxymetylen difosfonát (HDP), methylen difosfonát (MDP) a pyrofosfonát (PYP) patří do skupiny fosfátových a fosfonátových radiofarmak. Struktury těchto sloučenin jsou znázorněny na obrázku 2. Kit pro přípravu $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -HDP obsahuje dinatrium-oxidronát. Pomocnými látkami jsou dihydrát chloridu cínatého, kyselina gentisová, kyselina chlorovodíková, chlorid sodný a hydroxid sodný. Radioaktivní značení se provádí přidáním technecistanu do lahvičky a následným promícháním. Účinnost značení je větší než 95%. Po označení se kit uchovává při teplotě 15 - 30 °C (Saha, 2010).

Vyšetřovaným pacientů se intravenózně podává dávka v rozsahu 300-740 MBq. Po aplikaci je $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -HDP rychle distribuován do extracelulárního prostoru. Třicet minut po aplikaci je v krevním oběhu přítomno asi 10 % podané aktivity. Vylučování z organismu probíhá ledvinami. Po 6 hodinách je vyloučeno přibližně 60% aplikované dávky.

$^{99\text{m}}\text{Tc}$ -HDP jsou používány pro zobrazení kostí. Využívá se při diagnostice primárních a sekundárních nádorů, zánětech kostní tkáně, zlomeninách a degenerativních onemocněních kostního systému (Lázníček, 1998).



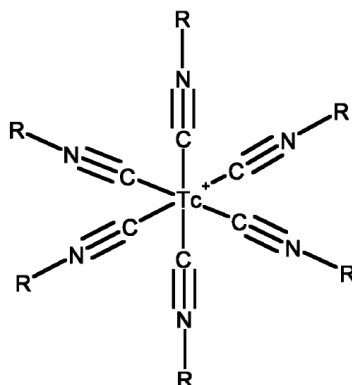
Obr. 2: a) pyrofosfát (PYP), b) methylen difosfonát (MDP), c) hydroxymethylen difosfonát (HDP) (Saha, 2010)

2.1.1.2 ^{99m}Tc-methoxyisobutylisonitrát (MIBI)

Kit pro přípravu radiofarmaka obsahuje lyofilizovanou směs chelatačního činidla ve formě měďných iontů, dále sůl tetrakis-(2-MIBI)-tetrafluoroborát, chlorid cínatý, citrát sodný, mannitol a L-hydrchlorid cystein monohydrát. Značení se provádí přidáním dostatečného množství technecistanu do lahvičky kitu a směs je zahřívána ve vroucí vodní lázni po dobu 10 minut, pH připravovaného roztoku je 5,5. Účinnost značení je větší než 90% (Saha, 2010). Chemická struktura je znázorněna na obrázku. 3.

^{99m}Tc-MIBI se podává intravenózně. Doporučená dávka se pohybuje mezi 200 - 2000 MBq v závislosti na hmotnosti pacienta a zobrazované části, např.: pro zobrazení abnormality v prsu se podává 750 - 1000 MBq, pro zobrazení hyperfunkční příštítné žlázy se podává aktivita v rozmezí 185 - 1000 MBq a pro zobrazení perfúze myokardu je dávka 400 - 900 MBq. Biologický poločas, tj. doba, za kterou se množství dané látky sníží v organismu na polovinu, je asi 3 hodiny. Zhruba 27 % injekčně podané látky se do 24 hodin vyloučí ledvinami a 33 % odchází do 48 hodin stolicí.

^{99m}Tc-MIBI se používá především pro detekci abnormalit perfúze myokardu, zejména pro detekci ischemie myokardu a infarktu. Dále se používá také k detekci nádorů prsu nebo tkáně příštítné žlázy.



Obr. 3: ^{99m}Tc-MIBI, R = 2-methoxyisobutyl (Zolle, 2007)

2.1.1.3 ^{99m}Tc-makroagregovaný albumin (MAA)

^{99m}Tc-MAA se připravuje zahříváním směsi lidského sérového albuminu (HSA) a chloridu cínatého dihydrátu nebo tetrahydrátu v acetátovém pufru (pH = 5) při 80 - 90 °C po dobu asi 30 minut. Částice se poté promyjí fyziologickým roztokem, aby se odstranily volné cínaté ionty, a poté jsou stočeny na centrifuze. Po odstranění supernatantu jsou

částice rozptýleny v pufru. Po označení roztokem technecistanu, vznikne radioaktivní suspenze o velikosti částic 10 - 90 μm (Saha, 2010).

Makroagregovaný albumin se podává intravenózně. Doporučená dávka pro dospělého člověka je 40 - 150 MBq. Před podáním by měl být obsah lahvičky důkladně promíchán, aby byla suspenze homogenní. Částice větší než 150 μm nesmí být aplikovány, protože by tím vzniklo riziko ucpání větších tepen, což by mohlo zapříčinit místní plicní embolii (Lázníček, 1998). Za 5 - 10 minut po aplikaci je více než 80 % částic zachyceno v plicních kapilárách. Biologický poločas je 3 - 15 hodin. Během této doby dochází k destrukci částic, které jsou následně fagocytovány retikuloendoteliálním systémem (RES). Volná aktivita a aktivita uvolněná z částic biotransformací je vylučovaná ledvinami.

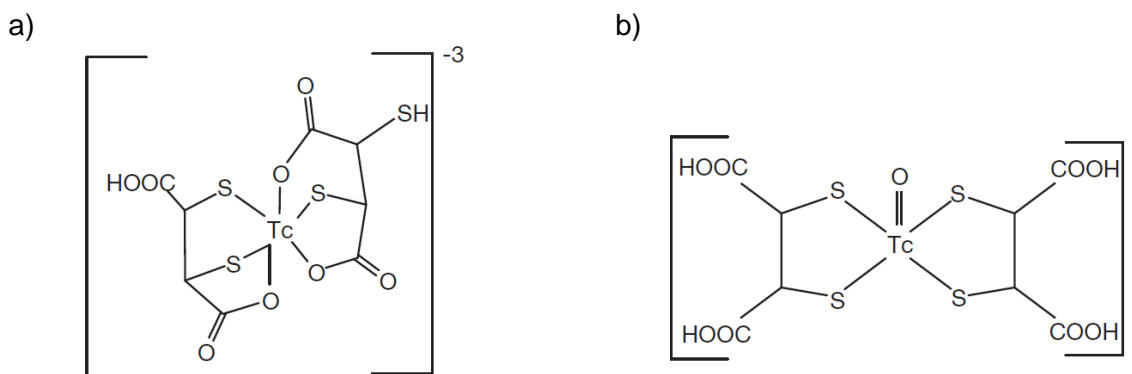
Makroagregovaný albumin se používá k zobrazení prokrvení plic, detekci hluboké žilní krevní sraženiny v dolních končetinách (Saha, 2010).

2.1.1.4 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -dimerkaptojantarová kyselina (DMSA)

Kyselina dimerkaptojantarová se stejně jako $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -HMPAO vyskytuje jako meso- a d,l-izomery. Kit pro přípravu radiofarmaka $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -DMSA obsahuje přibližně 90 % meso-izomeru, 10 % d,l-izomerů a dihydrát chloridu cínatého v lyofilizované formě (Saha, 2010). Značení je prováděno přidáním vhodného množství technecistanu do lahvičky kitu. Směs je dále inkubována při pokojové teplotě po dobu 10 minut. Výtěžek značení je větší než 95 %. Vzhledem k tomu, že je $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -DMSA citlivá na světlo, měly by být kity uloženy ve tmě při teplotě 15 - 30°C (Saha, 2010). Pokud je $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -DMSA připravována v kyselém pH, je oxidační stav technecia v tomto komplexu +III. Pokud je naopak připravována v alkalickém prostředí, oxidační stav technecia je +V. Chemické struktury obou komplexů jsou znázorněny na obrázku. 4.

$^{99\text{m}}\text{Tc}$ -DMSA se podává intravenózně. Doporučená aktivita pro dospělého člověka je 30 – 120 MBq. Buňky proximálních ledvinových tubulů $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -DMSA zadržují a jen část je vylučovaná močí. Při normální funkci ledvin tak dochází k hromadění 40 - 50 % aktivity v kůře ledvin (Teplan 2006). V játrech se zachycuje méně než 3 % aplikované aktivity a ve slezině 1 %. Snížená funkce ledvin se obvykle projevuje významným zvýšením zachytu aktivity v játrech a snížením v ledvinách. Za 24 hodin se 35 – 40 % aplikované dávky vyloučí močí.

Jelikož se $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -DMSA vyskytuje ve dvou komplexech, liší se tyto komplexy svým biologickým chováním. $^{99\text{m}}\text{Tc}^{3+}$ -DMSA se používá pro zobrazení kůry ledvin, zatímco $^{99\text{m}}\text{Tc}^{5+}$ -DMSA se používá k detekci karcinomu štítné žlázy (Saha, 2010).

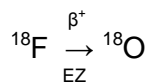


Obr. 4: a) $^{99m}\text{Tc}^{3+}$ DMSA, b) $^{99m}\text{Tc}^{5+}$ DMSA (IAEA 2008)

2.1.2 Fluor a radiofarmaka značená ^{18}F

Fluor se nachází v periodické tabulce prvků mezi nepřechodnými prvky 17. skupiny. Je to prvek s největší elektronegativitou a je také velmi reaktivní. S fluorem nereaguje pouze dusík a reakce s kyslíkem a uhlíkem probíhají jen za určitých podmínek. Fluor je nazelenalý plyn s dráždivým zápachem. Je jedovatý a toxický a má silné oxidační účinky. Fluor společně s chlorem, bromem jodem a astatem patří do skupiny halogenů. Halogeny se v přírodě vyskytují ve formě solí - halogenidů. V případě fluoru jde o fluorid (CaF_2) neboli kazivec, kryolit (Na_3AlF_6) a fluoroapatit ($\text{Ca}_5\text{F}(\text{PO}_4)_3$). Fluoridy jsou v malé koncentraci obsaženy také v povrchových a oceánských vodách (Klikorka, 1989). Fluor se používá v raketových motorech a také jako činidlo v řadě organických reakcí. Náhradou vodíku za fluor u alifatických uhlovodíků vznikají freony. Ty se využívají ve stavebnictví a textilním průmyslu. Fluoridy jsou součástí zubních past, slouží také k ochraně dřeva a jsou používány jako katalyzátory. Radioizotop fluoru - ^{18}F je významným zdrojem pozitronů, který našel uplatnění v nukleární medicíně při vyšetřeních pomocí pozitronové emisní tomografie (PET).

Fluor-18 (^{18}F) je radioizotop fluoru. Je nejrozšířenějším radionuklidem pro pozitronovou emisní tomografii (Coenen, 2010). Jeho poločas rozpadu je 110 minut. Z 97 % je přeměňován β^+ rozpadem a ze 3 % elektronovým záchytem (EZ). Oběma způsoby vzniká stabilní izotop kyslíku (^{18}O) viz následující schéma:



Při přeměně beta jsou emitovány pozitrony o energii 0,633 MeV s následným anihilačním zářením gama o energii 0,511 MeV. Díky nízké energii pozitronů je jejich dosah ve tkáni relativně krátký, což vede k vysokému rozlišení při PET vyšetření (Procházka, 2009).

Mezi klinicky nejčastěji používaná radiofarmaka značená ^{18}F patří 2- ^{18}F fluor-2-deoxy-D-glukosa (FDG), která je využívána pro zobrazení mozku a srdce a také k detekci primárních tumorů a metastáz; fluorid sodný se používá k diagnostice lokálních změn ve skeletu; 6- ^{18}F -fluoro-3,4-dihydroxyfenylalanin (FDOPA) se používá k diagnostice neurodegenerativních onemocnění (např.: Parkinsonovy choroby) a také lokalizaci tumorů; k lokalizaci nádorů se také používá fluorothymidin (FLT) a O-(2-[^{18}F]fluoroethyl)-L-tyrosin (FET); ^{18}F -cholin se používá k zobrazení karcinomu prostaty a detekci kostních metastáz; apod. (Saha, 2010; Coenen, 2010; Varagnolo, 2000; Adam, 2009). Ve své

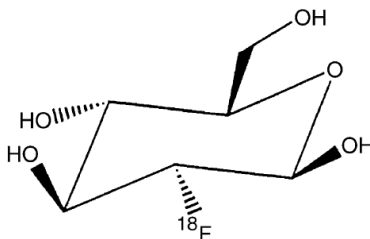
bakalářské práci jsem se zabývala studiem farmakokinetiky ^{18}F -fluorodeoxyglukosu (FDG) v laboratorních myších.

2.1.2.1 ^{18}F -fluorodeoxyglukosa (FDG)

Toto radiofarmakum obsahuje účinnou látku 2-(^{18}F)fluor-2-deoxy-D-glukosu a chlorid sodný jako pomocnou látku. Fluorodeoxyglukosa (Obr. 5) se aktivními transportními mechanizmy dostává do buňky. Zde dochází k její fosforylaci hexokinázou na 2-FDG-6-fosfát, který dále není metabolizován (Saha, 2010).

Obvyklá dávka pro vyšetřovaného pacienta je 150 - 300 MBq pro zobrazení mozku a srdce a 300 - 600 MBq pro vyšetření trupu. ^{18}F -FDG bývá aplikována injekčně. Po podání je fluorodeoxyglukosa velmi rychle vychytávána z krevního řečiště a její distribuce v organismu sleduje metabolismus D-glukosy. K vylučování dochází ledvinami, kterými je vylučováno asi 30 % podané dávky.

^{18}F -FDG se používá pro zobrazení oblastí s vysokým metabolismem glukosy, především pro studium metabolismu v mozku a srdce. Slouží také k lokalizaci primárních nádorů a metastáz, zánětlivých ložisek a detekci epilepsie.



Obr. 5: ^{18}F -fluorodeoxyglukosa (FDG) (Saha, 2010)

2.2 Terapeutická radiofarmaka

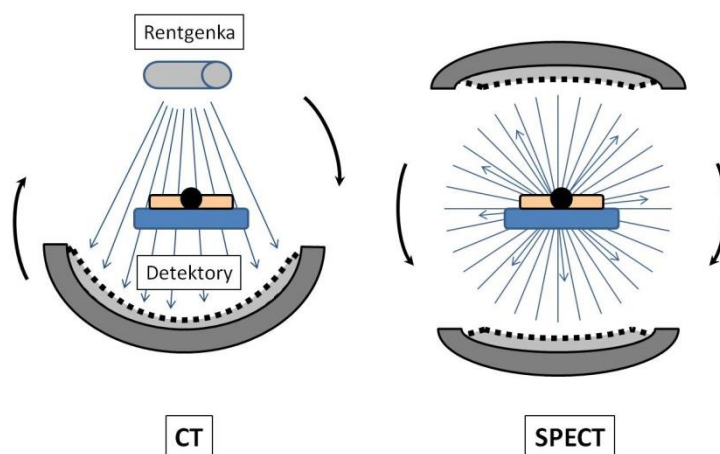
Přestože je většina radiofarmak používána pro diagnostické účely, existují i radiofarmaka s terapeutickými účinky. Terapeutický účinek těchto farmak spočívá v biologickém účinku emitovaného záření, které svým působením vyvolá vratné nebo nevratné poškození buněk, popřípadě jejich usmrcení. V ideálním případě by měli být tomuto účinku vystaveny pouze nádorové buňky a nemělo by dojít k poškození zdravé tkáně. Cílem také je, aby došlo k ozáření patologické tkáně z minimální vzdálenosti. Proto se k léčbě používají primárně radionuklidy emitující β^- záření a perspektivní jsou i některé alfa zářiče.

Čistým zdrojem β^- záření jsou např.: fosfor (^{32}P), yttrium (^{90}Y), nebo se také používají smíšené beta a gama zářiče, např.: stroncium (^{89}Sr), jód (^{131}I) (Lázníček, 1998). Často používaným radionuklidem je jód (^{131}I), který je používán především k léčbě onemocnění štítné žlázy, např. tyreotoxikózy nebo karcinomu štítné žlázy. Používá se také k léčbě maligního feochromocytomu (^{131}I -MIBG) a dalších nádorových onemocnění (^{131}I značené monoklonální protilátky). Yttrium (^{90}Y) značené koloidy se používají k léčbě zánětlivého onemocnění kolenního kloubu a nádorových procesů v serózních dutinách doprovázené výpotky. Fosfor (^{32}P) se zase používá k terapii myeloproliferativních chorob, mezi které patří např.: chronická myeloidní leukemie, pravá polycytemie, esenciální

trombocytémie a myelofibróza (Adam, 2008). Radionuklidy stroncia (^{89}Sr), yttria (^{90}Y), samaria (^{153}Sm) a rhenia (^{186}Re) se používají u paliativní terapie nádorů kostí (Lázníček, 1998). Dalšími radionuklidy používanými k terapeutickým účelům jsou např.: kobalt (^{60}Co), který je součástí Leksellova gama nože (Ullmann, 2002); cesium (^{137}Cs), iridium (^{192}Ir), palladium (^{103}Pd), jód (^{125}I), holmium (^{166}Ho), rhenium (^{188}Re), lutecium (^{177}Lu), apod. (Kupka, 2007; Shuang, 2008; Lang, 1998).

3 RADIOLOGICKÉ ZOBRAZOVACÍ METODY

Mezi radiologické zobrazovací metody se řadí jak transmisní a emisní tomografické metody (Obr. 6), tak nukleární magnetická rezonance. U transmisního vyšetření je zdroj záření uložen mimo tělo pacienta. Dochází zde k detekci fotonů, které prostupují skrz pacientovo tělo a dopadají na detektor. Příkladem transmisního vyšetření je počítačová tomografie (CT). Naopak u emisních metod se zdroj záření nachází uvnitř těla pacienta a emitované záření je pak zachyceno detektory. Zdrojem záření bývá radiofarmakum, které je pacientovi aplikováno různými způsoby, např.: injekčně ve formě roztoku, perorálně v podobě želatinových tobolek apod. V emisní tomografii existují dvě odlišné metody - jednofotonová emisní počítačová tomografie (SPECT) a pozitronová emisní tomografie (PET). Tyto metody se od sebe liší používanými radionuklidy, vybavením přístrojů i klinickými aplikacemi (Kupka, 2007).



Obr. 6: Schéma transmisní (vlevo) a emisní (vpravo) počítačové tomografie (převzato z: Radionuklidová vyšetření plic)

Další zobrazovací metodou používanou v radiologii je magnetická rezonance (MR), která využívá silné magnetické pole a krátkých impulzů rádiových vln (Hildebrandt, 2008). MR umožňuje zobrazit a rozlišit některé měkké tkáně ve vysokém kontrastu.

V dnešní době se velmi často používají hybridní systémy, které kombinují dvě nebo více zobrazovacích metod např.: SPECT/CT nebo PET/CT (Kupka, 2007). Výhoda hybridních systémů je v tom, že je možné získat současně jak anatomické, tak funkční záznamy obrazů, jejichž zfúzování umožňuje přesnou lokalizaci daného signálu (Seidl, 2012). V poslední době se namísto hybridních systémů s CT začínají prosazovat systémy s magnetickou rezonancí (PET/MR, SPECT/MR). Výhodou použití MR místo CT je především lepší zobrazení měkkých tkání, dále také vyšší kontrast a pacient je zatížen menší dávkou ionizujícího záření apod. (Seidl, 2012).

3.1 Počítačová tomografie (CT)

Počítačová, neboli výpočetní tomografie (CT) byla objevena koncem 70. let 20. století (Connor, 2013). Tato vyšetřovací metoda umožňuje zobrazení vnitřních orgánů pacienta pomocí rentgenového záření. Vyšetření se provádí přístrojem, který se nazývá počítačový tomograf (Obr. 7).

Počítačový tomograf je tvořen zdrojem rentgenového záření – rentgenkou a detektorem. Principem vyšetření je, že fotony charakteristického X-záření pronikají tkání, kterou jsou více či méně pohlcovány. Míra pohlcení závisí na hustotě dané tkáně. Zatímco kost má díky přítomnosti fosforečnanu vápenatého vysokou hustotu a záření jí vůbec neproniká, měkká tkáň je méně hustá a záření jí proniká daleko lépe. Proniklé záření je pak zachyceno detektory. Nevýhodou CT je neschopnost od sebe rozlišit různé druhy měkkých tkání kvůli jejich homogenní hustotě. Výjimku tvoří plíce a tuk, které mají díky přítomnosti vzduch respektive velkého množství uhlovodíků jedinečné hustoty. Za účelem rozlišení jednotlivých měkkých tkání, byla vyvinuta řada kontrastních látek. Většina těchto látek obsahuje atomy jódu, zlata nebo barya, které mají schopnost pohltit rentgenové záření a tím zvýšit kontrast v daném orgánu (Connor, 2013).

Během CT skenování jsou zaznamenávány projekce z různých úhlů pacientova těla. Ty jsou následně pomocí počítače rekonstruovány a výsledkem jsou trojrozměrné obrazy, které poskytují informace o anatomii dané tkáně (Seidl, 2012). Mezi výhody CT vyšetření patří neinvazivnost, vysoké prostorové rozlišení umožňující získání obrazových dat na submilimetrové úrovni a v neposlední řadě jeho vysoká rychlost. Doba skenování se obvykle pohybuje v rozmezí od 0,5 do 5 minut (Connor, 2013).



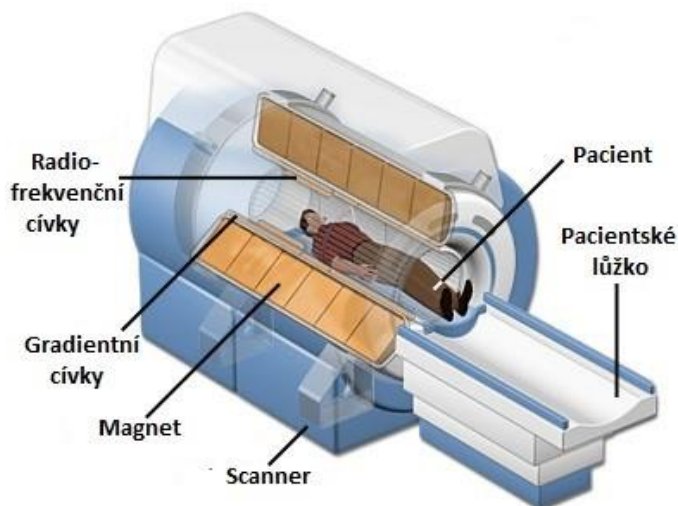
Obr. 7: Počítačový tomograf LightSpeed VCT (převzato z: VCT 64 | BC Technical)

3.2 Magnetická rezonance (MR)

Magnetická rezonance (Obr. 8) využívá silné magnetické pole a krátkých impulzů rádiových vln (Hildebrandt, 2008). Princip MR je založen na tom, že atomy s lichým počtem protonů vykazují vlastní magnetický moment (Hrazdira, 2004). Takovým atomem, který se ve velké míře vyskytuje v lidském těle, je vodík. Využitelné jsou také atomy uhlíku (^{13}C), sodíku (^{23}Na), fosforu (^{31}P), apod. (Seidl, 2012). Magnetický moment daného atomu je způsoben rotací protonů v jádře, neboli spinem (Hrazdira, 2004). Pokud tyto atomy vložíme do silného magnetického pole, budou se orientovat paralelně. Působením

krátkých impulsů rádiových vln, dochází k vybuzení atomů do vyšší energetické hladiny neboli rezonanci jader. Při návratu do původního stavu vysílají slabý MR signál, který je detekován (Verner, 2004; Hrazdira, 2004). Výsledkem jsou černo-bílé řezy tkání.

Výhodou magnetické rezonance je, že umožňuje zobrazit a rozlišit některé měkké tkáně ve vysokém kontrastu. Tento kontrast je způsoben rozdílným obsahem vody v tkáních. MR může například rozlišit bílou hmotu mozkovou s vyšším obsahem tuku od šedé kůry s vyšším obsahem vody, ovšem kosti, které neobsahují téměř žádnou vodu, se nezobrazují (Verner, 2004). Nevýhodou MR vyšetření je především vysoká hluchost, nároky na prostor, cena, apod.



Obr. 8: Magnetická rezonance (převzato z: Magnetická rezonance (6): Jak vypadá přístroj pro vyšetření magnetickou rezonancí?)

3.3 Jednofotonová emisní počítačová tomografie (SPECT)

Na rozdíl od CT se u SPECT nachází zdroj záření uvnitř těla pacienta. Před samotným vyšetřením se tedy pacientovi podává radiofarmakum, které obsahuje radionuklid emitující gama záření. Toto záření je detekováno scintilačními kamerami s jednou nebo více detekčními hlavami. Scintilátor je nejčastěji tvořen deskou z krystalů jodidu sodného aktivovaného thaliem (NaI(Tl)) (Ullmann, 2002). Na jedné straně této desky se nacházejí fotonásobiče, které jsou v současné době nahrazovány digitálními snímači (Hrazdira, 2004). Před samotným scintilátorem se nachází kolimátor, jehož úkolem je propustit pouze gama záření, které dopadá kolmo na detektory. Celý tento systém je umístěn ve světlotěsném hliníkovém pouzdře (Ullmann, 2002). Scintilační kamery se během vyšetření otáčejí postupně po 3° až 10° kolem těla pacienta a zaznamenávají projekce z různých úhlů pohledu (Saha, 2010; Kupka, 2007). Po nasbírání dat dochází pomocí počítače k jejich rekonstrukci. Výsledkem je trojrozměrný obraz (Hrazdira, 2004).

SPECT nám dává informace o funkci dané tkáně (Seidl, 2012). SPECT se nejčastěji používá např. k vyšetřením mozku, srdce, skeletu, lokalizaci nádorů, apod. (Sharp, 2005). Nevýhodou SPECT vyšetření oproti CT je menší rozlišení, které činí 5 - 20 mm a dlouhá doba vyšetření. Další nevýhodou této metody je možnost získání nepřesných výsledků vlivem zeslabení záření, které je způsobeno Comptonovým nebo fotoelektrickým jevem. Výhodou oproti CT je získání snímků s vyšším kontrastem a také menší radiační zátěž pro pacienta (Kupka, 2007). Často se tedy využívá kombinace obou metod ve formě hybridního SPECT/CT zobrazovacího systému znázorněna na obrázku 9.



Obr. 9: Zobrazovací systém SPECT/CT NM/CT640 (převzato z: GE's New Optima NM/CT640 SPECT/CT Systém)

3.4 Pozitronová emisní tomografie (PET)

V pozitronové emisní tomografii se používají radiofarmaka obsahující radionuklidy emitující pozitrony. Emitovaný pozitron se již po několika milimetrech sráží s elektronem a dochází k anihilaci. Takto vzniknou dva fotony, které se od sebe šíří v opačném směru. Fotony následně dopadají na detektory, které se otáčejí kolem pacientova těla (Hildebrandt, 2008). Signál vzniká pouze tehdy, pokud na detektory dopadnou oba fotony současně (Lázníček, 1998). Nasbírána data se pak pomocí počítače rekonstruuje do jednotlivých obrazů. V PET se nejčastěji používají multidetektorové systémy, které jsou tvořeny více malými detektory uspořádanými do jednoho nebo i více prstenců (Kupka, 2007). Detektory pro PET jsou tvořeny prvky s vyšším atomovým číslem, které jsou současně i hustě uspořádány. Dříve byly využívány BGO detektory, které jsou vyrobeny z oxidu bizmutu a germania (Lázníček, 1998). V dnešní době se spíše používají detektory z gadolinia a lutecia (GSO a LSO) (Seidl, 2012).

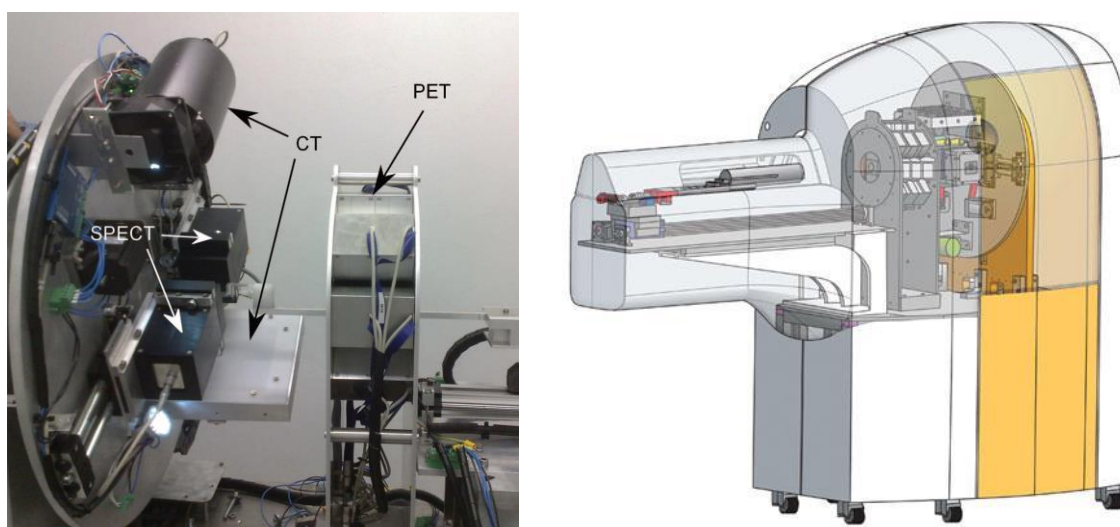
Nejčastěji se vyšetření PET využívá k diagnostice lymfomů, bronchogenních karcinomů, melanomů, nádorů v krční oblasti apod. (Seidl, 2012). Výhodou PET vyšetření je poskytnutí informací o funkci vyšetřovaného orgánu nebo tkáně a také menší radiační zátěž než u CT. Nevýhodou PET oproti CT je jeho horší prostorové rozlišení, delší doba vyšetření a také pořizovací cena přístroje (Kupka, 2007). S výhodou se ovšem obě zobrazovací metody využívají v kombinaci ve formě hybridního PET/CT zobrazovacího systému, který je znázorněn na obrázku 10.



Obr. 10: Zobrazovací systém PET/CT Biograph (Siemens Medical Solutions) (převzato z: Pozitronová emisní tomografie)

3.5 Zobrazovací metody v preklinickém výzkumu

Zobrazovací metody nukleární medicíny nacházejí uplatnění i v preklinickém výzkumu nových léčiv (Chapman, 2012) zejména k *in vivo* studiím, kdy jsou využívány rozmanité zvířecí experimentální modely. Pro tyto účely jsou využívány zobrazovací systémy pro malá laboratorní zvířata (mikro-SPECT, mikro-PET, mikro-CT, případně mikro-MR a jejich kombinace). Jejich výhodou je vysoká citlivost a také větší rozlišení v porovnání s klinicky používanými přístroji (Kupka, 2007). Na obrázku 11 je zobrazen kombinovaný zobrazovací systém pro malá laboratorní zvířata Albira PET/SPECT/CT, který byl používán k *in vivo* zobrazování v rámci této bakalářské práce.



Obr. 11: Albira PET/SPECT/CT zobrazovací systém pro malá laboratorní zvířata (F. Sánchez 2013; obrázek vpravo převzat z: In: BAIR: Beatson Advanced Imaging Resource)

EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

4 MATERIÁL A METODY

4.1 Pomůcky a chemikálie

$^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$ generátor UltraTechneKow (Mallinckrodt Medical, Nizozemsko), isofluran, fyziologický roztok, Albira PET/SPECT/CT imaging system pro malá laboratorní zvířata (Albira; Bruker Biospin Corporation, Woodbridge, CT, USA), kit pro přípravu $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -makroagregovaného albuminu (MAA) (G and G MEDICAL ENGINEERING spol. s r. o., Česká republika); $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -methoxyisobutylisonitrátu (MIBI) (CIS bio international, Francie); $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -dimerkaptojantarové kyseliny (DMSA) (ÚJV Řež, a. s, Česká republika).; $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -hydroxymetylen difosfonátu (HDP) (Mallinckrodt Medical B.V., Nizozemsko) a ^{18}F -fluorodeoxyglukosy (FDG) (IASON, Rakousko). Všechny kity jsou komerčně dostupné a byly zakoupeny Klinikou nukleární medicíny Fakultní nemocnice v Olomouci.

4.2 Příprava studovaných radiofarmak

Jednotlivá $^{99\text{m}}\text{Tc}$ radiofarmaka byla za aseptických podmínek připravena na Klinice nukleární medicíny FNOL. FDG byla vyrobena firmou IASON a následně byla na Klinice nukleární medicíny FNOL rozplněna do jednotlivých dávek pro pacienty.

Vzorky takto připravených radiofarmak byly v rámci této bakalářské práce použity ke studiu jejich farmakokinetiky v laboratorních myších.

4.2.1 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -hydroxymetylen difosfonát (HDP)

Za aseptických podmínek bylo do lahvičky kitu přidáno pomocí injekční stříkačky 4 ml technecistanu sodného s aktivitou 7,4 MBq. Poté byl její obsah protřepáván po dobu 30 sekund do úplného rozpuštění obsahu. Takto připravený roztok $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -HDP byl použit k aplikaci pokusnému zvířeti.

4.2.2 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -methoxyisobutylisonitrát (MIBI)

Příprava tohoto radiofarmaka byla prováděna za aseptických podmínek. Do lahvičky kitu bylo pomocí injekční stříkačky vpraveno 2 ml technecistanu sodného o aktivitě 200 MBq. Následně byl její obsah protřepáván. Dále byla lahvička umístěna do zahřívacího bloku vyhřátého na 100°C a inkubována 15 minut. Poté byla ponechána k vychladnutí po dobu 15 minut. Takto připravený roztok $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -MIBI byl použit k aplikaci pokusnému zvířeti.

4.2.3 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -makroagregovaný albumin (MAA)

Do lahvičky kitu byl za aseptických podmínek přidán roztok technecistanu sodného o objemu 6 ml a aktivitě 3,7 MBq. Obsah lahvičky byl poté promíchán do rozpuštění lyofilizované směsi. Následně byla lahvička ponechána 20 minut při pokojové teplotě. Takto připravený roztok $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -MAA byl před samotnou aplikací pokusnému zvířeti opakovaně promíchán.

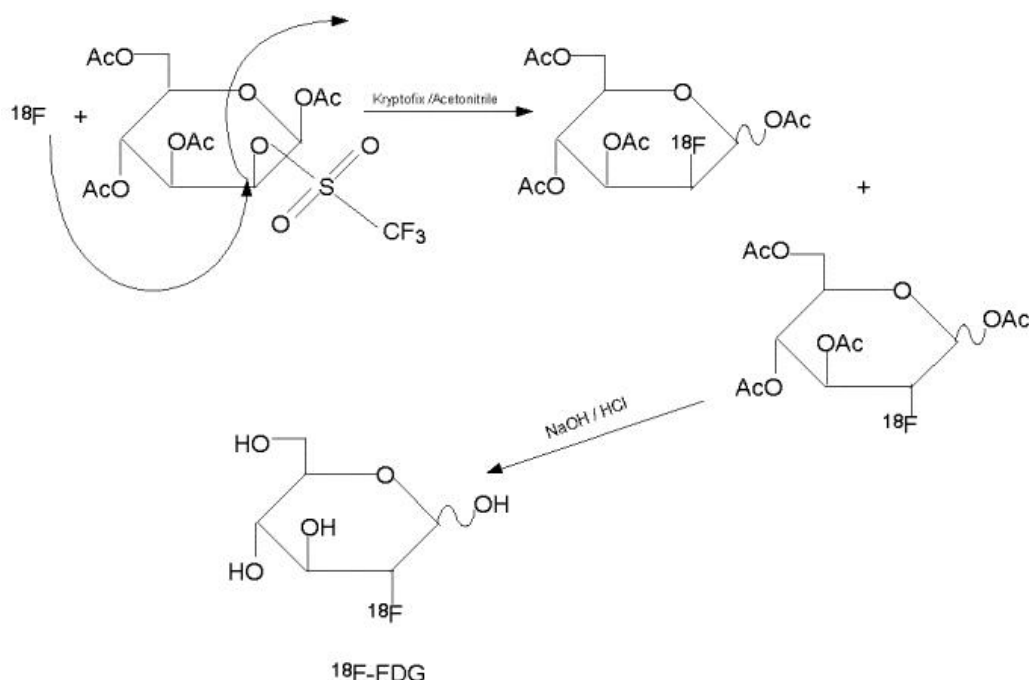
4.2.4 ^{99m}Tc-dimerkaptantarová kyselina (DMSA)

Pomocí injekční stříkačky bylo k obsahu lahvičky asepticky přidáno 5 ml roztoku technecianu sodného o aktivitě 150 MBq. Obsah lahvičky byl poté promíchán do rozpuštění lyofilizátu a ponechán 15 minut stát při pokojové teplotě. Takto připravený roztok ^{99m}Tc-DMSA byl aplikován pokusnému zvířeti.

4.2.5 ¹⁸F-fluordeoxyglukosa (FDG)

Syntéza fluordeoxyglukosy (Obr. 12) probíhá nukleofilní substitucí, kde nukleofil představuje iont ¹⁸F. Prekurzorem je molekula 1,3,4,6-O-acetyl-2-O-trifluormethansulfonyl-beta-D-mannopyranóza, ve které je na 2. uhlíku navázán triflát a uhlíky na pozici 1,3, 4 a 6 jsou chráněny acetylovou skupinou. Díky acetylové skupině na těchto místech nemůže probíhat fluorace. Fluorací dochází k odštěpení triflátu na 2. uhlíku. Poté jsou hydrolyzou odštěpeny acetylové skupiny a vzniká tak ¹⁸F-FDG. Hydrolyza může být kyselá, kdy je použita kyselina chlorovodíková, nebo bazická, kdy se používá hydroxid sodný. Celá reakce je katalyzovaná Kryptofixem 222TM a jako rozpouštědlo se nejčastěji používá acetonitril.

Tímto způsobem byla připravena ¹⁸F-FDG firmou IASON.



Obr. 12: Syntéza ¹⁸F-FDG (převzato z: Review of ¹⁸F-FDG Synthesis and Quality Control)

4.3 Experimenty na zvířatech

In vivo experimenty byly prováděny na samicích DBA/2 a SCID myši (Anlab, Praha, Česká Republika). Všechny *in vivo* pokusy byly provedeny v souladu se zákonem č.246/1992 Sb., na ochranu zvířat proti týrání a s povolením Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy (MSMT-18933/2013-1) a Odborné komise na ochranu zvířat proti týrání Lékařské fakulty Univerzity Palackého v Olomouci.

4.4 SPECT/CT zobrazování

Připravené roztoky ^{99m}Tc -makroagregovaného albuminu (MAA), ^{99m}Tc -hydroxymetylen difosfonátu (HDP), ^{99m}Tc -methoxyisobutylisonitrátu (MIBI) a ^{99m}Tc -dimerkaptojantarové kyseliny (DMSA) byly aplikovány retroorbitálně (r.o.) DBA/2 myším. Podaná dávka radioaktivity se pohybovala v rozmezí 15 - 25 MBq. SPECT/CT zobrazování bylo prováděno pomocí hybridního zobrazovacího zařízení pro malá laboratorní zvířata Albira PET/SPECT/CT. Po celou dobu vyšetření byla myším podávána inhalační anestezie (2% isofluran). U každého studovaného radiofarmaka bylo prováděno statické SPECT/CT skenování v časových intervalech 5 min, 30 min, 90 min a 240 min po aplikaci (SPECT 60 min a CT 15 min). Získaná data byla rekonstruována pomocí Albira softwaru (Bruker Biospin Corporation, Woodbridge, CT, USA). Po rekonstrukci byla data následně analyzována a zpracována v počítačovém programu PMOD (PMOD Technologies Ltd., Curych, Švýcarsko) a pro vytvoření 3D obrázků byl pak používán počítačový program VolView (Kitware, Clifton Park, NY, USA).

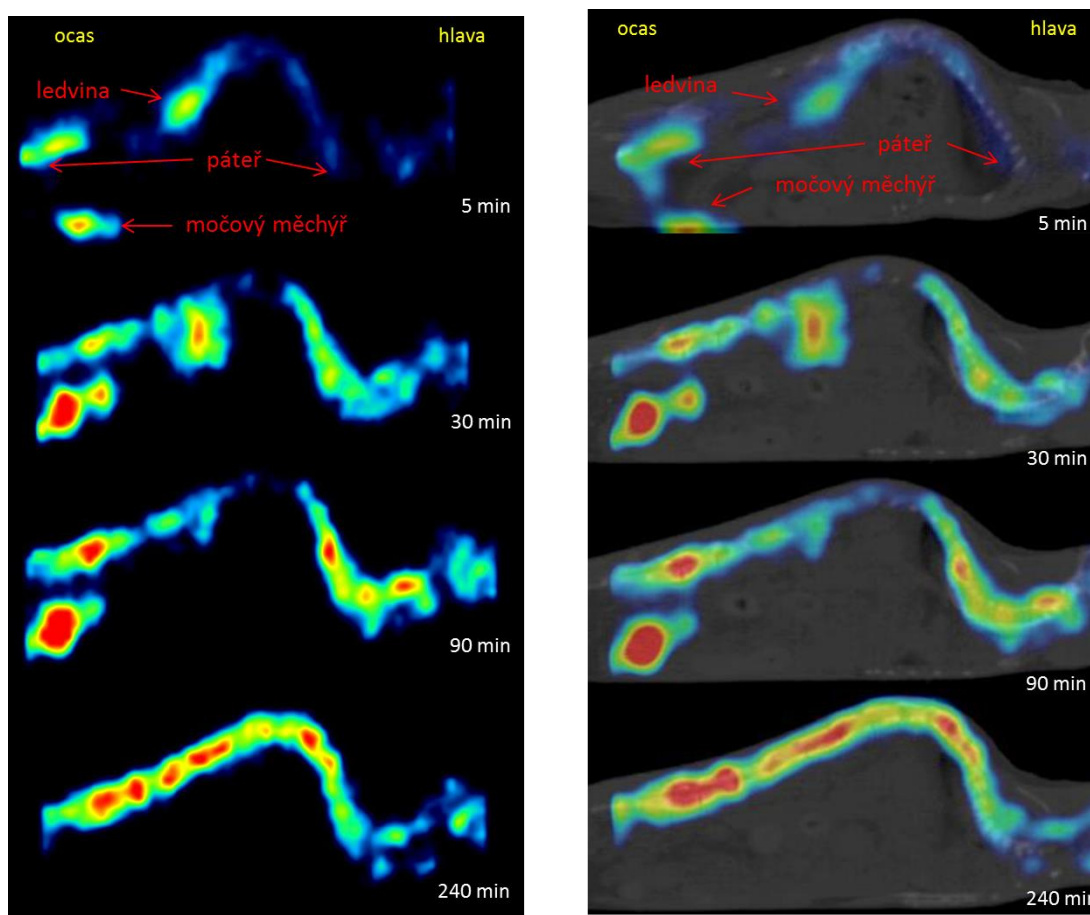
4.5 PET/CT zobrazování

Roztok ^{18}F -fluorodeoxyglukosy (FDG) byl retroorbitálně (r.o.) aplikován jednak zdravým DBA/2 myším a dále také nádorovým SCID myším. Podaná dávka radioaktivity se pohybovala kolem 10 MBq. PET/CT zobrazování bylo prováděno opět pomocí hybridního zobrazovacího zařízení pro malá laboratorní zvířata Albira PET/SPECT/CT. Po celou dobu vyšetření byla myším podávána inhalační anestezie (2% isofluran). Statické PET/CT skenování bylo prováděno v časových intervalech 5 min, 30 min a 90 min po podání ^{18}F -FDG (5 min PET a 15 min CT). Kromě statického skenování bylo také ihned po aplikaci ^{18}F -FDG prováděno dynamické PET skenování, které probíhalo po dobu 90 minut (1 obraz 5 min, celkem 18 obrázků). Získaná data byla rekonstruována pomocí Albira softwaru (Bruker Biospin Corporation, Woodbridge, CT, USA). Po rekonstrukci byla data následně analyzována a zpracována podobně jako u SPECT/CT zobrazování v počítačovém programu PMOD (PMOD Technologies Ltd., Curych, Švýcarsko). Pro vytvoření 3D obrázků byl pak používán počítačový program VolView (Kitware, Clifton Park, NY, USA).

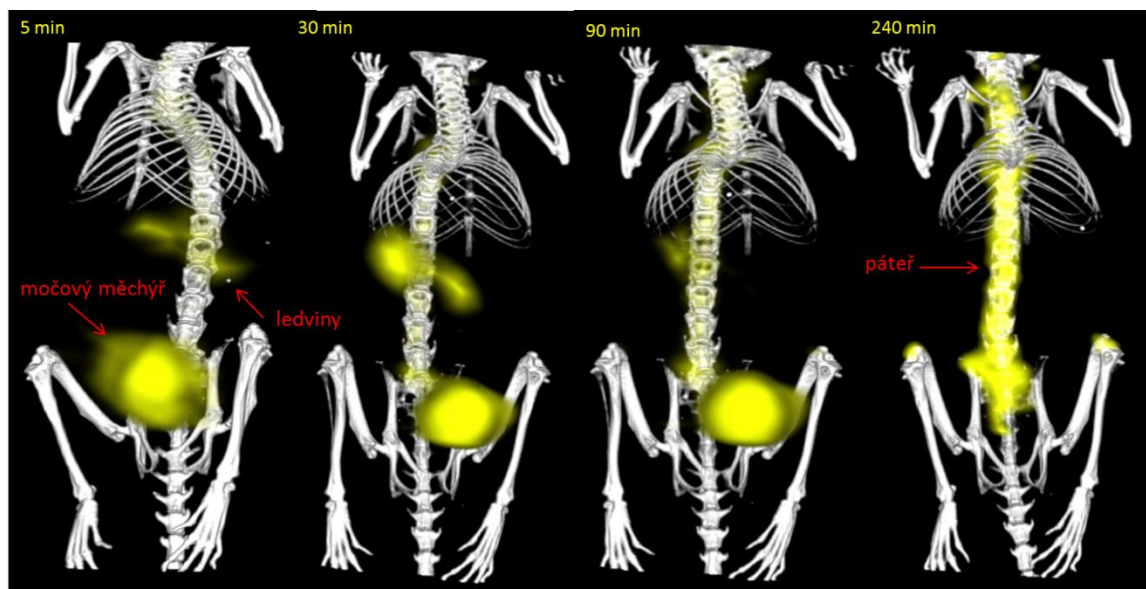
5 VÝSLEDKY

5.1 ^{99m}Tc -hydroxymetylen difosfonát (HDP)

Ihned po r.o. aplikaci byl přípravek rychle distribuován v organismu (Obr. 13, 14). Už po 5-ti minutách docházelo k jeho akumulaci v požadované tkáni, tedy skeletu, ale ne v dostatečné míře pro získání kvalitní diagnostické informace. Jelikož je ^{99m}Tc -HDP vylučován močí, nachází se daná část radiofarmaka již v 5-ti minutách po aplikaci také v ledvinách a močovém měchýři. V dostatečné míře se radioaktivita ve skeletu kumuluje 30 minut po aplikaci. Nicméně 30 minut po podání studované látky je ještě podstatná část radioaktivity zadržována v ledvinách a močovém měchýři. ^{99m}Tc -HDP je u laboratorních myší kompletně eliminováno přes ledviny v čase 90 – 240 min a od tohoto časového intervalu je možné sledovat radioaktivní signál zachycený již pouze ve skeletu.



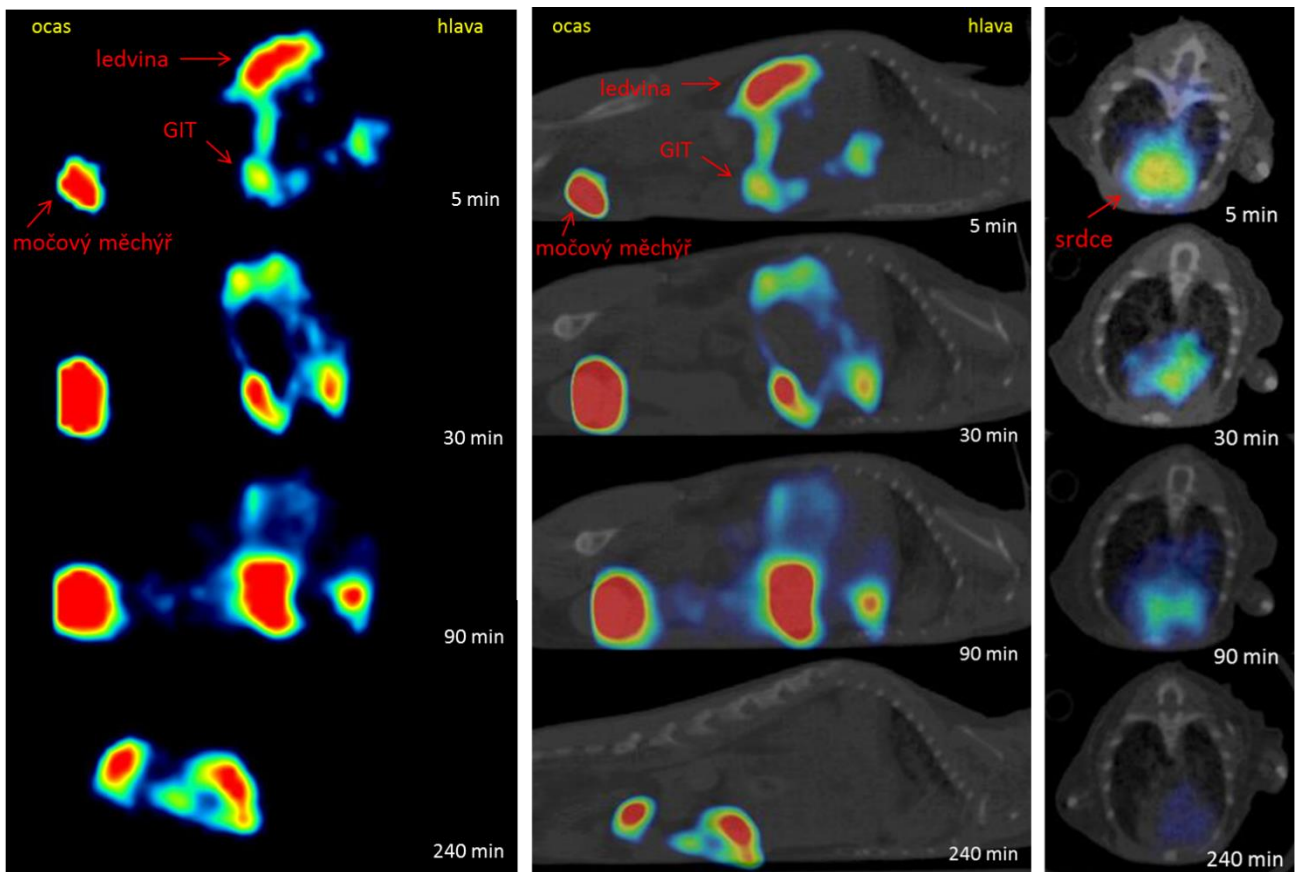
Obr. 13: Biodistribuce ^{99m}Tc -hydroxymetylen difosfonátu v organismu myši (sagitální rovina), SPECT obraz vlevo, SPECT/CT obraz vpravo



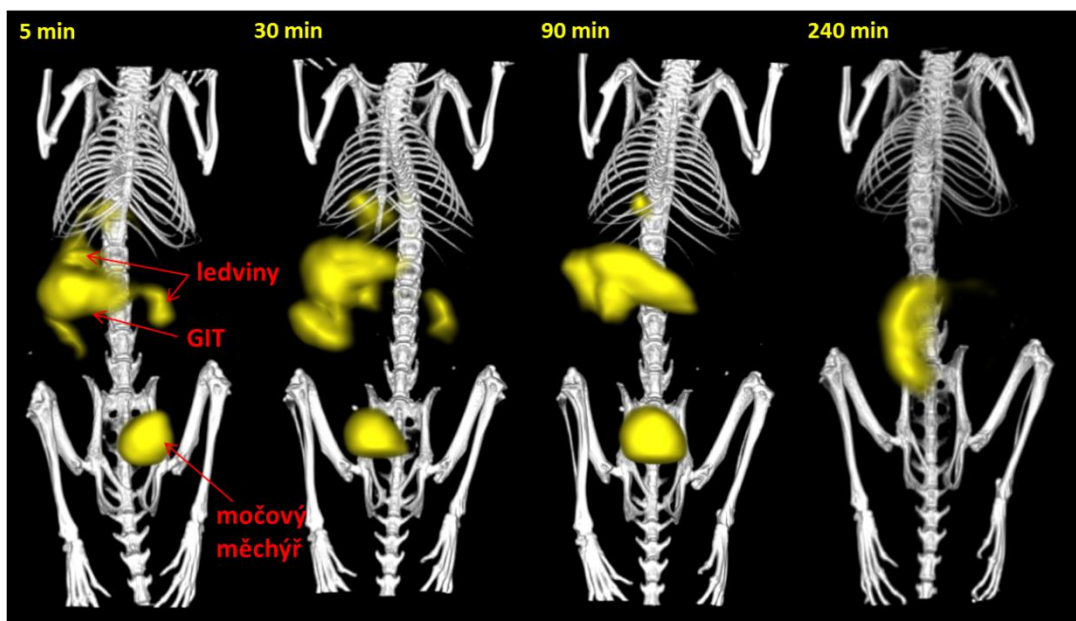
Obr. 14: Biodistribuce ^{99m}Tc -HDP v organismu myši 5 min, 30 min, 90 min a 240 min po aplikaci (3D SPECT/CT)

5.2 ^{99m}Tc -methoxyisobutylisonitrát (MIBI)

^{99m}Tc -MIBI je rychle distribuován do sledované tkáně, tedy do srdce (Obr. 15, 16). Vychytávání ^{99m}Tc -MIBI v srdci je lépe pozorovatelné z transverzálních řezů těla myši (Obr. 13 vpravo). Z těchto obrazů je dobře patrné, že se látka nejvíce kumuluje v srdci 5 minut po r.o. aplikaci a s postupem času dochází k její eliminaci. Již 5 minut po aplikaci se převážná část radiofarmaka kumuluje také v ledvinách a močovém měchýři, kdy koncentrace aktivity v ledvinách s narůstajícím časem klesá a v močovém měchýři je tomu naopak. Postupný nárůst aktivity je také patrný v gastrointestinálním traktu (GIT), neboť ^{99m}Tc -MIBI je z organismu vylučována jak močí, tak i stolicí.



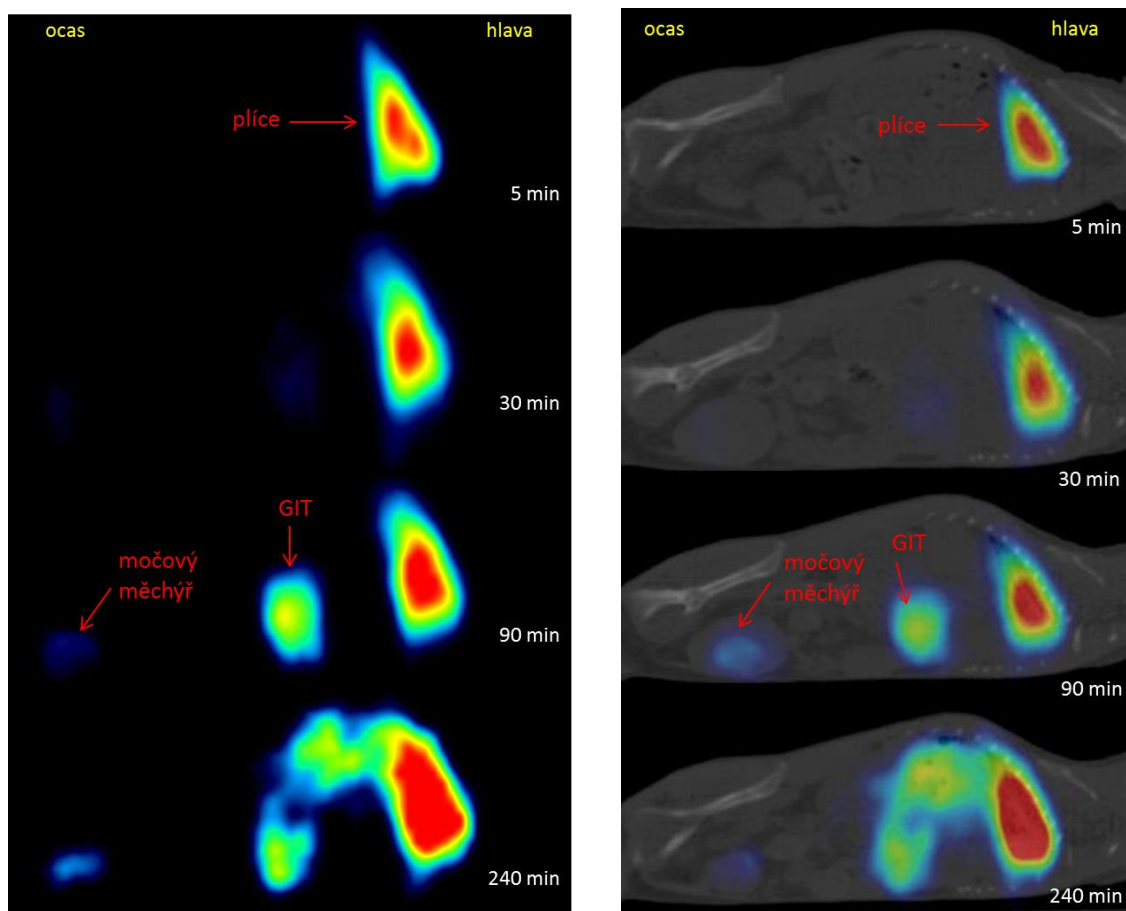
Obr. 15: Biodistribuce ^{99m}Tc -methoxyisobutylisonitrátu v organismu myši (sagitální rovina vlevo a uprostřed, transverzální rovina vpravo), SPECT obraz vlevo, SPECT/CT obraz uprostřed a vpravo



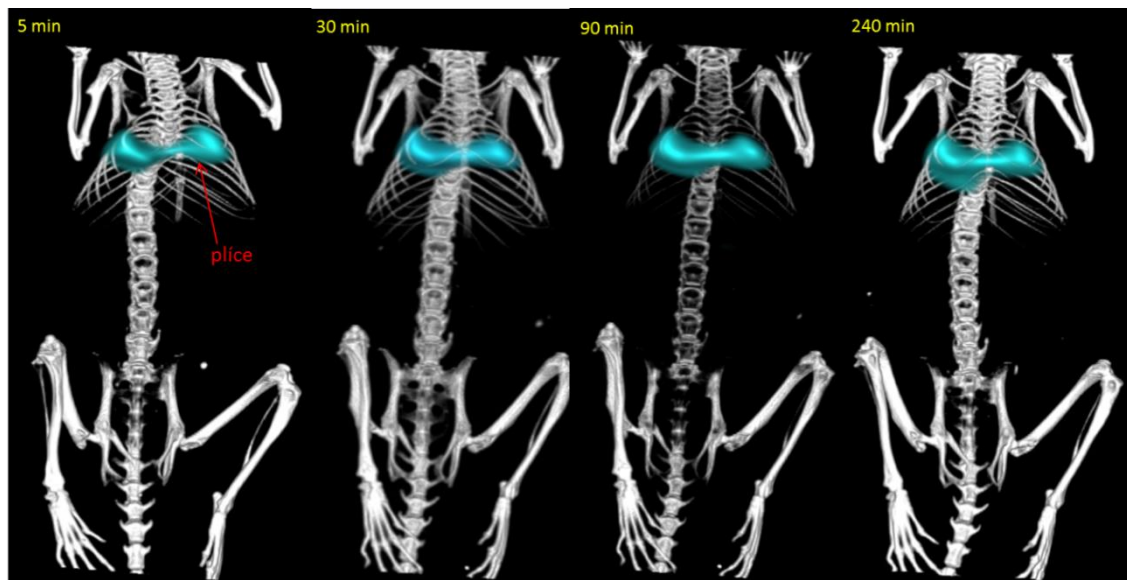
Obr. 16: Biodistribuce ^{99m}Tc -MIBI v organismu myši 5 min, 30 min, 90 min a 240 min po aplikaci (3D SPECT/CT)

5.3 ^{99m}Tc -makroagregovaný albumin (MAA)

Makroagregovaný albumin přechází rychle z krevního oběhu do plic, kde se již po 5-ti minutách po aplikaci kumuluje (Obr. 17, 18). S přibývajícím časem dochází k postupnému zvyšování koncentrace radioaktivity v plicích. Od 90. minuty dochází k postupné eliminaci ^{99m}Tc -MAA z organismu myši primárně přes gastrointestinální trakt. Malá část radioaktivity je však také eliminována močí.



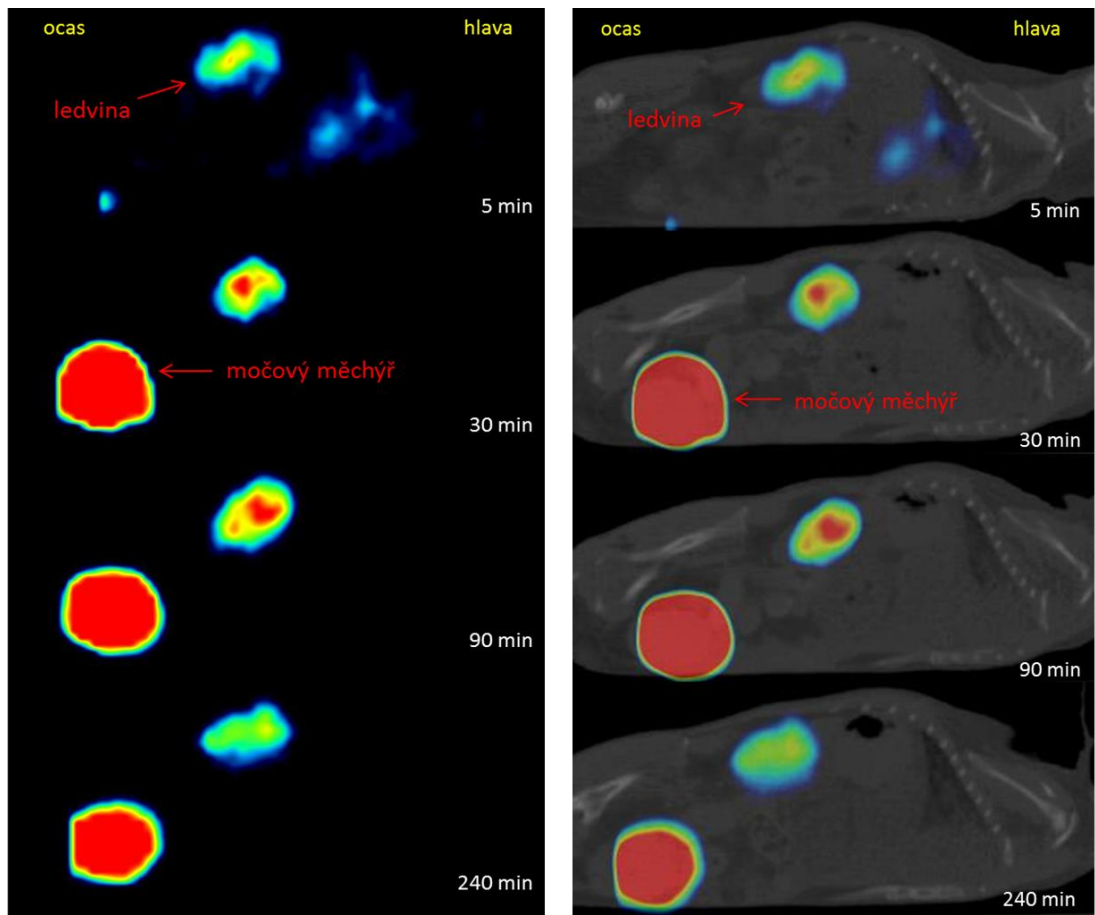
Obr. 17: Biodistribuce ^{99m}Tc -makroagregovaného albuminu v organismu myši (sagitální rovina), SPECT obraz vlevo, SPECT/CT obraz vpravo



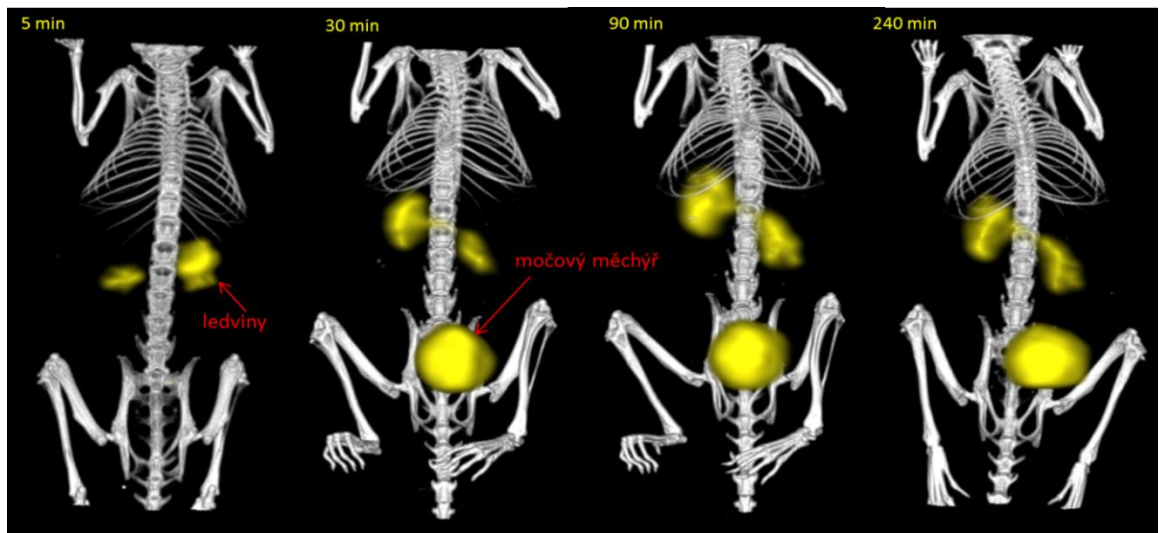
Obr. 18: Biodistribuce ^{99m}Tc -MAA v organismu myši 5 min, 30 min, 90 min a 240 min po aplikaci (3D SPECT/CT)

5.4 ^{99m}Tc -dimerkaptojantarová kyselina (DMSA)

^{99m}Tc -DMSA je 5 minut po r.o. aplikaci přítomna v krevním oběhu, ze kterého je ale rychle eliminována a již ve 30. minutě po aplikaci není v cirkulaci patrná téměř žádná radioaktivita (Obr. 19, 20). V 5. minutě po podání se ^{99m}Tc -DMSA vyskytuje také v ledvinách, pro jejichž zobrazení je tato látka primárně určena. Od 30. minuty se velká část radioaktivity nachází také v močovém měchýři. S přibývajícím časem dochází ke zvyšování koncentrace aktivity v obou orgánech a její koncentrace je nejvyšší v 90. minutě po podání radiofarmaka. Ve 240. minutě po podání látky dochází k její částečné eliminaci z organismu myši.



Obr. 19: Bioistribuce ^{99m}Tc -dimerkaptojantarové kyseliny v organismu myši (sagitální rovina), SPECT obraz vlevo, SPECT/CT obraz vpravo

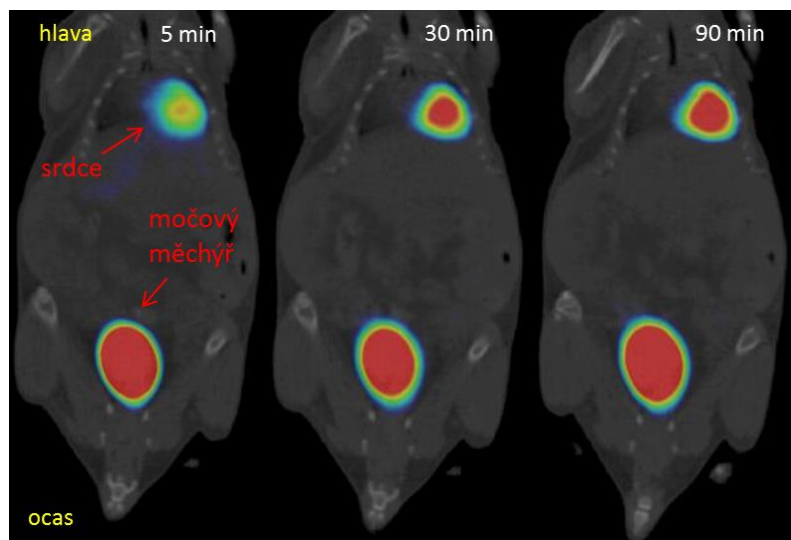


Obr. 20: Biodistribuce ^{99m}Tc -MAA v organismu myši 5 min, 30 min, 90 min a 240 min po aplikaci (3D SPECT/CT)

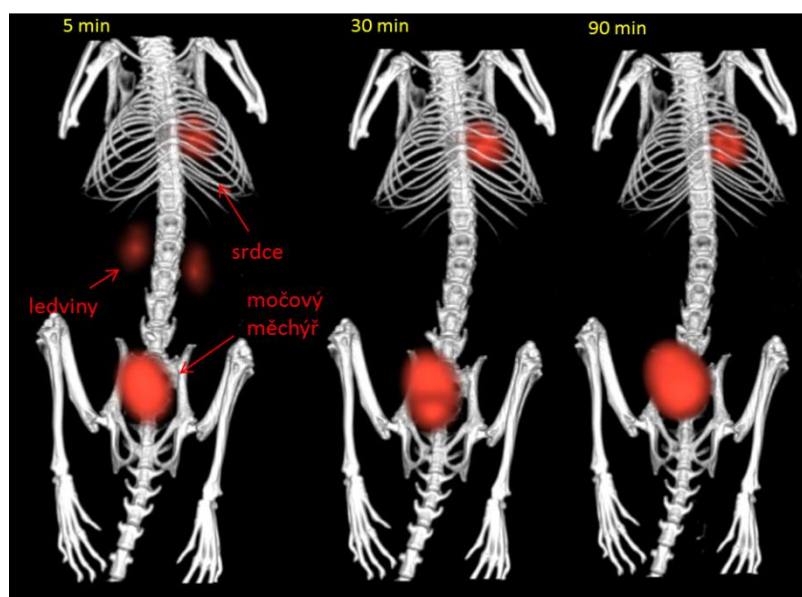
5.5 ^{18}F -fluorodeoxyglukosa (FDG)

Ve zdravém zvířeti (Obr. 21, 22) se ^{18}F -fluorodeoxyglukosa kumuluje hned po 5-ti minutách po r.o. aplikaci v srdci a také v močovém měchýři. S přibývajícím časem dochází k zvyšování aktivity v obou orgánech a nejvyšší koncentrace nabývá v 90. minutě po podání radiofarmaka. PET zobrazování v delších časových intervalech po aplikaci není vzhledem k relativně krátkému poločasu rozpadu ^{18}F (110 minut) vhodné.

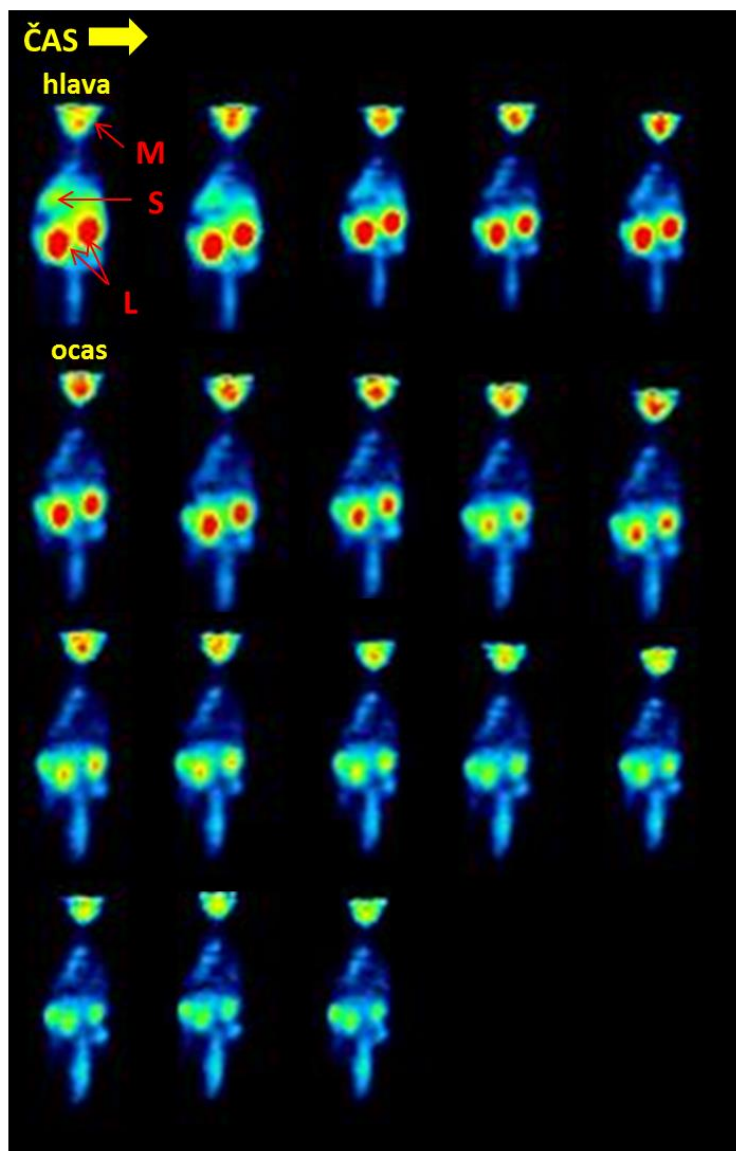
Na obrazu dynamického zobrazování (Obr. 23) je kromě srdce a ledvin zachycena aktivita také v mozku. Dynamické zobrazování ukazuje postupnou eliminaci podaného radiofarmaka z organismu zvířete.



Obr. 21: Biodistribuce ^{18}F -fluorodeoxyglukosy v organismu zdravé myši (frontální rovina), PET/CT obraz



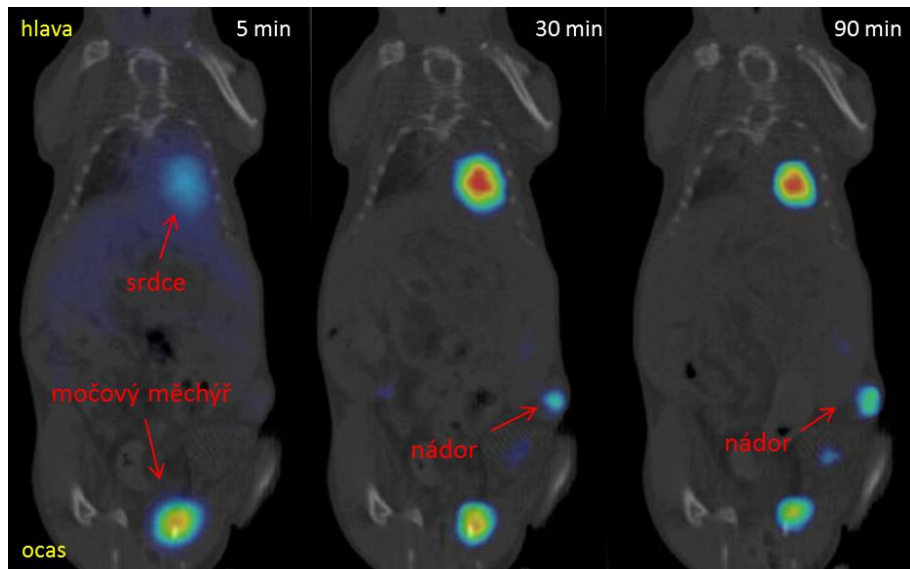
Obr. 22: Biodistribuce $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -FDG v organismu zdravé myši 5 min, 30 min a 90 min po aplikaci (3D PET/CT)



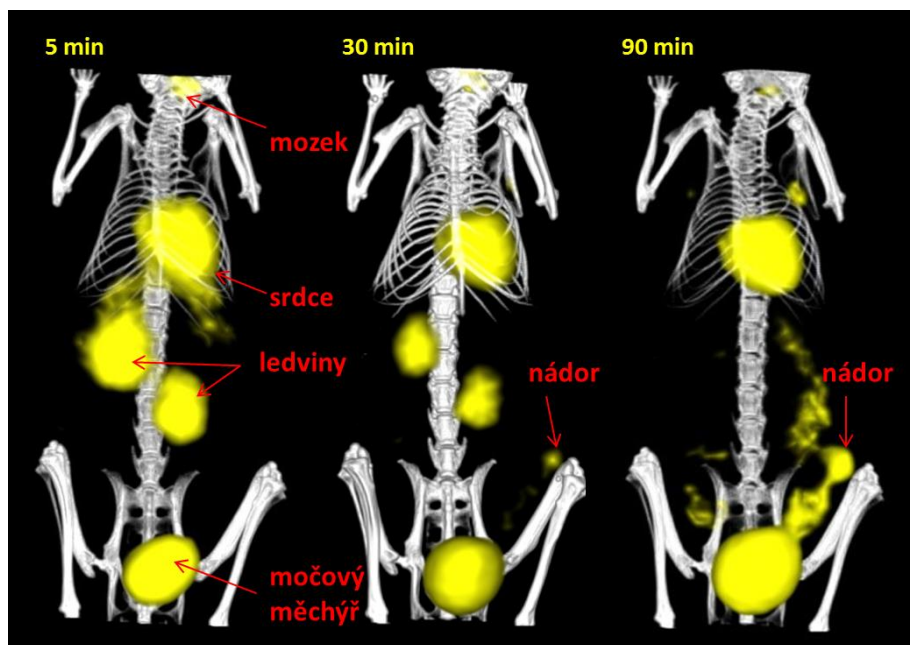
Obr. 23: Dynamický PET obraz ^{18}F -FDG v těle zdravé myši (frontální rovina; jeden obraz = 5 min, L = ledviny; M = mozek, S = srdce)

Po r.o. aplikaci je osud léčiva v organismu zvířete s nádorem podobný jako u zdravého zvířete. ^{18}F -fluorodeoxyglukosa se hned 5 minut po aplikaci hromadí v srdci a také v močovém měchýři (Obr. 24, 25). S přibývajícím časem dochází k zvyšování aktivity v srdci a nejvyšší koncentrace nabývá v 30. minutě po podání radiofarmaka. Koncentrace aktivity v močovém měchýři se naopak v čase snižuje. Kromě toho se aktivita kumuluje po 30. minutě také v nádoru a s časem její koncentrace roste.

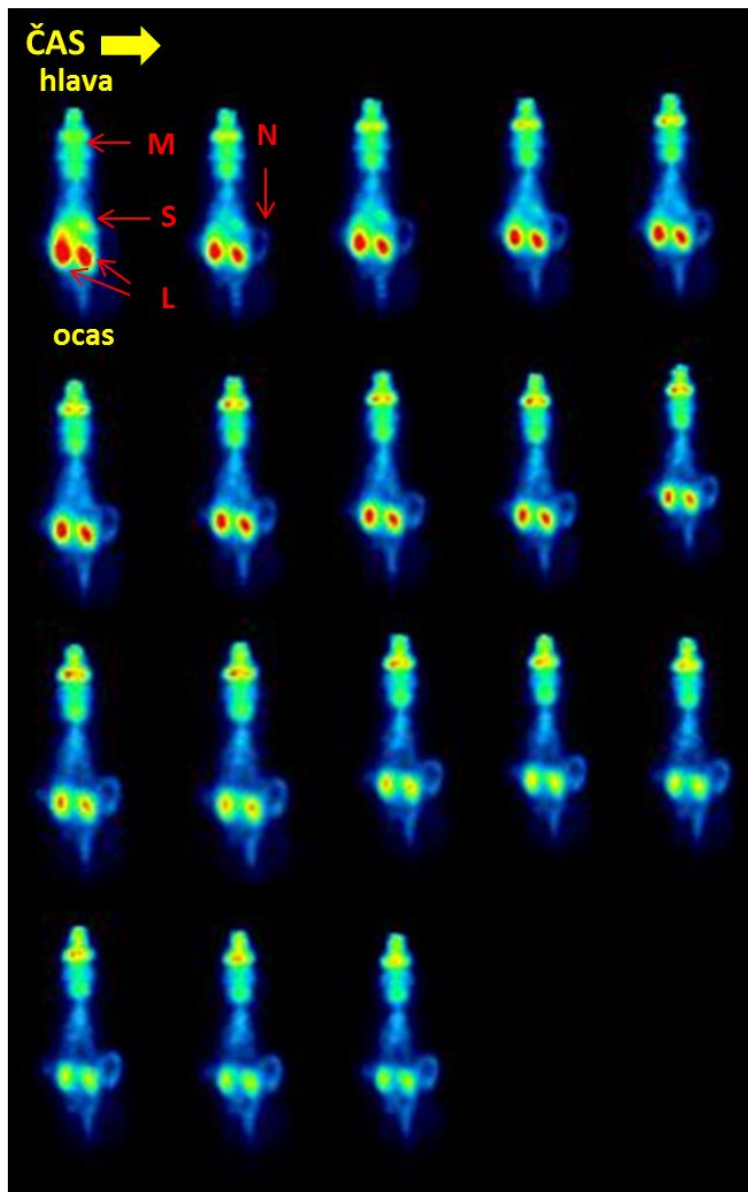
Na obrazu dynamického zobrazování (Obr. 26) je kromě srdce a ledvin zachycena aktivita také v mozku (5 min) a nádoru (10 min). Dynamické zobrazování ukazuje postupnou eliminaci podaného radiofarmaka z organismu zvířete kromě nádoru, kde se jeho koncentrace naopak zvyšuje.



Obr. 24: Biodistribuce ^{18}F -fluorodeoxyglukosy v organismu myši (frontální rovina), PET/CT obraz



Obr. 25: Biodistribuce ^{18}F -FDG v organismu myši s nádorem 5 min, 30 min a 90 min po aplikaci (3D PET/CT)



Obr. 26: Dynamický PET obraz ^{18}F -FDG v těle nádorové myši (frontální rovina; jeden obraz = 5 min, L = ledviny; M = mozek, S = srdce, N = nádor)

DISKUZE

V medicíně se v současnosti stále více uplatňují zobrazovací metody nukleární medicíny. Jde o velice citlivé a neinvazivní metody, které poskytují informace o struktuře orgánů a tkání a současně poskytují informace o jejich funkci. Při vyšetření je pacientovi podáno radiofarmakum, jehož součástí je radionuklid, který při své přeměně na stabilní izotop emituje ionizující záření. Toto záření je následně detekováno. V nukleární medicíně existují dvě odlišné zobrazovací metody, a to jednofotonová emisní tomografie (SPECT) a pozitronová emisní tomografie (PET).

V klinické praxi se v poslední době stále více prosazují hybridní zobrazovací systémy, které kombinují dvě nebo více zobrazovacích metod např.: SPECT/CT, PET/CT nebo modernější PET/MR (Kupka, 2007). Výhoda hybridních systémů spočívá v tom, že umožňují získat současně jak anatomické, tak funkční záznamy, po jejichž zřúfování lze přesně lokalizovat daný signál, což umožňuje získat velmi kvalitní diagnostické informace (Seidl, 2012).

Tyto zobrazovací metody nacházejí stále větší uplatnění také v preklinickém výzkumu nových léčiv. V tomto případě jsou využívány zobrazovací systémy pro malá laboratorní zvířata (mikro-SPECT, mikro-PET, mikro-CT, popřípadě mikro-MR), které jsou v porovnání s klinickými přístroji citlivější a poskytují také mnohem vyšší rozlišení (Kupka, 2007). Pro zobrazení pomocí SPECT jsou používány látky radioaktivně značené radionuklidy emitujícími záření gama. Nejběžnější gama zářičem využívaným v klinické praxi i preklinickém výzkumu je metastabilní izotop technecia (^{99m}Tc). Naproti tomu zobrazování pomocí PET vyžaduje látky radioaktivně značené pozitronovými zářiči. Nejrozšířenějším radionuklidem pro PET je fluor-18 (Coenen, 2010).

Radiofarmaka značená metastabilním izotopem technecia (^{99m}Tc) našla své uplatnění v medicíně již začátkem 60. let 20. století (Hušák, 2011). Dodnes je technecium-99m nejpoužívanějším radionuklidem, který se využívá k přípravě diagnostických radiofarmak. Radiofarmaka značená ^{99m}Tc tvoří v současnosti asi 70 % všech radiofarmak (Lang, 1998). Obliba tohoto radionuklidu je dána především díky jeho výhodným fyzikálně-chemickým vlastnostem. ^{99m}Tc emituje gama záření s průměrnou energií 140 keV, což je optimální energie pro detekci. Technecium-99m má relativně krátký poločas přeměny ($t_{1/2} = 6$ hod). Radiační zátěž organismu při vyšetření je tedy relativně nízká a přitom jsou získávány kvalitní diagnostické informace (Lázníček, 1998). Technecium-99m lze poměrně snadno získat v podobě eluátu z $^{99}\text{Mo}/^{99m}\text{Tc}$ generátoru. Radiofarmaka jím značená se používají například pro zobrazení kostí, plic, srdce, ledvin, štítné žlázy, lymfatických cest a uzlin, mozku, jater, apod.

Počátkem 60. let 20. století našla své uplatnění v nukleární medicíně také radiofarmaka značená fluorem-18 (Drymlová, 2011). Fluor-18 emituje pozitrony o energii 0,633 MeV s následným anihilačním zářením gama o energii 0,511 MeV. Díky nízké energii pozitronů je jejich dosah ve tkáni relativně krátký, což vede k vysokému rozlišení při PET vyšetření (Procházka, 2009). Nezastupitelné místo v klinické praxi má 2-(^{18}F)fluor-2-deoxy-D-glukosa (FDG). Za jejím objevem stojí český chemik profesor Josef Pacák, který fluordeoxyglukosu syntetizoval v roce 1968 (Varangnolo, 2000). ^{18}F -FDG se v praxi využívá pro zobrazení mozku a srdce, ale také k detekci primárních tumorů a metastáz. Své uplatnění nachází v posledních letech také v preklinickém výzkumu, například ke studiu účinnosti nových cytostatik.

V této bakalářské práci byla studována farmakokinetika vybraných techneciem-^{99m}Tc a fluorem-18 značených radiofarmak. Konkrétně šlo o ^{99m}Tc-hydroxymetylen difosfonát (HDP), ^{99m}Tc- methoxyisobutylisonitrát (MIBI), ^{99m}Tc-makroagregovaný albumin (MAA), ^{99m}Tc- dimerkaptojantarovou kyselinu (DMSA) a ¹⁸F-fluorodeoxyglukosu (FDG). Studovaná radiofarmaka byla zvolena z důvodu jejich dostupnosti z Kliniky nukleární medicíny FNOL.

^{99m}Tc-hydroxymetylen difosfonát (HDP) společně s methylen difosfonátem (MDP) a pyrofosfonátem (PYP) patří do skupiny fosfátových a fosfonátových radiofarmak. ^{99m}Tc-MDP a ^{99m}Tc-HDP jsou radiofarmaka, která se nejčastěji používají pro zobrazování skeletu. V menší míře se také používá například ^{99m}Tc-SC nebo ^{99m}Tc-HSA. Kromě techneciem značených radiofarmak se pro zobrazení skeletu používá ¹⁸F-fluorid nebo indium (¹¹¹In) ve formě chloridu inditého, apod (Lázníček, 1998).

^{99m}Tc-hydroxymetylen difosfonát (HDP) je u pacientů téměř ihned po aplikaci eliminován z krve a poměrně rychle se hromadí ve skeletu a močovém měchýři. V krevním oběhu je 30 minut po aplikaci přítomno asi 10 % podané aktivity. Po 1 hodině, 2, 3 a 4 hodinách po aplikaci je toto množství asi 5 %, 3 %, 1,5 % a 1 %. Vylučování z organismu probíhá ledvinami. Asi 30 % aplikované aktivity je vyloučeno během první hodiny, 48 % po 2 hodinách a 60 % po 6 hodinách. Vyšetření je u lidí prováděno buď hned po podání, nebo nejdříve za 4 hodiny po podání tohoto radiofarmaka v závislosti na druhu vyšetření.

V organismu laboratorních myší se ^{99m}Tc-hydroxymetylen difosfonát distribuoval podobně jako u lidí. ^{99m}Tc-HDP se již 5 minut po r.o. kumuloval v požadované tkáni, tedy skeletu. V tomto čase zde ale nebyl přítomen v dostatečné míře, aby mohly být získány kvalitní diagnostické informace. Dostatečně se ve skeletu hromadil zhruba 30 minut po podání. Nicméně v tomto čase byla ještě podstatná část radioaktivity zadržována v ledvinách a močovém měchýři. Tato radioaktivita byla u laboratorních myší eliminována z organismu v čase 90 minut po aplikaci a ve 240. minutě bylo možné sledovat radioaktivní signál již pouze ve skeletu. Ke zobrazení skeletu u laboratorních myších pomocí ^{99m}Tc-HDP je tedy možné přistoupit již zhruba 30 minut po jeho aplikaci. Pokud jsou ale požadovány snímky samotného skeletu bez interference radioaktivního signálu z močových cest, ideální čas k provedení zobrazení je po 90. minutě po aplikaci tohoto radiofarmaka.

^{99m}Tc-methoxyisobutylisonitrát (MIBI) se používá primárně ke zobrazení srdce. Ke zobrazení srdečního prokrvení se dále používá ^{99m}Tc-tetrofosmin nebo ^{99m}Tc-trifosmin. Kromě techneciem značených radiofarmak se pro tento účel používají také ¹⁸F-FDG, thalliem (²⁰¹Tl) značený chlorid thallný, ¹¹¹In-inciromab, apod. (Lázníček, 1998).

^{99m}Tc-methoxyisobutylisonitrát (MIBI) je z krve rychle distribuován do tkáně a 5 minut po i.v. podání je v oběhu přítomno asi jen 8 % podané aktivity. Eliminace z organismu probíhá hepatobiliárním systémem. Aktivita ze žlučníku přechází do tenkého střeva, kde je přítomna do 1 hodiny po podání. Zhruba 27% injekčně podané látky se do 24 hodin vyloučí ledvinami a 33% odchází do 48 hodin stolicí. U vyšetření perfúze srdce se zobrazování provádí až 6 hodin po podání.

U laboratorních myší se aktivita v srdci nacházela hned 5 minut po aplikaci a s přibývajícím časem docházelo k její postupné eliminaci. Z organismu byl ^{99m}Tc-MIBI rychle vylučován přes ledviny a gastrointestinální trakt. Proto se již 5 minut po aplikaci

převážná část radiofarmaka kumulovala také v ledvinách, močovém měchýři a gastrointestinálním traktu. Pro získání kvalitních diagnostických informací je tedy vhodné ke zobrazení srdce u laboratorních myší přistoupit co nejdříve po aplikaci radiofarmaka.

^{99m}Tc -makroagregovaný albumin (MAA) slouží primárně ke zobrazení prokrvení plic. K vyšetření plicní ventilace se používá aerosol ^{99m}Tc -DTPA a kromě toho lze použít radioaktivní plyny krypton (^{81m}Kr) a xenon (^{133}Xe). K lokalizaci zánětlivých infiltrátů se používají suspenze granulocytů značených techneciem (^{99m}Tc) nebo indiem (^{111}In) (Lázníček, 1998; Kupka, 2007).

^{99m}Tc -makroagregovaný albumin je po i.v. aplikaci pacientům zachycován z 80 % v plicních kapilárách. Zde jsou zachycovány částice, které jsou větší než 10 – 15 μm . Částice menší než 1 – 10 μm jsou zachyceny přímo RES. Retikuloendoteliálním systémem jsou také po 3 – 15 hodinách fagocytovány rozložené částice. Radioaktivita je z organismu eliminována ledvinami. Zobrazování plic je u pacientů prováděno ihned po aplikaci radiofarmaka.

U laboratorních myší přecházel ^{99m}Tc -MAA po r.o. aplikaci z krevního oběhu rychle do studované tkáně, kde se nacházel již 5 minut po podání. S přibývajícím časem docházelo k mírnému nárůstu radioaktivity v plicích, avšak kvalitní diagnostické informace bylo možné získat již po 5-ti minutách po aplikaci. Zobrazování plic po podání ^{99m}Tc -MAA je tedy u laboratorních myší možné provádět ihned po aplikaci.

^{99m}Tc -dimerkaptotantarová kyselina (DMSA) je nejběžnější radiofarmakum, které se používá ke statickému zobrazení ledvin. K dynamickému zobrazení se pak používá ^{99m}Tc -DTPA a ^{99m}Tc -MAG3. ^{99m}Tc -MAG3 v porovnání s ^{99m}Tc -DTPA poskytuje vyšší kontrast a tím umožňuje získat i kvalitnější diagnostické informace. Při stanovení clearance se nejčastěji používá jódem (^{131}I nebo ^{123}I) značený jodhippuran, nebo ^{51}Cr -EDTA (Lázníček, 1998; Kupka, 2007).

^{99m}Tc -dimerkaptotantarová kyselina (DMSA) se u lidí zhruba 1 hodinu po i.v. podání hromadí z 40 - 50 % v kůře ledvin a je zde zadržována poměrně dlouhou dobu. V játrech se zachycuje méně než 3 % aplikované radioaktivity a ve slezině 1%. Za 24 hodin se 35 - 40 % aplikované dávky vyloučí močí.

U laboratorních myší byla ^{99m}Tc -DMSA přítomna v krevním oběhu 5 minut po r.o. aplikaci. Odtud byla ale rychle eliminována a v 5-ti minutách po podání se ^{99m}Tc -DMSA již částečně vyskytovala také v ledvinách. S přibývajícím časem docházelo ke zvyšování koncentrace koncentrace ^{99m}Tc -DMSA v ledvinách a následnému hromadění radioaktivity v močovém měchýři. Ve 240. minutě po podání látky docházelo k její částečné eliminaci z organismu myši. Zobrazení ledvin pomocí ^{99m}Tc -DMSA je u laboratorních myší ideální provádět v časovém intervalu 30 - 90 minut po aplikaci, kdy je její koncentrace v ledvinách nejvyšší.

Poslední studovanou látkou byla ^{18}F -fluorodeoxyglukosa (FDG), která se používá pro zobrazení metabolicky aktivních tkání - mozku, srdce a nádoru. Kromě ^{18}F -FDG se pro zobrazení různých typů nádorů používá také ^{99m}Tc -medronát, ^{99m}Tc -etifenin, ^{99m}Tc -SC nebo koloidní cín značený ^{99m}Tc . Dále je používán jódem (^{123}I nebo ^{131}I) značený metaiodobenzylguanidin, ^{131}I -jodid sodný, ^{18}F -FLT, ^{18}F -FET, ^{67}Ga -citronan gallitý a mnoho dalších radiofarmak (Lázníček, 1998). Pro zobrazení mozku se mimo ^{18}F -FDG používá

také ^{18}F -fluoromethan, $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -HMPAO, $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -ECD, ^{133}Xe , ^{123}I -isopropyl-p-iodoamfetamin, ^{68}Ga -EDTA, ^{11}C -metylalbumin, apod. (Lázníček, 1998; Kupka, 2007).

^{18}F -FDG se po i.v. aplikaci u pacientů rychle distribuuje a hromadí ve vyšetřovaných metabolicky aktivních tkáních. Asi 30 % podané radioaktivity je vyloučeno během 2 hodin ledvinami. Zobrazování se provádí 45 - 120 minut po i.v. podání, pro zobrazení mozku 30 - 60 minut po aplikaci.

Ve zdravém zvířeti se ^{18}F -FDG okamžitě po aplikaci kumulovala v srdci a mozku. S přibývajícím časem docházelo k její eliminaci přes ledviny. Pro zobrazení srdce a mozku u laboratorních myší je tedy vhodné provádět zobrazování ihned po aplikaci. V organismu zvířete s nádorem byl osud ^{18}F -FDG podobný jako u zdravého zvířete. Ihned po aplikaci se radioaktivita hromadila v mozku a srdci. Jak je patrné z dynamického zobrazování, radioaktivita se v nádoru postupně kumulovala cca od 10. minuty, ale ne v dostatečné míře. Uspokojivé množství radioaktivity se v nádoru kumulovalo cca mezi 15 – 25 minutou po aplikaci. Pro detekci nádoru v organismu myši, je tedy vhodné provádět zobrazování nejdříve zhruba 20 minut po podání tohoto radiofarmaka.

ZÁVĚR

Ve své bakalářské práci jsem se zabývala studiem farmakokinetiky vybraných léčiv značených radionuklidy ^{99m}Tc a ^{18}F v laboratorních zvířatech s využitím zobrazovacího systému pro malá laboratorní zvířata. V rámci své závěrečné práce jsem se seznámila s přípravou radioaktivně značených látek, aplikací studovaných látek laboratorním zvířatům, *in vivo* zobrazováním a následným zpracováním a vyhodnocením získaných dat.

Pro potřeby této bakalářské práce byla vybrána následující radiofarmaka: ^{99m}Tc -hydroxymetylen difosfonát (HDP), který se používá pro zobrazení skeletu; ^{99m}Tc -methoxyisobutylisonitrát (MIBI), jenž se používá k zobrazení srdce; ^{99m}Tc -makroagregovaný albumin (MAA) sloužící primárně k zobrazení plic; k zobrazení ledvin byla použita ^{99m}Tc - dimerkaptojantarová kyselina (DMSA) a pro zobrazení mozku, srdce a nádoru byla využita ^{18}F -fluorodeoxyglukosa (FDG). Všechna tato radiofarmaka byla připravena za aseptických podmínek na Klinice nukleární medicíny Fakultní nemocnice Olomouc. Studované látky byly retroorbitálně (r.o.) aplikovány zdravým DBA/2 nebo nádorovým SCID myším a poté bylo ve vybraných časových intervalech provedeno jak statické (SPECT/CT nebo PET/CT), tak i dynamické (PET) zobrazování pomocí zobrazovacího systému pro malá laboratorní zvířata.

U jednotlivých studovaných radiofarmak byla popsána jejich biodistribuce v organismu laboratorních myší a dále byly stanoveny ideální časy pro zobrazování studovaných látek ve zvířecích modelech. Získané výsledky odpovídaly a potvrdily klinické poznatky popsané v literatuře. Výsledky této práce budou sloužit jako kontrolní modely pro vývoj nových radiofarmak pro zobrazení skeletu, správné funkce srdce, plic a ledvin a v neposlední řadě pro studium nádorových zvířecích modelů.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

1. ADAM, J.; ANDRES, P.; BOLČÁK, K.; ČERMÁKOVÁ, M.; DEMLOVÁ, R.; DUBSKÁ, L.; SEDLÁČKOVÁ, Š.; VALÍK, D.: Nová radiofarmaka a aplikace pozitronové emisní tomografie na Masarykově onkologickém ústavu v Brně. Klinická onkologie, Brno: Česká lékařská společnost J. E. Purkyně, 2009, roč. 22, č. 3, s. 94-97. ISSN 0862-495X.
2. ADAM, Z.; KREJČÍ, M.; VORLÍČEK, J.: Hematologie: přehled maligních hematologických nemocí. 2. vyd. Praha: Grada, 2008, 390 s. ISBN 978-802-4725-024.
3. AGENCY, International Atomic Energy. Technetium-99m radiopharmaceuticals: manufacture of kits. Vienna: International Atomic Energy Agency, 2008. ISBN 978-920-1004-086.
4. COENEN, H. H.; ELSINGA, P. H.; IWATA, R.; KILBOURN, M. R.; PILLAI, M. R. A.; RAJAN, M. G. R.; WAGNER, H. N.; ZAKNUN, J. J.: Fluorine-18 radiopharmaceuticals beyond [18F]FDG for use in oncology and neurosciences. Nuclear Medicine and Biology. 2010, vol. 37, issue 7, s. 727-740. DOI: 10.1016/j.nucmedbio.2010.04.185. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0969805110002751>
5. COTTON, A. F.; WILKINSON, J.: Anorganická chemie: souborné zpracování pro pokročilé. 1. vyd. Praha: Academia, 1973, 1102 s.
6. DEL GUERRA, A.; BELCARI, N.: State-of-the-art of PET, SPECT and CT for small animal imaging. Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section A: Accelerators, Spectrometers, Detectors and Associated Equipment. 2007, vol. 583, issue 1, s. 119-124. DOI: 10.1016/j.nima.2007.08.187. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S016890020701892X>
7. DRYMLOVÁ, J.; KORANDA, P.: Vývoj radiofarmak pro scintigrafii kostí. [online]. 2011. Dostupné z: http://www.csnm.cz/files/education/abstrakta_dny_rf_2011.pdf
8. GE's New Optima NM/CT640 SPECT/CT Systém [online]. 2010. Dostupné z: <http://www.medgadget.com/2012/06/ges-new-optima-nmct640-spectct-system.html>, staženo dne 31. 7. 2014
9. HILDEBRANDT, I. J.; SU, H.; WEBER, W. A.: Anesthesia and Other Considerations for in Vivo Imaging of Small Animals. ILAR Journal. 2008-01-01, vol. 49, issue 1, s. 17-26. DOI: 10.1093/ilar.49.1.17. Dostupné z: <http://ilarjournal.oxfordjournals.org/cgi/doi/10.1093/ilar.49.1.17>
10. HRAZDIRA, I.; MORNSTEIN, V.: Lékařská biofyzika a přístrojová technika. 1. vyd. Brno: Neptun, 2001, 381 s. ISBN 80-902-8961-4. <http://www.bctechnical.com/vct-64>, staženo dne: 20. 7. 2014

11. HUŠÁK, V.; DRYMLOVÁ, J.; PTÁČEK, J.; FIALA, P.: Technecium 99m a generátory Mo99-Tc99m od základního objevu až po současnost – historické poznámky se zaměřením na diagnostiku na KNM v Olomouci. [online]. 2011. Dostupné z: http://www.csnm.cz/files/education/abstrakta_dny_rf_2011.pdf
12. CHALABALA, M.: Technologie léků. 2. přeprac. a dopl. vyd. Praha: Galén, 2001, 408 s. ISBN 80-726-2128-9.
13. CHAPMAN, S. E.; DIENER, J. M.; SASSER, T. A.; CORRECHER, C.; GONZÁLEZ, A. J.; VAN AVERMAETE, T.; LEEVY M. W.: Dual tracer imaging of SPECT and PET probes in living mice using a sequential protocol. *Am J Nucl Med Mol Imaging* 2012;2(4):405-414.
14. CHERRY, S. R. :Multimodality Imaging: Beyond PET/CT and SPECT/CT. *Seminars in Nuclear Medicine*. 2009, vol. 39, issue 5, s. 348-353. DOI: 10.1053/j.semnuclmed.2009.03.001. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0001299809000142>
15. In: BAIR: Beatson Advanced Imaging Resource [online]. © 2009 Beatson Advanced Imaging Resource. Dostupné z: <http://bair.beatson.gla.ac.uk/pages1/Albira/albira.htm>, staženo dne: 11. 7. 2014
16. JURSIK, F.: Anorganická chemie nekovů. 1. vyd. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 2001, 228 s. ISBN 80-708-0417-3.
17. KLIKORKA, J.; HÁJEK, B.; VOTINSKÝ, J.: Obecná a anorganická chemie. 2. vyd. Praha: SNTL, 1989, 592 s.
18. KUPKA, K.; KUBINYI, J.; ŠÁMAL, M.: Nukleární medicína. 1. vyd. Praha: P3K, c2007, 185 s. ISBN 978-809-0358-492.
19. LANG, O. Nukleární medicína I.: základní znalosti. 1. vyd. Praha: Karolinum, 1998, 52 s. ISBN 80-718-4721-6.
20. LÁZNÍČEK, M.; KOMÁREK, P.: Základy radiofarmacie. 1. vyd. Praha: Karolinum, 1998, 106 s. ISBN 80-718-4781-X.
21. LIU, S.: Bifunctional coupling agents for radiolabeling of biomolecules and target-specific delivery of metallic radionuclides. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2008, vol. 60, issue 12, s. 1347-1370. DOI: 10.1016/j.addr.2008.04.006. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0169409X08001178>, staženo dne: 14. 7. 2014
22. Magnetická rezonance (6): Jak vypadá přístroj pro vyšetření magnetickou rezonancí? [online]. 2002. Dostupné z: <http://popular.fbmi.cvut.cz/biomedicina/Stranky/Magnetick%C3%A1-rezonance-6--Jak-vypada-pristroj-pro-vysetreni-magnetickou-rezonanci.aspx>, staženo dne: 31. 7. 2014

23. MACHULLA, H.-J.; BLOCHER, A.; KUNTZSCH, M.; PIERT, M.; WEI, R.; GRIERSON, J. R.: Simplified Labeling Approach for Synthesizing 3'-Deoxy-3'-[18F]fluorothymidine ([18F]FLT). *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*. 2000, vol. 243, issue 3, s. 843-846. DOI: 10.1023/A:1010684101509. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1023/A:1010684101509>
24. Pozitronová emisní tomografie. [online]. 2010. Dostupné z: <http://www.lf.upol.cz/menu/struktura-lf/kliniky/klinika-nuklearni-mediciny/pedagogicka-cinnost/fyzikalni-zaklady-zobrazovani-v-nuklearni-medicine-a-radiacni-ochrana/pozitronova-emisni-tomografie/>, staženo dne: 20. 7. 2014
25. PROCHÁZKA, L.; KROPÁČEK, M.; MIRZAJEVOVÁ, M. et al.: Fluorované sloučeniny značené 18F jako účinné látky v radiofarmakách. *Chemické listy*, 2009, roč. 103, č. 12, s. 1017-1021. ISSN: 0009-2770.
26. Radionuklidová vyšetření plic. [online]. 2012. Dostupné z: <http://pfyziolfup.upol.cz/castwiki2/?p=3243>, staženo dne: 11. 7. 2014
27. YU, S. Review of 18F-FDG synthesis and quality control. *Biomedical Imaging and Intervention Journal*. 2006, vol. 2, issue 4, s. -. DOI: 10.2349/bij.2.4.e57. Dostupné z: <http://www.bij.org/2006/4/e57>
28. SAHA, G. B.: *Fundamentals of nuclear pharmacy*. 6th ed. New York: Springer Science+Business Media; 2010, 425 p. ISBN 978-1-4419-5859-4.
29. SÁNCHEZ, F.; ORERO, A.; SORIANO, A.; CORRECHER, C.; CONDE, P.; GONZÁLEZ, A.; HERNÁNDEZ, L.; MOLINER, L.; RODRÍGUEZ-ALVAREZ, M. J.; VIDAL, L. F.; BENLLOCH, J. M.; CHAPMAN, S. E.; LEEVY, W.M.: ALBIRA: A small animal PET/SPECT/CT imaging system. *Medical Physics*. 2013, vol. 40, issue 5, s. 051906-. DOI: 10.1118/1.4800798. Dostupné z: <http://scitation.aip.org/content/aapm/journal/medphys/40/5/10.1118/1.4800798>
30. SEIDL, Z.: *Radiologie pro studium i praxi*. Vyd. 1. Praha: Grada, 2012, 368 s., iv s. obr. příl. ISBN 978-802-4741-086.
31. SHARP, P. F.; GEMMELL, H. G.; MURRAY, A. D.: *Practical Nuclear Medicine*. 3rd ed. London: Springer-Verlag London Ltd, 2005. ISBN 978-184-6280-184.
32. TEPLAN, V.: *Praktická nefrologie*. 2. vyd. Praha: Grada, 2006, 524 s., tab. ISBN 80-247-1122-2.
33. ULLMAN, V.: *Jaderná fyzika a fyzika ionizujícího záření* [online]. 2002. Dostupné z: <http://astronuklfyzika.cz/Fyzika-NuklMed.htm>
34. VARANGOLO, L.; STOKKEL, M. P. M.; MAZZI, U.; PAUWELS, E. K. J.: 18F-labeled radiopharmaceuticals for PET in oncology, excluding FDG. *Nuclear Medicine and Biology*. 2000;27(2):103–112.

35. VCT 64 | BC Technical. [online]. 2010. Dostupné z: http://www.researchgate.net/publication/233397489_Dual_tracer_imaging_of_SPE_CT_and_PET_probes_in_living_mice_using_a_sequential_protocol
36. VERNER, P: Moderní radiologické zobrazovací metody. Urologie pro praxi. 2004, roč. 5, č. 4, s. 156-159. ISSN: 1213-1768; 1803-5299.
37. WATHEN, C.; FOJE, N.; AVERMAETE, T.; MIRAMONTES, B.; CHAPAMAN, S.; SASSER, T.; KANNAN, R.; GERSTLER, S.; LEEVY, W.: In vivo X-Ray Computed Tomographic Imaging of Soft Tissue with Native, Intravenous, or Oral Contrast. Sensors. 2013, vol. 13, issue 6, s. 6957-6980. DOI: 10.3390/s130606957. Dostupné z: <http://www.mdpi.com/1424-8220/13/6/6957/>
38. Zobrazovací metody nukleární medicíny. [online]. 2013. Dostupné z: <http://unm.lf1.cuni.cz/zobrazov.html>, staženo dne: 12. 7. 2014
39. ZOLLE, I.: Technetium-99 radiopharmaceuticals: preparation and quality control in nuclear medicine. 1st ed. New York, NY: Springer, 2006, p. cm. ISBN 35-403-3990-6.