

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích  
Zdravotně sociální fakulta

**Stanovení radiochemické čistoty radiofarmaka  
TechneScan HDP pomocí chromatografie při použití  
různých mobilních i stacionárních fází**

bakalářská práce

Autor práce: Klára Raus, DiS.  
Studijní program: Specializace ve zdravotnictví  
Studijní obor: Radiologický asistent

Vedoucí práce: Mgr. František Zahrádka

Datum odevzdání práce: 2. 5. 2013

## Abstrakt

Klíčová slova: nukleární medicína, scintigrafie, radiofarmakum, radiochemická čistota

Nukleární medicína je poměrně mladý lékařský obor. K jeho rozvoji došlo v 50. letech 20. století. Na odděleních nukleární medicíny se provádí jak diagnostická vyšetření, tak terapie pomocí otevřených zářičů. V současné době převažuje diagnostické využití.

Využívaná zobrazovací metoda se nazývá scintigrafie, kdy pomocí scintilační kamery dochází ke snímání rozložení naaplikovaného radiofarmaka. Scintigrafie zobrazuje funkci – lokální akumulace radiofarmaka je závislá na funkčním stavu vyšetřované tkáně. Zobrazení pomocí scintigrafie je založeno na znalosti farmakokinetiky radiofarmaka v organismu. Pomocí scintilačního detektoru, který je zabudován v gamakameře, lze zobrazit rozdělování radiofarmaka v cílové tkáni buď za určitou dobu po aplikaci radiofarmaka (statická scintigrafie) nebo v průběhu času (dynamická scintigrafie).

Jedno z nejčastějších vyšetření prováděných na oddělení nukleární medicíny je scintigrafie skeletu. Toto vyšetření je prováděno za použití osteotropního radiofarmaka, které se váže do kostí a odhalí tak patologie způsobené změnou metabolické aktivity.

Vlastní provedení vyšetření probíhá pomocí zevní detekce aplikovaného radiofarmaka. Tato detekce může probíhat čtyřmi různými způsoby a to planární zobrazení pouze určité oblasti, celotělové zobrazení celého skeletu, tomografické zobrazení určité oblasti skeletu (SPECT popř. SPECT/CT) či provedení třífázové scintigrafie. Detekce záření se provádí pomocí scintilační kamery.

Scintigrafie skeletu je velice přínosné vyšetření, které slouží k detekci kostních metastáz při nádorovém onemocnění, k diagnostice primárních maligních kostních nádorů, při průkazu infekčního procesu v kostech, k diagnostice při onemocnění kloubů či při metabolických onemocněních skeletu a také při poranění kostí.

Samotné vyšetření je prováděno pomocí radiofarmak. Radiofarmakum po aplikaci slouží jako diagnostický indikátor. Jedná se o léčivý přípravek, ve kterém je včleněn radionuklid, který emituje ionizující záření. Radionuklidy používané v nukleární medicíně jsou připravovány uměle, na pracoviště jsou dodávány buď ve formě k okamžitému použití, nebo jako radionuklidový generátor. Nejčastěji používaným generátorem na odděleních nukleární medicíny je  $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$  generátor.

Uvedený radionuklidový generátor se skládá ze skleněné chromatografické kolony umístěné v olověném stínícím válci. Tato kolona obsahuje adsorpční materiál (oxid hlinitý), ve kterém je naadsorbován mateřský radionuklid. Z důvodu odlišných chemických vlastností mateřského a dceřiného prvku lze dceřiný radionuklid vymýt (vyeluovat) pomocí vhodného roztoku. Po eluci dochází opět k produkování dceřiného prvku, který lze opětovně vymývat.

V praxi se radiofarmaka nejčastěji připravují za použití souprav, které jsou komerčně dostupné – tzv. kity. Kity jsou značeny pomocí roztoku technecistanu sodného, který je získáván z  $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$  generátoru.

Před podáním radiofarmaka pacientovi je nutné provádět stanovení radiochemické čistoty. Tato skutečnost je zakotvena i příslušných právních předpisech a praktické provedení je dáno Českým lékopisem a SPC výrobce. Prakticky vždy se jedná o chromatografické stanovení. Nejčastěji se používá papírová chromatografie a chromatografie na tenké vrstvě.

V České republice se pro scintigrafii skeletu používají difosfonáty značené  $^{99m}\text{Tc}$  (kity TechneScan HDP, případně 6-MDP či 8-MDP). Tato osteotropní radiofarmaka se připravují ve stíněném laminárním boxu v laboratoři pro přípravu radiofarmak na oddělení nukleární medicíny. Příprava se řídí dle pokynů výrobce. Po přípravě, před aplikací pacientovi, se musí provést stanovení radiochemické čistoty.

Stanovení radiochemické čistoty u radiofarmaka TechneScan HDP se provádí pomocí chromatografie na tenké vrstvě (iTLC-SG) za použití 13,6% roztoku octanu sodného a methylethylketonu jako mobilní fáze. Toto stanovení je ale pro běžný provoz oddělení náročné z hlediska provedení i z finančního hlediska. Proto se hledala vhodná alternativní metoda. Nová metoda je prováděna pomocí papírové chromatografie za použití 0,9% roztoku chloridu sodného a acetonu jako mobilní fáze.

Po provedení 50ti stanovení radiochemické čistoty pomocí lékopisné a alternativní metody bylo zjištěno, že alternativní metoda je použitelná pro rutinní stanovení radiochemické čistoty při běžném provozu oddělení nukleární medicíny.

## **Abstract**

Keywords: nuclear medicine, scintigraphy, radiopharmaceutical, radiochemical purity

Nuclear medicine is a relatively young medical field; its development took place in the 1950's. The nuclear medicine department performs both diagnostic tests and therapies using open radiation sources whereas the diagnostic use currently prevails.

The imaging method used is called scintigraphy and uses a scintillation camera capturing the distribution of administered radiopharmaceutical. Scintigraphy reveals functioning since local accumulation of the radiopharmaceutical is dependent on the condition of the examined tissue. Imaging by scintigraphy is based on the knowledge of pharmacokinetics of the radiopharmaceutical in the body. Using a scintillation detector, which is incorporated in a gamma camera, the distribution of the radiopharmaceutical in the target tissue can be observed, either after a certain period of time from the administration of the radiopharmaceutical (static scintigraphy) or over time (dynamic scintigraphy).

One of the most common examinations performed at the nuclear medicine department is bone scintigraphy. The examination is carried out using osteotropic radiopharmaceutical that binds to bones, thus revealing pathologies caused by the change of metabolic activity.

The examination in itself takes place through external detection of the administered radiopharmaceutical. The detection can be performed in four different ways: planar imaging only of a particular area, whole-body imaging of the entire skeleton, tomographic imaging of certain skeleton areas (SPECT or SPECT/CT), or performing three-phase scintigraphy. Radiation detection is performed using a scintillation camera.

Bone scintigraphy is a very useful examination that is used to detect bone metastases in cancer diseases, to diagnose primary malignant bone tumors, to detect infectious processes in the bones, to diagnose joint diseases, metabolic diseases of the skeleton, and bone injuries.

The examination in itself is performed by using radiopharmaceuticals. Once administered, the radiopharmaceutical serves as a diagnostic indicator. This is a medicine that incorporates a radionuclide that emits ionizing radiation. The radionuclides used in nuclear medicine are artificially prepared and transported either as ready-to-use products or as radionuclide generators to the nuclear medicine department. The generator that is the most commonly used at the nuclear medicine department is the  $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$  generator.

The above mentioned radionuclide generator consists of a glass chromatography column which is located in a lead shielding cylinder. The column contains the adsorbent material (alumina) in which the parent radionuclide is adsorbed. Due to different chemical properties of the parent and the daughter element the daughter radionuclide can be washed out (eluted) by means of a suitable solution. After elution, the daughter element is produced again and can be washed out again.

In practice, the radiopharmaceuticals are commonly prepared using kits that are commercially available. The kits are labeled by using sodium pertechnetate solution obtained from the  $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$  generator.

Prior to the administration of the radiopharmaceutical to the patient it is necessary to carry out the determination of radiochemical purity. Following the current legislation such analyses are obligatory and the detailed procedures are subject to the Czech Pharmacopoeia and SPC of a manufacturer. The determination is based mostly on chromatography. The most commonly used is a paper chromatography and thin layer chromatography.

In the Czech Republic,  $^{99m}\text{Tc}$  labelled diphosphonates (e.g. the kits TechnoScan HDP, 6-MDP or 8-MDP) are used for bone scintigraphy. These osteotropic radiopharmaceuticals are prepared in a shielded laminar box in the radiopharmaceutical laboratory at the nuclear medicine department. The preparation is subject to the manufacturer's instructions. After preparation, prior to administration to the patient, the determination of radiochemical purity needs to be performed.

The determination of radiochemical purity of the radiopharmaceutical TechnoScan HDP is carried out by using thin layer chromatography (ITLC-SG) by means of 13.6% solution of sodium acetate and methyl ethyl ketone as eluent. However, this determination is demanding for the normal operation of the department in terms of design as well as costs. Therefore, a suitable alternative method was sought. The new method consists in paper chromatography by using 0.9% solution of sodium chloride and acetone as eluent.

After 50 determinations of radiochemical purity using pharmacopoeial and alternative methods was found that the alternative method is applicable for the routine determination of radiochemical purity during normal operation of the nuclear medicine department.

## **Prohlášení**

Prohlašuji, že svoji bakalářskou práci jsem vypracoval(a) samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své bakalářské práce, a to – v nezkrácené podobě – v úpravě vzniklé vypuštěním vyznačených částí archivovaných fakultou – elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejich internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby kvalifikační práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

V Českých Budějovicích dne 2. 5. 2013

.....

Klára Raus



## **Poděkování**

Mé poděkování patří celému kolektivu Centra nukleární medicíny s.r.o. v Nemocnici Na Bulovce za odbornou pomoc a trpělivost při zpracování bakalářské práce.  
Ráda bych též poděkovala Mgr. Františku Zahradkovi za vedení bakalářské práce.

# Obsah

Seznam použitých zkratk	13
Úvod	14
1 Nukleární medicína	15
1.1 Centrum nukleární medicíny s.r.o.	16
2 Scintigrafie skeletu	18
2.1 Historie scintigrafie skeletu	18
2.2 Patofyziologické poznámky	19
2.3 Kontraindikace vyšetření	20
2.4 Příprava pacienta	20
2.5 Provedení vyšetření	21
2.6 Vlastní provedení scintigrafického vyšetření	25
2.7 Přístrojové vybavení	26
2.8 Akvizice scintigramů	26
2.9 Zpracování obrazu	27
3 Distribuce radiofarmaka	28
3.1 Fyziologická	28
3.2 Patologická	28
3.2.1 Kostní nádory	28
3.2.1.1 Nádory sekundárně postihující skelet	28
3.2.1.2 Primární maligní kostní nádory	29
3.2.1.3 Benigní kostní tumory	30
3.2.2 Kostní infekce	31
3.2.3 Onemocnění kloubů	32
3.2.3.1 Ankylozující spondylitis (morbus Bechtěrev)	32
3.2.3.2 Uvolňování endoprotéz – aseptické a infekční	32
3.2.4 Aseptické nekrózy	33
3.2.5 Metabolická onemocnění skeletu	34
3.2.5.1 Pagetova choroba (osteitis deformans)	34

3.2.5.2 Fibrózní dysplázie	34
3.2.5.3 Kostní dysplazie	34
3.2.5.4 Hypertrofická osteoartropatie	34
3.2.5.5 Osteomalacie	35
3.2.5.6 Osteoporóza	35
3.2.6 Poranění kostí	36
3.2.7 Extraskelální akumulace radiofarmaka – vedlejší nálezy	37
4 Radionuklidy a jejich výroba	38
4.1 $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$ generátor	39
5 Radiofarmaka	40
5.1 Metody značení	41
5.2 Značení pomocí $^{99\text{m}}\text{Tc}$	42
6 Radiochemická čistota	44
6.1 Kontrola kvality radiofarmak	44
6.2 Stanovení radiochemické čistoty	44
6.3 Chromatografie	45
6.3.1 Vzestupná papírová chromatografie	46
6.3.2 Chromatografie na tenké vrstvě	46
7 TechneScan HDP	47
7.1 Příprava injekčního roztoku	47
7.2 Kontrola účinnosti značení	47
8 Hypotéza	49
9 Metodika výzkumu	50
9.1 Provedení alternativní metody	50
9.2 Výsledky měření	51
9.3 Formulace statistického šetření	57
9.4 Škálování	57
9.5 Elementární statistické zpracování	58
9.5.1 Tabulka	58
9.5.2 Grafy	59

9.5.3 Výpočet empirických parametrů	61
10 Diskuze	63
11 Závěr	64
12 Zdroje literatury	65
13 Obrazové přílohy	68

## **Seznam použitých zkratk**

SPC – souhrn údajů o přípravku

CT – výpočetní tomografie

MRI – magnetická rezonance

RCHČ – radiochemická čistota

## Úvod

Scintigrafie skeletu je jedno z nejčastěji používaných vyšetření, které je prováděno na odděleních nukleární medicíny. Toto vyšetření se v České republice provádí pomocí přípravků TechnScan HDP, 6-MDP či 8-MDP, které jsou připravovány v laboratoři pro přípravu radiofarmak na každém oddělení. Před podáním radiofarmaka pacientovi musí být provedeno stanovení radiochemické čistoty. Stanovení radiochemické čistoty u přípravku TechnScan HDP dle Českého lékopisu 2009 a dle SPC výrobce je poměrně náročné pro běžný provoz oddělení. Použití alternativní metody by mělo zkrátit časovou náročnost i finanční nákladnost a celkově zefektivnit kontrolu daného radiofarmaka při běžném provozu na pracovišti nukleární medicíny.

V současné době pracuji jako farmaceutka pro přípravu radiofarmak na oddělení nukleární medicíny, a proto jsem hledala metodu, která by byla efektivní pro provádění kontroly daného radiofarmaka. O použití alternativní metody jsem se dočetla v literatuře a z různých radiofarmaceutických konferencí a proto jsem se rozhodla tuto metodu vyzkoušet v běžné praxi. Odborná literatura však uvádí výhradně značený difosfonát  $^{99m}\text{Tc}$ -medronát, a pro námi používaný  $^{99m}\text{Tc}$ -oxidronát nejsou potřebná data dostupná. Přestože se jedná o radiofarmakum s totožným využitím, jeho radiochemické vlastnosti jsou mírně odlišné a literární data pro  $^{99m}\text{Tc}$ -medronát není možné převzít automaticky a v plném rozsahu i pro  $^{99m}\text{Tc}$ -oxidronát.

Cílem práce je zjistit, zda výsledky při použití alternativní metody budou odpovídat výsledkům při použití metody požadované Českým lékopisem. Tato hypotéza bude ověřena pomocí 50ti stanovení radiochemické čistoty, jak pomocí lékopisného stanovení, tak pomocí alternativní metody, za běžného provozu na pracovišti nukleární medicíny. Získané hodnoty budou vzájemně porovnány a statisticky zpracovány.

## 1 Nukleární medicína

Díky objevu mnoha umělých radionuklidů a s rozvojem techniky se i lékařství začalo podílet na mírovém využití jaderné energie. V padesátých letech dvacátého století tak došlo ke vzniku jednoho z nejmladších lékařských oborů – nukleární medicíny. (1,12)

Nukleární medicína je obor, který se zabývá diagnostikou a terapií pomocí otevřených radioaktivních zářičů, které jsou aplikovány do vnitřního prostředí organismu. V současné době převažuje diagnostické zobrazování nad terapeutickým využitím radionuklidů. (11)

Využívaná zobrazovací metoda se nazývá scintigrafie. Při této metodě dochází pomocí scintilační kamery ke snímání obrazů prostorového rozložení naaplikovaného radiofarmaka ve vyšetřované anatomické oblasti. (2)

„Základní charakteristikou scintigrafie je zobrazení funkce. Ostatní zobrazovací metody používané v radiologii zobrazují fyzikální a fyzikálně- chemické charakteristiky tkání“ (ŠÁMAL, 2002, s. 13). A proto, až na výjimky, zobrazují převážně pouze strukturu orgánů (uložení, velikost, tvar, ohraničení, vnitřní stavbu, atd.). Pouze scintigrafie zobrazuje funkci – lokální akumulace radiofarmaka je závislá na funkčním stavu vyšetřované tkáně. (2)

Zobrazení pomocí scintigrafie je založeno na znalosti farmakokinetiky radiofarmaka v organismu. Pomocí scintilačního detektoru, který je zabudován v gamakameře, lze zobrazit rozdělování radiofarmaka v cílové tkáni buď za určitou dobu po aplikaci radiofarmaka (statická scintigrafie) nebo v průběhu času (dynamická scintigrafie). Z nasnímaných snímků lze vyhodnotit funkci, pro kterou je použité radiofarmakum indikátorem. Proto je pro správné vyhodnocení získaných snímků a

následné popsání nálezu nutné znát použité radiofarmakum a jeho základní fyzikální, chemické a farmakologické vlastnosti. (2)

Velikost lokální akumulace radiofarmaka je závislá na intenzitě lokálních metabolických a funkčních dějů. Pomocí scintigrafického vyšetření lze určit místo poruchy funkce. Často poruchy funkce předcházejí poruchám struktury a tak lze pomocí metod nukleární medicíny patologické děje nalézt dříve než za použití jiných zobrazovacích metod. Oproti jiným metodám se tedy jedná o metodu citlivější, ale často méně specifickou. „Například kostní metastázy karcinomu prostaty, prsu nebo plic, které jsou na scintigramu skeletu viditelné dříve než na rentgenovém snímku, ale nelze je však rozlišit od ložiskových změn způsobených jinými příčinami zvýšené přestavby kosti (hojení zlomeniny, apod.) Na rentgenovém snímku se metastázy projeví teprve v době, kdy přestavba kosti dosáhla určitého stupně – potom je však rentgenový nález pro danou patologii specifický“ (ŠÁMAL, 2002, s. 14).

V současné době je v České republice 43 pracovišť nukleární medicíny, kdy pět z nich má i lůžkovou část, kde se provádí léčba pomocí otevřených zářičů. (5)

## **1.1 Centrum nukleární medicíny s.r.o.**

Samotný výzkum stanovení radiochemické čistoty radiofarmaka TechnScan HDP probíhal v laboratoři pro přípravu radiofarmak na oddělení nukleární medicíny v Centru nukleární medicíny s.r.o. v Nemocnici Na Bulovce.

Centrum nukleární medicíny s.r.o. je vysoce specializované pracoviště zabývající se ambulantní diagnostikou. Vzniklo roku 2005 jako nestátní zdravotnické zařízení. Od 1.1.2006 převzalo a kompletně zmodernizovalo oddělení nukleární medicíny v nemocnici s poliklinikou ve Vysočanech (Clinicum). Jelikož velikost oddělení již



nemohla uspokojit všechny požadavky, bylo 4.2.2010 otevřeno zcela nové a vysoce moderní oddělení nukleární medicíny v Nemocnici Na Bulovce.

Oddělení v Nemocnici Na Bulovce je vybaveno nejmodernější diagnostickou technikou - hybridní gamakamerou SPECT/CT (AnyScan SC Mediso), gamakamerou SPECT (AnyScan S Mediso) a také planární gamakamerou (Nucline AP Mediso). K dispozici je i pracoviště ergometrie k provádění zátěžových testů.

V současné době na tomto oddělení pracují dvě lékařky. Samotná scintigrafická vyšetření provádějí tři všeobecné sestry a jeden radiologický asistent. Radiofarmaka připravuje jedna farmaceutka. Na oddělení je dále jeden radiologický fyzik a jedna administrativní pracovnice.

Provoz tohoto oddělení byl zahájen v červnu roku 2010. V roce 2010 zde bylo vyšetřeno 1407 pacientů, v roce 2011 3839 pacientů a v roce 2012 3734 pacienti. Jsou zde prováděna radionuklidová diagnostická vyšetření prakticky v celém rozsahu nukleární medicíny. Mezi nejčastěji prováděná vyšetření patří scintigrafie skeletu a scintigrafie plic, v menší míře zátěžová scintigrafie myokardu a scintigrafická detekce zánětů.

## 2 Scintigrafie skeletu

Jedná se o neinvazní metodu, která citlivě zobrazuje změny kostního metabolismu. Patří mezi nejčastěji prováděná vyšetření na odděleních nukleární medicíny. (3) Jedná se o diagnostickou metodu, která odhalí patologie způsobené změnou metabolické aktivity. Tyto změny jsou detekovány pomocí planárního nebo tomografického vyšetření za použití vhodného radiofarmaka, které se váže do kostí. – tzv. osteotropní radiofarmakum. (2)

Podané radiofarmakum se akumuluje v kostech. Tato akumulace je závislá na metabolickém obratu vápníku. K hromadění radiofarmaka dochází přímo v kostní tkáni, neakumuluje se ani v kostní dřeni ani měkkých tkáních v okolí kosti. „Za 3-4 hodiny po podání se do kostní tkáně vestaví asi 60% radiofarmaka, 30% se vyloučí ledvinami a zbývajících 10% zůstává v cirkulující krvi“ (KAISLEROVÁ, 2008, s. 62). (5)

K paliativní léčbě kostních metastáz se používají osteotropní radiofarmaka značená beta zářiči –  $^{32}\text{P}$ ,  $^{89}\text{Sr}$ ,  $^{153}\text{Sm}$  či  $^{186}\text{Re}$ .  $^{153}\text{Sm}$  a  $^{186}\text{Re}$  současně emitují gama záření a proto lze pomocí scintigrafie zobrazit jejich distribuci ve skeletu. (3)

### 2.1 Historie scintigrafie skeletu

V počátcích se ke studiu kostního metabolismu používaly beta zářiče –  $^{45}\text{Ca}$  a  $^{32}\text{P}$ , které se ale obtížně detekovaly. Až na počátku šedesátých let dvacátého století byl do klinické praxe zaveden  $^{85}\text{Sr}$ -chlorid, následně  $^{87\text{m}}\text{Sr}$ -chlorid a  $^{18}\text{F}$ -fluorid. Tato radiofarmaka však nebyla příliš vhodná pro zobrazování scintilačními kamerami vzhledem k jejich vysoké energii záření. (3, 19)

Po roce 1971 se začíná psát éra moderní kostní scintigrafie. V roce 1971 Subramanian a McAfee použili k zobrazení fosfátové komplexy značené  $^{99m}\text{Tc}$  techneciem. Nejprve se spíše využíval  $^{99m}\text{Tc}$  pyrofosfát, dnes mezi nejpoužívanější radiofarmaka pro scintigrafii skeletu patří  $^{99m}\text{Tc}$  hydroxymetylendifosfonát (oxidronát, HDP) a  $^{99m}\text{Tc}$  metylenidifosfonát (medronát, MDP). (3, 12)

## 2.2 Patofyziologické poznámky

Kost je metabolicky aktivní orgán, který má jak úlohu mechanickou, tak i slouží jako zásobárna minerálů. Samotné kostní buňky netvoří jen strukturu kostí, ale také plní metabolickou funkci. Kost je složena z jedné třetiny z organické složky (kolagenní vlákna, osteoblasty, osteoklasty a osteocyty) a ze dvou třetin z anorganické složky (Na, Mg, F, P, Ca,...). Hlavní organická složka je tvořena kolagenními vlákny, anorganická krystaly hydroxyapatitu, na který se váže 90% vápníku. Tyto krystaly jsou tyčinkovitého a destičkovitého tvaru o velikosti 20-60 nm a nalezneme je podél kolagenních vláken.

Ve třetí dekádě věku dochází k ukončení růstu a modelace skeletu, během dalšího života dochází k remodelaci skeletu. U zdravých osob v mladším věku je v rovnováze remodelace katabolická (odbourávání) a anabolická (novotvorba). Tento děj je způsoben funkcí dvou průběžně se obnovujících populací buněk – osteoklastů a osteoblastů.

Celý tento proces je řízen hormonálně (parathormon a calcitonin) a pomocí vitamínu (vitamín D). Nediferencované buňky - osteocyty na povrchu kostí se mohou změnit v osteoklasty způsobující odbourávání kostí. Pokud je aktivita nediferencovaných buněk potlačena, dochází k jejich změně na osteoblasty, které naopak způsobují výstavbu kosti. Osteoblasty obsahují zásaditou fosfatázu tvořící

vysokou místní koncentraci fosfátu, což má za následek vypadávání vápenatých iontů ( $\text{Ca}^{2+}$ ). (2, 27)

## 2.3 Kontraindikace vyšetření

Vyšetření nemá absolutní kontraindikaci.

Mezi vážné relativní kontraindikace vyšetření patří těhotenství a laktace. V těhotenství je toto vyšetření prováděno pouze v naléhavém případě a pouze tehdy, pokud přínos vyšetření převáží nad rizikem pro plod. Jelikož se volné  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  vylučuje do mateřského mléka, je doporučeno přerušit kojení po dobu 12 hodin.

Jako další relativní kontraindikace je uváděna těžká renální insuficience, neboť dochází k výraznému zhoršení kvality scintigramů a ke zvýšení radiční zátěže u pacienta.

U dětí a mladistvých do 16ti let věk je nutné porovnat přínos vyšetření vzhledem k rizikům, která vyplývají z relativně vysoké radiační zátěže v růstových zónách kostí.

Nutné je být obezřetný při vyšetření pacientů s inkontinencí moči.

Na kvalitu obrazů mohou mít nepříznivý vliv léky s obsahem difosfonátů, tetracyklinu a sloučenin železa a hliníku. Např. antacida mohou způsobit výrazně zvýšenou akumulaci radiofarmak v játrech. (3)

## 2.4 Příprava pacienta

Samotné vyšetření nevyžaduje žádnou přípravu ze strany pacienta – pacient může být normálně najezený, napitý, užít své léky.

V průběhu vyšetření (tj. od aplikace radiofarmaka po začátek snímání) je vhodné, aby pacient byl dostatečně hydratován. Po ukončení vyšetření je vhodné, aby pacient dodržel zvýšený příjem tekutin a tak častějším močením zrychlil vylučování radiofarmaka z organismu, aby byla snížena radiační zátěž pacienta.

Na některých odděleních je hodinu před aplikací radiofarmaka podáváno per orálně 400mg chloristanu draselného (chloritem), kvůli blokaci štítné žlázy před ozářením.

Těsně před zahájením vlastního snímání se pacient musí vymočit – naplněný močový měchýř by mohl překrývat struktury pánevních kostí.

Též je nutné odstranit z povrchu těla všechny kovové předměty (řetízky, náramky, spona na pásku, klíče či mince v kapse, atd.), neboť by mohlo docházet ke vzniku artefaktů na záznamu. Artefakty též mohou být způsobeny kardiostimulátory, prsními náhradami, endoprotézami, ortézami, při kontaminaci močí či paravenózní aplikaci radiofarmaka. Pokud je radiofarmakum podáno do centrálního žilního katetru, může být viditelná jeho stěna. Vidět jsou i cévky z močového měchýře a také vývody moče do střeva. (3)

Kvalitu obrazu může negativně ovlivnit přílišná vzdálenost pacienta od kolimátoru, pohyb pacienta během vyšetření, špatná volba kolimátoru či snímání příliš brzy od aplikace radiofarmaka. (25)

## **2.5 Provedení vyšetření**

Před vlastní aplikací radiofarmaka se musí provést identifikace pacienta, ověření osobních a zdravotních dat na poukazu na vyšetření (žádance). Pacient musí být poučen o průběhu a významu vyšetření a je nutné, aby pacient podepsal informovaný souhlas s podáním radioaktivní látky.

Následně pacient vyplní dotazník, kde vypíše informace týkající se jeho anamnézy – zda prodělal nějaké úrazy, operace či onemocnění s možným postižením skeletu.

Posléze zdravotní sestra aplikuje pacientovi vyšetřovací látku. Difosfonáty značené  $^{99m}\text{Tc}$  se aplikují intravenózně.

Pro dospělého pacienta s hmotností 58-87 kg se podává dávka 800 MBq. Při jiné hmotnosti pacienta se aktivita aplikovaná pacientovi vypočítá ze vzorce:  $A_p = A_{\text{norm}} * F$ , kde  $A_p$  je aktivita aplikovaná pacientovi,  $A_{\text{norm}}$  je 800 MBq a F je faktor, který je odvozený z povrchu těla. Faktor F je počítán ze vztahu  $F = W^{0,7}/70^{0,7}$ , kde W je hmotnost těla.

Hodnoty faktoru F lze nalézt v tabulce doporučené EANM:

Hmotnost pacienta	Faktor F	Aktivita aplikovaná pacientovi
33-37 kg	0,69	552 MBq
38-42 kg	0,76	608 MBq
43-47 kg	0,81	648 MBq
48-52 kg	0,88	704 MBq
53-57 kg	0,91	728 MBq
88-92 kg	1,19	952 MBq
93-97 kg	1,24	992 MBq
98-102 kg	1,28	1024 MBq
103-107 kg	1,33	1064 MBq
108-112 kg	1,37	1096 MBq
113-117 kg	1,41	1128 MBq
118-122 kg	1,46	1168 MBq

Při hmotnosti pacienta nad 123 kg se aplikuje 1200 MBq, což je maximální přípustná dávka.

U dětí do 16ti let věku a s hmotností nad 70 kg se za  $A_{norm}$  považuje 600 MBq. Při nižší hmotnosti je nutné podávanou aktivitu přepočítat pomocí vzorce  $A_p = A_{norm} * F$ .

Hodnoty faktoru F nalezneme v tabulce doporučené v SPC od výrobce a v tabulce doporučené EANM (European Association of Nuclear Medicine):

Hmotnost dítěte	Faktor F
3 kg	0,10
4 kg	0,14
5 kg	0,17
6 kg	0,19
7 kg	0,21
8 kg	0,23
9 kg	0,25
10 kg	0,27
11 kg	0,29
12 kg	0,32
13 kg	0,34
14 kg	0,36
15 kg	0,38
16 kg	0,40
18 kg	0,44

20 kg	0,46
22 kg	0,50
24 kg	0,53
26 kg	0,56
28 kg	0,58
30 kg	0,62
32 kg	0,65
34 kg	0,68
36 kg	0,71
38 kg	0,73
40 kg	0,76
42 kg	0,78
44 kg	0,8
46 kg	0,85
48 kg	0,85
50 kg	0,88
52-54 kg	0,90
56-58 kg	0,92
60-62 kg	0,96
64-66 kg	0,98
68 kg	0,99

U dětí do jednoho roku je minimální aktivita 40 MBq, což zabezpečí potřebnou kvalitu zobrazení. (4)



Před aplikací radiofarmaka pacientovi se podaná aktivita proměřuje v měřiči aktivity. Součástí měřiče aktivity je ionizační komora. Jedná se o plynový detektor, kde se využívá schopnosti radioaktivního záření vytvářet iontové páry, které fungují jako nosiče elektrického proudu. (6, 18)

Vlastní snímání se provádí nejdříve za 2 hodiny po i.v. aplikaci. (29)

## **2.6 Vlastní provedení scintigrafického vyšetření**

Zevní detekování naaplikovaného radiofarmaka může probíhat čtyřmi různými způsoby:

1. planární zobrazení pouze určité oblasti
2. celotělové zobrazení celého skeletu
3. tomografické zobrazení pouze sledované oblasti skeletu (SPECT)
4. třífázová scintigrafie skeletu

Třífázová scintigrafie má tyto fáze:

1. Perfuzní (flow, angiografická) fáze, kdy se zobrazuje místní prokrvení vyšetřované oblasti. Scintigramy se pořizují ihned po intravenózní aplikaci radiofarmaka. Tato fáze trvá 1-2 minuty.
2. Tkáňová (blood pool) fáze, která ihned navazuje na první fázi. V této fázi se snímá prostup vyšetřovací látky z krevního řečiště do extracelulárních prostor měkkých tkání a kostí. Tato fáze trvá 5 minut a provádí se série statických snímků v intervalu 30 sekund na snímek.
3. Pozdní (skeletální) fáze je klasické statické či celotělové zobrazení za minimálně dvě hodiny od podání radiofarmaka. (3, 20)

## 2.7 Přístrojové vybavení

Optimální je provedení snímání na dvoudetektorové scintilační kameře, která je vybavená zařízením pro celotělovou scintigrafii a SPECT. Ale lze použít i jednodetektorovou gamakameru, která zaznamenává jednotlivé scintigramy v rozsahu zorného pole kamery. Používají se paralelní kolimátory s vysokým rozlišením (LEHR), lze použít i LEAP kolimátory.

Pacient se na vyšetřovací stůl uloží vleže na zádech. Pokud pacient svou hmotností přesahuje povolenou nosnost vyšetřovacího stolu, nebo není pro celkový stav (bolesti) schopen vydržet vleže po celou dobu vyšetření, lze provádět statické snímky vstoje či vsedě. (4)

## 2.8 Akvizice scintigramů

Okénko analyzátoru je nastaveno na fotopík 140 keV, šíře okénka je 130 – 150 keV.

Celotělová scintigrafie se provádí v přední a zadní projekci jako průběžný záznam při kontinuálním pohybu kamery nebo jako záznam jednotlivých scintigramů (step and shoot), které se vzájemně překrývají a následně jsou pomocí počítače složeny do jednoho obrazu. Matice celotělového scintigramu je minimálně 256\*1024\*16. Záznam se provádí tak, aby celotělový scintigram byl tvořen více než 1,5 milionem impulsů.

Třífázová scintigrafie se skládá z perfúzní fáze, kdy použitá matice je 64\*64 a doba na jeden scintigram je 1 vteřina. Další částí je tkáňová fáze, kdy se používá matice minimálně 128\*128 a celkový počet impulsů je minimálně 500-600 tisíc. Poslední částí je pozdní fáze, kdy se provádí buď celotělová scintigrafie nebo statický scintigram za použití matice 256\*256 a s počtem impulsů minimálně 400 tisíc.

Při SPECT vyšetření se zaznamenává 120 obrazů na dráze 360°, optimální je použití matice 128\*128 a doba záznamu jednotlivých obrazů je 10 – 40 sekund.

Scintigrafie s použitím pinhole kolimátoru je prováděna, pokud potřebujeme získat velmi vysoké prostorové rozlišení – u dětí vyšetření kyčlí (diagnostika morbus Perthes), vyšetření drobných kůstek rukou a nohou jak u dětí, tak u dospělých. Používá se matice 256\*256 popř. 128\*128, počet impulsů je minimálně 75 až 100 tisíc, ale častěji se používá akvizice na čas (obvykle 15 minut), dle vyšetřované oblasti. (4)

## **2.9 Zpracování obrazu**

Planární scintigramy se zobrazují při optimálním monochromatickém spektru a musí být zvoleny optimální meze pro dolní a horní zobrazovanou četnost impulsů.

SPECT obraz se běžně zpracovává filtrovanou zpětnou projekcí nebo iterativní rekonstrukcí. Při automatickém konturování je vhodné provádět korekci na atenuaci, aby byla provedena kontrola automaticky stanovených kontur. (4)

Na planárních scintigramech i na tomografických řezech lze pomocí počítače kvantifikovat akumulaci radiofarmaka. (3)

## **3 Distribuce radiofarmaka**

### **3.1 Fyziologická**

Fyziologická distribuce radiofarmaka je rozdílná u dětí a u dospělých. Typickým nálezem u dětí je výrazná akumulace radiofarmaka v růstových štěrbinách dlouhých kostí – u malých dětí mají eliptický tvar, u větších je tvar lineární. Dalším typickým nálezem je zvýšená akumulace radiofarmaka v kostochondrálním přechodu žeber. U dětí do dvanácti let věku se hrudní kost zobrazuje homogenně, zatímco u dospívajících a dospělých nacházíme heterogenní akumulaci. U dospělých se sytěji zobrazuje axiální skelet než končetiny a lebka. V lebce je často vyšší akumulace radiofarmaka v lebních švech. Na páteři se sytěji zobrazuje spinální výběžek krčního obratle C7, někdy i C2. Sytěji mohou být zobrazena místa svalových úponů pokud dochází k větší svalové zátěži. U žen může docházet k slabému difúznímu vychytávání radiofarmaka v prsou nebo v děloze během menstruace. Po porodu nacházíme zvýšené vychytávání v symfýze. (3)

### **3.2 Patologická**

Patologická distribuce radiofarmaka se projevuje jak zvýšenou akumulací radiofarmaka (horké ložisko), tak, což je méně časté, sníženou akumulací radiofarmaka (studené ložisko). (3)

#### **3.2.1 Kostní nádory**

##### ***3.2.1.1 Nádory sekundárně postihující skelet***

Díky scintigrafie skeletu při nádorovém onemocnění, které metastazuje do skeletu, lze detekovat kostní metastázy mnohem časněji než pomocí RTG (o 2-18 měsíců dříve).

Osteoblastická ložiska jsou viditelná jako mnohočetná, ale i solitární ložiska se zvýšenou akumulací radiofarmaka. Nejčastěji je nalezneme v páteři, pánvi, žebrech či lebce. Při výskytu solitárních nebo nemnohočetných ložisek doplníme scintigrafické vyšetření dalšími zobrazovacími metodami (RTG, CT, adt.) či pomocí biopsie pro posouzení etiologie.

Osteolytická ložiska jsou viditelná jako místa s výpadem akumulace. Dobře detekovatelná jsou jen tehdy, je-li kolem nich hyperaktivní lem.

Mnohočetný metastatický rozsev do kostní dřene se zobrazí jako tzv. superscan. Pro superscan je typická vyšší homogenní akumulace radiofarmaka v kostech, které obsahují aktivní kostní dřeň. Charakteristický je vysoký poměr naabsorbování radiofarmaka do kostí vůči absorpci okolních tkání. Pro superscan je rovněž typické, že nedochází k zobrazení ledvin a močového měchýře.

Při sledování efektu léčby, zejména u pacientů s osteoblastickými lézemi, se také provádí scintigrafie skeletu. Menší počet ložisek nebo snížená akumulace radiofarmaka je ukazatelem kladného vlivu léčby. Po jejím zahájení, v rozmezí 4-12 týdnů, dochází k tzv. „flare“ fenoménu, kdy se pozitivní efekt chemoterapie nebo hormonální terapie projeví na scintigrafickém zobrazení větším počtem lézí nebo zvětšenou akumulací radiofarmaka. Tato zvýšená akumulace radiofarmaka výrazně poklesne za 6 měsíců od zahájení léčby. Proto je nutné výsledek scintigrafického vyšetření provést v korelaci s RTG, CT či MRI. Při radioterapeutické léčbě je 3-4 měsíce nižší akumulace radiofarmaka v ozařovacím poli. (3, 13, 22)

### ***3.2.1.2 Primární maligní kostní nádory***

Tyto nádory se projevují jako zvýšení akumulace radiofarmaka ve všech třech částech třífázové scintigrafie skeletu. V první fázi detekujeme zvýšení perfúze, které

není pouze v místě nádoru, ale většinou je postižena celá končetina a proto v poslední fázi může být detekována vyšší akumulace radiofarmaka v celé končetině.

Mezi primární maligní kostní tumory patří Ewingův sarkom, kde je ve třetí fázi v primárním ložisku aktivita akumulována homogenně. Dále osteosarkom, kdy je v kostní fázi také vysoká akumulace aktivity, ale nehomogenní, a aktivita se často propaguje do měkkých tkání v okolí. Sem také patří chondrosarkom a mnohočetný myelom, kdy je nález ve třetí fázi variabilní, většinou je akumulace snižená a ložisko se zobrazuje jako studené.

Scintigrafie skeletu se u primárních nádorů kostí používá k detekci vzdálených metastáz kostí, také se užívá k monitoringu pooperačního stavu a při diagnostikování případného relapsu nemoci. Tato metoda je nevhodná pro zjišťování velikosti nádorů, protože radiofarmakum se může akumulovat ve větším rozsahu než je velikost nádoru.

Po amputaci dolní končetiny zůstává několik měsíců v místě osteotomie a v kyčli vyšší akumulace radiofarmaka. Tato akumulace se postupně snižuje díky zmenšenému zatížení končetiny a oproti zdravé straně je tato akumulace dokonce menší. Kostní štěpy se zobrazují jako místa se sníženou akumulací radiofarmaka.(3, 13)

### ***3.2.1.3 Benigní kostní tumory***

Pomocí scintigrafie nelze odlišit maligní a benigní kostní nádory. U enchondromu, neosifikujícího fibromu, osteochondromu a chondroblastomu nalézáme normální nebo pouze mírně zvýšenou akumulaci radiofarmaka. Kostní cysta se zobrazuje jako místo se sníženou akumulací, někdy může mít kolem sebe lem se zvýšenou akumulací. U osteoidního osteomu a osteoblastomu je typická vysoká lokální akumulace radiofarmaka ve všech třech fázích třífázové scintigrafie. Obrovskobuněčný kostní nádor se zobrazuje jako místo se sníženou akumulací radiofarmaka, kolem kterého je lem s lehce zvýšenou akumulací. (3, 13)

### 3.2.2 Kostní infekce

Důsledkem infekčního onemocnění v kostech nebo kostní dřeni jsou změny vaskularizace a metabolismu a také změny v okolní zdravé kosti. Projevem těchto změn je hyperémie a zvýšená metabolická aktivita (osteoblastická).

Třífázová kostní scintigrafie se jeví jako citlivá zobrazovací metoda při průkazu zánětu ve skeletu. Hyperémie je vidět jak v perfúzní, tak tkáňové fázi, sama hyperémie způsobuje vyšší akumulaci radiofarmaka v kosti. Při zánětu měkkých tkání může dojít k reaktivním změnám na kostech, které jsou v blízkosti těchto měkkých tkání, což se projeví zvýšenou akumulací radiofarmaka. Akutní osteomyelitida a další infekční záněty ve skeletu mají zvýšenou akumulaci radiofarmaka v místě infekce a zobrazí se jako tzv. horká ložiska. U dětí se ale někdy projeví jako tzv. studená ložiska, protože v důsledku zánětu může dojít k porušení skeletu jako následek ischemie, což vede k devitalizaci, tím se sníží absorpce radiofarmaka. Standardní scintigrafie skeletu pro diagnostiku časně osteomyelitidy je velmi sensitivní – nad 90%, ale není specifická. Třífázová scintigrafie vede k výraznému zvýšení specifity – 80-90%, pokud zde nejsou současně další patologie (např. traumatické poškození, operace, nádory skeletu a infarkty kostí, artritida, atd.). Tato onemocnění vedou ke snížení specifity až na 30%. U dětí není vzácná hematogenní osteomyelitida, která postihuje více kostí zároveň, a proto je výhodné provádění celotělového scintigramu. Třífázové scintigrafické vyšetření též pomáhá rozlišit zánět měkkých tkání a osteomyelitidu – u obou je v perfúzní i tkáňové fázi přítomna hyperémie, ale pouze u osteomyelitidy je přítomna zvýšená akumulace radiofarmaka v kostní fázi.

Scintigrafie kostí je také velmi citlivá, ale málo specifická metoda pro diagnostiku spondylodiscitidy. Projevuje se jako výrazné zvýšení akumulace radiofarmakav jednom nebo více obratlích. Pokud se jedná o izolovanou discitidu, nalézáme vyšší aktivitu radiofarmaka v ploténkách sousedních obratlů. Aby byl nález správně interpretován, musí být dobrá znalost anamnézy pacienta a výsledků ostatních vyšetření.

Pomocí scintigrafie se chronická osteomyelitida zobrazuje s vysokou sensitivitou (téměř 100%), ale specifická je velmi malá. Nelze zjistit, zda se jedná o chronickou osteomyelitidu či o hojivé procesy po akutní osteomyelitidě. Také není možné pomocí scintigrafie zjišťovat, jak probíhá léčba osteomyelity, protože vyšší osteoblastická aktivita je přítomna dlouhou dobu po vyléčení. (3, 13, 24)

V případě, že se při scintigrafii skeletu objeví nejasný nález, který je podezřelý jako možné místo infekce, je vhodné provést další vyšetření s použitím jiných radiofarmak jako jsou leukocyty značené  $^{99m}\text{Tc}$  či značené monoklonální protilátky proti granulocytům. (15)

### **3.2.3 Onemocnění kloubů**

V postižených kloubech dochází k difúznímu až ložiskovému zvýšení akumulace, v akutní fázi se nachází známky hyperémie při třífázové scintigrafii kostí. Pokud je patologická akumulace ve všech třech fázích, jedná se o artritidu, naopak u artrózy (nedekompenzované) a dalších artropatií je zvýšená akumulace jen ve třetí fázi. Výrazná hyperémie a zvýšená metabolická aktivita je u septické artritidy. Stejně tak u epikondylitidy, kdy se nalézá lokální hyperémie a zvýšená metabolická aktivita. (3, 13)

#### ***3.2.3.1 Ankylozující spondylitis (morbus Bechtěrev)***

Při této chorobě nacházíme výrazné zvýšení akumulace v oblasti SI (sakroiliakální) skloubení, popřípadě v laterálních částech obratlů. Někdy se nalézá vyšší metabolická aktivita v kosti patní i jinde. (3, 13)

#### ***3.2.3.2 Uvolňování endoprotéz – aseptické a infekční***

Pokud je implantována kloubní endoprotéza, tak v jejím okolí se nalézá vyšší akumulace radiofarmaka, což odpovídá reaktivní přestavbové změně. Tuto zvýšenou



přestavbu nalézáme u cementované endoprotézy asi jeden rok, u necementované až tři roky po implantaci a to i u pacientů, u nichž byl pooperační průběh asymptomatický. Dochází k postupnému snižování intenzity akumulace, nejdelší dobu je vidět po totální endoprotéze (TEP) kyčelního kloubu ve velkém trochanteru. U TEP kolenního kloubu může být zvýšená akumulace radiofarmaka až po dobu 30 měsíců po operaci. Při uvolnění endoprotézy se opět zvyšuje záchyt radiofarmaka v okolí TEP. Ke zvýšenému záchytu dochází i u dalších postižení jako např. u únavové zlomeniny, u tumorů či při bakteriální infekci. Pro odlišení, zda se jedná o aseptické uvolnění nebo se jedná o infekci, se používá třífázová scintigrafie podezřelého místa. Pokud se jedná o bakteriální infekci, potom je zvýšená akumulace radiofarmaka ve všech třech fázích. Pokud je zvýšená akumulace pouze ve třetí fázi, svědčí to pro aseptické uvolňování. K přesnější diagnóze může být scintigrafie skeletu doplněna o scintigrafické vyšetření pomocí značených leukocytů. Vyšší akumulace leukocytů odpovídá bakteriálnímu zánětu, ale také může docházet k fyziologické vyšší akumulaci leukocytů v kostní dřeni kolem endoprotézy. Proto se provádí snímání za 3 a 24 hodin po aplikaci radiofarmaka pro odlišení infekce od zobrazení aktivované kostní dřene. Pokud dojde k nárůstu naakumulovaných leukocytů na scintigramu za 24 hodin od aplikace, jedná se o infekci. (3, 13, 21)

### **3.2.4 Aseptické nekrózy**

Akutní nekróza se projevuje jako ložiskový výpadek akumulace radiofarmaka. Naopak v pozdější fázi, tj. při hojení, nalézáme vyšší akumulaci. Scintigrafie skeletu je diagnostická metoda první volby pokud je podezření na aseptickou nekrózu hlavice femuru (morbus Legg-Calvé-Perthes), neboť může být toto onemocnění diagnostikováno ihned po jeho vzniku. Při tomto vyšetření je vhodné užití kolimátoru pinole. Nebezpečí nekróz je i u pacientů, kteří jsou dlouhodobě dialyzováni a u nemocných, kteří jsou léčeni steroidy. (3, 13, 23)

### **3.2.5 Metabolická onemocnění skeletu**

„Jedná o systémová onemocnění skeletu s poruchou kostního metabolismu. Scintigrafický obraz je velmi proměnlivý v závislosti na eventuelních komplikacích např. patologické fraktury“ (VIŽĎA, 2006, s. 9).

#### ***3.2.5.1 Pagetova choroba (osteitis deformans)***

Jedná se o nemoc nejasného původu. Na scintigramech je typická výrazně vyšší akumulace radiofarmaka v postižených kostech. Význam vyšetření je v monitoringu brzkého stádia nemoci a sleduje se odpověď na léčbu. (3, 13)

#### ***3.2.5.2 Fibrózní dysplázie***

Při třífázové scintigrafii je výrazně zvýšená akumulace radiofarmaka ve všech třech fázích. V postiženém místě je akumulace radiofarmaka zvýšena difúzně až ložiskově. (3, 13)

#### ***3.2.5.3 Kostní dysplazie***

„Jedná se o geneticky podmíněné vady s abnormalitami tvaru a struktury určitých částí skeletu. Pokud je postižena epifýza, tak poté dojde ke zpožděné osifikaci jádra“ (VIŽĎA, 2006, s. 10).

#### ***3.2.5.4 Hypertrofická osteoartropatie***

Výskyt je častý při nádorovém nebo zánětlivém plicním onemocnění, ale může být i u jiných onemocnění (např. onemocnění jaterního původu, při Crohnově nemoci, atd.). Na scintigramech je skvrnitě vyšší akumulace radiofarmaka na povrchu dlouhých kostí,

kostech na rukách a nohách, občas je postižena i klíční kost, lebka, lopatka a patela. (3, 13)

#### **3.2.5.5 Osteomalacie**

Porucha mineralizace kostí vede ke změně kvalitě kosti. Nejčastěji je způsobena nedostatkem vitamínu D. Na scintigramech se zobrazuje vysoký záchyt radiofarmaka v axiálním skeletu, dlouhých kostech, lebce, dolní čelisti, hrudní kosti a kostochondrálních skloubeních, většinou spojené s deformitami kostí. Zároveň se nachází pouze malá akumulace radiofarmaka v ledvinách. (3, 13)

#### **3.2.5.6 Osteoporóza**

Jedná se o nejčtenější metabolické onemocnění kostí, v ČR je postiženo až 8% populace. Charakteristické pro osteoporózu je nedostatečná tvorba kostní matrix za zachované normální mineralizace. Vzniká při porušené novotvorbě skeletu, pokud je snížena činnost osteoblastů (pravá osteoporóza), nebo pokud dochází ke zvýšenému odbourávání kostní hmoty. U dospělých pacientů se objevuje při dlouhodobém používání kortikoidů, při nemocech jater a slinivky, při malabsorpčním syndromu a u žen v přechodu. Scintigrafické vyšetření nemá významnou úlohu pro diagnostiku nemoci, protože se jedná o difuzní proces, ale ukazuje případné osteoporotické zlomeniny kdekoli v těle pacienta. Pokud je postižena křížová kost, tak je velice typické tzv. H-znamení, kde se zobrazuje výrazná akumulace radiofarmaka v obou SI skloubeních a v křížové kosti. Idiopatická juvenilní osteoporóza je typická pro věkovou kategorii 8-15 let a mezi její projevy patří kompresivní fraktury páteře a případně zlomeniny dlouhých kostí v metafýzách. (3, 13)

### 3.2.6 Poranění kostí

V nově vzniklé fraktuře nedochází ke zvýšenému záchytu osteotropního radiofarmaka a proto není pomocí scintigrafie detekovatelná. Zvýšená akumulace v místě fraktury nastává za dva až tři dny po úraze, u dětí i dříve. Normální nález je u 60-80% fraktur, které jsou nekomplikované, bez dislokace, do jednoho roku od úrazu a do tří let je téměř vždy (z 95%) nález zcela normalizován. Pokud se jedná o komplikovanější frakturu, potom zvýšená akumulace přetrvává i mnoho let. Pokud fraktura není zhojena, ale vznikne např. pakloub, potom zvýšená akumulace radiofarmaka trvá po celý život. Fraktura může být vyloučena, pokud za týden po poranění je scintigrafické vyšetření negativní. Scintigrafii skeletu je vhodné použít při podezření na syndrom týraného dítěte, ale nedá se zjistit přesná doba, kdy k týrání došlo. U dětí jsou také těžko hodnotitelné epifýzo-metafyzární zlomeniny v důsledku fyziologického zvýšeného vychytávání radiofarmaka v růstových zónách. Celotělová scintigrafie je nutná u polytraumat, kdy odhalí řadu zlomenin, které nebyly zjištěny na RTG.

Scintigrafie skeletu je vysoce sensitivní metoda pro zjišťování stresové fraktury. Stresová zlomenina se na scintigramech zobrazuje jako výrazně zvýšený záchyt radiofarmaka a hyperémie. Pokud se po fyzické námaze objevují intenzivní bolesti v holenních oblastech dolních končetin a na scintigramech se zobrazuje zvýšený záchyt radiofarmaka lineárního či vřetenovitého tvaru, bez výrazné hyperémie, pak se jedná o tzv. shin splints, který je důsledkem periostitidy.

V začátcích reflexní sympatické dystrofie (morbus Sudeck) je na scintigramech viditelná lokální hyperémie a zvýšená akumulace radiofarmaka kolem kloubů nemocné končetiny. Ve 20.-60- týdnu po prvních příznacích dojde k normalizaci perfuzní fáze a později i k normalizaci kostní přestavby. (3, 13)

### **3.2.7 Extrasketální akumulace radiofarmaka – vedlejší nálezy**

„Při scintigrafii skeletu se mohou zobrazit vrozené i získané patologie ledvin a močových cest (anomálie v počtu a lokalizaci ledvin, tvarové atypie, tumory a cysty ledvin, poruchy odtoku moče, hydronefróza)“ (VIŽĎA, 2006, s.10). Radiofarmakum se může akumulovat v některých tumorech jako např. neuroblastom, tumor prsu a mozku, v metastázách v plicích a játrech, také v nekróze (např. subakutní infarkty myokardu, kardiomyopatie) a v hematomech. K difúznímu zvýšení akumulace v plicích a žaludku dochází u pacientů s hyperparatyreózou. Pomocí scintigrafie je možné zobrazení iatrogenních traumat (např. změn po thorakotomii a kraniotomii). Větší akumulace radiofarmaka je také v čerstvé jizvě. (3, 13)

## 4 Radionuklidy a jejich výroba

Radionuklidy které se používají v nukleární medicíně jsou připravovány uměle a to buď v cyklotronu nebo v jaderném reaktoru. Při přípravě radionuklidů se využívá uměle vyvolaná jaderná reakce, díky které ze stabilních prvků terčového materiálu vzniká požadovaný radionuklid. Pro nukleární medicínu je velice důležitý sekundární zdroj radionuklidů – radionuklidový generátor. V něm dochází k samovolné radioaktivní přeměně, kdy vzniká z mateřského prvku prvek dceřiný, který je též radioaktivní a pro své vlastnosti je používán v nukleární medicíně. Mateřský prvek je připravován v jaderném reaktoru nebo cyklotronu – primární zdroj radionuklidů. (7)

Radionuklidový generátor je nejrozšířenější zdroj krátkodobých radionuklidů, neboť se snadno transportuje na oddělení. Radionuklidy získané z generátoru mají krátký fyzikální poločas, což umožňuje aplikaci vyšší aktivity při nízké absorbované dávce a vysoké kvalitě obrazu. Je nutné od sebe oddělit dlouhodobý mateřský radionuklid od krátkodobého dceřiného radionuklidu a proto musí mít odlišné chemické vlastnosti. (18)

Radionuklidový generátor  $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$  se skládá ze skleněné chromatografické kolony, která je umístěná v olověném stínícím válci. Tato kolona obsahuje adsorpční materiál (oxid hlinitý), ve kterém je neadsorbován mateřský radionuklid. Z důvodu odlišných chemických vlastností mateřského a dceřiného prvku lze dceřiný radionuklid vymýt (vyeluovat) pomocí vhodného roztoku. Po eluci dochází opět k produkování dceřiného prvku, který lze opětovně vymývat. Získaný eluát musí být prost mateřského radionuklidu a adsorpčního materiálu. (6)

## 4.1 $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$ generátor

Nejrozšířenějším generátorem na odděleních nukleární medicíny je molybden – techneciový generátor. Radioaktivní přeměna probíhá dle rovnice  $^{99}\text{Mo} \rightarrow ^{99\text{m}}\text{Tc} \rightarrow ^{99}\text{Tc}$ .  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  má velmi výhodné vlastnosti pro použití v nukleární medicíně – dochází k emitování záření gama o energii 140 keV, jeho poločas rozpadu je 6 hodin, proto je pouze malé radiační zatížení organismu, ale ne na úkor diagnostického přínosu. Produktem přeměny dceřiného radionuklidu  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  je izotop  $^{99}\text{Tc}$ , které má velmi dlouhý poločas rozpadu (212 000 let) a je tedy považován za stabilní.

$^{99\text{m}}\text{Tc}$  se od mateřského radionuklidu  $^{99}\text{Mo}$  odděluje promýváním kolony s oxidem hlinitým, kde je tento mateřský radionuklid naadsorbován. Eluce je prováděna pomocí sterilního izotonického roztoku chloridu sodného. Eluát se používá buď přímo k vyšetření nebo se používá k přípravě různých radiofarmak. (7)

## 5 Radiofarmaka

Radiofarmakum je léčivý přípravek, který obsahuje chemicky nebo biologicky aktivní látky, jejichž účinná složka je radionuklid, který emituje ionizující záření. (7, 14)

Radiofarmakum musí vždy obsahovat jeden cíleně včleněný radionuklid, který je charakterizován poločasem rozpadu a druhem a energií záření. (17)

Účinná látka u radiofarmaka je onen radionuklid, který na rozdíl od jiných léčivých přípravků má tu zvláštnost, že se obsah účinné látky, díky radioaktivní přeměně, zmenšuje v čase – jedná se o exponenciální závislost. (14)

Český lékopis 2009 uvádí základní požadavky pro radionuklidy, které jsou používány pro diagnostiku:

1. Radionuklidy musí emitovat gama záření v rozsahu 100 – 300 keV, bez doprovodného korpuskulárního záření.
  2. Poločas rozpadu radionuklidu musí být úměrný době, která je potřebná pro vyšetření.
  3. Produkt radioaktivního rozpadu daného radionuklidu musí být stabilní nuklid nebo nuklid, který má tak dlouhý poločas rozpadu, že se chová téměř jako stabilní nuklid.
- (7)

Radiofarmakum je bez farmakologického účinku, neboť se používá pouze ve stopovém množství. Není zde žádný vztah mezi farmakologickou dávkou a účinkem, čímž se odlišuje od standardních léků. (6, 16)

„Radiofarmakum musí být sterilní a apyrogenní a musí vyhovovat všem kontrolním testům jako běžné léky, aby mohlo být bezpečně podáno lidem“ (LANG, 1998, s. 18).

Radiofarmakum se skládá z radionuklidu a farmaka. Farmakum je voleno dle své farmakokinetiky – buď se převážně hromadí v požadovaném orgánu nebo se účastní



dané fyziologické funkce. Následně je na zvolené farmakum navázán vhodný radionuklid. Radiofarmakum po aplikaci slouží jako diagnostický indikátor – radiofarmakum emituje radioaktivní záření a to se registruje pomocí detektoru, který je umístěný zevně od pacienta. Takto lze vyhodnotit funkčně morfológické struktury nebo funkce vyšetřovaného orgánu či systému. Radiofarmakum určené pro diagnostiku musí být bezpečné, musí být netoxické, vyzařované záření musí být dobře detekovatelné a absorbovaná dávka musí být co nejnižší. Radiofarmaka jsou z těla vylučována převážně močí, v menší míře stolicí a potem. (6)

Ideální radiofarmakum má být snadno dostupné, s krátkým efektivním poločasem, při diagnostickém použití bez korpuskulárního záření, naopak pro použití v terapii s korpuskulárním zářením a mělo by mít vysoký poměr akumulace v daném orgánu ku akumulaci v okolí. (6)

K akumulaci radiofarmak v orgánech a tkáních dochází pomocí několika mechanismů. „Nejdůležitější je metabolická aktivita tkání, pasivní difuze a fagocytosa, blokáda kapilár, buněčná sekvestrace, vazba na receptory, reakce antigenu s protilátkou a některé další“ (LANG, 1998, s. 18.).

Radiofarmaka se mohou dělit dle způsobu podání na:

- a. parenterální – pravé roztoky, koloidní roztoky nebo suspenze,
- b. perorální – koloidní roztoky či kapsle,
- c. inhalační – radioaktivní plyn ( $^{81\text{m}}\text{Kr}$ ) či radioaktivní aerosol,
- d. externí. (6)

## 5.1 Metody značení

Při značení sloučenin pomocí radionuklidů dochází k nahrazení některých atomů v molekule radioaktivním atomem. Při značení se používá mnoha různých metod.

Nejčastěji chemická syntéza, biologická syntéza, izotopová výměnná reakce či přímé označení v reaktoru. (6, 7)

V praxi se radiofarmaka připravují za použití souprav, které jsou dostupné komerčně – tzv. kity. (6, 7)

## 5.2 Značení pomocí $^{99m}\text{Tc}$

$^{99m}\text{Tc}$  je ideální k diagnostice in vivo díky svým fyzikálním vlastnostem – jedná se o čistý gama zářič o energii 140 keV, což je optimální pro snímání moderními scintilačními kamerami a má fyzikální poločas rozpadu 6 hodin. To je důvod, proč lze pacientovi naaplikovat radioaktivitu v dávce stovek megabecquerelů – tato dávka zajistí kvalitní obrazy při nízké radiační zátěži pacienta. (6)

$^{99m}\text{Tc}$  se snadno získává z molybden- techneciových generátorů ve formě roztoku technecianu sodného ( $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$ ), který je sterilní a apyrogenní.  $^{99m}\text{Tc}$  ve formě technecianu ( $^{99m}\text{TcO}_4^-$ ) není téměř reaktivní. Aby se zvýšila chemická reaktivita je nutné  $^{99m}\text{Tc}$  nejdříve redukovat do nižšího oxidačního stavu. Nejčastěji se k redukování  $^{99m}\text{Tc}$  používají cínaté ionty a to ve formě chloridu. (6)

K přípravě radiofarmak na odděleních nukleární medicíny se používají hromadně vyráběné neradioaktivní sety – kity. Tyto soupravy lze poměrně dlouho skladovat a radiofarmakum lze připravit v čase potřeby. (6)

„Kity pro většinu  $^{99m}\text{Tc}$  značených radiofarmak jsou připravovány ze sloučeniny, která má být označena, a cínatých iontů v příslušné formě a v příslušném množství. Acidita je upravena přidáním zředěného roztoku hydroxidu sodného a rovněž jsou přítomny konzervační a stabilizační látky. Takto vzniklý roztok je pak lyofilizován

(vysušen mražením) a lahvička soupravy je vyplněna sterilním dusíkem, aby se zabránilo oxidaci cínatých iontů vzdušným kyslíkem“ (LANG, 2008, s. 20).

Každý kit má různé množství cínatých kationtů. Při nadbytku těchto iontů mohou cínaté kationty tvořit koloidní částice, které mají schopnost vázat na sebe  $^{99m}\text{Tc}$  z roztoku technecistanu sodného. Při navázání  $^{99m}\text{Tc}$  na koloidní částice dojde ke snížené účinnosti značení a ke změně biodistribuce radiofarmak. Naopak při nedostatku cínatých iontů se technecistan dostatečně neredukuje a v radiofarmaku je přítomno volné  $^{99m}\text{Tc}$ . (6)

## **6 Radiochemická čistota**

### **6.1 Kontrola kvality radiofarmak**

Před podáním radiofarmaka pacientovi je nutné provádět testy kontroly kvality. Tyto testy lze obecně rozdělit do dvou skupin. První skupina jsou fyzikálně- chemické testy, týkající se stanovení množství radioaktivity a stanovení radionuklidové a radiochemické čistoty. Druhou skupinou jsou biologické testy, které se týkají kontroly sterility, apyrogenity a toxicity. (6)

Na odděleních nukleární medicíny se před aplikací radiofarmaka pacientovi musí provádět měření radioaktivity a stanovení radiochemické čistoty. Měří se jak celková radioaktivita radiofarmaka, tak každá jednotlivá dávka před aplikací pacientovi. Tato měření jsou prováděna v ionizační komoře, která je součástí měřiče aktivity. (6)

### **6.2 Stanovení radiochemické čistoty**

Radiochemická čistota radiofarmaka se vypočítá jako podíl radioaktivity v požadované chemické sloučenině ku celkové radioaktivitě obsažené v radiofarmaku a je vyjádřena v procentech. (7)

Příčinami radiochemických nečistot může být použití nižší nebo naopak vyšší množství radioaktivity ke značení přípravku, než je doporučováno výrobcem, radiolýza, rozklad vlivem teploty, času, atd., změna pH, vystavení světlu nebo přítomnost oxidujících či redukujících činidel. (9)

Radiochemické nečistoty způsobí zkreslení scintigramů, protože dojde k menší akumulaci radiofarmaka v cílovém orgánu a opačně se zvýší vychytávání ve tkáních

v okolí. Také se může změnit biodistribuce radiofarmaka a tím dojde ke zvýšení dávky absorbované pacientem. (6)

Ke zjišťování radiochemické čistoty lze v podstatě použít jakoukoliv analytickou separaci. Mezi doporučované patří papírová chromatografie, tenkovrstvá chromatografie, elektroforéza, vylučovací kapalinová chromatografie a plynová chromatografie. (28)

V praxi se nejběžněji používá papírová a tenkovrstvá chromatografie. Na start chromatografického proužku se nanese malé množství radiofarmaka a nechá se vyvíjet v mobilní fázi. Po vyvíjení se vrstva/chromatografický papír usuší, proužky se rozstříhají a jednotlivé dílky chromatogramu se proměřují pomocí scintilačního studnového detektoru. (26)

Scintilační studnový detektor používaný pro měření chromatografií je tvořen scintilačním detektorem z NaI(Tl) – jodid sodný aktivovaný thaliem. (26) Uprostřed tohoto krystalu je vyvrtán otvor pro zasunutí zkumavky s měřeným vzorkem. Díky tomuto provedení se dosahuje mnohem lepší geometrické účinnosti měření – účinnost měření pro gama záření o energii 140 keV je 50 – 70%. K přístroji je připojen ovládací počítač. (26)

### **6.3 Chromatografie**

Chromatografie je fyzikálně – chemická separační metoda. Podstatou chromatografie je rozdělení jednotlivých složek ve vzorku mezi dvě fáze – mezi fázi mobilní (pohyblivá fáze) a stacionární (zakotvená fáze). (30)

Zvolená mobilní fáze ovlivní pohyblivost chromatografovaných látek – pro polární látky se používají polární organická rozpouštědla, pro nepolární látky se používá voda s přídavkem kyseliny nebo zásady. (30)

### **6.3.1 Vzestupná papírová chromatografie**

Zařízení pro chromatografii se skládá ze skleněné komory s dobře těsnícím víčkem. Na toto víčko lze zavěsit chromatografický papír a ponořit ho do mobilní fáze. Nejčastěji se používá chromatografický papír Whatman číslo 1 a 3, který je rozstříhaný do proužků o dostatečné délce a šířce minimálně 2,5 cm.

Na dno komory se nalije mobilní fáze do výšky 2,5 cm. Na chromatografický proužek se ve výšce 3,0 cm označí horizontální čarou start. Na start se nanese pomocí injekční stříkačky s jehlou malé množství zkoumaného roztoku. Papír se vzorkem se ponoří do mobilní fáze, kde se nechá vyvíjet do předepsané vzdálenosti nebo po předepsanou dobu. Poté se papír vyjme a nechá se volně usušit na vzduchu. (28)

### **6.3.2 Chromatografie na tenké vrstvě**

Zařízení pro chromatografii se skládá ze skleněné komory, která je opatřena těsnícím víčkem. Do tohoto víčka lze upevnit chromatografickou desku a ponořit její konec do mobilní fáze. Nejčastěji se používá silikagel naimpregnovaný na vrstvě skleněných vláken (iTLC – SG), který je nastříhaný na proužky o dostatečné délce a šířce 1,5 cm.

Vlastní provedení vyvíjení je stejné jako u vzestupné papírové chromatografie. (28)

## 7 TechneScan HDP

Jedná se o kit pro přípravu  $^{99m}\text{Tc}$  – oxidronátu, který je používán pro scintigrafii skeletu. Toto osteotropní radiofarmakum se vychytává v kostech mechanismem chemisorbce na hydroxyapatit v anorganické části kostní tkáně. (7, 10)

Lyofilizát je před působením kyslíku chráněn dusíkovou atmosférou. Po naředění lyofilizátu technecistanem sodným je hlavní složkou přípravku roztok  $^{99m}\text{Tc}$ –oxidronátu, dále injekční roztok obsahuje chlorid cínatý, kyselinu gentisovou, chlorid sodný, kyselinu chlorovodíkovou a hydroxid sodný. (29)

### 7.1 Příprava injekčního roztoku

Injekční roztok se připravuje ve stíněném laminárním boxu v laboratoři pro přípravu radiofarmak, za dodržení ochrany před ionizujícím zářením. Do lahvičky TechneScan HDP se asepticky přidá roztok technecistanu sodného o maximální aktivitě 7,4 GBq, v objemu 3 – 6 ml. Poté se lahvička 30 sekund protřepává do rozpuštění obsahu. Poté je roztok připraven k aplikaci resp. k provedení kontroly značení. (29)

### 7.2 Kontrola účinnosti značení

Před podáním injekčního roztoku pacientovi musí být provedena kontrola účinnosti značení – stanovení radiochemické čistoty. (28, 29)

Stanovení radiochemické čistoty se provádí pomocí tenkovrstvé chromatografie za použití silikagelu na vrstvě skleněných vláken (iTLC – SG).

Stanovení se skládá ze dvou částí:

1. Zkouška A, kdy se stanoví hydrolyzované technecium a technecium v koloidní formě jako nečistoty A. Na start chromatogramu se nanese kapička radiofarmaka a nechá se vyvíjet roztokem 13,6% octanu sodného, který se připraví čerstvý před každým stanovením, po dráze o délce 10,0 cm. Poté se chromatogram usuší na vzduchu. Proužek se rozstříhne na dvě části – první část je 1 cm dlouhá a druhá 9 cm dlouhá a obě části se proměří ve vhodném detektoru. Hydrolyzované technecium a technecium v koloidní formě zůstává na startu, komplex oxidronátu s techneciem a technecistanový iont jsou v blízkosti čela mobilní fáze.

2. Zkouška B, kdy se stanoví technecistanový iont jako nečistota B. Na start chromatogramu se nanese malá kapička radiofarmaka a nechá se vyvíjet v methylethylketonu po dráze o délce 10 cm. Poté se chromatogram usuší na vzduchu. Proužek se rozstříhne na dvě části – první část je 5 cm dlouhá a druhá je také 5 cm dlouhá a následně se obě části proměří ve vhodném detektoru. Technecistanový iont je v blízkosti čela mobilní fáze, komplex oxidronátu s techneciem a technecium v koloidní formě zůstává na startu.

Procento aktivity, které odpovídá technecistanovému iontu získané ze zkoušky B nesmí být větší než 2% a zároveň součet procent aktivit, které odpovídají nečistotám získaných ze zkoušek A a B nesmí být větší než 5%. Takže celková radiochemická čistota musí být větší nebo rovna 95%. (28, 29)



## **8 Hypotéza**

Při použití alternativní metody pro stanovení radiochemické čistoty se dosáhne obdobných výsledků radiochemické čistoty jako při použití lékopisné metody. Ale navrhovaná metoda je pro použití za běžného provozu oddělení nukleární medicíny méně náročná na provedení.

## 9 Metodika výzkumu

Provede se 50 stanovení radiochemické čistoty u přípravku TechneScan HDP pomocí lékopisné a alternativní metody. Naměřené výsledky budou vzájemně porovnány a ze vzájemně porovnaných hodnot získáme data, která následně statisticky zpracujeme.

### 9.1 Provedení alternativní metody

Provádí se vzestupná papírová chromatografie za použití chromatografického papíru Whatman číslo 3.

Stanovení se skládá ze dvou částí:

1. Zkouška A, kdy se stanoví hydrolyzované technecium a technecium v koloidní formě jako nečistoty A. Na start se nanese kapička radiofarmaka a nechá se vyvíjet roztokem 0,9% chloridu sodného po dobu 10 minut, což odpoví dráze o délce 6,0 cm. Poté se chromatogram usuší na vzduchu. Proužek se rozstříhne na dvě části – první část je 0,6 cm dlouhá a druhá 5,4 cm dlouhá a obě části se proměří ve vhodném detektoru. Hydrolyzované technecium a technecium v koloidní formě zůstává na startu, komplex oxidronátu s techneciem a technecistanový iont jsou v blízkosti čela mobilní fáze.

2. Zkouška B, kdy se stanoví technecistanový iont jako nečistota B. Na start chromatogramu se nanese malá kapička radiofarmaka a nechá se vyvíjet v acetonu po dobu 10 minut, což odpovídá dráze o délce 10 cm. Poté se chromatogram usuší na vzduchu. Proužek se rozstříhne na dvě části – první část je 5 cm dlouhá a druhá je také 5 cm dlouhá a následně se obě části proměří ve vhodném detektoru. Technecistanový iont je v blízkosti čela mobilní fáze, komplex oxidronátu s techneciem a technecium v koloidní formě zůstává na startu.

Procento aktivity, které odpovídá technecistanovému iontu získané ze zkoušky B nesmí být větší než 2% a zároveň součet procent aktivit, které odpovídají nečistotám získaných ze zkoušek A a B nesmí být větší než 5%. Takže celková radiochemická čistota musí být větší nebo rovna 95%.

## 9.2 Výsledky měření

Radiochemická čistota stanovená pomocí lékopisné metody:

Datum měření	Radiochemická nečistota A (%)	Radiochemická nečistota B (%)	Celková radiochemická čistota (%)
12.9.2012	4,59	0,40	95,01
19.9.2012	2,59	1,41	96,00
24.9.2012	2,90	0,86	96,24
24.9.2012	3,98	0,82	95,20
1.10.2012	1,83	1,56	96,61
1.10.2012	2,46	1,31	96,23
3.10.2012	3,08	1,43	95,49
4.10.2012	2,78	1,67	95,55
8.10.2012	3,11	1,09	95,80
10.10.2012	3,32	1,22	95,46
11.10.2012	3,20	1,64	95,16
12.10.2012	3,83	0,85	95,32
17.10.2012	4,30	0,64	95,06
18.10.2012	4,43	0,37	95,20
24.10.2012	2,63	1,15	96,22
25.10.2012	3,82	1,03	95,15
26.10.2012	3,71	0,57	95,72
29.10.2012	3,85	0,98	95,30

30.10.2012	3,24	0,60	96,16
1.11.2012	3,04	1,28	95,68
2.11.2012	3,44	1,37	95,19
5.11.2012	1,50	1,17	97,33
5.11.2012	4,06	0,57	95,37
7.11.2012	3,03	1,34	95,63
13.11.2012	3,67	1,11	95,22
15.11.2012	3,77	1,23	95,00
16.11.2012	3,28	0,87	95,42
19.11.2012	1,93	1,00	97,07
19.11.2012	1,62	0,56	97,82
21.11.2012	2,98	1,82	95,20
22.11.2012	1,94	1,97	96,09
23.11.2012	3,06	0,75	96,19
29.11.2012	3,34	0,86	95,80
3.12.2012	1,94	1,13	96,93
3.12.2012	4,03	0,72	95,25
5.12.2012	3,15	1,08	95,77
6.12.2012	1,59	0,53	97,88
7.12.2012	1,77	1,03	97,20
10.12.2012	1,60	1,06	97,34
10.12.2012	1,84	1,17	96,99
12.12.2012	1,25	1,83	96,92
13.12.2012	3,36	0,43	96,21
14.12.2012	3,82	0,78	96,40
17.12.2012	2,39	0,43	97,18
17.12.2012	3,37	1,54	95,09
20.12.2012	3,33	0,73	95,94
21.12.2012	2,34	1,55	96,11

2.1.2013	3,47	0,29	96,24
3.1.2013	4,57	0,41	95,02
7.1.2013	3,52	0,87	95,61

Radiochemická čistota stanovená pomocí alternativní metody:

Datum měření	Radiochemická nečistota A	Radiochemická nečistota B	Celková radiochemická čistota (%)
12.9.2012	4,08	0,03	95,89
19.9.2012	3,78	0,04	96,18
24.9.2012	2,81	0,01	97,18
24.9.2012	4,55	0,03	95,42
1.10.2012	4,08	0,04	95,88
1.10.2012	3,22	0,04	96,74
3.10.2012	3,43	0,07	96,50
4.10.2012	2,56	0,02	97,42
8.10.2012	3,70	0,01	96,29
10.10.2012	3,22	0,01	96,77
11.10.2012	2,64	0,04	97,32
12.10.2012	4,26	0,03	95,71
17.10.2012	2,83	0,02	97,15
18.10.2012	2,08	0,02	97,90
24.10.2012	2,12	0,02	97,86
25.10.2012	4,87	0,01	95,12
26.10.2012	2,43	0,01	97,56
29.10.2012	1,65	0,10	98,25
30.10.2012	2,33	0,01	97,66
1.11.2012	2,83	0,03	97,14
2.11.2012	3,41	0,01	96,58
5.11.2012	1,31	0,04	98,65

5.11.2012	1,42	0,19	98,39
7.11.2012	3,48	0,02	96,50
13.11.2012	2,91	0,01	97,08
15.11.2012	4,04	0,01	95,95
16.11.2012	2,21	0,02	97,77
19.11.2012	2,62	0,04	98,34
19.11.2012	1,73	0,04	98,23
21.11.2012	3,67	0,15	96,18
22.11.2012	3,20	0,01	96,79
23.11.2012	3,91	0,01	96,08
29.11.2012	3,87	0,01	96,12
3.12.2012	2,15	0,01	97,84
3.12.2012	3,46	0,01	96,53
5.12.2012	2,05	0,01	97,94
6.12.2012	2,84	0,03	97,13
7.12.2012	2,41	0,01	97,58
10.12.2012	2,44	0,01	97,55
10.12.2012	2,41	0,01	97,58
12.12.2012	3,27	0,03	96,70
13.12.2012	1,86	0,03	98,11
14.12.2012	2,96	0,01	97,03
17.12.2012	4,72	0,01	95,27
17.12.2012	3,21	0,01	96,78
20.12.2012	3,18	0,01	96,81
21.12.2012	2,81	0,01	97,18
2.1.2013	2,29	0,01	97,70
3.1.2013	2,77	0,01	97,22
7.1.2013	2,24	0,01	97,75

Rozdíl mezi radiochemickou čistotou stanovenou lékopisnou metodou (RCHČ 1) a radiochemickou čistotou stanovenou alternativní metodou (RCHČ 2):

Datum měření	RCHČ 1 (%)	RCHČ 2 (%)	Rozdíl
12.9.2012	95,01	95,89	0,88
19.9.2012	96,00	96,18	0,18
24.9.2012	96,24	97,18	0,94
24.9.2012	95,20	95,42	0,22
1.10.2012	96,61	95,88	-0,73
1.10.2012	96,23	96,74	0,51
3.10.2012	95,49	96,50	1,01
4.10.2012	95,55	97,42	1,87
8.10.2012	95,80	96,29	0,49
10.10.2012	95,46	96,77	1,31
11.10.2012	95,16	97,32	2,16
12.10.2012	95,32	95,71	0,39
17.10.2012	95,06	97,15	2,09
18.10.2012	95,20	97,90	2,70
24.10.2012	96,22	97,86	1,64
25.10.2012	95,15	95,12	-0,03
26.10.2012	95,72	97,56	1,84
29.10.2012	95,30	98,25	2,95
30.10.2012	96,16	97,66	1,50
1.11.2012	95,68	97,14	1,46
2.11.2012	95,19	96,58	1,39
5.11.2012	97,33	98,65	1,32
5.11.2012	95,37	98,39	3,02
7.11.2012	95,63	96,50	0,87
13.11.2012	95,22	97,08	1,86

15.11.2012	95,00	95,95	0,95
16.11.2012	95,42	97,77	2,35
19.11.2012	97,07	98,34	1,27
19.11.2012	97,82	98,23	0,41
21.11.2012	95,20	96,18	0,98
22.11.2012	96,09	96,79	0,70
23.11.2012	96,19	96,08	-0,11
29.11.2012	95,80	96,12	0,32
3.12.2012	96,93	97,84	0,91
3.12.2012	95,25	96,53	1,28
5.12.2012	95,77	97,94	2,17
6.12.2012	97,88	97,13	-0,75
7.12.2012	97,20	97,58	0,38
10.12.2012	97,34	97,55	0,21
10.12.2012	96,99	97,58	0,59
12.12.2012	96,92	96,70	-0,22
13.12.2012	96,21	98,11	1,90
14.12.2012	96,40	97,03	0,63
17.12.2012	97,18	95,27	-1,91
17.12.2012	95,09	96,78	1,69
20.12.2012	95,94	96,81	0,87
21.12.2012	96,11	97,18	1,07
2.1.2013	96,24	97,70	1,46
3.1.2013	95,02	97,22	2,20
7.1.2013	95,61	97,75	2,14



### 9.3 Formulace statistického šetření

- hromadný náhodný jev (HNJ) – měření radiochemické čistoty radiofarmaka TechneScan HDP pomocí lékopisné a alternativní metody
- statistická jednotka (SJ) – rozdíl radiochemické čistoty mezi radiochemickou čistotou naměřenou pomocí lékopisné metody a pomocí alternativní metody
- statistický znak (SZ) – rozdíl mezi hodnotami naměřených při použití lékopisné a alternativní metody
- hodnota statistického znaku (HSZ) – pomocí číselného vyjádření
- náhodný výběr (NV) – pro tento projekt nebyl prováděn náhodný výběr
- základní statistický soubor (ZSS) – 50 měření radiochemické čistoty
- výběrový statistický soubor (VSS) – odpovídá ZSS, tj. 50 měření

### 9.4 Škálování

Škálování je členění hodnot statistických znaků do kategorií (= prvky škály).

Prvek škály	Hodnota SZ
1	-1,91 – -0,93
2	-0,92 – +0,05
3	+0,06 – +1,04
4	+1,05 – +2,03
5	+2,04 – +3,02

Přirazení počtu statistických jednotek ( $n_i$ ) prvkům škály ( $x_i$ ):

$x_i$	$n_i$
1	1
2	5
3	20
4	15
5	9

## 9.5 Elementární statistické zpracování

### 9.5.1 Tabulka

$x_i$	$n_i$	$n_i/n$	$\Sigma n_i/n$	$x_i n_i$	$x_i^2 n_i$	$x_i^3 n_i$	$x_i^4 n_i$
1	1	0,02	0,02	1	1	1	1
2	5	0,10	0,12	10	20	40	80
3	20	0,40	0,52	60	180	540	1 620
4	15	0,30	0,82	60	240	960	3 840
5	9	0,18	1,00	45	225	1125	5 625
	$\Sigma 50$	$\Sigma 1$		$\Sigma 176$	$\Sigma 666$	$\Sigma 2 666$	$\Sigma 11 166$

$x_i$  – prvky škály

$n_i$  – absolutní četnosti prvků škály (počet statistických jednotek)

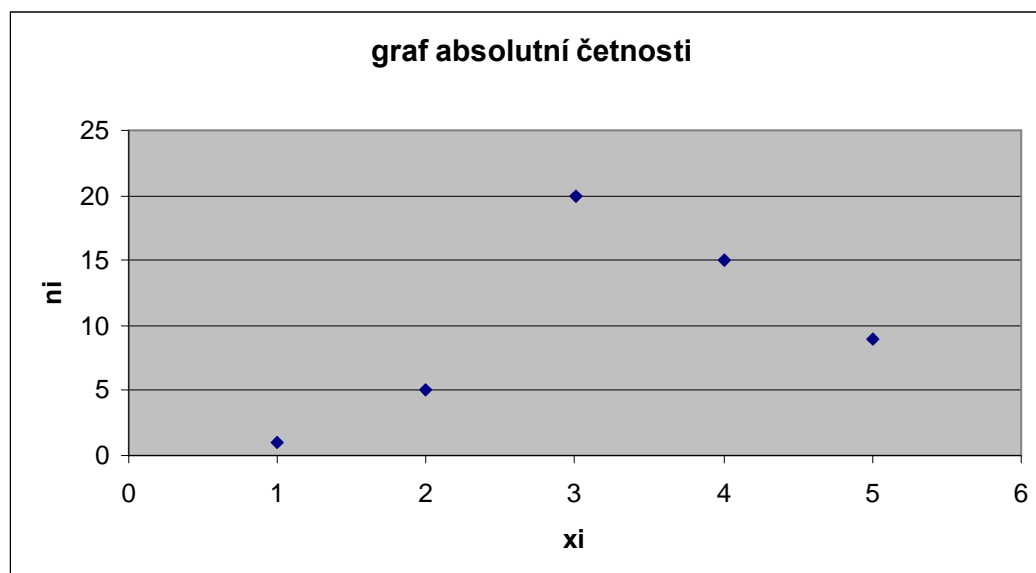
$\Sigma n_i = n$  – rozsah výběrového statistického souboru (VSS)

$n_i/n$  – relativní četnosti prvků škály (součet všech relativních četností musí být roven 1)  
 $\Sigma n_i/n$  – kumulativní četnosti (pravděpodobnost, že bude naměřen výsledek měření menší nebo rovný výsledku  $x_i$ )

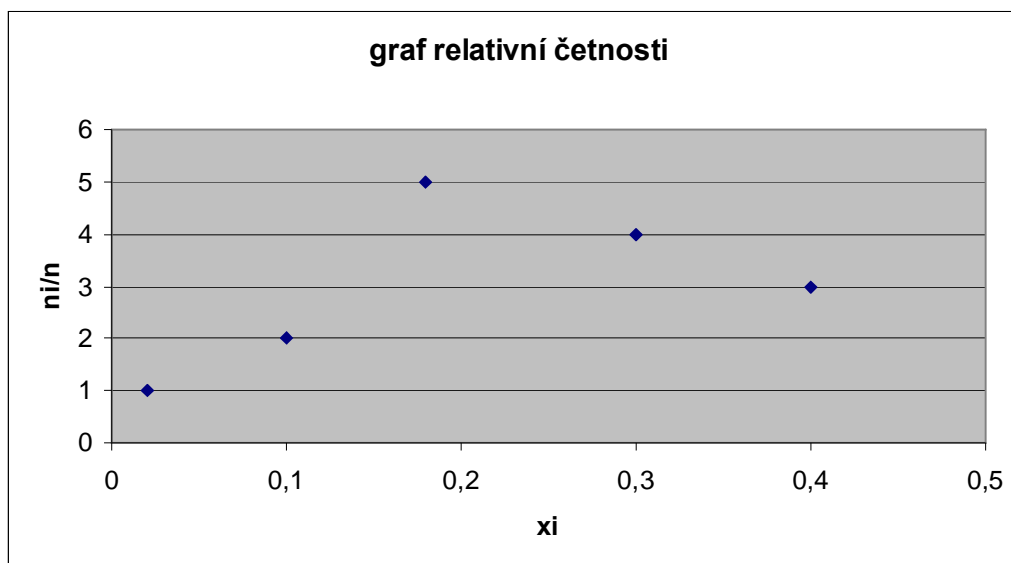
### 9.5.2 Grafy

Jedná se o grafické vyjádření empirického rozdělení jednosměrného statistického souboru. Toto rozdělení je spojeno s používáním souřadnicového systému v rovině. V tomto souřadnicovém systému jsou vždy na vodorovnou osu nanášeny prvky škály  $x_i$ , na svislou osu jsou nanášeny prvky odpovídající četnosti.

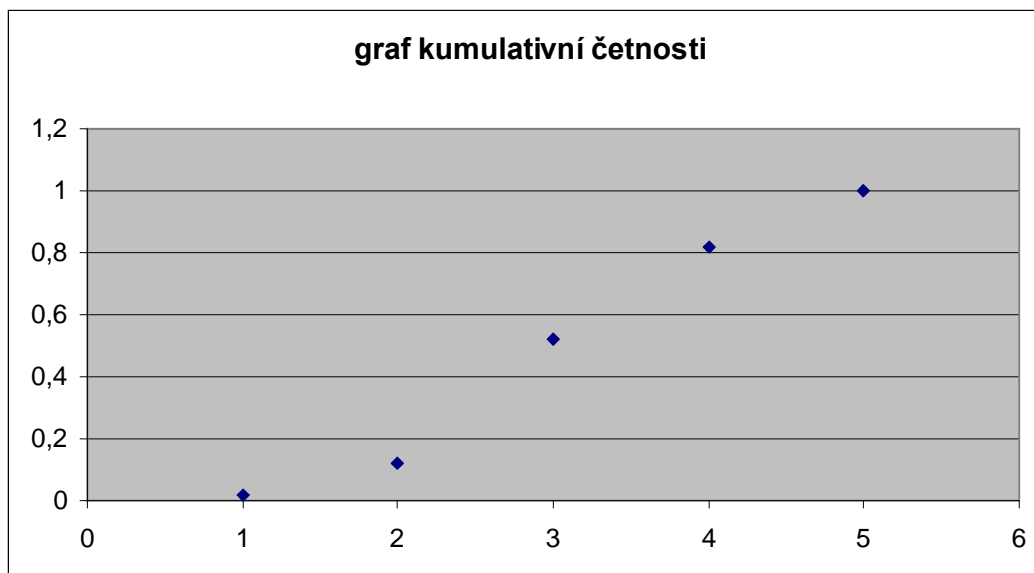
Graf absolutní četnosti



Graf relativní četnosti



Graf kumulativní četnosti



### 9.5.3 Výpočet empirických parametrů

**Obecný moment r-tého řádu:**  $O_r = \frac{1}{n} \sum n_i \cdot x_i^r$

Obecný moment 1. řádu (= parametr polohy)  $O_1 = \bar{x}$  (aritmetický průměr)

Obecný moment 1. řádu:  $O_1 = \bar{x} = 176/50 = 3,52$

Obecný moment 2. řádu:  $O_2 = 666/50 = 13,32$

Obecný moment 3. řádu:  $O_3 = 2\ 666/50 = 53,32$

Obecný moment 4. řádu:  $O_4 = 11\ 166/50 = 223,32$

**Centrální moment r-tého řádu:**  $C_r = \frac{1}{n} \sum n_i \cdot (x_i - \bar{x})^r$

Centrální moment 2. řádu (= empirický rozptyl):  $C_2 = S_x^2$

$C_2 = O_2 - O_1^2 = 0,9296$

$C_3 = O_3 - 3 \cdot O_2 \cdot O_1 + 2 \cdot O_1^3 = -0,1108$

$C_4 = O_4 - 4 \cdot O_3 \cdot O_1 + 6 \cdot O_2 \cdot O_1^2 - 3 \cdot O_1^4 = 2,2491$

**Směrodatná odchylka ( $S_x$ ):**  $S_x = \sqrt{C_2(x)}$

$S_x = 0,9642$

**Variační koeficient (relativní směrodatná odchylka):**  $S_x / \bar{x} = 0,2739$

**Šikmost ( $N_3$ ):**  $N_3 = \frac{C_3(x)}{C_2(x) \sqrt{C_2(x)}}$

Pokud je  $N_3$  větší než 0 – zešikmení doleva – nižší prvky škály mají větší četnosti než vyšší prvky. Pokud je  $N_3$  menší než 0 – zešikmení doprava – vyšší prvky škály mají větší četnosti než nižší prvky.

$N_3 = -0,1236$

**Špičatost ( $N_4$ ):**  $N_4(x) = \frac{C_4(x)}{[C_2(x)]^2}$

$N_4 = 0,8642$

## 10 Diskuze

Možnost nahrazení tenké vrstvy iTLC – SG za chromatografický papír Whatman číslo 3 zmiňuje G. B. Saha (8). Možnost použití jiných mobilních fází je možná pouze za předpokladu, že zůstane zachována polarita mobilních fází.

Při použití alternativní metody stanovení radiochemické čistoty se naměřené hodnoty radiochemické čistoty odlišují pouze nepatrně od hodnot stanovených lékopisnou metodou – relativní směrodatná odchylka je 0,2739.

Proto lze tuto metodu používat v běžné praxi při stanovování radiochemické čistoty na oddělení nukleární medicíny v Centru nukleární medicíny v Nemocnici Na Bulovce.

Pro praxi je alternativní metoda mnohem vhodnější. Jednak kvůli provedení: snadnější manipulace s chromatografickým papírem Whatman číslo 3 než se silikagelem na skleněných vláknech (iTLC – SG, firma Varian), dále 0,9% roztok chloridu sodného je běžně dostupný na každém oddělení nukleární medicíny, na rozdíl od 13,6 % roztoku octanu sodného, který je nutno připravovat v čase potřeby. Nezanedbatelné je i finanční hledisko – tenká vrstva iTLC – SG je výrazně dražší než chromatografický papír Whatman číslo 3, příprava čerstvého roztoku 13,6% roztoku octanu sodného je také nepoměrně nákladnější než fyziologický roztok. Celkový čas potřebný pro provedení alternativní metody je kratší než při používání lékopisné metody, což zefektivňuje práci farmaceutů při přípravě radiofarmaka a tak urychluje i práci radiologických asistentů či sester, kteří přípravek aplikují a posléze provádějí vyšetření.

## 11 Závěr

Scintigrafie skeletu je velice rozšířená diagnostická metoda, která má široké uplatnění. V praxi se jedná o velmi oblíbenou vyšetřovací metodu, neustále stoupá počet pacientů, kteří jsou takto vyšetřeni. Proto je důležité, aby i příprava radiofarmaka a následná kontrola radiochemické čistoty byla co nejefektivnější. Proto jsem hledala alternativní metodu pro běžné použití, která kontrolu zrychlí a zlevní. Svoji bakalářskou práci jsem prokázala, že alternativní metoda stanovení radiochemické čistoty (chromatografie na papíře v acetonu a fyziologickém roztoku) umožní jednodušší, rychlejší a ekonomičtější kontrolu připravovaného radiofarmaka TechnoScan HDP.



## 12 Zdroje literatury

1. BLÁHA, Václav et al. *Nukleární medicína*. Praha: Karolinum, 1997. ISBN 80-7184-369-5
2. URBÁNEK, Jan et al. *Nukleární medicína*. Jilemnice: Gentiana, 2002. SBN 80-86527-05-0
3. VIŽĎA, J., H. KRÍŽOVÁ a E. URBANOVÁ. *Atlas kostní scintigrafie*. Husinec- Řež: Lacomed, 2006. ISBN 80-239-6676-6.
4. ČESKO. Národní radiologické standardy – nukleární medicína. In: *Věstník ministerstva zdravotnictví ČR*. 2011, částka 9, s. 99-247. Dostupný také z <http://www.csfm.cz/userfiles/file/Legislativa/Vestniky-MZ/zdravotnictvi%2009-11%5B1%5D.pdf>.
5. MÍKOVÁ, Vlasta. *Nukleární medicína: Průřez vyšetřovacími metodami v oboru nukleární medicína*. Praha: Galén, 2008. ISBN 978-80-7262-533-8.
6. LANG, Otto. *Nukleární medicína I. – Základní znalosti*. Praha: Karolinum, 1998. ISBN 80-7184-721-6.
7. LÁZNÍČEK, Milan a Pavel KOMÁREK. *Základy radiofarmacie*. Praha: Karolinum, 1998. ISBN 80-7184-781-X.
8. SAHA, Gopal B. *Fundamentals of nuclear pharmacy*. New York: Springer Science + Business Media, LLC., 2004. ISBN 978-0387-40360-1.
9. ZIESSMAN, H. A., J. P. O'MALLEY a J. H. THRALL. *Nuclear medicine: The requisites in radiology*. Philadelphia: Elsevier Mosby, 2006. ISBN 978-0-323-02946-9.
10. EIGAZZAR, Abdelhamid H. *The pathophysiologic basis of nuclear medicine*. Berlin Heidelberg: Springer – Verlag, 2001. ISBN 3-540-65914-5.
11. KHALKHALI, Iraj. *Nuclear oncology: Diagnosis and therapy*. Philadelphia.: Lippincott Williams and Wilkins, 2001. ISBN 0-7817-1990-9.
12. WELLS, L. David a Donald R. BERNIER. *Radionuclide imaging artifacts*. Chicago: Year Book Medical Publisher, INC., 1980. ISBN 0-8151-9217-7.
13. FOGELMAN, Ignac a B. David COLLIER. *An atlas of planar and spect bone scans*. Cambridge: Cambridge University Press, 1989. ISBN 0-8016-3296-X.

14. SCHIEPERS, Christiaan. *Medical radiology: Diagnostic nuclear medicine*. Berlin Heidelberg: Springer – Verlag, 2000. ISBN 3-540-63467-3.
15. MYSLIVEČEK, M., P. KORANDA a V. HUŠÁK. *Nukleární medicína v diagnostice nádorů a zánětů*. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci, 2002. ISBN 80-244-0509-1.
16. DIENSTBIER, Zdeněk. *Nukleární medicína*. Praha: Avicenum, 1973. ISBN 08-085-73.
17. BAKOS, Karel a Václav HUŠÁK. *Nukleární medicína*. Praha: Avicenum, 1985. ISBN 08-031-85.
18. ANDRÝSEK, Oskar a Jiří ZÁMEČNÍK. *Radioizotopové metody*. Praha: Avicenum, 1972. ISBN 08-056-72.
19. BAHK, Yong- Wheel. *Combined scintigraphic and radiographic diagnosis of bone and joint diseases*. Berlin Heidelberg: Springer – Verlag, 2000. ISBN 3-540-66424-6.
20. VAN DER VIS – MELSEN, Mary J.E. *The foot: Atlas of bonescintigraphy*. Amsterdam: Drukkerij Elco, [b.r.].
21. MALVIYA, G., F. CONTI a M. CHIANELLI. Molecular imaging of rheumatoid arthritis by radiolabelled monoclonal antibodies: new imaging strategie to guide molecular therapies. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*. Volume 37. Berlin Heidelberg: Springer – Verlag, February 2010, č. 2, s. 386 - 398. ISSN 1619-7089.
22. HELYAR, V., H. K. MOHAN a T. BARWICK. The added value of multislice SPECT/CT in patients with equivocal bony metastasis from carcinoma of the prostate. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*. Volume 37. Berlin Heidelberg: Springer – Verlag, April 2010, č. 4, s. 706 - 713. ISSN 1619-7089.
23. STAUSS, J., K. HAHN a M. MANN. Guidelines for paediatric bone scanning with <sup>99m</sup>Tc – labelled radiopharmaceuticals and <sup>18</sup>F – fluoride. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*. Volume 37. Berlin Heidelberg: Springer – Verlag, August 2010, č. 8, s. 1621 - 1628. ISSN 1619-7089.
24. VAN DER VIS, Mary a Anton ZWIJNENBURG. *The knee: Atlas of bone scintigraphy*. Hertogenbosch: Veder promotionele communicatie BV, 's, 2008.

25. BAIEROVÁ, Lucie. Nástrahy a zajímavosti kostní scintigrafie. *Sestra – odborný časopis pro zdravotní sestry*. Ročník 12. Praha: Saníma Magazines s.r.o.. Listopad 2002, č. 11. s. 16 - 17. ISSN 1212-0404.
26. VLČEK, Petr. *Praktická cvičení z nukleární medicíny*. Praha: Karolinum, 2010. ISBN 978-80-246-1819-7.
27. NAŇKA, Ondřej a Miloslava ELIŠKOVÁ. *Přehled anatomie*. Praha: Galén, 2009. ISBN 978-80-7262-612-0.
28. MINISTERSTVO ZDRAVOTNICTVÍ ČR. *Český lékopis 2009*. Praha: Grada Publishing, 2009. ISBN 978-80-247-2994-7.
29. Souhrn údajů o přípravku Techne Scan HDP.
30. PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA, KATEDRA FYZIKÁLNÍ CHEMIE. *Chromatografie*. [on line], [citace 6.3.2013]. Dostupné na [http://fch.upol.cz/skripta/zfcm/chrom/chrom\\_teorie.htm](http://fch.upol.cz/skripta/zfcm/chrom/chrom_teorie.htm).

## 13 Obrazové přílohy

1. Provádění vyšetření pacienta za použití hybridní gama kamery SPECT/CT AnyScan SC Mediso



2. Stíněný laminární box MB 120 v laboratoři pro přípravu radiofarmak



3. Kit pro přípravu radiofarmaka Technecan HDP



4.  $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$  generátor umístěný ve stíněném laminárním boxu



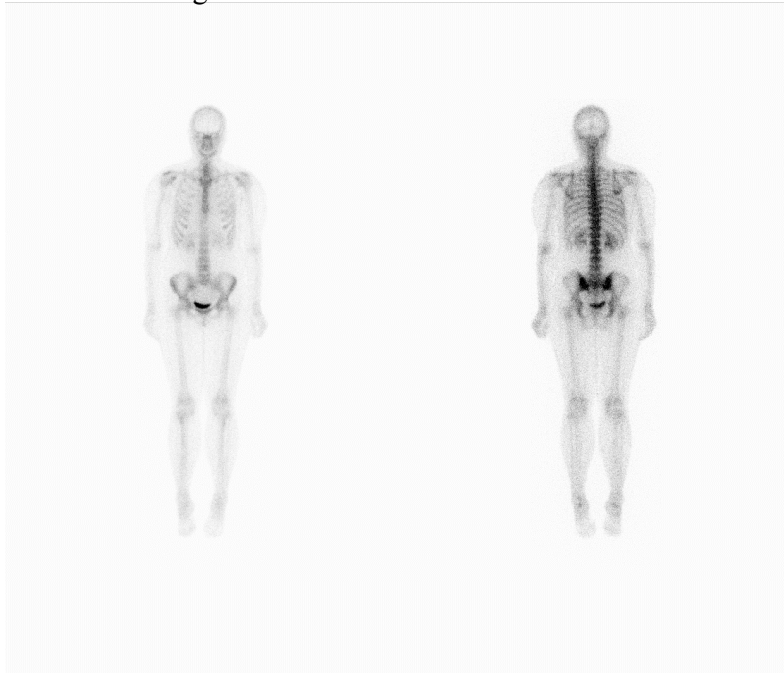
## 5. Vyvíjení chromatogramů



## 6. Měření aktivity jednotlivých částí chromatogramů



7. Celotělová scintigrafie skeletu – normální nález



8. Celotělová scintigrafie skeletu – patologický nález

