

Investigación preclínica por microPET en la UNAM

Héctor Alva-Sánchez^a, César Augusto Rodríguez-Balderas^a, Fernando Trejo-Ballado^a, Víctor Lara-Camacho^a, Miguel Ángel Avila-Rodríguez^a, Guillermo Robles-Díaz^b



Fotografías otorgadas por los autores del artículo

Resumen

La tomografía por emisión de positrones (PET) es una técnica de imágenes de medicina nuclear ya establecida en México, fundamental en el diagnóstico y seguimiento clínico de enfermedades oncológicas, neurológicas y cardiológicas. Esta modalidad de imagenología molecular está basada en la administración de cantidades muy pequeñas de fármacos marcados con emisores de positrones y en la subsecuente detección de radiación con el fin de obtener imágenes tomográficas que reflejan la distribución del radiofármaco en el paciente. El desarrollo de nuevos radiofármacos para PET requiere de un método para verificar que éstos siguen las rutas metabólicas de interés, que su vida media biológica es suficiente para la realización de un estudio, que no tienen efectos adversos y que es viable para estudios en pacientes. El desarrollo de equipos de microtomografía por emisión de positrones (microPET), dedicados a estudiar animales de laboratorio, ha permitido realizar estas pruebas antes de su aplicación clínica. Además, el microPET es una herramienta de gran utilidad en la investigación preclínica de diversas

enfermedades, en el desarrollo de tratamientos innovadores que permite el seguimiento no invasivo en modelos animales. En la Unidad PET/CT-Ciclotrón de la Facultad de Medicina de la UNAM, se cuenta desde hace uno s años con un equipo microPET para investigación. En este trabajo se muestran algunos resultados de los estudios que se realizan con mayor frecuencia con el microPET utilizando los radiofármacos de mayor uso en el medio clínico y se muestra la utilidad que puede tener en diversos proyectos de investigación.

Palabras clave: PET, radiofármacos, medicina nuclear molecular, microPET.

Pre-clinical research at UNAM using microPET

Abstract

Positron emission tomography (PET) is a nuclear medicine imaging technique well established in Mexico, essential for the clinical diagnosis and follow-up of oncological, neurological and cardiac pathologies. This molecular imaging modality is based on the administration of small amounts of drugs labeled with a positron emitting radionuclides and the subsequent radiation detection to obtain tomographic images which reflect the distribution of the radiopharmaceutical in the patient. The development of new radiopharmaceuticals for PET requires a method to verify that they follow the expected metabolic pathways, that they have a long-enough biological half-life for imaging studies, that they have no

^aUnidad mixta PET/CT. Torre de Investigación. Facultad de Medicina. Universidad Nacional Autónoma de México. México, DF.

^bCoordinación de Investigación. Torre de Investigación. Facultad de Medicina. Universidad Nacional Autónoma de México. México, DF.

Correo electrónico: halva@ciencias.unam.mx

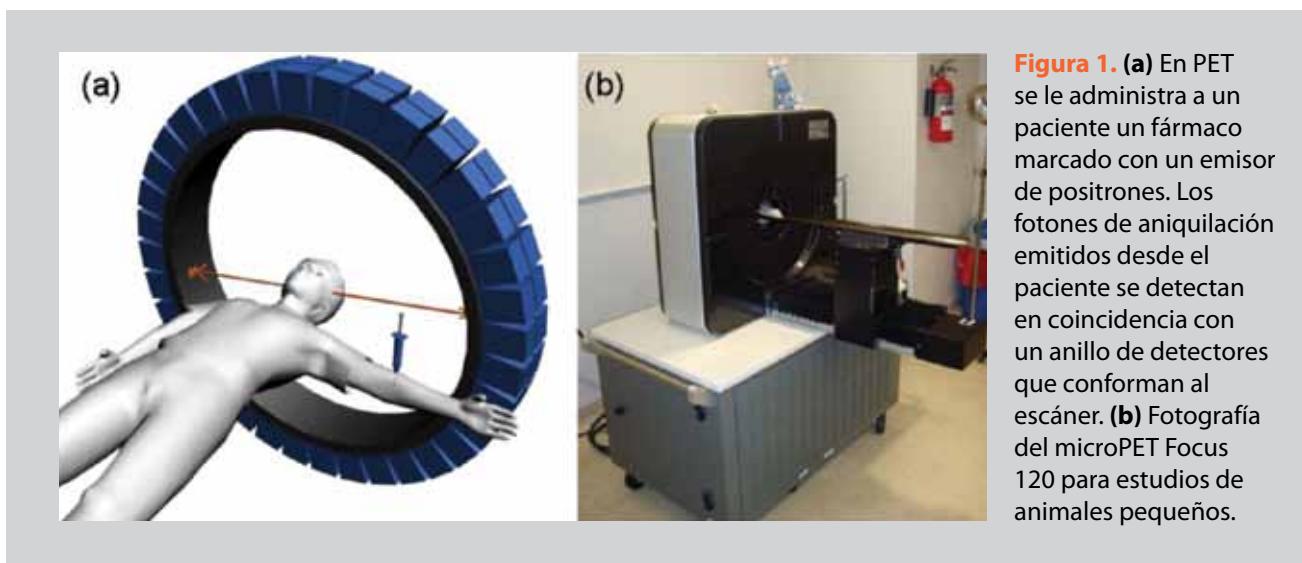


Figura 1. (a) En PET se le administra a un paciente un fármaco marcado con un emisor de positrones. Los fotones de aniquilación emitidos desde el paciente se detectan en coincidencia con un anillo de detectores que conforman al escáner. (b) Fotografía del microPET Focus 120 para estudios de animales pequeños.

side effects and that it is viable for use in patients. The development of positron emission microtomography (microPET) systems to be used in small laboratory animals has allowed researchers to perform these tests on radiopharmaceuticals before being used in the clinic. In addition, microPET is a useful tool in preclinical research of different diseases in the development of innovating non-invasive treatments allowing to follow up animal models. At the PET/CT-Ciclotron Unit, Facultad de Medicina, UNAM, a microPET system has been available in the last few years for research purposes. In this work, examples of frequent imaging studies performed with the micro-PET and in-the-clinic commonly-used radiopharmaceuticals, as well as the use it may have in different research projects are shown here.

Key words: Positron emission tomography, radiopharmaceuticals, molecular medicine, nuclear medicine, microPET

INTRODUCCIÓN

El desarrollo simultáneo de nuevos equipos de tomografía por emisión de positrones (PET) y de nuevos radiofármacos ha permitido que en los últimos años esta modalidad de diagnóstico haya adquirido una mayor importancia en centros de salud y clínicas privadas de nuestro país. Con esta técnica *no invasiva* se obtiene información cuantitativa de procesos biológicos a nivel molecular a través de imágenes tomográficas que reflejan la concentración de activi-

Con esta técnica se obtiene información de procesos biológicos a nivel molecular a través de imágenes tomográficas que reflejan la concentración de actividad de un radiofármaco administrado a un paciente.

dad de un radiofármaco administrado a un paciente. La información que se obtiene depende de su ruta metabólica, del receptor blanco al que se encuentra dirigido, de la biodistribución (hipercaptación o hipocaptación) y de las tasas de acumulación y eliminación del radiofármaco¹. Esto hace que con el PET sea posible realizar una detección temprana de procesos patológicos.

Los radiofármacos utilizados en PET están marcados con un radionúclido que emite positrones espontáneamente desde un núcleo atómico inestable rico en protones, cuando un positrón se encuentra con un electrón, ambas partículas se aniquilan convirtiendo toda su masa en energía. La energía se libera en la forma de 2 fotones que son emitidos simultáneamente y en direcciones opuestas. El paciente es colocado sobre una camilla dentro de un anillo de detectores que conforman al escáner para realizar la detección en coincidencia de los 2 fotones produ-

Tabla 1. Radiofármacos que se producen actualmente en la Unidad PET-CT, UNAM

Radiofármaco	Aplicación común
[¹⁸ F] Fluorodesoxiglucosa	Metabolismo glucolítico
[¹⁸ F] Fluromisodinazol	Procesos de hipoxia
[¹⁸ F] Fluorotimidina	Proliferación celular, oncogénesis
[¹⁸ F] Fluoruro de sodio	Estudios óseos, metástasis
[¹¹ C] Acetato	Metabolismo β-oxidativo cardiaco y procesos oncológicos
[¹¹ C] DTBZ	Expresión del transportador vesicular de monoaminas tipo 2
[¹³ N] Amoniaco	Perfusión miocárdica

Tabla 2. Comparación de valores importantes en PET entre una persona, ratón y rata

	Humano	Rata	Ratón
Peso	70 kg	200-350 g	20-30 g
Volumen sangre	5.0 L	13-22 ml	2.0-2.6 ml
Volumen inyectable ^a	~3.0 mL	< 1.0 ml	< 0.1 ml
Actividad inyectable ^b	10 mCi	0.30-0.50 mCi	0.15-0.35 mCi
Dosis ^c	6.7 mGy	10-270 mGy	60-1000 mGy

^aVolumen inyectable por vía intravenosa a roedores⁵.^bActividad típica de [¹⁸F] FDG que se administra para un estudio de cuerpo completo.^cEstimaciones de dosis para roedores⁶.

cidos por la aniquilación electrón-positrón (**figura 1a**). Es a través de esta detección de ambos fotones que es posible identificar con mayor precisión, comparado con otras técnicas de medicina nuclear, el sitio de la acumulación del radiofármaco para la formación de una imagen. Esto hace que la sensibilidad y la calidad de las imágenes de un estudio PET sean superiores a otras modalidades de imagenología molecular.

Los radiofármacos más utilizados están marcados con los emisores de positrones ¹⁸F, ¹³N y ¹¹C, que son los que se producen actualmente en el ciclotrón de 11 MeV instalado en la Unidad PET/CT (ciclotrón) de la UNAM. En la **tabla 1** se resumen los radiofármacos y sus aplicaciones clínicas más comunes. Las nuevas adaptaciones del ciclotrón y los módulos de síntesis química recientemente adquiri-

dos por la Unidad permitirán desarrollar nuevos radiofármacos marcados con éstos y otros radionúclidos emisores de positrones². Sin embargo, antes de su uso en humanos es necesario realizar pruebas de estos radiofármacos en roedores de laboratorio bajo condiciones controladas; estas pruebas se realizan con un equipo microPET.

La cantidad de radiofármaco inyectado a un paciente debe ser suficiente para la obtención de imágenes de calidad y al mismo tiempo, tan bajo como sea posible para no afectar el proceso metabólico a estudiar. En el caso de los estudios en el microPET esto significa una limitante debido a la diferencia en tamaño y peso entre una persona de 70 kg, una rata de 250 g y de un ratón de aproximadamente 30 g. Se entiende entonces la necesidad en un microPET de poseer una alta sensibilidad y resolución espacial para poder identificar la acumulación del radiofármaco en las estructuras pequeñas de los roedores. En la **tabla 2** se muestran algunas características importantes para PET de un ratón, una rata y una persona.

Desde sus inicios, a principios de la última década del siglo pasado, el desarrollo de los equipos microPET se ha enfocado en resolver los problemas de alta sensibilidad y resolución espacial requerida para los estudios en animales. Hoy en día existen equipos capaces de entregar imágenes de calidad con la suficiente resolución para distinguir acumulaciones de actividad con tamaños de aproximadamente 1 mm^{3,4}. En buena parte esto es debido al avance tecnológico en el diseño y en los nuevos materiales para los detectores que conforman a una cámara microPET.

Con los estudios microPET es posible realizar pruebas de los nuevos radiofármacos *in vivo* en modelos animales antes de su aplicabilidad clínica. Sirven para explorar las rutas metabólicas y tiempos de biodistribución, la especificidad, la estabilidad y, de existir, los efectos negativos o contraproducentes de los radiofármacos. Asimismo, estos ensayos permiten realizar proyectos de investigación relacionados con el seguimiento de enfermedades en modelos animales e investigar nuevas estrategias de tratamiento. En la Unidad PET/CT-Ciclotrón de la Facultad de Medicina de la UNAM se cuenta

con un microPET Focus 120 dedicado a probar los nuevos radiofármacos sintetizados en la unidad y a realizar proyectos de investigación (**figura 1b**). En este trabajo se describe brevemente al equipo con el que se cuenta y se muestran algunas imágenes de los estudios realizados con él.

MICROPET FOCUS 120

El microPET Focus 120, de la compañía Concorde Microsystems, ahora Siemens, es un equipo diseñado para el estudio de animales pequeños, en particular roedores. Fue el primer microPET instalado en el país, aunque recientemente el Instituto Nacional de Cancerología adquirió un equipo trimodal (microPET-microSPECT-microCT) y en el Instituto de Física de la UNAM se encuentra un prototipo bimodal (microPET-microCT) en desarrollo⁷.

El microPET Focus 120 consta de 4 anillos de detectores de oxiortosilicato de lutecio (LSO) acoplados a tubos fotomultiplicadores sensibles a la posición. La resolución del microPET es de aproximadamente 1.4 mm, tiene una campo de visión axial (*field of view*, FOV) de 7.6 cm, transaxial de 10 cm y una sensibilidad que permite detectar actividades de pocos μCi . Se pueden realizar estudios en diversas modalidades incluidos estudios dinámicos, de cuerpo entero o bien de porciones anatómicas específicas. En la **tabla 3** se muestran las características más relevantes del microPET Focus 120. El equipo está sujeto a un control de calidad rutinario y su desempeño ha sido evaluado rigurosamente⁸ siguiendo el protocolo establecido por la asociación de la National Electrical Manufacturers Association (NEMA).

Para realizar las correcciones por atenuación, el microPET Focus 120 utiliza una fuente puntual de ^{57}Co . La fuente gira alrededor del sujeto, con lo que se obtiene un estudio de transmisión que se usa para corregir a las imágenes PET por eventos no detectados debido a la atenuación. Las correcciones por otros factores como el decaimiento, tiempo muerto, número de eventos aleatorios, entre otras, están implementadas y se realizan de manera similar a como ocurre con un escáner clínico.

La administración del radiofármaco se hace generalmente por vía intravenosa canalizando al ro-

Tabla 3. Características importantes del microPET Focus 120

Especificaciones	Valor
FOV ^a transaxial	10 cm
FOV axial	7.6 cm
FOV con movimiento de cama	30 cm
Número de anillos	4
Número de detectores por anillo	12
Número de detectores totales	96
Cristal centellador (pixelizado)	LSO
Dimensiones cada pixel centellador	$1.5 \times 1.5 \times 10 \text{ mm}^3$
Número total de elementos de cristal	13,824
Sensibilidad máxima (en el centro del FOV)	7%
Resolución espacial	$\sim 1.4 \text{ mm}$
Algoritmos de reconstrucción disponibles	FBP, 2D OSEM, 3D OSEM/MAP
Corrección por atenuación	Fuente puntual externa
Tipos de estudios	Dinámico y estático

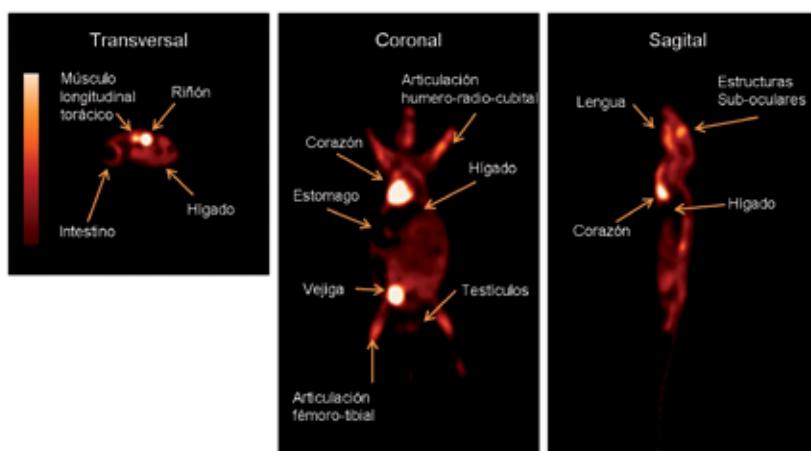
^aFOV: *field of view*, campo de visión.

dor por una de las venas laterales de la cola. El procedimiento de administración del radiofármaco, así como el estudio de tomografía, se hace con el sujeto anestesiado bajo una concentración de isofluorano de 1.5 a 2% en oxígeno inhalado por medio de una mascarilla que cubre la nariz y hocico. La luz de un foco incandescente puede usarse para mantener la temperatura corporal constante cerca de 37° C durante el estudio. La Unidad cuenta con un pequeño bioterio en donde se mantienen los animales de laboratorio por el tiempo necesario para realizar los estudios.

ESTUDIOS CON MICROPET

La vida media física del ^{18}F es lo suficientemente larga (110 min) comparada con la duración de un estudio y suficientemente corta para que en cuestión de unas horas la actividad inyectada haya decaído casi por completo. La fluorodesoxiglucosa marcada con ^{18}F ($[^{18}\text{F}]$ FDG) es el radiofármaco más utilizado en PET. Esto se debe a que es una molécula análoga a la glucosa, su aplicabilidad como herramienta de diagnóstico y seguimiento de diversas patologías en oncología, neurología y cardiología

Figura 2. Estudios microPET de un ratón BALB/c sano inyectado con $[^{18}\text{F}]$ FDG. Una intensidad de color mayor refleja una concentración de actividad más alta.



es invaluable. En oncología, por ejemplo, los estudios PET ayudan a caracterizar y diferenciar a los tumores malignos y benignos, a determinar la etapa de las lesiones y sus recurrencias y a evaluar la eficacia de los procedimientos terapéuticos. Normalmente es necesario el transcurso de un lapso entre la administración y el inicio del escaneo para permitir una biodistribución adecuada del radiofármaco en el organismo.

La **figura 2** muestra 3 cortes (transversal, coronal y sagital) de un estudio realizado en un ratón macho sano de cepa CD1, inyectado de manera en-

dovenosa con $\sim 0.5 \text{ mCi}$ $[^{18}\text{F}]$ FDG. El estudio inició 1 h después de la administración del radiofármaco (estudio estático). En el corte transversal se observa la zona apical del corazón y algunas zonas tanto del hígado como el área caudal de la cavidad torácica. En el corte coronal y sagital se aprecia que el corazón y la vejiga obtuvieron la mayor captación del radiofármaco mientras que estructuras como cerebro, la cavidad torácica, hígado, intestinos, músculos apendiculares y testículos poseen diferentes grados de captación que permiten su identificación al ser comparados con tejidos circundantes. Cabe mencionar que en estudios con $[^{18}\text{F}]$ FDG la vejiga presenta de manera cotidiana la más alta concentración de actividad debido a que la eliminación de este radionúclido es por vía renal.

La **figura 3** muestra la concentración de actividad graficada como función del tiempo, del estudio de un ratón inyectado de manera endovenosa $\sim 0.5 \text{ mCi}$ $[^{18}\text{F}]$ FLT. La gráfica muestra las regiones de interés delimitando el tumor, un riñón y la cavidad craneal. El equipo permite realizar estudios dinámicos en los que se puede estudiar la captación y eliminación del radiofármaco a lo largo del tiempo, lo que puede ayudar a cuantificar la actividad metabólica. En esta gráfica se aprecia, por ejemplo, una captación baja en el espacio de la cavidad craneal debido a que el radiofármaco es específico para procesos de proliferación celular. Esto hace de la $[^{18}\text{F}]$ FLT un radiofármaco ideal para estudiar procesos de oncogénesis cerebrales.

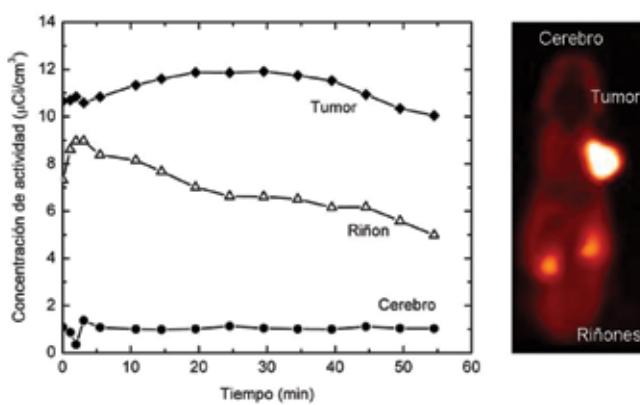


Figura 3. Curvas de concentración de actividad como función del tiempo. Estudio dinámico con $[^{18}\text{F}]$ FLT en un ratón atípico con glioblastoma. Se seleccionaron regiones de interés (tumor, riñón y cavidad craneal) para realizar una comparación de la concentración de la actividad.

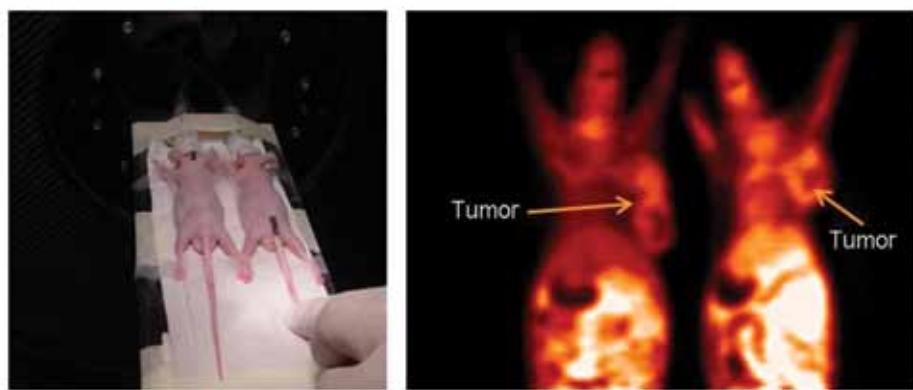


Figura 4. Estudio simultáneo de 2 ratones atípicos con glioma U87MG inyectados con [¹¹C] acetato. Izquierda: Fotografía de los roedores sobre la camilla del microPET. Derecha: corte coronal del estudio microPET.

En el microPET Focus 120 es posible realizar estudios de 2 ratones pequeños simultáneamente como se muestra en la fotografía de la **figura 4**. A la derecha de la fotografía se presenta la imagen obtenida del estudio realizado a estos 2 ratones atípicos que tienen sobre el costado derecho un tumor de origen neural (glioma, U87MG). En este estudio les fue administrado de manera endovenosa ~0.5 mCi de [¹¹C] acetato que tiene una fuerte afinidad y captación en tejidos que tienen una mayor tasa de metabolismo beta oxidativo y síntesis de lípidos (membranas celulares). En este caso podemos observar la captación por el tumor. Además, este radiofármaco tiene gran utilidad en estudios PET de miocardio⁹.

La **figura 5** presenta 3 proyecciones de intensidad máxima¹⁰ de estudios de cuerpo completo de ratas macho Wistar realizados con distintos radiofármacos. En la **figura 5a** se administró de manera endovenosa ~0.5 mCi de [¹⁸F]Misodinazol. Este radiofármaco tiene especial afinidad por procesos de hipoxia. En esta imagen podemos apreciar la captación del [¹⁸F]Misodinazol de manera localizada en el intestino, puesto que la flora bacteriana (anaeróbica) capta al radiofármaco. En el estudio de la **figura 5b**, se administró de manera inhalada [¹¹C]CO de forma gaseosa. La afinidad y unión de la hemoglobina con el CO hace que el sistema vascular completo de la rata sea visible en las imágenes tomográficas. En la **figura 5c** se administró por vía endovenosa ~0.5 mCi de dihidrotetrabenzina marcada con carbono-11, [¹¹C]DTBZ, radiofármaco que recientemente se ha empezado a producir

en la Unidad. La biodistribución de este radiofármaco tiene una mayor concentración en los tejidos en los cuales están presentes las vesículas transportadoras de monoaminas tipo 2 (VMAT2), lo que lo hace un buen candidato para estudiar patologías cerebrales¹¹ y las células beta del páncreas¹². En esta imagen se observa una mayor concentración de actividad en el hígado, páncreas, glándula tiroides, cuerpos estriados, sustancia negra y testículos.

En el microPET de la Unidad se han realizado diversos proyectos de investigación preclínica. Uno

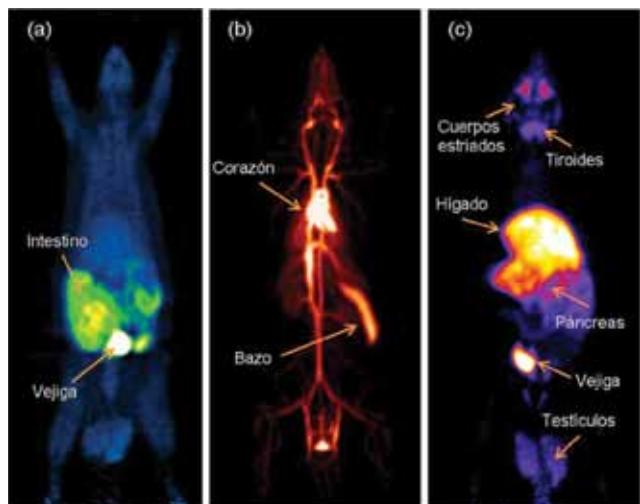


Figura 5. Proyección de intensidad máxima de ratas Wistar sanas realizados con (a) [¹⁸F] Misodinazol, (b) [¹¹C]CO y (c) [¹¹C]DTBZ.

de ellos relacionado con metabolismo glucolítico, oxidativo y de perfusión miocárdicos en ratas utilizando [¹¹C]-acetato y [¹³N]-amoníaco. Los resultados fueron publicados en las referencias [13] y [14]. La síntesis química del [¹⁸F]FLT y [¹⁸F]FB-CH=N-HYNIC-RGD realizada en la Unidad, fue probada exitosamente en ratones, lo que dio lugar a una tesis de licenciatura¹⁵ y una de maestría¹⁶.

Además de los radiofármacos que se producen actualmente en la Unidad PET/CT-Ciclotrón existe una gran variedad de otras moléculas que se pueden marcar con emisores de positrones para estudios PET. Una lista de los radiofármacos, junto con sus aplicaciones, que podrán sintetizarse en la Unidad se incluye en la referencia [2]. Con estos nuevos radiofármacos, y otros en desarrollo, se espera incrementar la productividad y las colaboraciones con otros grupos en proyectos de investigación preclínica.

CONCLUSIONES

La Unidad PET-CT de la Facultad de Medicina, UNAM, cuenta con un microPET y las instalaciones necesarias para el desarrollo de proyectos de investigación preclínicos. El microPET proporciona información metabólica cuantitativa en modelos animales con alta sensibilidad, especificidad y resolución espacial. Hasta el momento, una buena parte de los trabajos realizados se han enfocado en pruebas de los nuevos radiofármacos en desarrollo antes de su uso clínico. Sin embargo, las colaboraciones con investigadores en el ámbito médico aún puede explotarse para complementar y enriquecer sus proyectos. La combinación de técnicas de medicina nuclear junto con otras técnicas para el seguimiento de enfermedades y tratamientos en modelos animales puede contribuir a la obtención y validación de resultados.

AGRADECIMIENTOS

CONACyT, proyecto 121652 “Producción de nuevos radionúclidos y radiofármacos para tomografía por emisión de positrones dirigidos a blancos moleculares específicos”. H. Alva-Sánchez agradece el apoyo brindado por la DGAPA, UNAM, para la realización de su estancia postdoctoral. A R. Ojeda-Flores, N. Ortega-López, A. Zárate, A. Flores,

E. Zamora, J.C. Manrique y G. Contreras de la Unidad PET/CT-Ciclotrón. ●

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Phelps ME. Positron emission tomography provides molecular imaging of biological processes. Proc Natl Acad Sci. 2000; 97:9226-33.
- Ávila MA, Alva H. Radiofármacos para PET, una nueva perspectiva de la medicina nuclear molecular en México. El Residente. 2010;5(3):103-10.
- Cherry SR, Shao Y, Silverman RW, et al. MicroPET: a high resolution PET scanner for imaging small animals. IEEE Trans Nucl Sci. 1997;44(3):1161-6.
- Chatzioannou AF. Molecular imaging of small animals with dedicated PET tomographs. Eur J Nucl Med Mol Imaging. 2002; 29(1):98-114.
- Harkness JE, Wagner JE. Biology and Medicine of Rabbits and Rodents. 4a edición: Williams & Wilkins; 1995.
- Funk T, Sun M, Hasegawa BH. Radiation dose estimate in small animal SPECT and PET. Med Phys. 2004;31(9):2680-6.
- Alva H, Murrieta T, Moreno E, et al. A Small-Animal PET System Based on LYSO Crystal Arrays, PS-PMTs and a PCI DAQ Board. IEEE Trans Nucl Sci. 2010;31(9):85-93.
- Ballado F, Ortega N, Ojeda R, Ávila MA. Evaluación de desempeño del micropet focus 120 con los radionúclidos ¹¹C, ¹³N y ¹⁸F. Rev Mex Fís. 2010;56(6):482-8.
- Sciacca RR, Akinboboye O, Chou RL, et al. Measurement of Myocardial Blood Flow with PET Using ¹⁻¹¹C-Acetate. J Nucl Med. 2001;42(1):63-70.
- Wallis JW, Miller TR, Lerner CA, et al. Three-Dimensional Display in Nuclear Medicine. IEEE Trans Med Imaging. 1989; 8:297-303.
- Frey KA, Koeppe RA, Kilbourn MR. Imaging the vesicular monoamine transporter. Adv Neurol. 2001;86:237-47.
- Simpson NR, Souza F, Witkowski, et al. Visualizing pancreatic β-cell mass with [¹¹C]DTBZ. Nucl. Med Biol. 2006; 33(7):855-64.
- Alexánderson E, Ortega N, Ojeda R, et al. Modelo de estudio mediante microPET para la evaluación del metabolismo glucolítico en el miocardio de rata con 18F-FDG. Experiencia inicial en México. Arch Cardiol Méx. 2008;78(1):11-8.
- Ojeda R, Ortega N, Ávila MA, Trejo F, Alexánderson E. Modelo de evaluación de metabolismo y perfusión en el miocardio de rata mediante 18F-FDG, 1-11C-acetato, 13N-amoníaco y micro-tomografía por emisión de positrones (micro PET). Arch Cardiol Mex. 2010;80(4):215-28.
- Contreras G. Producción y control de calidad de 3'deoxy-[¹⁸F]fluoro-L-timidina para estudios in vivo de proliferación celular. Tesis de Licenciatura, Facultad de Química, UNAM: 2010.
- Lara VM. Radiopéptidos marcados con ¹⁸F para el diagnóstico temprano y específico de lesiones tumorales mediante tomografía por emisión de positrones. Tesis de Maestría en Ciencias (Física Médica), Posgrado en Ciencias Físicas, UNAM: 2010.