
... dacci oggi la nostra dose quotidiana e liberaci dai mali ...

(Sull'utilizzo di radioisotopi e radiofarmaci in medicina)

Giancarlo Pascali

*Dipartimento di Chimica, Università del Nuovo Galles del sud, Kensington, Australia,
Dipartimento di Medicina Nucleare, Ospedale Principe di Galles, Randwick, Australia*

Usare dosi di materiali radioattivi per diagnosi e cure mediche è un concetto che è entrato nella pratica clinica da vari decenni. In questo articolo verranno delineati i principali approcci adottati correntemente, principalmente dal punto di vista radiochimico.

Radioattività attorno a noi, davvero?

Anche se non ce ne rendiamo conto, il mondo che ci circonda ci bombarda di molti tipi di radiazioni, alcune delle quali ionizzanti ($E > 10$ eV), cioè capaci di espellere uno o più elettroni dagli strati più esterni degli atomi che compongono la materia. Infatti, si parla spesso di fondo di radioattività, dovuto alla presenza di materiali radioattivi in natura; a meno che non viviamo in città quali Ramsar (Iran) o Guarapari (Brasile)[1] o mangiamo troppe banane [2], questo fondo di radiazione è mediamente attorno ai 3 mSv per anno e non desta preoccupazioni per la salute.

Tuttavia, le immagini che vengono tradizional-

mente associate al concetto di radioattività sono per lo più tristi e crude. Marie Curie, figura fondante del concetto di radioattività, è morta a causa di avvelenamento da radiazione [3]; l'avvento delle bombe atomiche ha cambiato l'esito di una guerra mondiale, ma anche legato quest'arma ad istantanee di devastazione e conflitti segreti [4]; l'uso di centrali nucleari ha sempre generato ampi dibattiti politici e culturali sulla loro sostenibilità [5] e l'occorrenza di alcuni drammatici incidenti in centrali nucleari ha aggiunto dubbi sulla loro sicurezza [6].

Perciò, quando dico che mi occupo di radiochimica, la maggior parte delle persone mi prendono per una persona strana, che ama unire i miasmi dei composti chimici alla pericolosità delle radiazioni. Il senso comune prevalente è che quello che faccio sembra una attività inutilmente rischiosa; ma è davvero così?

La radioattività buona

Usati nella giusta misura e maniera, i materiali radioattivi sono estremamente utili alla società. A cominciare dal loro utilizzo nelle centra-

li nucleari per produrre energia con efficienza notevolmente alta, fino al loro uso più umile negli allarmi antincendio [7], e si potrebbe andare verso un futuro di produzione di energia per fusione nucleare [8] o l'utilizzo di batterie quasi eterne basate sul betavoltaico [9]. In campo di ricerca scientifica, radiazioni ionizzanti sono usate per comprendere le caratteristiche strutturali più intime della materia, con la possibilità di ottenere informazioni spettroscopiche complementari a seconda se si usino raggi X (elettroni) [10] o neutroni [11]. Ma è forse in campo medico che gli isotopi radioattivi hanno visto una serie di applicazioni cruciali, con evidenti ripercussioni sulla comprensione dei correlati biochimici di molte malattie, la loro diagnosi specifica e la loro terapia mirata.

In questo particolare ambito, il concetto fondante è quello di radiofarmaco con il quale è possibile tracciare un particolare processo biochimico. La paternità di questo concetto è tipicamente attribuita a George de Hevesy [12], chimico ungherese e premio Nobel per la Chimica nel 1943, e, come tutte le grandi scoperte, è basato su un'idea molto semplice. Se si scambia (**marcatura**) uno degli atomi di una molecola coinvolta in un particolare meccanismo biologico con lo stesso elemento ma radioattivo (**radioisotopo**) si ottiene una molecola con le stesse caratteristiche chimiche della precedente (**isotopologa**), ma con una caratteristica fisica estremamente diversa: emette radiazioni ionizzanti. A questo punto, se siamo in grado di localizzare questa nuova molecola (**radiofarmaco**) all'interno del soggetto in studio, magari facendolo in tempi diversi o in seguito a perturbazioni esterne, saremo in grado di ricostruire la distribuzione di questa molecola nel soggetto e come essa cambia nel tempo od in seguito a sollecitazioni esterne. Se poi, confrontando queste mappe topografiche di distribuzione radioattiva, notiamo delle differenze peculiari tra soggetti malati e sani, avremo in mano un potente mezzo diagnostico su scala molecolare e non più, come da tradizione, su scala fenomenologica o anatomica. Complice la estrema sensibilità della rivelazione radioattiva, avremmo uno strumento che ci permette di rilevare gli stadi iniziali di una malattia, quando lo stato biologico è già compromesso a livello molecolare, ma non ha ancora indotto modificazioni

morfologiche evidenti.

Ma i radioisotopi permettono anche di andare oltre questo potente approccio diagnostico. Dopotutto, le radiazioni sono tristemente famose per indurre danno cellulare; ma se fossimo in grado di concentrare tali elementi in distretti ed organi che vogliamo eliminare, per esempio tessuti tumorali, questa azione distruttiva potrebbe indurre un beneficio. Questo è il concetto fondante della **terapia radionuclidica**, immaginata da Saul Herz negli anni '30 e provata su uomo per la prima volta nel 1941 [13]. In tale approccio, si sfrutta il fatto farmacologico dei radiofarmaci, che possono essere progettati per accumularsi in determinati organi: nel caso diagnostico citato in precedenza, il radioisotopo utilizzato fornirà radiazioni la cui rilevazione permetterà la sua localizzazione; nel caso terapeutico, il radioisotopo utilizzato (probabilmente diverso) fornirà radiazioni atte ad arrecare danno alle strutture biologiche nel quale si è accumulato. Unire i due aspetti è un campo di interesse attuale, denominato **teranostica**.

Tutto questo sembra utile e promettente, a patto di avere a disposizione tali radiofarmaci. Ed è proprio qui che compare il **radiochimico**, ovvero lo scienziato capace di inserire in maniera specifica ed efficace il qualsivoglia radioisotopo in qualsiasi struttura chimica. È ora chiaro perché occuparsi di radiochimica è socialmente utile e mai fine a se stesso, ma legato ad un processo medico e scientifico che va aldilà della pura ricerca chimica. Alla fine, non penso di essere così strano.

Radioisotopi per applicazioni mediche, questi sconosciuti

Sintetizzare un radiofarmaco è un'operazione concettualmente simile alla preparazione di farmaci standard, ma con delle differenze sostanziali. Per prima cosa, si utilizzano anche materie prime radioattive, che non sono facilmente reperibili; tutti i processi devono avvenire garantendo estrema sicurezza radiologica; visto il possibile utilizzo clinico finale, la produzione deve essere estremamente ripetibile ed affidabile, e rispettare le norme vigenti in campo farmaceutico;

infine, data la breve emivita dei materiali usati, le procedure devono essere rapide ed efficienti.

Per quanto riguarda il primo aspetto, i radioisotopi utilizzati in medicina hanno tipicamente una emivita breve, dalle poche ore ai pochi giorni. Questo permette di ridurre l'accumulo temporale di radiazioni nel paziente, limitando i rischi di danno radiologico, ma mantenendo il beneficio diagnostico o terapeutico. Tuttavia, questo aspetto fa sì che tali radioisotopi non siano presenti in natura (sarebbero già decaduti). Perciò tutti i radioisotopi usati in medicina sono prodotti artificialmente; era perciò destino che il primo radionuclide creato dall'uomo, il Tecnezio [14], ora rivesta un ruolo chiave nella Medicina Nucleare, la branca medica che si occupa dell'uso clinico di radiofarmaci.

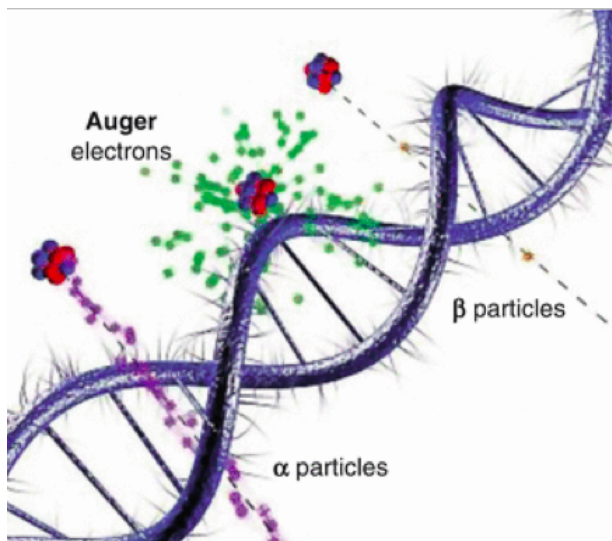
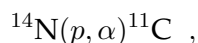


Figura 1: Capacità di penetrazione di vari tipi di particelle e possibile induzione di danno al DNA. Notare che radiazioni γ (non in figura) interagiscono estremamente poco e sono tipicamente rilevabili all'esterno del soggetto. (Figura da [16])

La produzione di radioisotopi per scopo medico avviene principalmente attraverso il bombardamento di materiale bersaglio con vari tipi di particelle; tale operazione promuove, se fatta con la giusta particella energetica e sul materiale appropriato, reazioni nucleari di trasmutazione elementare. Queste sono tipicamente indicate con la nomenclatura:



che vuol dire: un nucleo di ${}^{14}\text{N}$ è bombardato

con un protone, e produce una particella α e un nucleo di ${}^{11}\text{C}$.

Queste produzioni possono essere effettuate solo negli istituti con disponibilità di tali energetiche particelle. Nella prassi attuale, si usano reattori nucleari, in pratica sorgenti di neutroni, e acceleratori di particelle; qualche gruppo inizia ad utilizzare LASER ad alte energie, ma l'attuabilità di questi processi è ancora in fasi preliminari [15].

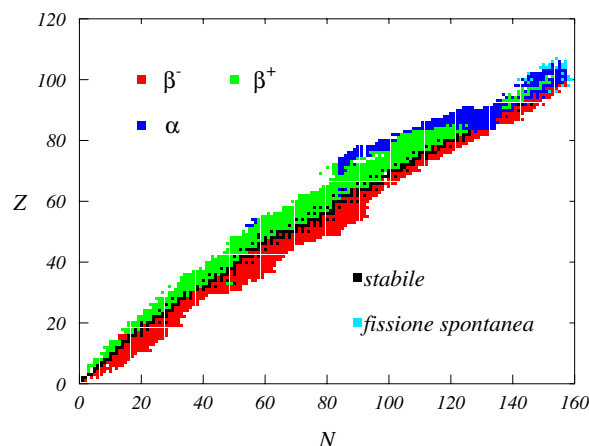


Figura 2: Tavola degli isotopi.

Utilizzando fasci di neutroni si possono ottenere radioisotopi con eccesso di neutroni mentre, tipicamente, l'utilizzo di particelle cariche accelerate crea dei radionuclidi con difetto di neutroni. Questa caratteristica è importante perché determina il tipo di radiazione emessa e il suo possibile uso medico (Figura 1). Radiazioni molto penetranti, che hanno bisogno di materiali ad alto numero atomico per essere fermate, sono ottime per usi diagnostici; infatti, quando il radioisotopo (contenuto nel radiofarmaco) emetterà una radiazione, questa in gran parte uscirà dal soggetto e verrà rilevata (cioè fermata) solo dalla corona di rilevatori a cristalli situata intorno al paziente. Radiazioni poco penetranti, come le α , interagiscono efficientemente con il loro intorno biologico, creando un danno cellulare localizzato, ma poco segnale sarà rilevato all'esterno del paziente, rendendone difficile l'utilizzo diagnostico.

Vi sono ovviamente casi ibridi nei quali la radiazione emessa può avere valore sia diagnostico

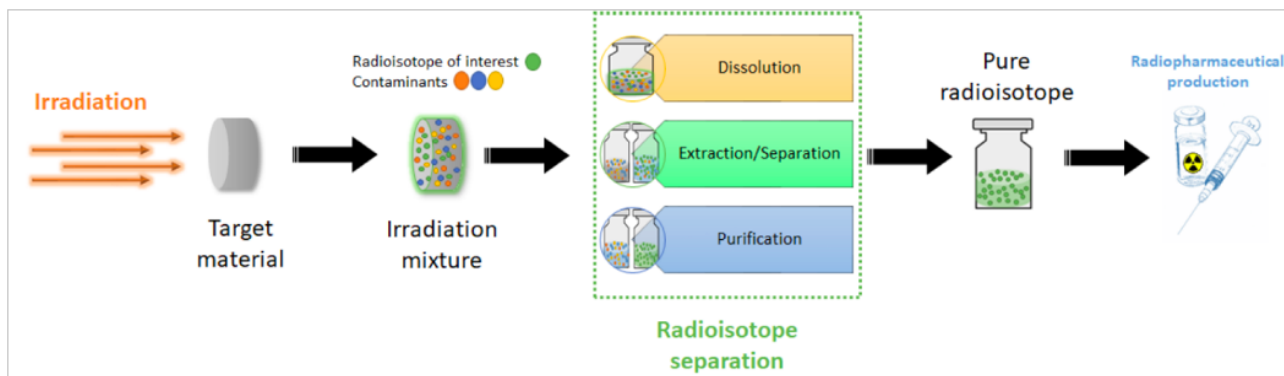


Figura 3: Esempio di processazione di un bersaglio solido per ottenere il radioisotopo di partenza in una forma chimica adatta a reazioni di marcatura (Figura da [17])

che terapeutico (es. ^{117}Lu), ma tipicamente si tende, in campo medico nucleare, ad attribuire solo una caratteristica, diagnostica o terapeutica, al radioisotopo utilizzato.

Potrebbe sembrare che la quantità di radioisotopi ora noti ed accessibili sia incredibilmente elevata dando un'occhiata alla tavola dei nuclidi (Figura 2).

Tra l'altro questa rappresentazione dà anche subito un'idea del principale tipo di emissione; si può chiaramente notare che nuclei ad eccesso di neutroni emettono elettroni (β^-), mentre nuclei con difetto di neutroni emettono positroni (β^+) e, ad alte masse, anche particelle α . Tuttavia, per essere utilizzabili in campo medico, tali radioisotopi devono avere un valore dell'emivita legato all'attività umana (da poche ore a qualche giorno) ed un profilo di emissione più pulito possibile, ovvero con un solo tipo di emissione preponderante e altre emissioni secondarie con impatto trascurabile. In seguito a questa necessità, i radioisotopi utilizzati in radiofarmacia sono un numero limitato; principalmente si usa $^{99\text{m}}\text{Tc}$ (e pochi altri) per diagnostica SPECT, un piccolo numero di positron-emittenti per PET (^{11}C , ^{18}F , ^{68}Ga) e numero ancora minore di radionuclidi per terapia (^{177}Lu , ^{131}I , ^{223}Ra).

Per questa ragione, le maggiori fonti di materiali radioattivi di partenza sono i reattori nucleari ($^{99\text{m}}\text{Tc}$, ^{177}Lu , ^{131}I) e ciclotroni biomedici (commercialmente disponibili per energie massime di 18 MeV o 30 MeV) [19] per creare i positron-emittenti. Tipicamente, i prodotti di bombardamento grezzi devono essere trasformati in una forma che renda possibile le successive reazioni chimiche, ed è questo il primo campo di ap-

plicazione delle tecnologie radiochimiche. Per esempio, nel caso in cui il bersaglio bombardato sia solido, tale materiale dovrà essere disciolto (tipicamente in soluzioni fortemente acide o alcaline), il radioelemento di interesse separato e purificato, per poi essere utilizzato nella effettiva sintesi del radiofarmaco (Figura 3). Tutte queste operazioni devono avvenire in sicurezza, con riproducibilità e in tempistiche adeguate ai tempi di decadimento dell'isotopo di interesse.

Per esempio, un concetto di questo tipo è utilizzato per creare da ciclotrone soluzioni di $^{68}\text{Ga}[\text{GaCl}_3]$ per marcatura [21]; tale radioisotopo ha una emivita di 68 minuti, e perciò l'intero processo di purificazione dovrebbe avvenire in meno di un'ora per essere efficiente [22].

Sintesi radiofarmaceutica, il punto cruciale

Le reazioni ed i processi chimici utilizzati per sintetizzare un radiofarmaco sono simili a quelli utilizzati nella chimica medicinale e sintesi organica tradizionale. Tuttavia, alcune differenze rendono la sintesi radiofarmaceutica più complessa, e perciò richiedono lo sviluppo di soluzioni specifiche e reazioni adatte. Di seguito sono riportati i principali ostacoli che si incontrano in questo campo.

Tempi ristretti; una scommessa persa in partenza

Nella maggior parte dei casi, è opportuno riuscire ad ottenere il radiofarmaco finale entro 2 o

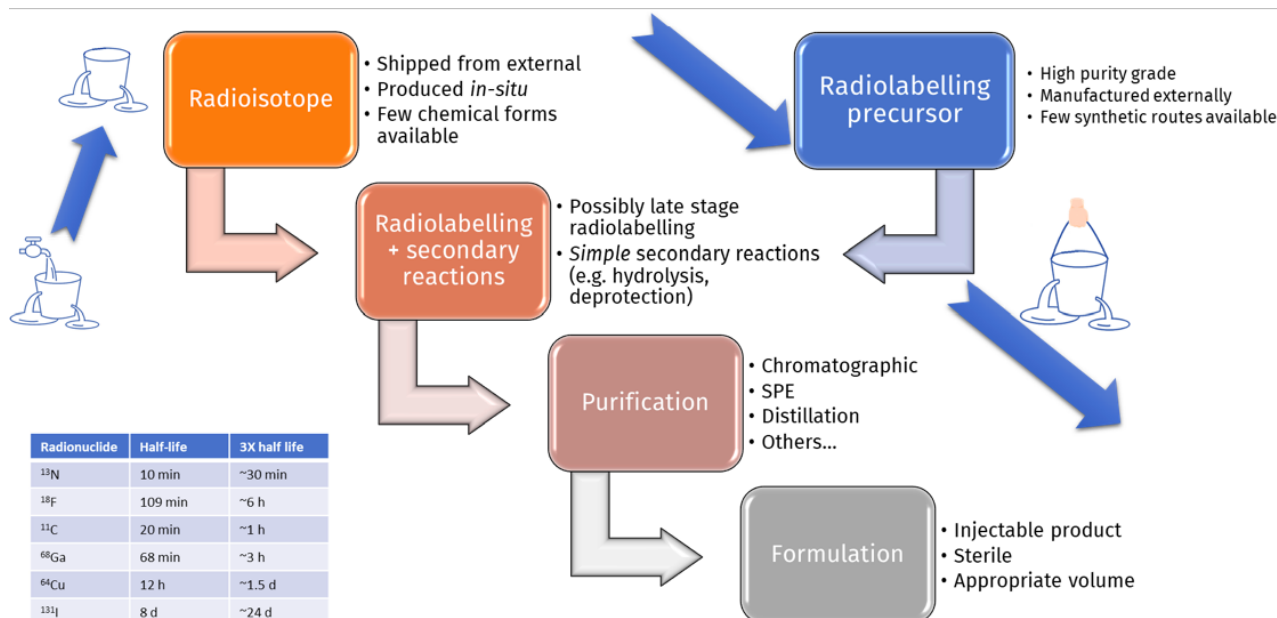


Figura 4: Il processo di sintesi radiofarmaceutica completo.

3 emivite del radioisotopo impiegato. Questa necessità crea non pochi problemi, specialmente per nuclidi ad emivita molto breve; nel caso di ¹¹C, un processo sintetico adeguato dovrebbe durare massimo 60 minuti, mentre per ⁶⁴Cu si possono spendere fino a 36 ore. Nella Figura 4 è rappresentata la sequenza di operazioni tipicamente realizzate, che coinvolgono: (a) fornitura del radioisotopo in adeguata forma chimica (come indicato in precedenza); (b) la vera e propria reazione di marcatura, coinvolgente un precursore di marcatura adatto; (c) la separazione e purificazione del radiofarmaco di interesse; (d) la formulazione di tale composto in una matrice utilizzabile in animale o uomo.

Si può paragonare l'intero processo al portare acqua dalla sorgente (es. ciclotrone) all'utilizzatore finale (es. paziente), ma utilizzando un secchio bucato. Se non si è abbastanza rapidi, poca acqua, o dose radioattiva, sarà disponibile per la procedura desiderata. Questa eventualità può essere limitata pianificando accuratamente i vari stadi del processo ed il loro interfacciamento; la strada maestra per realizzare tale controllo è l'utilizzo estensivo di apparati automatici di sintesi, che comprendano anche stadi di separazione e formulazione. Tuttavia, qualsiasi automazione sarebbe inutile se la reazione di marcatura (o gli altri stadi) avesse una efficienza bassa nelle tempistiche prescritte.

Reazioni di marcatura; dimenticate ciò che avete imparato

In sintesi organica tradizionale, si tende ad utilizzare quantità equivalenti dei vari reagenti, ed ottimizzare le condizioni di reazione (es. concentrazione, temperatura, tempo) per ottenere la massima resa del prodotto desiderato. In radiochimica la situazione è drasticamente diversa, in quanto la specie radioattiva è tipicamente presente in quantità estremamente basse e mai equivalenti al precursore di marcatura. Sebbene questo sbilanciamento possa a volte portare benefici, es. nel ridurre reazioni secondarie, tipicamente questa condizione crea problemi. Per questa ragione, numerose nuove reazioni sono state introdotte per permettere di ottenere rese di marcatura alte in poco tempo e in condizioni di estremo difetto del reagente marcante.

Un esempio classico è lo studio di nuovi metodi di radiofluorurazione (¹⁸F, 2h di emivita) di composti aromatici, per il quale i classici approcci chimici sono difficilmente realizzabili (es. utilizzo di forme elettrofile) o non danno rese e purezze adeguate (es. reazione di Balz-Schiemann). Nella Figura 5 sono rappresentati alcuni esempi di tali nuove reazioni, per le quali è evidenziato l'utilizzo di appositi precursori organici, o di reazioni metallo-catalizzate. Nel primo caso, tali vie sintetiche sono state create appositamente per superare

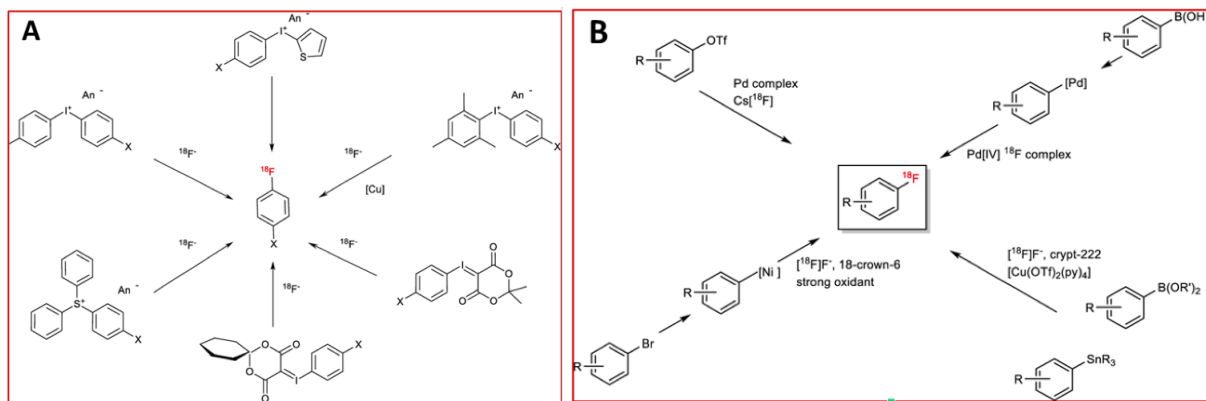


Figura 5: Metodi di radiofluorurazione; A: da nuovi precursori organici; B: mediati da metallo (Figura da [20]).

l'ostacolo radiochimico, e richiedono la sintesi preventiva di precursori di marcatura a volte particolarmente complessi. Tali reazioni funzionerebbero egregiamente anche utilizzando fluoro non radioattivo, ma non sono tipicamente utilizzate data la disponibilità di vie di sintesi più immediate, economiche e generali. Nel secondo caso, è importante sottolineare che è prassi consolidata riferire tali processi come metallo-catalizzati; tuttavia, data l'esigua quantità di materiale radioattivo, spesso minore di quella del catalizzatore metallico, è più opportuno parlare di reazione mediate da metallo. Abbastanza sorprendentemente, reazioni di scambio isotopico ^{19}F - ^{18}F non sono particolarmente utilizzate, data la bassa qualità del radiofarmaco finale ottenibile (es. avente una inutile diluizione isotopica) e le condizioni estreme di reazione, che possono portare ad una degradazione indesiderata della struttura chimica.

Un altro aspetto tipico delle reazioni di marcatura, particolarmente cruciale utilizzando radioisotopi a bassa emivita, è che tali processi devono poter avvenire nelle ultime fasi del piano sintetico. Questo permette di ridurre al minimo il tempo necessario e massimizzare il radioprodotto ottenibile. Per questa ragione, dopo l'introduzione del radioisotopo nella struttura voluta, tipicamente vengono effettuate poche reazioni secondarie tipicamente semplici, rapide e quantitative (es. deprotezione, idrolisi, bioconiugazione) che non allungano ulteriormente il processo radiosintetico. Tuttavia, questo requisito pone un ulteriore ostacolo nella scelta della reazione di marcatura; infatti, tale reazione non dovrà risentire della inter-

ferenza dei differenti gruppi funzionali già presenti nella struttura di interesse. Per esteso, tale requisito si dovrà applicare anche ai precursori di marcatura necessari, la quale sintesi preventiva dovrà essere possibile senza degradare le preesistenti funzionalità molecolari.

Questa situazione si può riassumere dicendo che quasi mai è possibile adattare le reazioni ed i concetti chimici tradizionalmente insegnati in accademia alla radiochimica, e lo sviluppo di nuove soluzioni in questo particolare campo è un ambito di ricerca molto vivo e interessante.

Simili nozioni, declinate in maniera più o meno gravosa, si applicano a marcature coinvolgenti altri radioisotopi non-metallici (es. ^{11}C , ^{123}I). Marcature coinvolgenti radioisotopi metallici pongono meno ostacoli chimici, vista la maggiore adattabilità (es. insensibilità a quantità molto basse) dei principali chelanti utilizzati in chimica inorganica classica per applicazioni radiochimiche. Tuttavia, in tutti i casi rimane invariata la necessità di effettuare tali processi in maniera sicura, ripetibile ed affidabile.

Sicurezza ed affidabilità di processo; la forza dell'automazione

La necessità di automatizzare i processi radiochimici ha ricoperto un ruolo fondamentale [23] sin dagli anni '70, ovvero sin da quando tali potenzialità diventarono più accessibili a costi accettabili. In coincidenza, in quelli anni cominciava a prendere piede l'utilizzo di radioisotopi PET (^{11}C e ^{18}F), che potevano essere prodotti in quantità radioattive elevate in laboratori non legati a reattori nucleari (e perciò, naturalmente meno

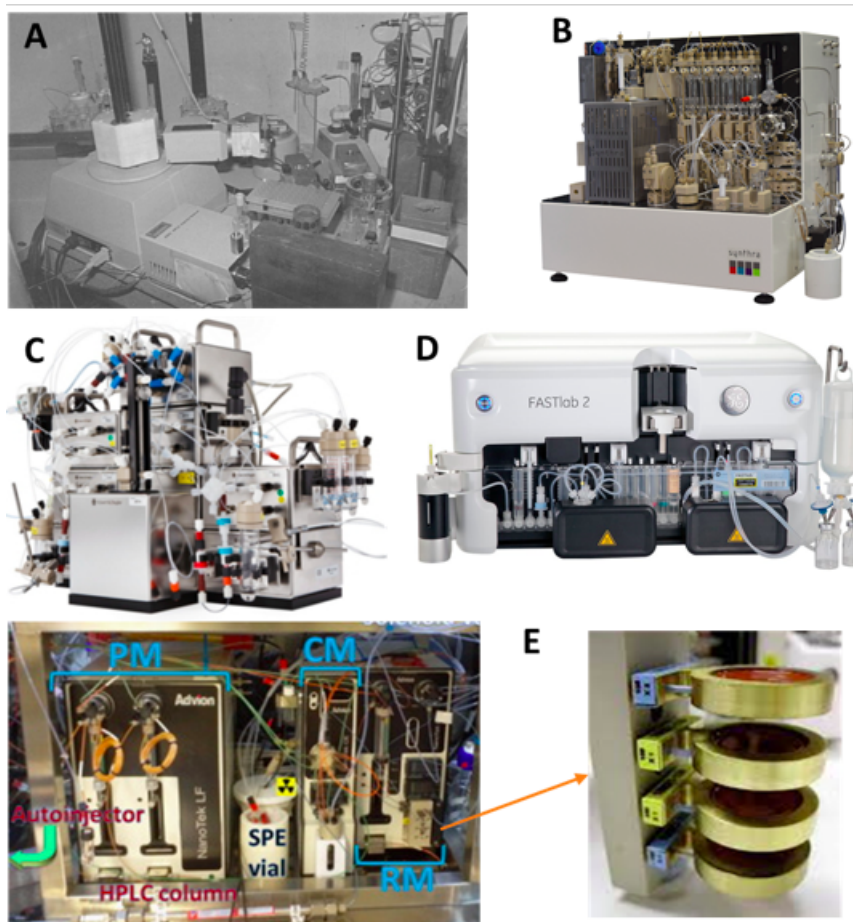


Figura 6: Esempi di sistemi automatici di sintesi per radiochimica. A: sistema robotico Zymate [24]. B: sistema a tubi fissi Synthra [25]. C: sistema modulare Modular Lab [26] D Sistema a cassette FastLab; E Sistema microfluidico Advion [27].

attrezzati). Per finire, l'idea dello scanner PET [28] e del [^{18}F]fluorodesossiglucosio (FDG) [29] giustificava un aumento del numero di siti interessati a produrre questi radiofarmaci, ma in sicurezza ed affidabilità.

Nella maggior parte dei casi, le soluzioni automatiche utilizzate soddisfano i seguenti requisiti: (a) garantire un controllo remoto delle varie fasi di processo; (b) implementare la maggior parte possibile degli stadi di sintesi; (c) avere una forma compatta che permetta inclusione in una schermatura di piombo. Inoltre, tali sistemi devono garantire una ripetibilità estrema; specialmente nel caso di radiofarmaci a bassa emivita, la produzione avviene nello stesso giorno dell'utilizzo clinico. Perciò, non è accettabile che una produzione fallisca, creando un dis-

gio logistico ed emotivo al paziente (e all'indotto ospedaliero).

In base a questi principi, una serie di paradigmi di automazione si sono affermati negli anni (Figura 6). I primi sistemi erano basati su sistemi robotici, che in pratica simulavano le varie operazioni che un radiochimico implementerebbe su macchinari separati in un laboratorio. Nell'esempio riportato in figura, il sistema Zymate consisteva in un braccio robotico che presentava ai vari strumenti dedicati, disposti attorno al braccio, il campione da sottoporre ai vari processi (es. filtrare, riscaldare, diluire, concentrare, ecc.). Nonostante l'applicazione pionieristica, questo approccio era vessato da numerosi problemi, tra i quali: sistemi di programmazione poco *user-friendly*, dimensione totale difficile da schermare, possibilità del braccio di far cadere il campione radioattivo durante il processo. Questi problemi hanno indotto un ripensamento totale,

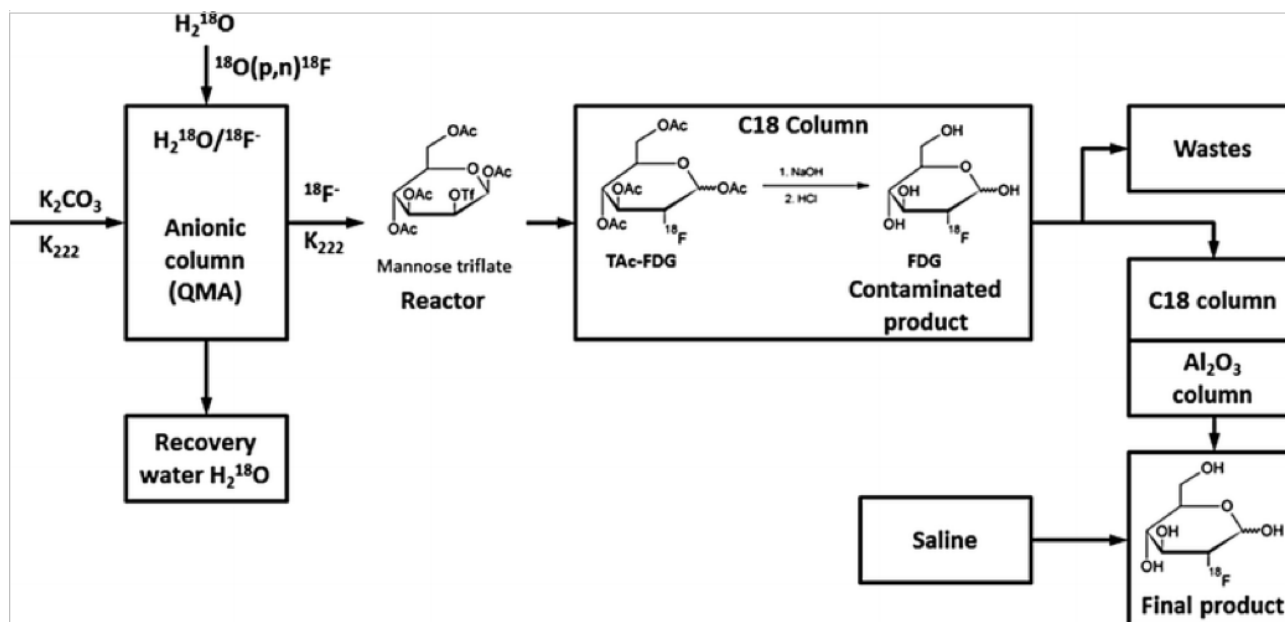


Figura 7: Processo di sintesi per $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$, comprendente (a) intrappolamento del $[^{18}\text{F}]\text{fluoruro}$ da ciclotrone, (b) eluizione del complesso radioattivo e reazione con mannosio triflato (precursore), (c) idrolisi basica in fase supportata, (d) purificazione tramite passaggio su microcolonne, (e) formulazione con salina iniettabile (Figura da [30]).

e la creazione di sistemi costituiti da complesse strutture interconnesse di tubi e valvole, disposti in maniera razionale in modo da ridurre la dimensione totale, ma che comunque ritengano ampia capacità di riconfigurazione. Il sistema Synthra riportato in figura è un esempio di tale approccio, nel quale le soluzioni di reagenti vengono movimentate tramite differenziali di pressione gassosa o siringhe a motore. In realtà, questo approccio è probabilmente ancora il più utilizzato, ed è evoluto a forme ancora più compatte e persino modulari; tuttavia, questi sistemi richiedono una profonda conoscenza dei processi radiochimici, esperienza nella maniera più efficiente di configurare la parte fluidica e considerevole pazienza nella programmazione delle sequenze di reazione. Per quest'ultimo aspetto, sono stati fatti passi da gigante nel disegnare linguaggi e sistemi di programmazione estremamente efficienti e *user-friendly*, ma rimane costante la necessità di un radiochimico di grande esperienza. A questo aspetto si è ovviato inventando i cosiddetti sistemi a cassetta; tali soluzioni presentano una piattaforma fissa costituita da una serie di attuatori meccanici in grado di ingaggiare un sistema fluidico (cassetta) già configurato nella maniera desiderata e contenente tutti i reagenti necessari. In questa maniera,

la produzione di un radiofarmaco richiede semplicemente un operatore che applichi la giusta cassetta per il prodotto desiderato, faccia partire il processo e raccolga il prodotto finale. Un esempio comune dell'applicazione di questo concetto (1 solo processo) sono le macchine Nespresso. Ma, esattamente come per il caffè, questi sistemi sono utili solo quando le cassette sono già state sviluppate e commercialmente disponibili; ed inoltre, non permettono di ottenere qualsiasi prodotto, date alcune limitazioni strutturali. Tuttavia, tali sistemi sono ora largamente utilizzati in ambito commerciale, dove sono necessari grandi numeri di produzione con poca manutenzione e addestramento.

Attualmente molti filoni di ricerca sono dedicati a disegnare paradigmi di automazione ancora più efficienti. Visto l'esigua quantità di materiale radioattivo tipicamente impiegato, uno degli approcci più promettenti è l'utilizzo di tecniche microfluidiche, che permettano di maneggiare con sicurezza volumi estremamente piccoli, portando le quantità in gioco da poche decine di mL (approccio tradizionale) a poche decine di μL , riducendo inutili diluizioni e perdite di materiale. Nonostante ancora un campo di ricerca

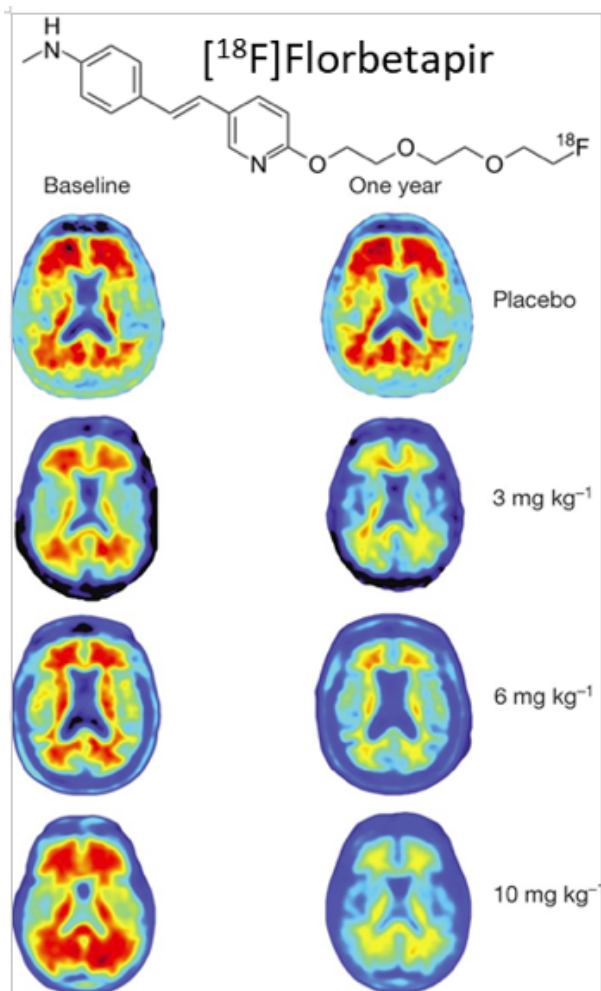


Figura 8: Immagini PET che dimostrano la riduzione delle placche amiloidi con trattamento a varie dosi di Aducanumab (Figura adattata da [31]).

attivo [32], coinvolgente nanotecnologie, scienze dei materiali, chimica ed altre discipline, si cominciano a vedere i primi prodotti commerciali che sfruttano tali principi [33].

Questi avanzamenti strumentali permettono perciò di avere a disposizione un portafoglio sempre crescente di nuovi radiofarmaci, con i quali è possibile effettuare diagnosi accurate, validare nuovi farmaci e programmare od eseguire terapie mirate.

Esempi di applicazioni di radiofarmaci; la nostra dose quotidiana

Probabilmente l'esempio più noto di radiofarmaco è il $[^{18}\text{F}]$ FDG. Questa molecola è commercialmente disponibile in tutti i centri PET, e rap-

presenta oltre l'80% delle attuali pratiche PET a livello globale. La sua utilità clinica è legata dalle sue uniche caratteristiche biochimiche, che la rendono utile nel comprendere numerose condizioni patologiche (Per la diagnostica PET si veda l'articolo di N. Belcari, V. Rosso e G. Sportelli in questo numero di Ithaca).

Infatti, essendo FDG un analogo del Glucosio, tale molecola ha un fato biologico simile. In particolare, FDG e Glucosio sono trasportati nella stessa maniera (Trasportatori di Glucosio) nelle cellule che richiedono energia tramite il processo glicolitico; inoltre, una volta entrati nella cellula, vengono entrambi fosforilati dallo stesso enzima (Fosfochinasi), che non nota differenza tra un -OH ed un $\text{-}^{18}\text{F}$. Tuttavia, una volta fosforilati, il successivo enzima della catena (Fosfoglucoisomerasi) si accorge della differenza e processa il Glucosio, ma non il FDG. A questo punto, il FDG fosforilato, che è una molecola carica negativamente, non è più in grado di riattraversare la membrana cellulare (fortemente idrofoba, a doppio-strato lipidico), e rimane intrappolato nel citoplasma. L'effetto netto di questo processo è un accumulo di radioattività nelle cellule hanno bisogno di più energia; questo generalmente accade nei tessuti cerebrali normali, in tessuti infiammati e nelle cellule tumorali. Perciò, il $[^{18}\text{F}]$ FDG è attualmente largamente utilizzato in diagnostica oncologica e, in maniera minore, neurologica. Essendo il radiofarmaco impiegato da più tempo, la pratica clinica ha ormai identificato chiare linee guida su come interpretare le immagini PET-FDG, e questa tecnica diagnostica permette di selezionare i migliori iter terapeutici.

Un esempio interessante su come usare (od abusare) questi potenti mezzi diagnostici è offerto dalla recente introduzione del farmaco Aducanumab (Aduhelm[®]) [35] per il trattamento della malattia di Alzheimer. L'approvazione da parte di FDA di questo farmaco anticorpale prodotto da Biogen è stata a lungo discussa e criticata, e molti dubbi esistono ancora tra gli esperti nel garantirne l'efficacia. Ciò che è interessante in questo contesto, è una delle prove principali usate per giustificare l'efficacia è una serie di immagini PET (Figura 8).

Il radiofarmaco utilizzato è il $[^{18}\text{F}]$ Florbetapir, che è un tracciante specifico per le placche ami-

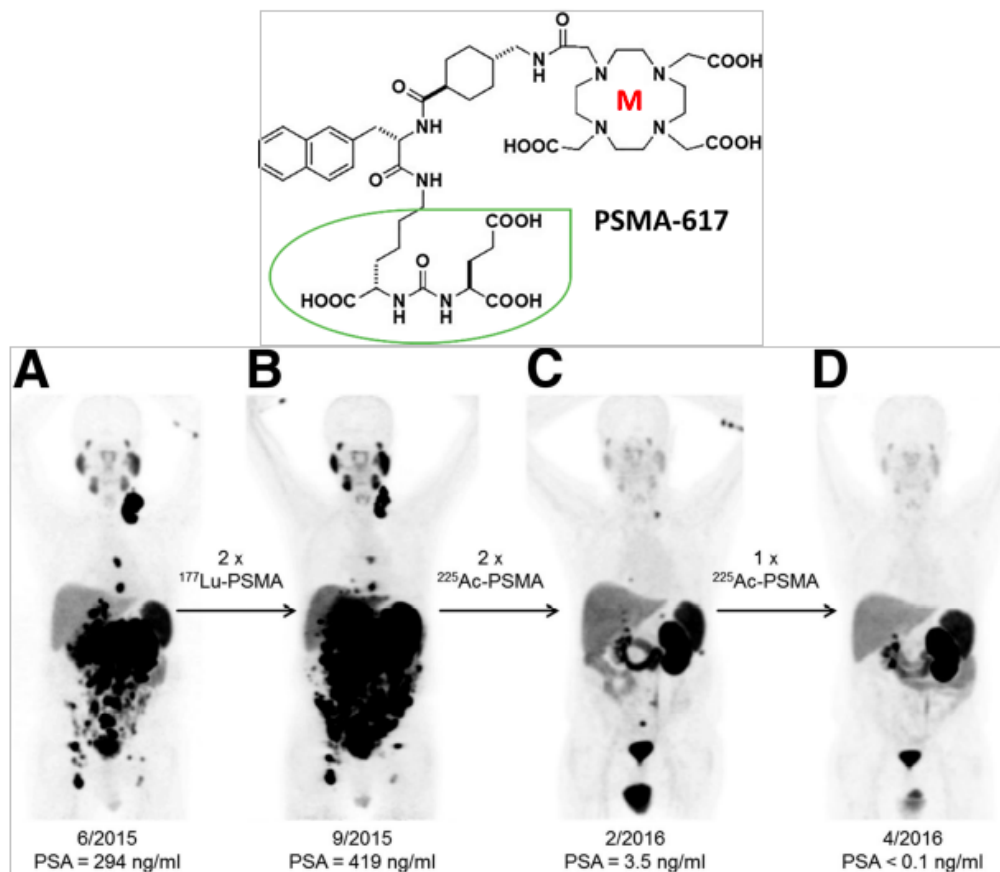


Figura 9: Struttura di un radiofarmaco per PSMA e trattamento di tumore prostatico metastatizzato, con differente efficacia tra ^{177}Lu e ^{255}Ac (Figura adattata da [34]).

loidi. Nonostante sia noto che tali placche siano presenti in pazienti affetti da Alzheimer, le attuali conoscenze biochimiche della malattia non assegnano a questo fenomeno la causa di tale malattia. Questa osservazione (ed altre, in altri ambiti) potrebbe corroborare i dubbi sull'efficacia di tale nuovo trattamento; infatti, questo utilizzo del dato PET potrebbe evidenziare una classica confusione tra causa ed effetto. Questo esempio serve ad evidenziare che l'utilizzo di radiofarmaci e la corretta interpretazione delle immagini che ne risultano è strettamente legato alla onesta comprensione del fatto biochimico della molecola in questione, che si ottiene preliminarmente da appropriati studi farmacologici, pre-clinici (imaging su piccolo animale) e accorti trial clinici.

Restando in campo terapeutico, alcuni radiofarmaci possono essere marcati con isotopi che emettono particelle capaci di arrecare danno cellulare, e perciò ridurre o eliminare masse tumorali. Un recente esempio, paradigmatico di questa capacità, è legato alla cura del cancro alla pro-

stata. Infatti, questi tumori sono caratterizzati da una espressione aumentata dell'Antigene di Membrana Specifico della Prostata (PSMA); questa proteina è un parente stretto del PSA, che è il parametro ematochimico classico utilizzato per diagnosticare tumore prostatico, con la differenza che PSMA rimane localizzata sulla membrana delle cellule tumorali.

Sfruttando questa conoscenza, sono state disegnate delle molecole che sono in grado di legarsi selettivamente e con grande affinità al PSMA; questi frammenti leganti sono poi funzionalizzati con dei frammenti capaci di legare metalli radioattivi con diverse caratteristiche emmissive. Nella Figura 9 sono evidenziati il frammento legante (in verde) e la struttura metallo chelante; in questa, si può ottenere un radiofarmaco diagnostico (es. $M = ^{68}\text{Ga}$) o terapeutico (es. $M = ^{177}\text{Lu}$ o ^{225}Ac). Nella stessa figura è riportato anche l'esito del trattamento, dal quale si può notare come l'utilizzo di radiometalli diversi può dare risultati diversi. Questo è dovuto al fatto che ^{177}Lu emette particelle β -caratterizzate

da una certa diffusività di danno, mentre ^{225}Ac emette particelle α con più alta focalizzazione del danno cellulare. Occorre tuttavia notare che non in tutti i casi gli emittenti α danno risultati migliori, e l'esito della cura dipende molto dal tipo di tumore e dal paziente. Una osservazione laterale è l'accumulo di radioattività nelle guance (ghiandole salivari) del paziente: questo accumulo non è dovuto a tessuti tumorali nella zona, ma è una distribuzione caratteristica di queste molecole, che infatti hanno come principale effetto secondario xerostomia (secchezza delle fauci).

Molti concetti promettenti, molti futuri possibili

Si è visto come l'utilizzo di radiofarmaci permette di visualizzare le funzionalità biologiche seguendo il fato di tali molecole radioattive. Se si aggiunge l'estrema sensibilità di rivelazione, si capisce come queste potenzialità sono quasi uniche nel campo della diagnostica per immagini, che generalmente si limita a delineare malformazioni anatomiche. Ma la ricerca non si è fermata, e cerca di trovare sempre nuovi modi di utilizzare tali concetti.

Dal punto di vista chimico sintetico, vi sono due concetti che potrebbero segnare il futuro. Da una parte, si prevede un impatto sempre maggiore di tecniche automatiche di ottimizzazione di processo. Secondo questa linea di sviluppo, il compito abbastanza mondano di testare varie condizioni di reazione per ottenere la resa più alta potrebbe essere automatizzato utilizzando concetti di Intelligenza Artificiale (AI) o Disegno di Esperimento (DoE). Questa tendenza di sta già affermando in campo chimico industriale, ma avrebbe una particolare valenza in campo radiochimico [36], dato che permetterebbe di limitare i tempi di esecuzione e la necessità di interazione diretta con la sorgente radioattiva. Tuttavia, è utile ricordare che tali approcci computerizzati hanno sempre bisogno di un umano (es. chimico) che sia in grado di definire il campo di azione (es. parametri), gli agenti in gioco (es. reagenti) e le regole della vittoria (es. massima resa).

Un'altra tendenza in campo sintetico è di muoversi verso una produzione delocalizzata di tali

radiofarmaci, a confronto dell'approccio centralizzato attuale. Radiofarmaci possono essere prodotti in maniera centralizzata solo se la loro produzione su larga scala ha senso commerciale; questo fa sì che prodotti utili a rispondere a esigenze rare e personali non sono disponibili centralmente. Una produzione decentralizzata restituirebbe al sito diagnostico e terapeutico la capacità di scegliere il miglior radiofarmaco per ogni paziente, avvicinandosi il più possibile ad un concetto di personalizzazione. Tuttavia, ottenere questo risultato non è ancora generalmente possibile, e richiede uno sforzo nell'individuare reazioni chimiche e automazione robusti che richiedano poca specializzazione; in questo, la capacità dei sistemi microfluidici di utilizzare con efficienza piccoli volumi potrebbe essere determinante.

Dal punto di vista radiofarmaceutico, grande attenzione è ora posta nel concetto di **tera(g)nostica**, nel quale la stessa struttura chimica può essere usata con fini diagnostici o terapeutici a seconda dell'isotopo utilizzato nella marcatura; un esempio di tale concetto è espresso nella Figura 9. Si capisce perciò che, a meno di non disegnare appropriati radioibridi [37], la molecola diagnostica sarà diversa da quella terapeutica, pur avendo un fato biochimico praticamente identico. Inteso in maniera più ampia, la teranostica può essere vista come un caso particolare della *companion diagnostic* [38], che riporta la promessa di selezionare per ogni paziente il trattamento migliore e non un farmaco generico o meramente disponibile, in linea con un approccio personalizzato alla medicina. Preme ricordare il concetto teranostico declinato con radiofarmaci è per ora limitato al trattamento di tumori, mentre la cura di malattie neurologiche, immunitarie e metaboliche rimane ancora fuori scopo.

Un ultimo punto lo meritano le nuove tecnologie di diagnostica per immagini. Questi strumenti si sono evoluti in termini di funzionalità (es. unione a immagini anatomiche TAC o MRI), sensibilità ed accuratezza, ma gli ultimi anni hanno visto l'introduzione di apparati capaci di analizzare l'intero soggetto scannerizzato contemporaneamente. Questa macchina, denominata Total-Body PET [40], oltre ad essere un formidabile risultato ingegneristico e fisico, permetterà di

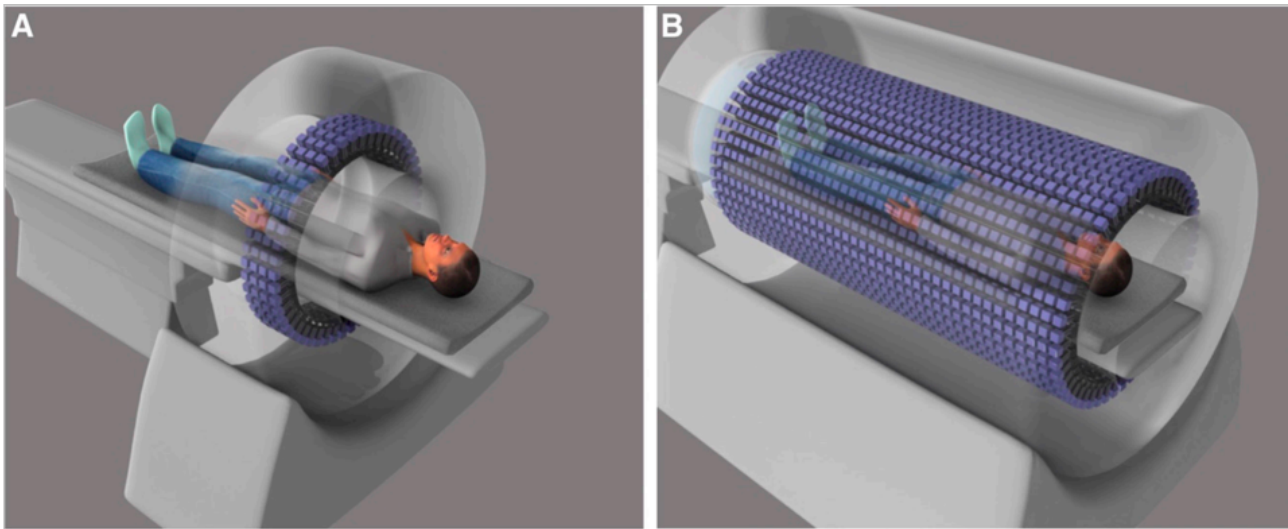


Figura 10: Differenza fra macchina PET tradizionale e Total-Body PET (Figura da [39]).

evidenziare accumuli di radiofarmaco in zone non previste, facilitando perciò l'introduzione di nuovi prodotti in pratica clinica. Inoltre, la particolare disposizione dei rivelatori permette di diminuire di 40 volte la dose radioattiva necessaria per avere una immagine accurata; questo permetterà a tutti di avere la propria dose quotidiana, ma sempre in minore quantità e con maggiore sicurezza.



- [1] Natural Radiation: High Background Radiation Areas (HBRAs) of Ramsar, Iran (ecolo.org) http://www.ecolo.org/documents/documents_in_english/ramsar-natural-radioactivity/ramsar.html
- [2] Banana equivalent dose - Wikipedia https://en.wikipedia.org/wiki/Banana_equivalent_dose
- [3] The Nobel Prize | Women who changed science | Marie Curie <https://www.nobelprize.org/womenwhochangedscience/stories/marie-curie>
- [4] Atomic Bomb: Inventors, WWII & Facts - HISTORY <https://www.history.com/topics/world-war-ii/atomic-bomb-history>
- [5] Is Nuclear Power A Renewable Or A Sustainable Energy Source? <https://www.forbes.com/sites/jamesconca/2016/03/24/is-nuclear-power-a-renewable-or-a-sustainable-energy-source/?sh=663924ca656e>
- [6] International Nuclear and Radiological Event Scale (INES) | IAEA <https://www.iaea.org/resources/databases/international-nuclear-and-radiological-event-scale>
- [7] Ionization vs photoelectric <https://www.nfpa.org/Public-Education/Staying-safe/Safety-equipment/Smoke-alarms/Ionization-vs-photoelectric>
- [8] ITER - the way to new energy <https://www.iter.org/>
- [9] Home | NDB <https://ndb.technology>
- [10] What is a synchrotron? <https://www.esrf.fr/about/synchrotron-science/synchrotron>
- [11] Diffraction in neutron imaging - A review - ScienceDirect <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168900217307817?via%3Dihub>
- [12] George de Hevesy - Biographical - NobelPrize.org <https://www.nobelprize.org/prizes/chemistry/1943/hevesy/biographical/>
- [13] Saul Hertz, MD, and the birth of radionuclide therapy (nih.gov) <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5407393/>
- [14] Technetium - Element information, properties and uses | Periodic Table (rsc.org)
- [15] Review: Production of nuclear medicine radioisotopes with ultra-intense lasers: AIP Advances: Vol 11, No 4 (scitation.org) <https://aip.scitation.org/doi/10.1063/5.0042796>
- [16] Auger Electron-Based Radionuclide Therapy | SpringerLink <https://www.nds.iaea.org/relnsd/vcharthtml/VChartHTML.html> https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-81-322-2607-9_4
- [17] Molecules | Free Full-Text | Perspectives on the Use of Liquid Extraction for Radioisotope Purification (mdpi.com) <https://www.mdpi.com/1420-3049/24/2/334>
- [18] Livechart - Table of Nuclides - Nuclear structure and decay data (iaea.org) <https://www.nds.iaea.org/relnsd/vcharthtml/VChartHTML.html>
- [19] Production of radionuclides for clinical nuclear medicine (iop.org) <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1361-6404/ab169b/pdf>

- [20] 18F-labelling innovations and their potential for clinical application | SpringerLink <https://link.springer.com/article/10.1007/978-3-319-0280-0>
- [21] Per un uso corretto della nomenclatura radiochimica, fare riferimento alle norme descritte in Consensus nomenclature rules for radiopharmaceutical chemistry - Setting the record straight - ScienceDirect <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0969805117303189>
- [22] Cyclotron-based production of ⁶⁸Ga, [⁶⁸Ga]GaCl₃, and [⁶⁸Ga]Ga-PSMA-11 from a liquid target | EJNMMI Radiopharmacy and Chemistry | Full Text (springeropen.com) <https://ejnmipharmchem.springeropen.com/articles/10.1186/s41181-020-00106-9>
- [23] Automated Synthesis Modules for PET Radiochemistry - Handbook of Radiopharmaceuticals - Wiley Online Library e PET Radiochemistry Automation: State of the Art and Future Trends in 18F-nucleophilic Fluorination | Bentham Science (eurekaselect.com) e <https://www.osti.gov/servlets/purl/787833-vcKoA0/native/> https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/9781119500575.ch13?saml_referrer
- [24] <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0883288988900597?via%3DIhub>
- [25] Synthra Home <http://synthra.com/>
- [26] Modular-Lab Standard for R&D - Eckert & Ziegler Radiopharma <https://radiopharma.com/product/modular-lab-standard/>
- [27] Hardware and software modifications on the Advion NanoTek microfluidic platform to extend flexibility for radiochemical synthesis - ScienceDirect <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0969804313004156>
- [28] A Positron-Emission Transaxial Tomograph for Nuclear Imaging (PETT) | Radiology (rsna.org) <https://pubs.rsna.org/doi/10.1148/114.1.89>
- [29] Labeled 2-deoxy-D-glucose analogs. 18F-labeled 2-deoxy-2-fluoro-D-glucose, 2-deoxy-2-fluoro-D-mannose and 14C-2-deoxy-2-fluoro-D-glucose - Ido - 1978 - Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals - Wiley Online Library https://analyticalsciencejournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jlcr.2580140204?casa_token=RTbmenqUXQMAAAAA:sxzG3_tQyKvIrdTnq\protect\discretionary{\char\hyphenchar\font}{-}{-}GQYEFavkc6Z93ysRE8b2eHpj\protect\discretionary{\char\hyphenchar\font}{-}{-}EIFVCv53HWRlUgInTH8H7z6qtnTyhnEk5w1PA
- [30] Distribution and separation of metallic and radionuclidic impurities in the production of 18F-fluorodeoxyglucose | SpringerLink <https://link.springer.com/article/10.1007/s10967-015-4328-6>
- [31] The antibody aducanumab reduces A β plaques in Alzheimer's disease | Nature <https://www.nature.com/articles/nature19323>
- [32] Radiochemistry on chip: towards dose-on-demand synthesis of PET radiopharmaceuticals - Lab on a Chip (RSC Publishing) e Microfluidics in radiopharmaceutical chemistry - ScienceDirect e High-Efficiency Production of Radiopharmaceuticals via Droplet Radiochemistry: A Review of Recent Progress - Jia Wang, R. Michael van Dam, 2020 (sagepub.com) <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2013/1c/c31c00055a/unauth>
- [33] iMiLAB Radiochemistry Room | iMiGiNE <https://www.imagine.com/en/products/imilab-radiochemistry-room>
- [34] 225Ac-PSMA-617 for PSMA-Targeted α -Radiation Therapy of Metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer | Journal of Nuclear Medicine (snmjournals.org) <https://jnm.snmjournals.org/content/57/12/1941>
- [35] Aducanumab Approved for Treatment of Alzheimer's | alz.org <https://www.alz.org/alzheimers-dementia/treatments/aducanumab>
- [36] A Design of Experiments (DoE) Approach Accelerates the Optimization of Copper-Mediated 18F-Fluorination Reactions of Arylstannanes | Scientific Reports (nature.com) "<https://www.nature.com/articles/s41598-019-47846-6> Scalable 18F processing conditions for copper-mediated radiofluorination chemistry facilitate DoE optimization studies and afford an improved synthesis of [¹⁸F]olaparib - Organic & Biomolecular Chemistry (RSC Publishing) <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2021/ob/d1ob00903f>
- [37] Radiohybrid Ligands: A Novel Tracer Concept Exemplified by 18F- or ⁶⁸Ga-Labeled rhPSMA Inhibitors | Journal of Nuclear Medicine (snmjournals.org) <https://jnm.snmjournals.org/content/61/5/735.long>
- [38] Companion Diagnostics | FDA <https://www.fda.gov/medical-devices/in-vitro-diagnostics/companion-diagnostics>
- [39] Total-body imaging: Transforming the role of positron emission tomography - PubMed (nih.gov) <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28298419/>
- [40] Total-Body PET: Maximizing Sensitivity to Create New Opportunities for Clinical Research and Patient Care (nih.gov) <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5750522/>

Giancarlo Pascali: è un leader di fama internazionale nelle scienze radiofarmaceutiche, in particolare, nella ricerca e sviluppo di nuovi traccianti, metodi radiochimici e strategie di automazione. Il Dott. Giancarlo Pascali si è laureato presso l'Università di Pisa (Italia) nel 2001 con una tesi sul ¹⁸F e da allora ha svolto attività di ricerca nel campo della radiochimica PET. Dopo aver conseguito il dottorato di ricerca sotto

la supervisione di P.A. Salvadori (IFC-CNR, Italia) e W.C. Eckelman (NIH, USA), ha lavorato sia in ambito di ricerca che commerciale, in diversi paesi europei, concentrandosi sempre sullo sviluppo di nuovi radiofarmaci PET. È entrato in ANSTO (Sydney, Australia) come leader del team di radiochimica nel 2013; mentre ancora parte di ANSTO, ha assunto la posizione di Principal Radiopharmaceutical Scientist presso il Prince of Wales Hospital e di Professore Associato Conjoint presso la School of Chemistry (UNSW), al fine di aumentare ulteriormente l'efficienza dei percorsi traslazionali. È inoltre membro attivo e componente del consiglio di amministrazione di diverse associazioni professionali nel campo della chimica, dei radiofarmaci e dell'imaging molecolare. L'esperienza di Giancarlo spazia dai metodi di radiomarcatura, alla progettazione e ottimizzazione di radiofarmaci, alle tecniche di imaging, alle normative di produzione (GMP) e agli approcci di automazione. In quest'ultimo campo rappresenta uno dei pionieri nell'utilizzo di sistemi microfluidici nei processi radiochimici e tuttora studia questo campo. I suoi interessi attuali sono diretti a migliorare l'accesso di una migliore diagnostica e terapia radioattiva ad una popolazione più ampia, studiando nuove molecole, inventando nuovi metodi e ideando nuovi nuovi strumenti.