



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

Dipartimento di Fisica e Astronomia “Galileo Galilei”

Corso di Laurea in Fisica

Tesi di Laurea

Radioisotopi del Terbio per applicazioni teranostiche

Relatore

Prof.ssa Laura De Nardo

Laureando

Daniele Bruno

Anno Accademico 2020/2021

Abstract

Uno dei settori di maggiore interesse della medicina nucleare è attualmente quello dello sviluppo di radiofarmaci (RF) marcati con radionuclidi (RN) teranostici, che possono essere utilizzati sia per compiere diagnosi (mediante imaging SPECT o PET, grazie all'uso di RN γ o β^+ emittenti rispettivamente), sia terapia (grazie all'uso di RN emettitori di α , β^- o e^- Auger). Il maggiore vantaggio nell'utilizzare RF marcati con RN teranostici (o coppie di isotopi teranostici) è la possibilità di selezionare i pazienti che hanno un'alta probabilità di rispondere positivamente alla specifica terapia, mediante un pre-screening SPECT o PET eseguito utilizzando la stessa molecola (marcata con lo stesso RN usato per la terapia o con un suo isotopo), avente quindi la stessa biodistribuzione. Tra i RN teranostici di maggior interesse internazionale vi sono gli isotopi del T_b , quali $^{149}T_b$, $^{152}T_b$, $^{155}T_b$ e $^{161}T_b$. La tesi si propone di illustrare, dopo una panoramica sui modi di decadimento e sulle principali tecniche di imaging, le principali caratteristiche nucleari di tali radioisotopi, i canali di produzione finora investigati e le principali applicazioni precliniche o cliniche di RF marcati con tali radioisotopi del T_b .

Indice

Indice	1
1 Introduzione	2
2 Decadimenti nucleari	3
2.1 Decadimento α	3
2.2 Decadimento β	4
2.3 Decadimento γ	4
3 Diagnostica: PET e SPECT	5
3.1 PET	5
3.2 SPECT	6
4 Terapia	8
5 Produzione di radionuclidi	9
6 Radioisotopi del Terbio	11
6.1 Produzione di $^{149}T_b$, $^{152}T_b$, $^{155}T_b$	11
6.2 Produzione del $^{161}T_b$	12
7 Imaging PET e SPECT con i radioisotopi del Terbio	12
8 Teranostica con i radioisotopi del Terbio	16
9 Conclusione	20
Riferimenti bibliografici	20
Elenco delle figure	23

1 Introduzione

La medicina nucleare è un campo interdisciplinare in rapida crescita incentrato sull'uso di nuclidi radioattivi per scopi diagnostici e terapeutici. I radiofarmaci (farmaci marcati con nuclidi radioattivi) si dividono in due grandi classi: quelli di derivazione organica e quelli metallici. Tali classi differiscono principalmente nella loro strategia di incorporazione dei radionuclidi. I primi incorporano radionuclidi non metallici (quali ^{18}F , ^{11}C , ^{13}N , ^{15}O e ^{123}I) mediante la formazione di legami covalenti, spesso tramite la sostituzione di un atomo di idrogeno, mentre i traccianti a base metallica sono legati alla chimica di coordinazione, ossia il catione metallico è *coordinato* (cioè legato) ad atomi, ioni o molecole. Le brevi emivite e le caratteristiche di decadimento limitate della maggior parte dei radionuclidi organici ne limitano notevolmente le applicazioni. Come si può vedere nella Figura 1, i radiometalli (tra i quali vari isotopi di T_b , S_c , Y , D_y) offrono un'ampia varietà di caratteristiche di decadimento e, come tali, hanno un ruolo centrale nella diagnostica e nella terapia nucleare.

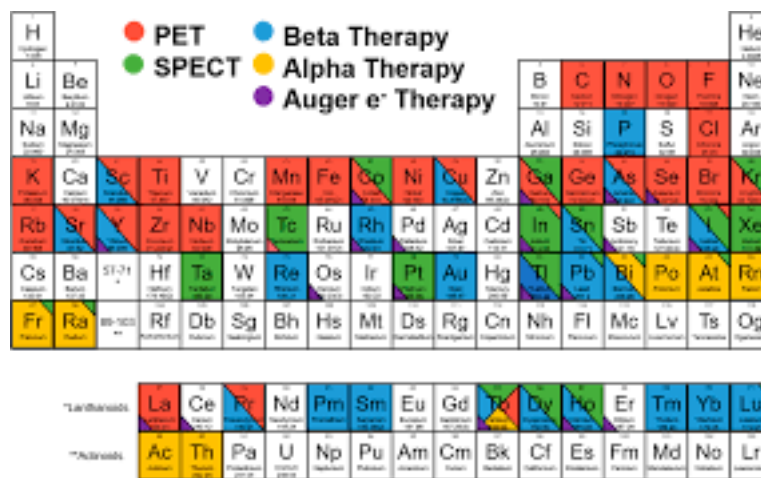


Figura 1: Tavola periodica che mostra le attuali o potenziali applicazioni di ogni elemento nella diagnostica e/o terapia.

Nel regno dei radiofarmaci metallici distinguiamo due importanti categorie: i metallo-essenziali e i metallo non-essenziali. Nel primo caso il radiometallo è fondamentale per il targeting biologico mentre la maggior parte delle strategie di progettazione dei metallo non-essenziali dividono il farmaco in quattro parti: radiometallo, ligando/chelante, linker e vettore bioconiugato.

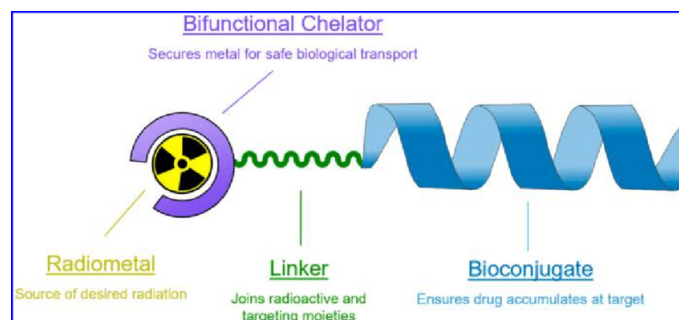


Figura 2: Struttura standard delle quattro componenti di un radiofarmaco

In questo caso, le proprietà di decadimento del radiometallo sono alla base della possibilità di diagnostica e terapia, mentre il bioconiugato garantisce l'accumulo del farmaco nelle cellule bersaglio. Il chelante e il linker integrano i due componenti altrimenti incompatibili. Tale strategia è molto utilizzata in quanto consente l'alterazione di singole componenti per regolare la

funzione del farmaco. Le proprietà del decadimento dei radiometalli determinano la funzione del radiofarmaco. I radiometalli diagnostici emettono radiazioni che interagiscono in minima parte con il tessuto biologico, permettendogli di passare facilmente attraverso il corpo e quindi di poter raggiungere i rilevatori esterni. Al contrario, i radiometalli terapeutici emettono radiazioni destinate a interagire molto con il tessuto biologico circostante al fine di esercitare un effetto terapeutico locale [23].

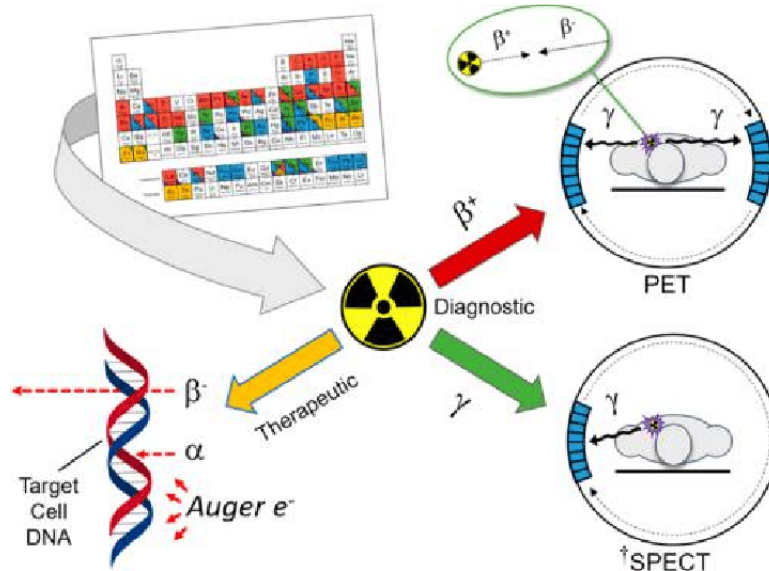


Figura 3: Modi di decadimento dei radiometalli e le corrispondenti applicazioni nella medicina nucleare.

2 Decadimenti nucleari

I radionuclidi sono gli elementi che permettono di visualizzare i radiofarmaci una volta che questi sono stati somministrati nell'organismo. Essi sono degli atomi instabili, a causa di uno squilibrio fra il numero di protoni e il numero di neutroni all'interno del loro nucleo. Per raggiungere una condizione di maggiore stabilità energetica essi spontaneamente "decadono", cioè riarrangiano i propri nucleoni attraverso delle transizioni nucleari, originando nuclei di nuovi elementi e liberando l'energia in eccesso sotto forma di radiazioni ionizzanti, in accordo con il principio di conservazione dell'energia e della quantità di moto. I nuovi nuclei che si sono così formati possono essere stabili oppure instabili e decadere a loro volta fino a trasmutare in un nucleo stabile ponendo così fine alla catena del decadimento. I decadimenti nucleari a cui possono andare incontro i radionuclidi si dividono in tre classi principali: il decadimento α , il decadimento β e il decadimento γ . Qui di seguito è riportata una breve panoramica dei primi tre che risultano essere quelli di maggiore interesse da un punto di vista medico [16].

2.1 Decadimento α

E' una forma di decadimento che riguarda di solito nuclidi pesanti (in genere con $Z > 83$) che trasmutano in un secondo nucleo più stabile rilasciando una particella α che è costituita da due protoni più due neutroni (un nucleo di Elio), il risultato è sempre un nuclide che rispetto a quello originario presenta un numero atomico pari a $Z - 2$ e un numero di massa pari a $A - 4$. Le particelle α sono emesse ad elevata energia (tipicamente comprese tra 5 e 8 MeV). Esse sono molto grandi ed elettricamente cariche risultano essere fortemente ionizzanti e pochissimo penetranti, infatti hanno un'elevata LET (Linear Energy Transfer) cioè energia rilasciata dalla

radiazione per unità di lunghezza, e un ridottissimo range di penetrazione nei tessuti (inferiore ai $50\mu\text{m}$). Decadono in questo modo nuclidi come: ^{213}Bi , ^{225}Ac , ^{212}Bi , ^{211}At , ^{230}U e ^{123}Ra .

2.2 Decadimento β

Il decadimento β può avvenire secondo tre differenti modalità: β^- , β^+ e cattura elettronica. Il β^- riguarda nuclei instabili per un eccesso di neutroni; in questo caso un neutrone trasmuta in una coppia protone-elettrone e un antineutrino elettronico. Il protone resta nel nucleo, determinando l'aumento del numero atomico di una unità ($Z + 1$) mentre l'elettrone e l'antineutrino vengono emessi, in questo caso il numero di massa rimane invariato. Le particelle β^- non sono altro che elettroni ad alta energia emessi durante questo tipo di decadimento. Queste particelle sono più penetranti e meno ionizzanti rispetto alle particelle α , il loro range di penetrazione nei tessuti varia da 0,5 a 10 mm in funzione dell'energia associata all'elettrone stesso. Decadono in questo modo radionuclidi come: ^{60}Co , ^{131}I , ^{90}Y , ^{32}P , ^{153}Sm , ^{177}Lu e ^{188}Re , molti dei quali trovano impiego in medicina ad esempio nella Radioterapia Metabolica. Il decadimento β^+ riguarda invece nuclei instabili per un eccesso di protoni; in questo caso un protone trasmuta in una coppia neutrone-positrone, il neutrone resta nel nucleo mentre il positrone viene rilasciato insieme ad un neutrino. In questo caso il prodotto del decadimento presenta numero atomico diminuito di una unità ($Z - 1$) mentre il numero di massa A resta invariato come per il decadimento β^- . Decadono in questo modo radionuclidi come: ^{18}F , ^{11}C , ^{13}N , ^{15}O , i quali trovano largo impiego in medicina nucleare a scopo diagnostico nella tecnologia PET. La cattura elettronica è la terza modalità con cui può avvenire il decadimento β . Essa avviene quando un nucleo assorbe uno degli elettroni orbitanti dai livelli più interni e si ha la trasmutazione di un protone più l'elettrone catturato in un neutrone, l'energia liberata da questo processo viene emessa dal nucleo sotto forma di un neutrino. Anche in questo caso il prodotto del decadimento è un atomo che ha numero atomico pari a $Z - 1$ il cui numero di massa A resta invariato. La cattura dell'elettrone inoltre determina la formazione di una vacanza elettronica che gli elettroni degli strati più esterni a cascata vanno a riempire liberando in questo modo uno o più fotoni γ . Decadono in questo modo ad esempio ^{123}I e molti dei radionuclidi β^+ impiegati nella PET. Cattura elettronica e decadimento β^+ sono le due forme con cui decadono i nuclei instabili per eccesso di protoni, e spesso queste due modalità avvengono contemporaneamente. Se tuttavia la differenza di energia tra l'atomo iniziale e quello finale è minore di 1.022 MeV, il decadimento β per emissione di un positrone è proibito, e la cattura elettronica rimane l'unica modalità di decadimento possibile.

2.3 Decadimento γ

Il decadimento γ comporta la liberazione di una particella γ ossia di un fotone ad alta energia che viene liberato in seguito a transizioni nucleari. A differenza delle particelle α e β , i fotoni sono particelle altamente penetranti e pochissimo ionizzanti a causa del fatto di essere elettricamente neutre; ciò le rende da un punto di vista biologico molto pericolose, sono infatti in grado di attraversare completamente i tessuti e causare effetti come ustioni, forme di cancro e mutazioni genetiche. Una delle transizioni nucleari che origina fotoni γ è la transizione isomerica (IT), in cui una forma metastabile del nucleo passa ad una forma più stabile dello stesso elemento liberando l'energia in eccesso sotto forma di radiazione γ . In questo caso il prodotto del decadimento è lo stesso nucleo di partenza (stesso Z e stesso A) ma in una forma più stabile. E' questa la forma di decadimento che subisce il ^{99m}Tc che decade in ^{99}Tc . Questo radionuclide per le sue favorevoli caratteristiche è di gran lunga il più utilizzato nella medicina nucleare convenzionale dove la sua emissione a fotone singolo è sfruttata dalle gamma camere negli esami scintigrafici convenzionali e nella tomografia SPECT. Tutti i radioisotopi gamma

emittenti, che decadono ad esempio per cattura elettronica o transizione isomerica sono soggetti ad un altro fenomeno competitivo che è l'emissione Auger, la quale si verifica quando l'energia liberata dal nucleo non viene liberata direttamente come fotone ma viene assorbita da un altro elettrone dell'atomo, il quale raggiunge così un'energia sufficiente per staccarsi da esso. Quindi i radionuclidi γ emittenti insieme al fotone emettono anche elettroni di media energia, che non hanno utilità da un punto di vista diagnostico ma rappresentano uno svantaggio in quanto rappresentano una dose non utile per il paziente. I radionuclidi differiscono quindi fra di loro non solo per la natura chimica ma anche per il tipo di radiazione emessa, e di questo bisogna tenere conto nel momento in cui si deve scegliere quale radionuclide utilizzare, per esempio ^{123}I e ^{131}I sono entrambi radioisotopi dello stesso elemento ma mentre il primo è un γ emittente impiegato per scopi diagnostici, il secondo è β^- emittente utilizzato nella radioterapia metabolica.

3 Diagnostica: PET e SPECT

I radiotraccianti diagnostici emettono o producono indirettamente fotoni che vengono rilevati da materiale ad alta densità per produrre rappresentazioni spaziali della distribuzione del farmaco in vivo. La tomografia a emissione di positroni (PET) e la tomografia computerizzata a emissione di fotone singolo (SPECT) sono le modalità di tomografia per immagini più diffuse per questo scopo.

3.1 PET

L'imaging PET richiede l'uso di emittitori di positroni (β^+) che sono normalmente radionuclidi con difetto di neutroni che bilanciano la loro composizione nucleare attraverso la conversione di un protone in neutrone mediante emissione di β^+ . Quando questi positroni incontrano elettroni si ha un processo noto come annichilazione che produce l'emissione simultanea di raggi γ in direzioni opposte con un'energia caratteristica pari a 511 keV.

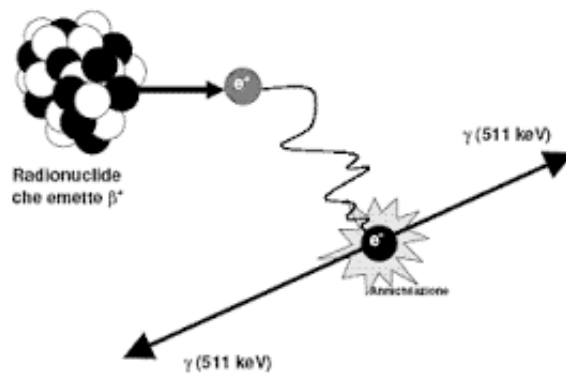


Figura 4: Decadimento di un radionuclide β^+ emittitore.

La configurazione fisica dei tomografi PET, deve essere finalizzata a massimizzare la rivelazione degli eventi in coincidenza e a minimizzare quella degli eventi di rumore. I rivelatori usati per la PET sono scintillatori inorganici ad alto numero atomico efficace opportunamente accoppiati ad una serie di fotomoltiplicatori (PMT). Il principio di funzionamento di questi rivelatori si basa sulla possibilità di estrarre un segnale dalle modifiche che i cristalli subiscono quando sono attraversati dalle radiazioni elettromagnetiche (raggi X o γ). Quando la radiazione interagisce con il materiale del cristallo (per un tempo molto breve, *ns* o *ps*) essa cede parte della propria energia agli atomi dello scintillatore che passano ad uno stato eccitato per poi ritornare allo stato iniziale, quando ciò avviene rilasciano l'energia assorbita sotto forma di fotoni (scintillazione).

I fotoni così emessi sono convogliati all'interno dei fotomoltiplicatori che li amplificano e li convertono in un segnale elettrico, il quale può essere infine registrato e misurato. Il numero di segnali (conteggi) per unità di tempo t fornisce la misura della quantità di radioattività presente nel campione. Nella tomografia ad emissione di positroni, affinché si registri un evento di decadimento, i due fotoni di annichilazione devono essere rivelati in coincidenza all'interno del campo di vista o FOV cioè nella porzione di spazio campionata dal tomografo.

La tecnica di coincidenza richiede che, a seguito della rivelazione dei fotoni incidenti, i rivelatori generino impulsi temporali da analizzare in un circuito di coincidenza, dove un evento è rivelato se due impulsi, appartenenti a due diversi rivelatori, cadono in una piccola finestra temporale (finestra di coincidenza) che è dell'ordine dei 10 ns . Ad ogni evento in coincidenza è assegnata una LOR (linea di risposta) data dalla retta che unisce i punti di rivelazione dei due fotoni.

La sorgente che ha generato la coincidenza si troverà in un punto di tale retta.

Una volta identificata la LOR, l'evento sarà sommato a quelli già acquisiti per quella particolare linea di risposta e la somma ottenuta sarà registrata nella memoria del sistema. Il valore finale degli eventi acquisiti per una LOR è quindi legato all'attività del radionuclide presente lungo la linea (Figura 5).

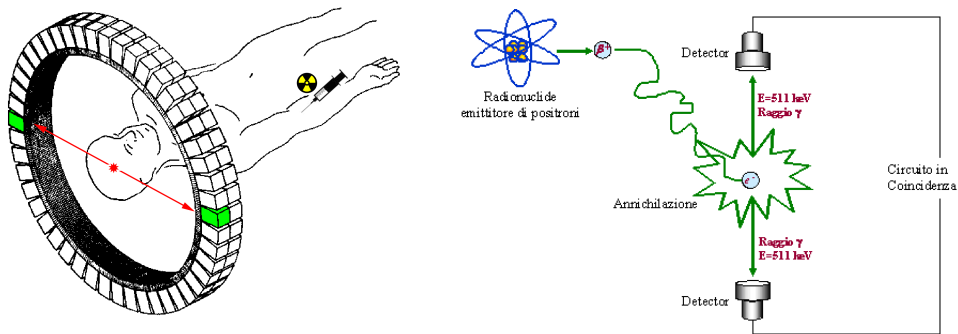


Figura 5: Sistema di rivelatori multipli ad anello e schema di un circuito di rivelazione.

La distanza percorsa dal β^+ prima dell'annichilazione è proporzionale alla sua energia, quindi l'emissione di positroni a bassa energia è preferita in quanto consente di localizzare il radiotracciante con migliore risoluzione spaziale. Il radiotracciante PET più comunemente utilizzato è l'analogo del glucosio, $[^{18}\text{F}]FDG$ (^{18}F -fluorodeossiglucosio), il quale ha una naturale propensione ad essere selettivamente assorbito dai tumori aggressivi in crescita a causa della sua somiglianza con il glucosio. L'elevata concentrazione di radiotracciante nei tumori e una bassa concentrazione nei tessuti sani facilitano l'acquisizione di immagini ad alta risoluzione. Uno dei motivi principali della grande diffusione della PET in campo clinico è legato proprio all'evoluzione tecnica dei tomografi, che come detto sono ormai in grado di fornire immagini dell'intero corpo e di singoli distretti con una risoluzione spaziale dell'ordine di pochi millimetri effettuando scansioni molto veloci, anche inferiori ai 10 minuti [16].

3.2 SPECT

La SPECT si basa sul rilevamento dei raggi γ emessi dai radiotraccianti, spesso come risultato della cattura elettronica (EC) o della transizione isomerica (IT) e fornisce immagini tridimensionali. A causa della dipendenza da eventi a singola emissione (al contrario di eventi simultanei), i rivelatori SPECT richiedono l'utilizzo di un collimatore per localizzare il decadimento e costruire la forma dell'immagine. I raggi γ a bassa energia ($100 - 250\text{ keV}$) sono ideali per la SPECT poichè sono facili da filtrare per i collimatori e da catturare dai rivelatori. La maggioranza delle rilevazioni SPECT si basano sul radionuclide ^{99m}Tc , con uno dei radiotraccianti più frequentemente utilizzati che è il $^{99m}\text{Tc}_{\text{-sestamibi}}$ per l'imaging della perfusione cardiaca.

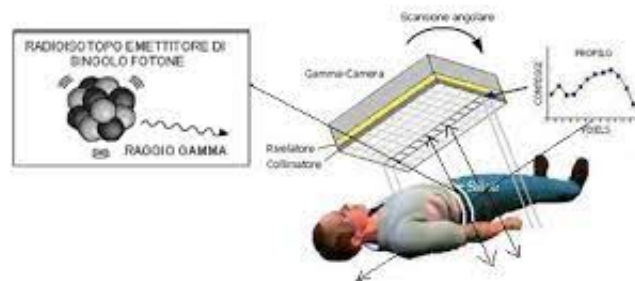


Figura 6: Principio di funzionamento della SPECT.

Delle due tecniche, la PET ha la maggiore sensibilità e risoluzione ma è molto più costosa della SPECT, come risultato dei costi elevati della strumentazione e della scarsa disponibilità dei radionuclidi. Entrambi i metodi forniscono informazioni morfologiche di alta qualità ma mancano di prospettiva anatomica. Un grande passo avanti per superare questo problema è stata la comparsa dei tomografi PET-TAC, in cui un tomografo PET e un tomografo TAC (TC) sono integrati in un unico sistema di rivelazione, consentendo di acquisire sequenzialmente le immagini funzionali PET e quelle anatomiche TC senza muovere il paziente dal lettino e in una unica sessione d'esame. I vantaggi di questi sistemi sono molteplici. Anzitutto una notevole riduzione dei tempi di esame, questo poiché con un'unica scansione si effettuano due acquisizioni, e poi perché i dati TC consentono di accelerare la rielaborazione dell'immagine con una riduzione dei tempi che arriva fino al 40%. Il secondo vantaggio consiste in una più accurata interpretazione del dato funzionale, infatti è possibile localizzare con elevata precisione il segnale PET all'interno delle singole entità anatomiche grazie alla sovrapposizione con l'immagine TC. Infine con questi tomografi è possibile ottenere una migliore accuratezza delle immagini, infatti il tomografo utilizza i dati anatomici derivanti dalla TC direttamente per la rielaborazione delle immagini PET: ad esempio i dati anatomici provenienti dalla TC sono utilizzati per determinare i fattori di attenuazione da applicare ai segnali in funzione della tipologia di tessuto considerato, oppure per correggere i difetti derivanti dalla radiazione diffusa. Il risultato si può apprezzare in Figura 7, dove sono mostrate la singola immagine TC, la singola immagine PET ed infine l'immagine combinata di entrambe che riproduce una rappresentazione biologica più completa [16].

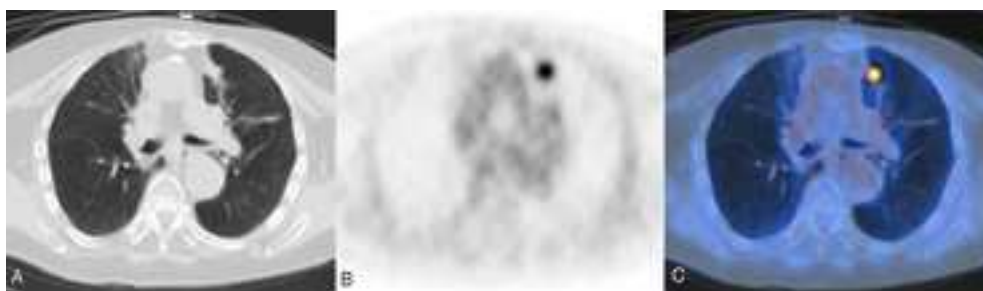


Figura 7: (A) Immagine TC; (B) Immagine PET; (C) Immagine combinata PET/TC.

4 Terapia

Le radiazioni ionizzanti inducono principalmente i loro effetti citotossici attraverso un danno irreversibile al DNA, con conseguenti aberrazioni cromosomiche e morte cellulare. Il danneggiamento del DNA può essere procurato con l'emissione di particelle β^- , particelle α , o elettroni a bassa energia.

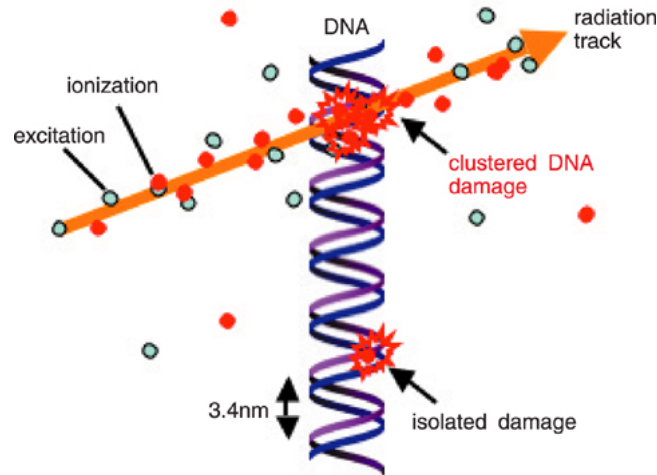


Figura 8: Danneggiamento del DNA da radiazioni ionizzanti.

La capacità di una particella emessa di danneggiare il DNA dipende fortemente dall'energia lineare trasferita (LET), la quale corrisponde a una misura della ionizzazione/eccitazione atomica per unità di lunghezza ed è comunemente misurata in $keV/\mu m$ per i sistemi biologici. Particelle con LET elevata sono più efficaci nel causare danni biologici e/o chimici. Il range dipende sia dalla LET sia dall'energia cinetica della particella. A parità di energia cinetica, particelle con LET maggiore depositano l'energia più rapidamente, quindi hanno un range più corto. Invece, a parità di LET, particelle con energia più alta percorrono più spazio per depositare la loro energia e ciò corrisponde ad avere un range più grande. Range elevati possono essere utili per trattamenti di tumori di grandi dimensioni, tuttavia possono causare tossicità fuoribersaglio. La LET e il range delle particelle sono molto variabili nei radionuclidi terapeutici e sono fortemente influenzati dal tipo di decadimento e energia. Le particelle β^- hanno energie variabili tra 0.1 – 2.2 MeV e una LET relativamente bassa, intorno ai $0.2 keV/\mu m$. Nonostante gli emettitori di β^- siano quelli più utilizzati in terapia, è noto che la loro bassa LET si traduce in un range elevato (0.5 – 10 mm, pari a 50 – 1000 diametri cellulari). Questo può portare alla morte di cellule sane e costituisce il maggior deterrente alla terapia con β^- . Al momento, gli emettitori di β^- a basse energie (come il ^{177}Lu) sono utilizzati con maggior frequenza a causa del loro corto range di decadimento rispetto agli emettitori β^- ad alte energie (come il ^{90}Y). Le particelle α hanno elevate energie (5 – 8 MeV) e una LET estremamente elevata (da circa $80 keV/\mu m$ a $240 keV/\mu m$), che comporta un ristretto range (40 – 100 μm , inferiore a 10 diametri cellulari). La loro alta capacità di ionizzazione e corto range è la causa degli sforzi entusiastici atti ad esplorare la TAT (targeted alpha therapy), in particolare con il ^{225}Ac . Gli elettroni Auger sono particelle espulse a bassa energia come risultato dell'energia rilasciata durante il riempimento delle lacune all'interno del guscio elettronico. Queste particelle hanno alta LET ($4 - 26 keV/\mu m$) ed energia molto bassa (1 – 10 keV), che si traduce in un corto range (1 – 20 μm), anche inferiore al diametro di una singola cellula (circa 10 μm), rendendo potenzialmente possibile il trattamento di metastasi tumorali unicellulari. La terapia con elettroni Auger è la meno esplorata in quanto gli emettitori necessitano di essere inseriti nelle cellule o nel nucleo per poter esercitare un minimo grado di tossicità [23]. L'utilizzo di radioisotopi che combinano la terapia e la diagnostica (teranostica) è attualmente di grande interesse nella medicina

nucleare per la capacità di diagnosticare, trattare e valutare il trattamento, simultaneamente o seguendo un regime terapeutico. I radionuclidi che emettono radiazioni γ o positroni possono essere utilizzati rispettivamente per la tomografia computerizzata a emissione di fotoni singoli (SPECT) e per la tomografia a emissione di positroni (PET). La visualizzazione della radioattività accumulata e la sua quantificazione per la dosimetria possono fornire importanti informazioni per l'applicazione della terapia con radionuclidi utilizzando lo stesso agente di targeting. Il principio di base della radioterapia quando si utilizzano radioisotopi dello stesso elemento è stato applicato più di 70 anni fa nei pazienti con cancro della tiroide. Questa idea è stata concettualizzata dal Dr S. Hertz e realizzata trattando il primo paziente con radioiodio nel 1941. In particolare, il Terbio e i suoi isotopi sono ottimi candidati per applicazioni sia in diagnostica (Capitolo 7) che in terapia (Capitolo 8).

5 Produzione di radionuclidi

Per la produzione di radionuclidi sono tipicamente usati ciclotroni e reattori nucleari. I ciclotroni usano un campo magnetico per curvare e un potenziale alternato per accelerare particelle cariche (quali protoni, deuteroni, e particelle α) e producono nuclidi ricchi di protoni, i quali tipicamente decadono (se radioattivi) tramite cattura elettronica (EC) o emissione β^+ per avere una composizione nucleare stabile. La produzione di radionuclidi tramite ciclotrone è subordinata al fatto che la particella accelerata abbia energia sufficiente per superare l'energia di soglia della reazione nucleare in cui è coinvolta, la quale dipende dalla differenza di massa tra reagenti e prodotti nucleari e dalla repulsione elettrostatica tra la particella accelerata e il nuclide bersaglio. Tali parametri corrispondono al Q - *value* e alla barriera Coulombiana rispettivamente.

I ciclotroni biomedici sono molto comuni e hanno fasci con energie inferiori ai 20 MeV, mentre quelli con energie intermedie (20–35 MeV) o elevate (>35 MeV) anche se utili per la produzione di radionuclidi a scopo medico sono molto meno comuni negli ospedali o nelle università.

La produzione di radionuclidi tramite reattori nucleari, invece, si basa sulla fissione spontanea di materiale instabile che rilascia neutroni in grado di indurre la fissione o attivazione neutronica di materiale bersaglio. In quest'ultimo caso, i nuclidi risultanti sono ricchi di neutroni e decadono normalmente (se radioattivi) tramite emissione β^- .

Diversamente dal caso di produzione di nuclidi attraverso bombardamento di particelle cariche, non esiste una barriera Coulombiana per le reazioni che coinvolgono i neutroni poiché non sono respinti dalla carica positiva del nucleo o da quella negativa degli elettroni degli atomi bersaglio. Sono quindi maggiormente utilizzati neutroni a bassa energia per la produzione di radionuclidi tramite cattura neutronica: la bassa energia è dovuta alla maggiore probabilità di interazione con i nuclei circostanti rispetto ai neutroni ad alta energia. Per esempio, i neutroni termici hanno un'energia cinetica relativamente bassa (0.025 eV) e sono comunemente usati per produrre una vasta gamma di radionuclidi. Per la produzione tramite fissione, tuttavia, sono necessarie energie dell'ordine dei MeV.

Ciclotroni e reattori sono entrambi mezzi di vitale importanza per la produzione di radionuclidi anche se con ruoli complementari, nel campo della medicina nucleare, a causa della diversa natura dei radionuclidi prodotti. Qualche volta vengono utilizzati anche gli acceleratori lineari (LINACS) per la produzione di radionuclidi in medicina ma sono molto meno comuni.

L'attività di produzione dei radionuclidi risulta essere proporzionale al numero di atomi bersaglio, all'intensità del fascio (flusso) e alla sezione d'urto, la quale misura la probabilità che avvenga una data reazione nucleare ed è misurata in barn ($1b = 10^{-24}cm^2$). La sezione d'urto è una funzione dell'energia del fascio e la sua dipendenza da essa è spesso di grande interesse al fine di ottenere la massima resa di produzione e purezza dei radionuclidi. Indagini di questa natura sono spesso complicate dalla coproduzione di contaminanti isotopici, i quali sono particolarmente

te problematici se a vita lunga e chimicamente identici (ad esempio $^{177}L_u/^{177m}L_u, ^{225}Ac/^{227}Ac$). La produzione di contaminanti può essere mitigata attraverso l'uso di materiale bersaglio isotopicamente arricchito, tuttavia il processo di arricchimento può risultare proibitivo per via dei costi molto elevati. I bersagli naturali sono molto meno costosi ma tendono a produrre radionuclidi di purezza inferiore e richiedono un'attenta ottimizzazione dei parametri di irradiazione. Gli elementi migliori da utilizzare per il materiale bersaglio sono ovviamente quelli monoisotopici (ad esempio $^{45}Sc, ^{89}Y$) ma sfortunatamente ne esistono solo pochi [23]. Di seguito vengono riassunte in un unico schema le diverse fasi di produzione di un radionuclide nel caso in cui si utilizzi un ciclotrone e un separatore di massa, il quale riesce ad isolare i vari isotopi di uno stesso elemento. In ultimo si procede con la separazione chimica, la quale non è stata trattata in dettaglio poichè va oltre gli scopi di questo lavoro.

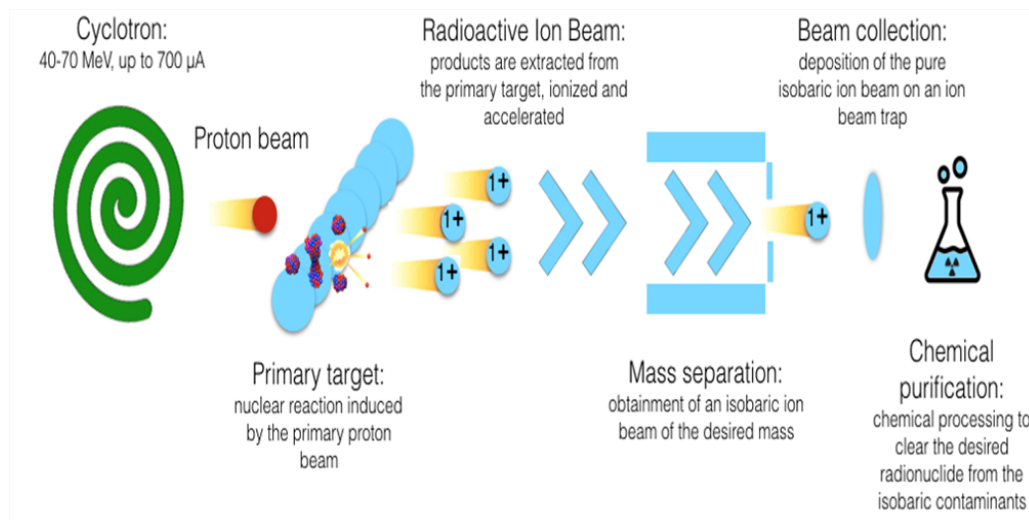


Figura 9: Catena di produzione di un radionuclide. I fasci isobari generati da un ciclotrone a bassa energia inducono reazioni nucleari. I prodotti vengono quindi estratti dal bersaglio, ionizzati e accelerati per poi essere separati in massa. Si ottiene così un fascio di ioni isobari di massa desiderata che attraverso la purificazione chimica viene liberato dai contaminanti isobari per ottenere il radionuclide desiderato.

6 Radioisotopi del Terbio

Il lantanide Terbio è uno dei pochi elementi che presenta 4 radioisotopi clinicamente interessanti, grazie a caratteristiche come la vita media, le proprietà di decadimento ed energie di emissione come mostrato in Figura 10.

Nuclide	Decay mode and branching	$T_{1/2}$	E_α (MeV)	$E_{\beta_{av}}$ (MeV)	E_γ (keV)	I_γ (%)	Application
^{149}Tb	α (16.7%), β^+ (7.1%)	4.12 h	3.967	0.730	165.0	26	α -therapy
					352.2	29	
					388.6	18	
					652.1	16	
^{152}Tb	β^+ (17%)	17.5 h	—	1.080	271.1	8.6	PET
					344.3	65	
					586.3	9.4	
					778.9	5.8	
^{155}Tb	EC (100%)	5.32 d	—	—	86.55	32	SPECT
					105.3	25	
					180.1	7.5	
					262.3	5.3	
^{161}Tb	β^- (100%)	6.89 d	—	0.154	25.65	23	β^- -/Auger therapy
					48.92	17	
					57.19	1.8	
					74.57	10	

Figura 10: Caratteristiche di decadimento dei radionuclidi del Terbio utili nelle applicazioni in medicina.

In particolare il ^{149}Tb ha una vita media di 4.12 h ed emette particelle α a corto range con un'energia $E_\alpha = 3.967$ MeV (intensità del 17%). Esso è l'unico tra tutti i radiolantanidi con una vita media adatta per le applicazioni in terapia con particelle α ed è il più compatibile con i bioconiugati a rapida circolazione, come i peptidi. Esso emette anche β^+ utili per l'imaging PET [1,10,11,12].

Un altro isotopo del Terbio, il ^{152}Tb , emette positroni di energia media pari a 1.080 MeV (17%) ed è utile per la dosimetria specifica del paziente utilizzando la PET prima dell'applicazione di radiolantanidi terapeutici. Il ^{155}Tb , invece, decade tramite cattura elettronica ed emette raggi γ di 86.55 keV (32%) e 105.3 keV (25%). Esso può essere usato per la SPECT senza fornire un'elevata dose di radiazione al paziente. Infine il ^{161}Tb emette particelle β^- a bassa energia ($\bar{E}_{\beta^-} = 0.154$ MeV, 100%). In più, esso emette radiazioni γ adatte per la SPECT ed elettroni Auger [13,14,15,17].

In definitiva tali radionuclidi dello stesso elemento sono utili per tutte le modalità di imaging nucleare e terapia, con identiche caratteristiche chimiche e farmacologiche del corrispondente radioconiugato [18,19,20,21,22].

6.1 Produzione di ^{149}Tb , ^{152}Tb , ^{155}Tb

Una possibile via per la produzione del ^{149}Tb passa per la reazione nucleare $^{152}\text{Gd}(p, 4n)^{149}\text{Tb}$, la quale ha il vantaggio di avere una grande sezione d'urto (248 mb) ad un'energia dei protoni media di 41 MeV. Tuttavia anche se i bersagli di ^{152}Gd fossero altamente arricchiti si otterrebbe comunque un mix di vari radioisotopi del Tb . In alternativa esso può essere prodotto per via indiretta mediante la reazione $^{142}\text{Nd}(^{12}\text{C}, 5n)^{149}\text{Dy} \rightarrow ^{149}\text{Tb}$ o per via diretta tramite la $^{141}\text{Pr}(^{12}\text{C}, 4n)^{149}\text{Tb}$, con l'unico limite di avere rese produttive e purezza radionuclidica limitate. Nei primi esperimenti al ciclotrone di ioni pesanti a Dubna (in Russia), il ^{149}Tb è stato prodotto dal bombardamento su un bersaglio di $^{nat}\text{Nd}_2\text{O}_3$ per 1.25 h utilizzando la via indiretta per ottenere una resa di 2.7 MBq. Successivamente i ^{149}Tb , ^{152}Tb e ^{155}Tb sono stati prodotti dal bombardamento di protoni ad alta energia (1.4GeV) su un bersaglio di sottile lamina di Tantalio detti *foil* per indurre la spallazione. I prodotti vengono quindi rilasciati dal bersaglio altamente ionizzato da una sorgente di ionizzazione superficiale e vengono separati in massa,

in accordo con il loro rapporto massa su carica, al separatore di isotopi ISOLDE (CERN). Essi vengono quindi raccolti su lamine d'oro rivestite di Zinco e dopo lo scioglimento dello strato di quest'ultimo in HC_l 0.1 M, i radioisotopi del Terbio vengono separati dalle impurità isobare e dallo Zinco stabile. Per evitare passaggi aggiuntivi che richiedono tempo, e quindi per ridurre al minimo la perdita di radioattività, le frazioni di radioisotopi del Terbio vengono direttamente utilizzate per la radiomarcatura del radiofarmaco [23].

In aggiunta si sono studiate vie alternative per la produzione del ^{152}Tb e ^{155}Tb differenti dalla separazione tramite ISOLDE. In particolare il radionuclide PET, ^{152}Tb , può essere prodotto tramite $^{139}La(^{16}O, 3n)$, $^{143,144}Nd(^{12}C, xn)^{152}Dy \rightarrow ^{152}Tb$, $^{152}Gd(p, n)$ e $^{155}Gd(p, 4n)$. Per la produzione del radionuclide SPECT, ^{155}Tb , si utilizzano bersagli di Gadolinio per l'elevata composizione isotopica naturale del ^{155}Gd (14.8%). La reazione più promettente per la produzione di ^{155}Tb è la $^{155}Gd(p, n)^{155}Tb$, a condizione che il bersaglio sia altamente arricchito ($\approx 100\%$). Per quanto riguarda metodi di produzione indiretta, la reazione fotonucleare $^{156}Dy(\gamma, n)^{155}Dy \rightarrow ^{155}Tb$ venne realizzata per la prima volta nel 1981, tuttavia, nonostante l'eccellente purezza del radionuclide, la bassa resa produttiva ne ostacola fortemente l'applicazione clinica. A dispetto della necessità di avere protoni ad alta energia, la strada migliore per la produzione di ^{155}Tb per via indiretta è data da $^{159}Tb(p, 5n)^{155}Dy \rightarrow ^{155}Tb$.

6.2 Produzione del ^{161}Tb

Tra i radioisotopi del Terbio discussi finora, il ^{161}Tb è l'unico che può essere prodotto su larga scala. La sua produzione non avviene per spallazione, ma attraverso la reazione nucleare $^{160}Gd(n, \gamma)^{161}Gd \rightarrow ^{161}Tb$, in modo del tutto simile a quella del ^{177}Lu come mostrato in Figura 11.

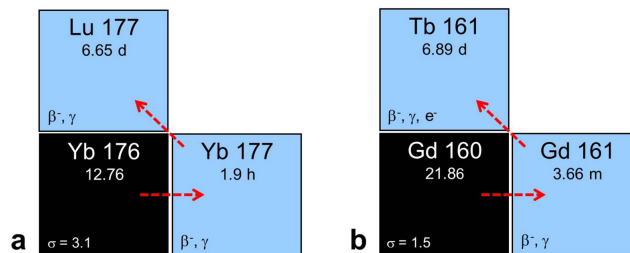


Figura 11: (a) Produzione del ^{177}Lu attraverso la reazione nucleare $^{176}Yb(n, \gamma)^{177}Yb \rightarrow ^{177}Lu$. (b) Analoga via di produzione del ^{161}Tb tramite la reazione $^{160}Gd(n, \gamma)^{161}Gd \rightarrow ^{161}Tb$.

Vengono quindi bombardati, con una sorgente di neutroni, bersagli di ^{160}Gd arricchiti. L'impiego di tale ^{160}Gd arricchito è la chiave del processo, infatti i neutroni termici del ^{157}Gd hanno sezioni d'urto molto elevate (254000 b) e producono quindi una quantità significativa di ^{158}Gd , la cui abbondanza in natura è già di per sé elevata (24.87%). Tali reazioni sono state eseguite al SINQ del Paul Scherrer Institute (PSI) e al reattore nucleare con alto flusso di neutroni dell'Institut Laue-Langevin (ILL) in Francia. I prodotti vengono poi separati dal Gd bersaglio con metodi di cromatografia [23].

7 Imaging PET e SPECT con i radioisotopi del Terbio

I Derenzo phantom vengono utilizzati per caratterizzare la risoluzione di un sistema di imaging e consistono di fantocci di materiale tessuto equivalente su cui sono presenti dei fori con diametri e spazature variabili che vengono riempiti di materiale radioattivo. Essi presentano sei diverse dimensioni di fori disposti in triangoli attorno al centro del phantom, che vanno da 0.8 a 1.3 mm, distanziati tra loro da 0.1 mm e vengono riempiti con attività dell'ordine dei MBq [1].

Uno dei bioconiugati più utilizzati per i radioisotopi del T_b è il folato $cm - 09$. Nonostante l'immagine ottenuta con il Derenzo phantom nel caso del $^{152}T_b$ presenti una risoluzione spaziale molto bassa, a causa dell'elevata energia dei β^+ e la presenza di contaminazione γ (Figura 12A), l'utilizzo di $^{152}T_b - cm09$ su topi a cui era stato indotto un tumore rivela immagini eccellenti, che consentono una visione chiara e definita del tumore KB (Figura 12D).

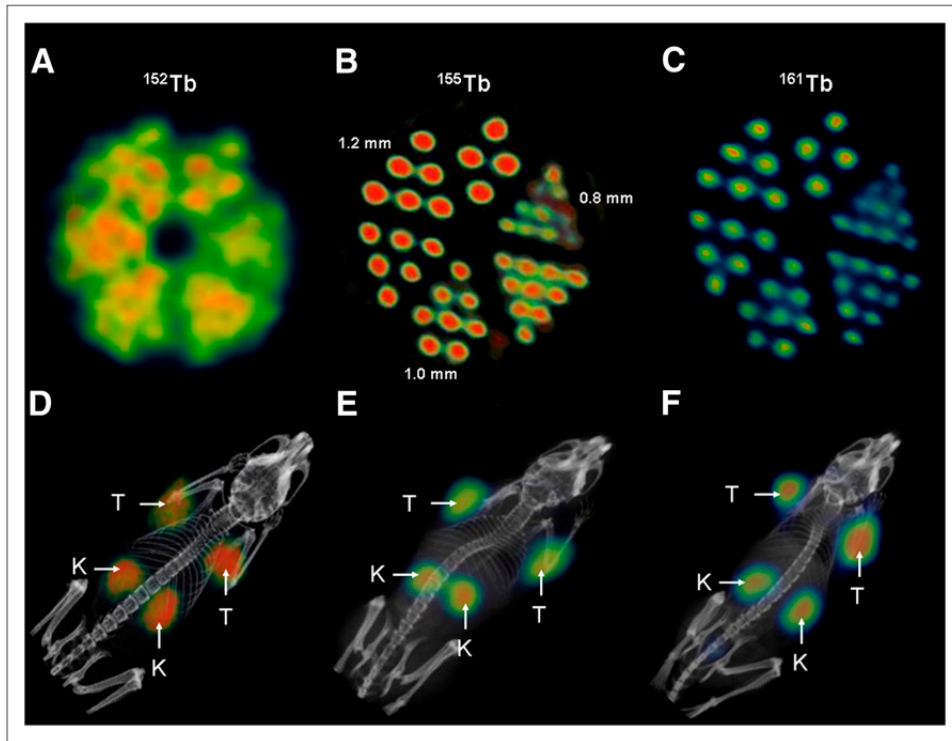


Figura 12: (A) Immagine PET dei Derenzo phantom ($\approx 1.9\text{MBq}$ del $^{152}T_b$). (B e C) Immagini SPECT dei Derenzo phantom ($\approx 0.6\text{MBq}$ del $^{155}T_b$ e $\approx 50\text{MBq}$ del $^{161}T_b$). (D) Immagine PET/CT del topo a cui sono state inoculate cellule tumorali KB dopo 24 h dall'iniezione del $^{152}T_b - cm09$, (E e F) SPECT/CT dopo l'iniezione del $^{155}T_b - cm09$ (E) e $^{161}T_b - cm09$ (F). K = kidney; T = KB tumor xenograft.

Un'elevata qualità nell'immagine dei Derenzo phantom la si può trovare grazie alla SPECT con gli isotopi del Terbio $^{155}T_b$ e $^{161}T_b$. (Figura 12B,C) [2]. In particolare le energie dei raggi γ del $^{155}T_b$ rendono questo radionuclide adatto per l'imaging SPECT (Figura 10 e 13).

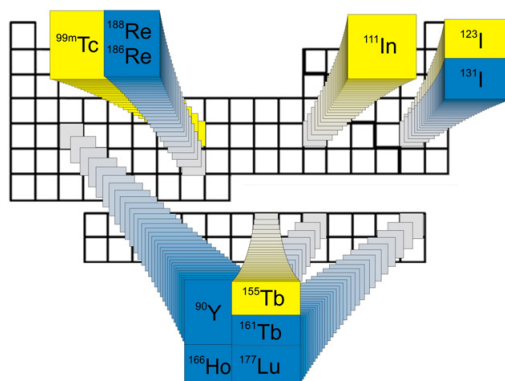


Figura 13: Radionuclidi SPECT comunemente utilizzati clinicamente ($^{99m}T_c$, ^{123}I e $^{111}I_n$) e la nuova proposta del $^{155}T_b$ (in giallo) con i loro radionuclidi terapeutici β^- -emittitori corrispondenti (in blu).

Gli studi sul Derenzo phantom eseguiti con $^{155}T_b$ hanno mostrato un'eccellente risoluzione spaziale rispetto a quella ottenuta con il nuclide SPECT comunemente usato clinicamente $^{111}I_n$ ($T_{1/2} = 2,80\text{d}$, $E_\gamma = 171\text{keV}$ e 245keV) come mostrato in Figura 14 [24,5,6,7,8,9].

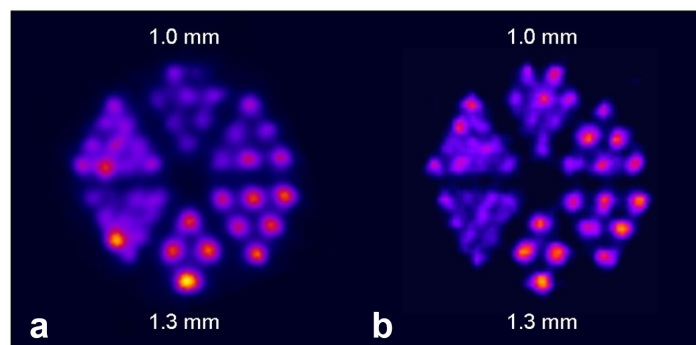


Figura 14: Immagini SPECT dei Derenzo phantom riempiti con (a) ^{155}Tb (2.6 MBq) e (b) ^{111}In (4 MBq).

L'imaging SPECT/CT è stato studiato utilizzando peptidi DOTA a rapida eliminazione, nonché biomolecole a circolazione più lunga come il *cm-09*. Queste biomolecole sono state collegate al ^{155}Tb , poiché ha un'emivita più lunga della maggior parte degli altri radionuclidi SPECT (Figura 13). Esso ha mostrato un significativo accumulo negli xenotrapianti sottocutanei di tumore KB anche due giorni dopo l'iniezione in vivo (Figura 15A).

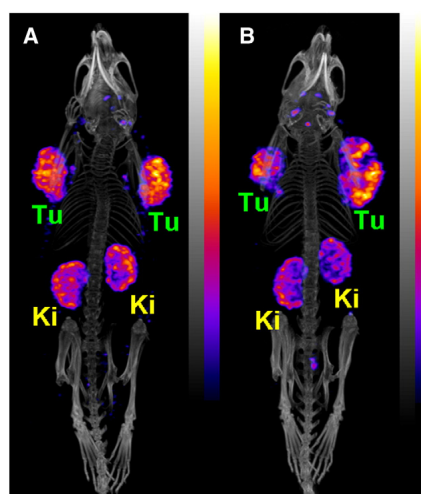


Figura 15: Immagini SPECT/CT in vivo di (A) topo con tumore KB e (B) con tumore IGROV-1 a due giorni di distanza dall'iniezione di $^{155}\text{Tb} - \text{cm09}$ ($\approx 8.5\text{MBq}$). Lo scan in vivo è durato 30 min e alla fine si trova un'accumulo di radioattività nello xenotrapianto tumorale e nei reni (Tu = tumor, Ki = kidney).

Inoltre, le sezioni sagittale, coronale e transassiale delle immagini SPECT/TC ottenute con il $^{155}\text{Tb} - \text{chCE7}$ hanno dimostrato in modo significativo la possibilità di rilevare anche le lesioni più piccole dove si era accumulato il tracciante (nella regione addominale e nel fegato) (Figura 16). Per cui il ^{155}Tb risulta essere un'opzione alternativa al ^{111}In per la pianificazione della dosimetria prima dell'applicazione della terapia con radionuclidi a base di lantanidi.

Per la prima volta nel 2016 si è utilizzato, oltre che su animali da laboratorio, il ^{152}Tb nell'uomo. Il ^{152}Tb prodotto all'ISOLDE (CERN) ha portato, dopo la fase di separazione chimica, a rese sufficientemente elevate da poter essere utilizzato nell'uomo una volta legato con il DOTATOC. Esso è stato somministrato ad un paziente maschio con diagnosi di metastasi. Le scansioni PET/TC sono state eseguite per osservare lo stato di avanzamento della malattia 8 anni dopo il sesto ciclo di terapia con radionuclidi del recettore peptidico. Le scansioni sono state acquisite in un periodo di 24 ore dopo l'iniezione di $^{152}\text{Tb} - \text{DOTATOC}$ (145 MBq). Le immagini che ne sono risultate hanno consentito la visualizzazione anche di piccole metastasi, con un forte contrasto tra tumore e fondo (Figura 17). Si può quindi concludere che il ^{152}Tb sia particolarmente utile per la dosimetria, grazie alla sua emivita molto estesa (17,5 h), ad

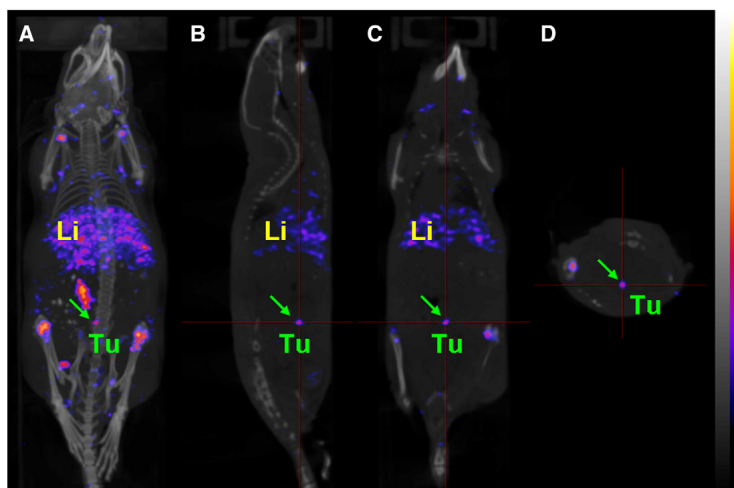


Figura 16: Immagini in vivo SPECT/CT di un topo con xenotrapianti intraperitoneali di tumore SKOV-3ip 3 giorni dopo l'iniezione di $^{155}\text{Tb} - \text{chCE7}$ (4,2 MBq). Le immagini mostrano diversi punti di vista: proiezione di intensità massima (A) e sezioni (A) sagittale (B), coronale (C), e transassiale (D). Durante la scansione in vivo che è durata 40 minuti, il topo è stato anestetizzato per inalazione di una miscela isoflurano/ossigeno. È stato riscontrato un accumulo di radioattività nelle lesioni tumorali della regione addominale e del fegato, nonché nelle ossa. (Tu = tumore, le frecce indicano una piccola lesione tumorale, Li = fegato).

esempio se confrontata con quella del ^{68}Ga (68 min), che consente scansioni PET lunghe ed efficaci [24,5,6,7].

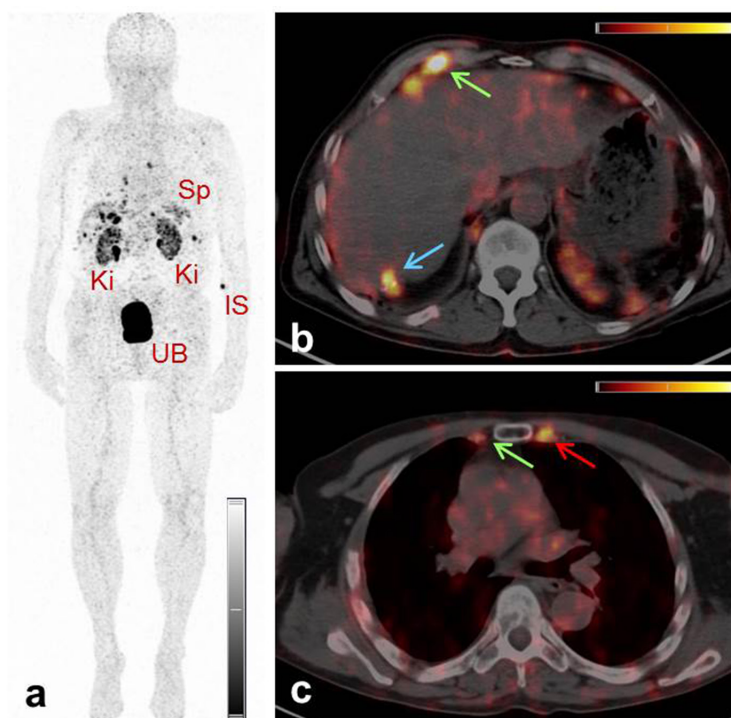


Figura 17: Immagini PET/TC di un paziente con neoplasia neuroendocrina dell'ileo terminale ottenute 2 h dopo l'iniezione di $^{152}\text{Tb} - \text{DOTATOC}$. (a) L'immagine di proiezione di massima intensità (MIP) mostra reni (Ki), vescica urinaria (UB), milza (Sp) e sito di iniezione (IS). (b/c) Le sezioni trasversali delle immagini combinate PET/TC dimostrano l'assorbimento dei radiopeptidi nelle metastasi dei linfonodi nella regione costofrenica destra e nella catena mammaria interna destra (frecce verdi), così come nel Segmento 7 del fegato (frecce blu) e in una metastasi scheletrica nella terza costola sinistra adiacente alla giunzione sternocostale (frecce rosse).

8 Teranostica con i radioisotopi del Terbio

Di seguito si riporta un'analisi dello studio condotto da Cristina Müller sull'efficacia terapeutica del ^{149}Tb e ^{161}Tb [1].

Il set-up degli studi in terapia effettuati con il ^{161}Tb e il ^{149}Tb è mostrato in Figura 18.

Therapy study	Mouse identification	Test agent	Injection protocol	Amount of radioactivity
α				
Control group	a1, a2, a3	PBS	Days 0 and 4	—
Treated group	b1, b2, b3	$^{149}\text{Tb-cm09}$	Days 0 and 4	1.1 and 1.3 MBq
β^-				
Control group	c1, c2, c3, c4, c5	PBS	Day 0	—
Treated group	d1, d2, d3, d4, d5	$^{161}\text{Tb-cm09}$	Day 0	11 MBq

Figura 18: Set-up degli studi con terapia α utilizzando il $^{149}\text{Tb} - \text{cm09}$ e β^- con il $^{161}\text{Tb} - \text{cm09}$ in topi in cui è stato inoculato il tumore KB.

L'esperimento consiste nell'esaminare l'efficacia nell'utilizzo del ^{161}Tb e del ^{149}Tb in animali da laboratorio, in particolare topi, divisi in gruppo di controllo e in un gruppo in cui avviene il trattamento con i due radioisotopi del Tb . In entrambi i gruppi sono state inoculate le cellule tumorali KB. Il gruppo di controllo è stato trattato solo con una soluzione salina (gruppo a), mentre al gruppo di analisi è stata somministrata una bassa attività di radiofarmaco $\text{cm} - 09$ marcato con i radioisotopi considerati. I criteri per stabilire l'endpoint dell'esperimento sono definiti come la perdita di peso superiore al 15 % del peso corporeo iniziale, volume del singolo tumore superiore a 1500 mm^3 , ulcerazione attiva del tumore, o comportamento anomalo da parte dei topi che indica dolore o disagio. Il volume del tumore e il peso dei corpi viene determinato al giorno 0 (cioè nel primo giorno della somministrazione del radiocongiugato) e quindi a giorni alterni fino al completamento dello studio dopo 56 giorni. I risultati delle dimensioni relative del tumore nei topi del gruppo in terapia e controllo sono mostrati in Figura 19.

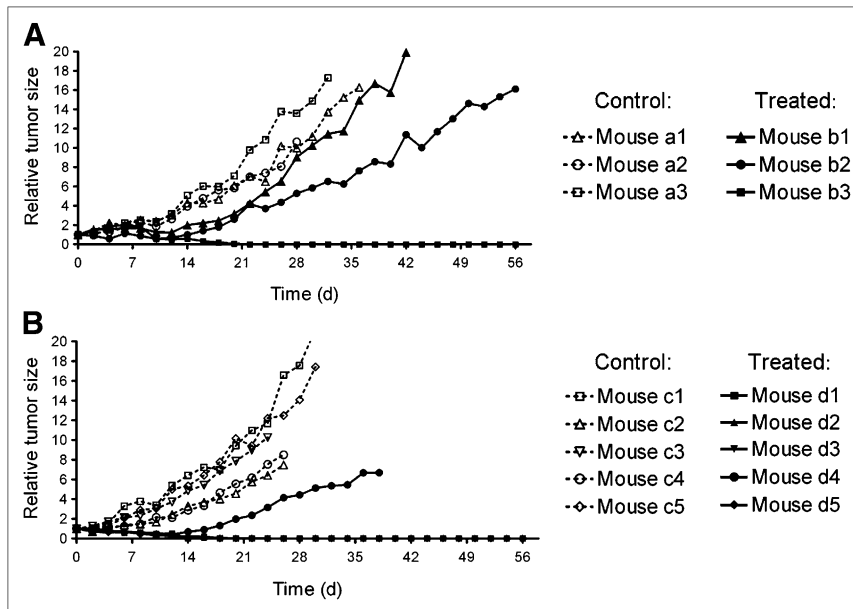


Figura 19: I grafici rappresentano l'andamento medio della dimensione del tumore di ogni topo relativamente alla dimensione al tempo 0 in funzione del tempo (d). (A) Studio in terapia con il ^{149}Tb : i topi $a1 - a3$ non sono stati trattati e costituiscono il gruppo di controllo e i topi $b1 - b3$ invece sono quelli trattati con 2.4 MBq di $^{149}\text{Tb} - \text{cm09}$. (B) Studio in terapia con il $^{161}\text{Tb} - \text{cm09}$: i topi $c1 - c5$ non sono stati trattati e costituiscono il gruppo di controllo e i topi $d1 - d5$ invece sono quelli trattati con 11 MBq di ^{149}Tb .

I tumori sono cresciuti rapidamente nei topi iniettati solo con PBS (gruppo a), invece si osserva una ridotta crescita del tumore nei topi che hanno ricevuto 2 iniezioni (di 1, 1 MBq nel giorno 0 e 1, 3 MBq nel giorno 4) di $^{149}\text{Tb} - \text{cm09}$ (gruppo b, Figura 19A) In particolare in un topo del gruppo b (b3) si è ottenuta una regressione completa del tumore. Negli altri 2 topi, i tumori KB hanno smesso di crescere a seguito della terapia nelle prime 2 settimane, per poi cominciare a crescere nuovamente. Nel caso del $^{161}\text{Tb} - \text{cm09}$, si vede che la crescita del tumore è fortemente ridotta in tutti i topi del gruppo trattato, rispetto a quelli di controllo (gruppo c, Figura 19B). Solo un topo (d4) ha sperimentato un'attenuazione della crescita del tumore, mentre tutti gli altri 4 topi del gruppo d mostrano una completa regressione del tumore. In entrambi i gruppi di topi trattati con $^{149}\text{Tb} - \text{cm09}$ (gruppo b) o $^{161}\text{Tb} - \text{cm09}$ (gruppo d), si è osservata una leggera perdita di peso corporeo nei primi 6 – 7 giorni dopo la terapia, rispetto al continuo aumento di peso nei topi di controllo non trattati (gruppi a e c) come mostra la Figura 20.

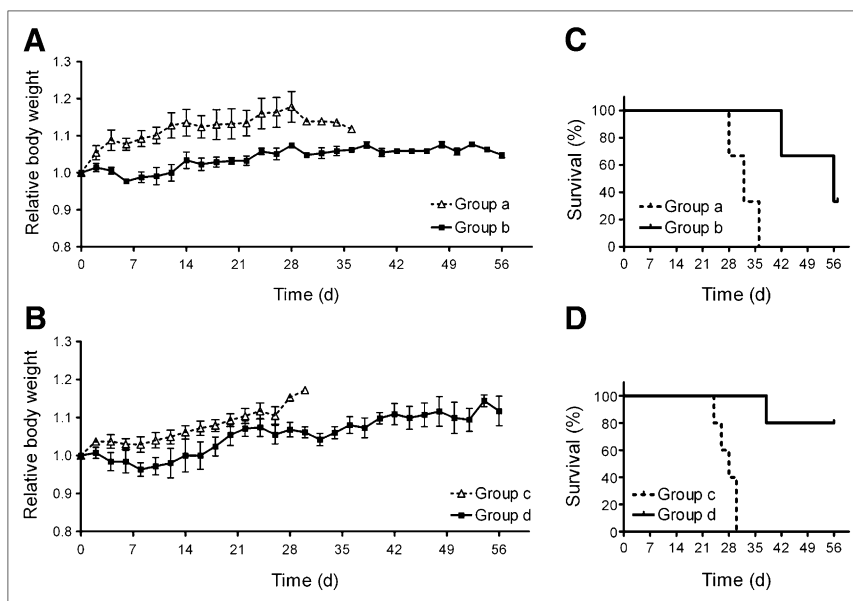


Figura 20: I grafici mostrano l'andamento medio del peso corporeo dei topi nel tempo (A e B) e la percentuale di sopravvissuti nel tempo (C e D) degli studi effettuati con terapia α (A e C) e β^- (B e D). Terapia α : gruppo a (topi di controllo non trattati) e gruppo b (topi trattati con il $^{149}\text{Tb} - \text{cm09}$) Terapia β^- : gruppo c (topi di controllo non trattati) e gruppo b (topi trattati con il $^{161}\text{Tb} - \text{cm09}$).

Nessuno dei topi nel corso dei giorni ha raggiunto uno dei criteri dell'endpoint, infatti dopo circa 2 settimane dall'inizio della terapia, il peso corporeo medio relativo ha raggiunto il livello di peso corporeo del giorno 0. Nello studio con la terapia α , la media dei sopravvissuti del gruppo di controllo (gruppo a) è di 32 giorni. Nel caso dei topi trattati con $^{149}\text{Tb} - \text{cm09}$ (gruppo b) si vede che il tempo di sopravvivenza è notevolmente prolungato rispetto al gruppo di controllo. Il topo b3 ha mostrato una completa regressione delle dimensioni del tumore e quindi era ancora vivo senza tumori rilevabili al giorno 56 in cui si è concluso lo studio. Per quanto riguarda la terapia β^- , la media dei topi del gruppo di controllo (gruppo c) sopravvissuti è di 28 giorni. Ancora una volta si è osservato una sopravvivenza significativamente più lunga rispetto al gruppo di controllo nei topi trattati con il $^{161}\text{Tb} - \text{cm09}$ (gruppo d).

Il presente esperimento dimostra per la prima volta il successo terapeutico dell'utilizzo del ^{149}Tb e del ^{161}Tb in vivo. In effetti a differenza dei topi di controllo nei quali la crescita del tumore è risultata incontrollata, raggiungendo un volume di 1500 mm^3 , in quelli in cui è stato inoculato o il radionuclide $^{149}\text{Tb} - \text{cm09}$ o il $^{161}\text{Tb} - \text{cm09}$ la crescita del tumore è stata inibita e di conseguenza il tempo di sopravvivenza si è esteso significativamente.

Un'ulteriore analisi è stata condotta per investigare la combinazione del ^{161}Tb con un radiofar-

maco (PSMA-617), che ha come bersaglio per la terapia con radionuclidi il carcinoma prostatico metastatizzato resistente alla castrazione (mCRPC). L'esperimento ha avuto lo scopo di identificare il $^{161}\text{Tb} - \text{PSMA} - 617$ come alternativa terapeutica potenzialmente più efficace del $^{177}\text{Lu} - \text{PSMA} - 617$. Sono quindi stati utilizzati i ^{161}Tb per la radiomarcatura di PSMA-617 ad attività specifiche elevate (fino a 100 MBq/nmol). Il $^{161}\text{Tb} - \text{PSMA} - 617$ risultante è stato testato in vitro e in topi portatori di tumore, e lo stesso per il $^{177}\text{Lu} - \text{PSMA} - 617$ (Figura 21) [25,3].

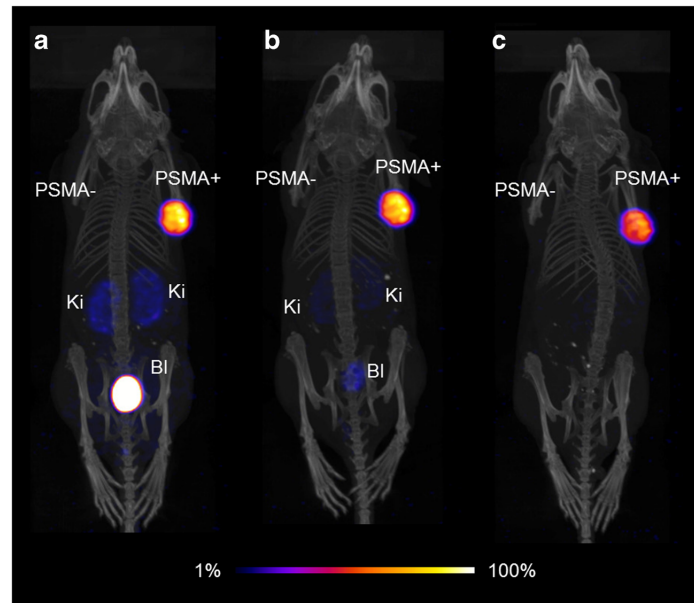


Figura 21: Immagini SPECT/CT dei topi dopo l'iniezione di ≈ 25 MBq di $^{161}\text{Tb} - \text{PSMA} - 617$ in proiezioni di massima intensità (a) Scansione a 1 h dall'iniezione (b) 4 h (c) 24 h.

Gli effetti di due radionuclidi sulla vitalità e sopravvivenza cellulare sono stati confrontati in vitro utilizzando cellule tumorali *PIP PC - 3PSMA - positive*. Il $^{161}\text{Tb} - \text{PSMA} - 617$ è stato ulteriormente analizzato in studi di terapia utilizzando topi portatori di tumore *PIP PC - 3*. La vitalità e la sopravvivenza delle cellule tumorali *PIP PC - 3* sono risultate maggiormente ridotte se esposte a $^{161}\text{Tb} - \text{PSMA} - 617$ rispetto all'effetto ottenuto con le stesse attività di $^{177}\text{Lu} - \text{PSMA} - 617$ sull'intero intervallo di tempo studiato (96 h). Il trattamento dei topi con il $^{161}\text{Tb} - \text{PSMA} - 617$ e il $^{177}\text{Lu} - \text{PSMA} - 617$ (5,0 MBq per topo e 10 MBq per topo, rispettivamente) ha evidenziato un aumento della sopravvivenza media (36 vs 65 giorni) rispetto agli animali di controllo non trattati (19 giorni). Studi terapeutici per confrontare gli effetti di $^{161}\text{Tb} - \text{PSMA} - 617$ e $^{177}\text{Lu} - \text{PSMA} - 617$ hanno indicato la superiorità del $^{161}\text{Tb} - \text{PSMA} - 617$, confermando le previsioni della dose teorica che indicano un effetto terapeutico additivo dato dalla combinazione dell'emissione di β^- e degli elettroni Auger per il ^{161}Tb .

Il ^{152}Tb è stato utilizzato con l'antigene PSMA-617, sia in un contesto preclinico che in un paziente con mCRPC. Esso, legato al PSMA-617, è stato ampiamente studiato in vitro per dimostrare caratteristiche simili alla sua controparte marcata con ^{177}Lu . Studi preclinici di imaging PET/CT eseguiti con topi hanno consentito la visualizzazione di tumori *PIP PC - 3* PSMA-positivi, mentre l'assorbimento in quelli PSMA-negativi era assente, ciò sta a significare che l'assorbimento è specifico della cellula tumorale e non compromette altri organi (Figura 22) [26].

Sulla base di questi promettenti risultati preclinici, i ^{152}Tb sono stati utilizzati a Zentralklinik Bad Berka, in Germania, dove sono stati legati al PSMA-617, per consentire l'imaging PET di un paziente con mCRPC. Le scansioni PET/TC sono state eseguite per un periodo di 25 ore dopo l'iniezione del radioligando (140 MBq). La qualità dell'immagine delle scansioni registrate

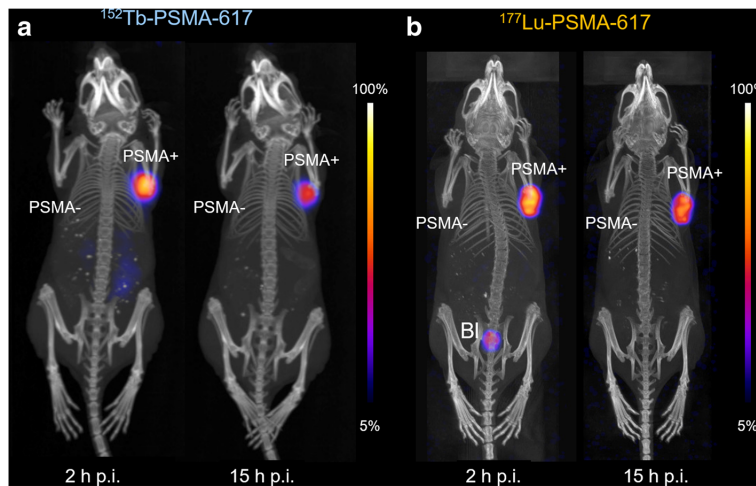


Figura 22: Scansioni nucleari di topi portatori di tumore *PIP PC* - 3 a 2 h e 15 h dall'iniezione di (a) $^{152}\text{Tb} - \text{PSMA} - 617$ (PET/CT) e (b) $^{177}\text{Lu} - \text{PSMA} - 617$ (SPECT/CT). PSMA+/-, PSMA positivo/negativo; BI, vescica urinaria.

con il $^{152}\text{Tb} - \text{PSMA} - 617$ non era così alta come quella ottenuta con il $^{68}\text{Ga} - \text{PSMA} - 11$; tuttavia ha consentito il rilevamento delle stesse lesioni metastatiche e del tumore locale precedentemente rilevato tramite PET/TC utilizzando il $^{68}\text{Ga} - \text{PSMA} - 11$ a 45 min dall'iniezione (Figura 23). Il vantaggio dell'utilizzo del $^{152}\text{Tb} - \text{PSMA} - 617$ è quello di consentire acquisizioni in momenti tardivi dopo l'iniezione, consentendo di effettuare una dosimetria pre-terapeutica [25].

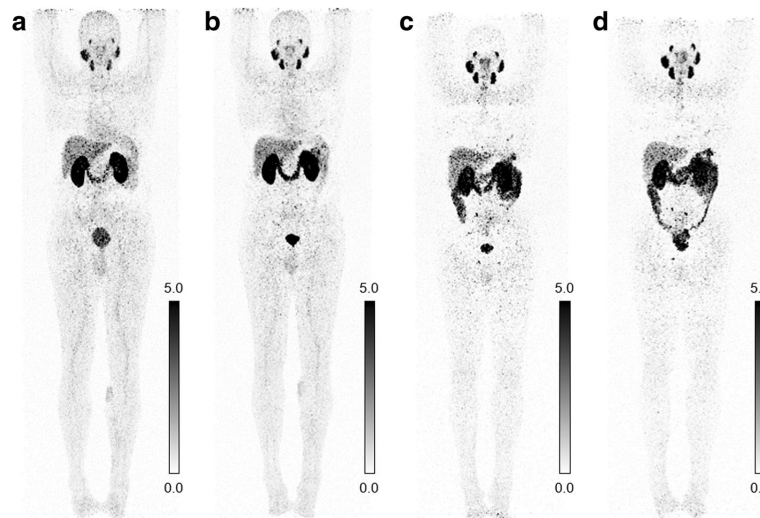


Figura 23: Biodistribuzione fisiologica di $^{152}\text{Tb} - \text{PSMA} - 617$ su scansioni PET/CT (immagini MIP) ottenute rispettivamente (a) 50 min, (b) 2 h, (c) 18, 5 h e (d) 25 h, dopo l'iniezione di 140 MBq di $^{152}\text{Tb} - \text{PSMA} - 617$. Si osserva un accumulo fisiologico del radioligando nel pool ematico (che diminuisce nel tempo), nelle ghiandole lacrimali, parotidiche e sottomandibolari (forti), nella mucosa nasofaringea nonché nel fegato, nella milza (debole) e nel tratto intestinale (in aumento tempo). L'assorbimento nei reni e il mantenimento dell'attività nella vescica urinaria sono dovuti all'escrezione renale del $^{152}\text{Tb} - \text{PSMA} - 617$. Nel tessuto normale è stata osservata una lieve attività di fondo del radioligante che è diminuita nel tempo.

Nonostante il successo dei test preclinici del $^{152}\text{Tb} - \text{PSMA} - 617$ e la sua prima applicazione in un paziente con mCRPC, le prospettive di utilizzo in clinica sono limitate, a causa della difficoltà di produzione del ^{152}Tb . Tuttavia questo lavoro ha aperto la strada all'applicazione clinica di altri radionuclidi del T_b .

9 Conclusione

In definitiva si può affermare che il T_b , con i suoi 4 radioisotopi, abbia un ruolo speciale nella diagnosi e nella terapia in quanto consente l'applicazione di radioconiugati chimicamente e biologicamente identici per molteplici scopi. Questo fa sì che si possa preventivamente andare ad individuare, attraverso tecniche di imaging SPECT o PET, i pazienti nei quali ci sia la possibilità di ottenere una risposta positiva ad una terapia in cui si utilizzi un radiofarmaco marcato con la controparte terapeutica dello stesso radionuclide. Risulta quindi di fondamentale importanza effettuare ulteriori studi (pre)clinici, di cui una parte importante è stata discussa in questa stessa tesi, che siano estesi all'utilizzo di altre molecole di targeting del tumore. In tal modo il quadrupletto di radioisotopi del Terbio potrà acquisire sempre più valore clinico ed essere investigato per future applicazioni in teranostica.

Riferimenti bibliografici

- [1] Müller C, Zhernosekov K, Köster U, Johnston K, Dorrer H, Hohn A, van der Walt N. T, Türler A, Schibli R, A Unique Matched Quadruplet of Terbium Radioisotopes for PET and SPECT and for α - and β -Radionuclide Therapy: An In Vivo Proof-of-Concept Study with a New Receptor-Targeted Folate Derivative. *J Nucl Med.* 2012;53:1951-9. <https://doi.org/10.2967/jnumed.112.107540>.
- [2] Müller C, Fischer E, Behe M, Köster U, Dorrer H, Reber J, et al. Future prospects for SPECT imaging using the radiolanthanide terbium-155 — production and preclinical evaluation in tumor-bearing mice. *Nucl Med Biol.* 2014;41:e58–65. <https://doi.org/10.1016/j.nucmedbio.2013.11.002>.
- [3] Müller C, Vermeulen C, Johnston K, Köster U, Schmid R, Türler A, et al. Preclinical in vivo application of ^{152}Tb -DOTANOC: a radiolanthanide for PET imaging. *EJNMMI Res.* 2016;6:35. <https://doi.org/10.1186/s13550-016-0189-4>.
- [4] Allen BJ, Goozee G, Sarkar S, Beyer G, Morel C, Byrne AP. Production of terbium-152 by heavy ion reactions and proton induced spallation. *Appl Radiat Isot* 2001; 54:53–8. doi: [https://doi.org/10.1016/S0969-8043\(00\)00164-0](https://doi.org/10.1016/S0969-8043(00)00164-0).
- [5] Müller C, Reber J, Haller S, Dorrer H, Köster U, Johnston K, et al. Folate receptor targeted alpha-therapy using terbium-149. *Pharmaceuticals* 2014; 7: 353–65. doi: <https://doi.org/10.3390/ph7030353>.
- [6] Müller C, Vermeulen C, Köster U, Johnston K, Türler A, Schibli R, et al. Alpha-PET with terbium-149: evidence and perspectives for radiotheragnostics. *EJNMMI Radiopharm Chem* 2017; 1: 5. doi: <https://doi.org/10.1186/s41181-016-0008-2>.
- [7] de Jong M, Breeman WA, Bernard BF, Rolleman EJ, Hofland LJ, Visser TJ, et al. Evaluation in vitro and in rats of ^{161}Tb -DTPA-octreotide, a somatostatin analogue with potential for intraoperative scanning and radiotherapy. *Eur J Nucl Med* 1995; 22: 608–16. doi: <https://doi.org/10.1007/BF01254561>.
- [8] Müller C, Reber J, Haller S, Dorrer H, Bernhardt P, Zhernosekov K, et al. Direct in vitro and in vivo comparison of ^{161}Tb and ^{177}Lu using a tumour-targeting folate conjugate. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2014; 41: 476–85. doi: <https://doi.org/10.1007/s00259-013-2563-z>.

- [9] Baum RP, Singh A, Benešová M, Vermeulen C, Gnesin S, Köster U, et al. Clinical evaluation of the radiolanthanide terbium- 152 : first-in-human PET/CT with 152 Tb-DOTATOC. *Dalton Trans* 2017; 46: 14638–46. doi: <https://doi.org/10.1039/C7DT01936J>.
- [10] Lehenberger S, Barkhausen C, Cohrs S, et al. The low-energy beta - and electron emitter 161 Tb as an alternative to 177 Lu for targeted radionuclide therapy. *Nucl Med Biol.* 2011;38:917–924.
- [11] Hilgenbrink AR, Low PS. Folate receptor-mediated drug targeting: from therapeutics to diagnostics. *J Pharm Sci.* 2005;94:2135–2146.
- [12] Müller C, Schibli R. Folic acid conjugates for nuclear imaging of folate receptor-positive cancer. *J Nucl Med.* 2011;52:1–4.
- [13] Müller C, Struthers H, Winiger C, Zhernosekov K, Schibli R. Novel DOTA conjugate with an albumin binding entity enables the first folic acid targeted 177 Lu-radionuclide tumor therapy in mice. *J Nucl Med.* In press.
- [14] Köster U, ISOLDE Collaboration. ISOLDE target and ion source chemistry. *Radiochim Acta.* 2001;89:749–756.
- [15] Müller C, Mindt TL, de Jong M, Schibli R. Evaluation of a novel radiofolate in tumour-bearing mice: promising prospects for folate-based radionuclide therapy. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 2009;36:938–946.
- [16] <https://boa.unimib.it/retrieve/handle/10281/41593/61688/phd-unimib-374490.pdf>.
- [17] Mathias CJ, Wang S, Lee RJ, Waters DJ, Low PS, Green MA. Tumor-selective radiopharmaceutical targeting via receptor-mediated endocytosis of gallium-67-deferoxamine-folate. *J Nucl Med.* 1996;37:1003–1008.
- [18] Uusijärvi H, Bernhardt P, Rosch F, Maecke HR, Forssell-Aronsson E. Electron- and positron-emitting radiolanthanides for therapy: aspects of dosimetry and production. *J Nucl Med.* 2006;47:807–814.
- [19] Beyer GJ, Comor JJ, Dakovic M, et al. Production routes of the alpha emitting 149 Tb for medical application. *Radiochim Acta.* 2002;90:247–252.
- [20] Rizvi SM, Allen BJ, Tian Z, Goozee G, Sarkar S. In vitro and preclinical studies of targeted alpha therapy (TAT) for colorectal cancer. *Colorectal Dis.* 2001;3:345–353.
- [21] Carlsson J, Forssell Aronsson E, Hietala SO, Stigbrand T, Tennvall J. Tumour therapy with radionuclides: assessment of progress and problems. *Radiother Oncol.* 2003;66:107–117.
- [22] Zweit J. Radionuclides and carrier molecules for therapy. *Phys Med Biol.* 1996;41:1905–1914.
- [23] Kostelnik T. I, Orvig C, Radioactive Main Group and Rare Earth Metals for Imaging and Therapy, *Chem. Rev.* 2019, 902-956.
- [24] Müller C, Domnanich KA, Umbricht CA, van der Meulen NP. Scandium and terbium radionuclides for radiotheranostics: current state of development towards clinical application. *Br J Radiol* 2018; 91: 20180074.

- [25] Müller C, Umbricht C. A, Gracheva N, Tschan V. J, Pellegrini G, Bernhardt P, Zeevaart J. R, Köster U, Schibli R, van der Meulen N. P, Terbium-161 for PSMA-targeted radionuclide therapy of prostate cancer, *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging* (2019) 46:1919-1930, <https://doi.org/10.1007/s00259-019-04345-0>.
- [26] Müller C, Singh A, Umbricht C. A, Kulkarni H. R, Johnston K, Benešová, Senftleben S, Müller D, Vermeulen C, Schibli R, Köster U, van der Meulen N. P, Baum R. P, Preclinical investigations and first-in-human application of $^{152}\text{Tb} - \text{PSMA} - 617$ for PET/CT imaging of prostate cancer, *EJNMMI Research* (2019) 9:68, <https://doi.org/10.1186/s13550-019-0538-1>.

Elenco delle figure

1	Periodic Table reproduced by permission of International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC). Copyright 2018.	2
2	Kostelnik T. I, Orvig C, Radioactive Main Group and Rare Earth Metals for Imaging and Therapy, Chem. Rev. 2019, 902-956.	2
3	Kostelnik T. I, Orvig C, Radioactive Main Group and Rare Earth Metals for Imaging and Therapy, Chem. Rev. 2019, 902-956.	3
4	boa.unimib.it/retrieve/handle/10281/41593/61688/phd-unimib-374490.pdf . . .	5
5	boa.unimib.it/retrieve/handle/10281/41593/61688/phd-unimib-374490.pdf . . .	6
6	www.infn.it/thesis/PDF/getfile.php?filename=5551-Borrazzo-triennale.pdf . . .	7
7	boa.unimib.it/retrieve/handle/10281/41593/61688/phd-unimib-374490.pdf . . .	7
8	www.appuntidigitali.it/site/wp-content/uploads/6-10.jpg	8
9	/web.infn.it/TechTransfer/index.php/it/schede-brevetti-it/477-andrighetto . . .	10
10	Müller C, Zhernosekov K, Köster U, Johnston K, Dorrer H, Hohn A, van der Walt N. T, Türler A, Schibli R, A Unique Matched Quadruplet of Terbium Radioisotopes for PET and SPECT and for α - and β^- -Radionuclide Therapy: An In Vivo Proof-of-Concept Study with a New Receptor-Targeted Folate Derivative. J Nucl Med. 2012;53:1951-9.https://doi.org/10.2967/jnumed.112.107540.	11
11	Karlsruhe nuclide chart, 8th edition, 2012, https://www.nucleonica.com/.	12
12	Müller C, Zhernosekov K, Köster U, Johnston K, Dorrer H, Hohn A, van der Walt N. T, Türler A, Schibli R, A Unique Matched Quadruplet of Terbium Radioisotopes for PET and SPECT and for α - and β^- -Radionuclide Therapy: An In Vivo Proof-of-Concept Study with a New Receptor-Targeted Folate Derivative. J Nucl Med. 2012;53:1951-9.https://doi.org/10.2967/jnumed.112.107540.	13
13	Müller C, Fischer E, Behe M, Köster U, Dorrer H, Reber J, et al. Future prospects for SPECT imaging using the radiolanthanide terbium-155 — production and preclinical evaluation in tumor-bearing mice. Nucl Med Biol. 2014;41:e58–65. https://doi.org/10.1016/j.nucmedbio.2013.11.002.	13
14	Müller C, Fischer E, Behe M, Köster U, Dorrer H, Reber J, et al. Future prospects for SPECT imaging using the radiolanthanide terbium-155 - production and preclinical evaluation in tumor-bearing mice. Nucl Med Biol 2014; 41: e58-e65. doi:https://doi.org/10-1016/j.nucmedbio.2013.11.002	14
15	Müller C, Fischer E, Behe M, Köster U, Dorrer H, Reber J, et al. Future prospects for SPECT imaging using the radiolanthanide terbium-155 — production and preclinical evaluation in tumor-bearing mice. Nucl Med Biol. 2014;41:e58–65. https://doi.org/10.1016/j.nucmedbio.2013.11.002.	14
16	Müller C, Fischer E, Behe M, Köster U, Dorrer H, Reber J, et al. Future prospects for SPECT imaging using the radiolanthanide terbium-155 — production and preclinical evaluation in tumor-bearing mice. Nucl Med Biol. 2014;41:e58–65. https://doi.org/10.1016/j.nucmedbio.2013.11.002.	15
17	Figure adapted from Baum et al. Dalton Trans 2017; 46: 14638–46.	15
18	Müller C, Zhernosekov K, Köster U, Johnston K, Dorrer H, Hohn A, van der Walt N. T, Türler A, Schibli R, A Unique Matched Quadruplet of Terbium Radioisotopes for PET and SPECT and for α - and β^- -Radionuclide Therapy: An In Vivo Proof-of-Concept Study with a New Receptor-Targeted Folate Derivative. J Nucl Med. 2012;53:1951-9.https://doi.org/10.2967/jnumed.112.107540.	16

- 19 Müller C, Zhernosekov K, Köster U, Johnston K, Dorrer H, Hohn A, van der Walt N. T, Türler A, Schibli R, A Unique Matched Quadruplet of Terbium Radioisotopes for PET and SPECT and for α - and β^- -Radionuclide Therapy: An In Vivo Proof-of-Concept Study with a New Receptor-Targeted Folate Derivative. *J Nucl Med.* 2012;53:1951-9. <https://doi.org/10.2967/jnumed.112.107540>. 16
- 20 Müller C, Zhernosekov K, Köster U, Johnston K, Dorrer H, Hohn A, van der Walt N. T, Türler A, Schibli R, A Unique Matched Quadruplet of Terbium Radioisotopes for PET and SPECT and for α - and β^- -Radionuclide Therapy: An In Vivo Proof-of-Concept Study with a New Receptor-Targeted Folate Derivative. *J Nucl Med.* 2012;53:1951-9. <https://doi.org/10.2967/jnumed.112.107540>. 17
- 21 Müller C, Umbricht C. A, Gracheva N, Tschan V. J, Pellegrini G, Bernhardt P, Zeevaart J. R, Köster U, Schibli R, van der Meulen N. P, ^{161}Tb for PSMA-targeted radionuclide therapy of prostate cancer, *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging* (2019) 46:1919-1930, doi.org/10.1007/s00259-019-04345-0. 18
- 22 Müller C, Singh A, Umbricht C. A, Kulkarni H. R, Johnston K, Benešová, Senftleben S, Müller D, Vermeulen C, Schibli R, Köster U, van der Meulen N. P, Baum R. P, Preclinical investigations and first-in-human application of ^{152}Tb –*PSMA*–617 for PET/CT imaging of prostate cancer, *EJNMMI Research* (2019) 9:68, doi.org/10.1186/s13550-019-0538-1. 19
- 23 Müller C, Singh A, Umbricht C. A, Kulkarni H. R, Johnston K, Benešová, Senftleben S, Müller D, Vermeulen C, Schibli R, Köster U, van der Meulen N. P, Baum R. P, Preclinical investigations and first-in-human application of ^{152}Tb –*PSMA*–617 for PET/CT imaging of prostate cancer, *EJNMMI Research* (2019) 9:68, <https://doi.org/10.1186/s13550-019-0538-1>. 19