

Qualitätskontrolle des Technetium-99m-Dimercaptobernsteinsäure-Komplexes ($^{99m}\text{Tc(V)DMSA}$), eingesetzt für die Nieren-Szintigraphie

1. Der [^{99}Mo]/[^{99m}Tc]-Generator

Radionuklide mit kurzen physikalischen Halbwertszeiten, deren Einsatz in der konventionellen Nuklearmedizin wünschenswert, im Falle der Positronen-Emissions-Tomographie unumgänglich ist, verursachen eine Reihe logistischer Probleme. Vor allem der Aktivitätsverlust während des Transports erschwert in vielen Fällen die Anwendung oder macht sie gar unmöglich. Mit Radionuklidgeneratoren kann diesen Schwierigkeiten begegnet werden.

Radionuklidgeneratoren bestehen aus einem „Mutter-Tochter“-Nuklidssystem und einem geeigneten Trennsystem, das es erlaubt, das kurzlebige Tochternuklid quantitativ vom längerlebigen Mutternuklid abzutrennen. Als besonders praktikabel hat sich die chromatographische Trennung erwiesen. Das Mutternuklid wird in einer geeigneten chemischen Form an eine stationäre Phase gebunden und das entstandene Tochternuklid mit einem geeigneten Elutionsmittel quantitativ vom Mutternuklid abgetrennt.

Der für die Nuklearmedizin wichtigste Radionuklidgenerator ist der [^{99}Mo]/[^{99m}Tc]-Generator. [^{99}Mo]Molybdän wird als Molybdat (MoO_4^{2-}) auf einer Aluminiumoxidsäule fixiert. Ob die starke Bindung des Molybdations auf der Bildung von Heteropolysäuren oder auf Adsorptionseffekten beruht ist nicht hinreichend geklärt. Das durch den [^{99}Mo] $\rightarrow$ [^{99m}Tc]-Zerfall entstandene Pertechnetat ($[\text{}^{99m}\text{Tc}]\text{TcO}_4^-$) wird nicht an der Aluminiumoxidmatrix gebunden und kann mit physiologischer Kochsalzlösung eluiert werden. Alle auf dem Markt befindlichen Generatoren arbeiten nach dem

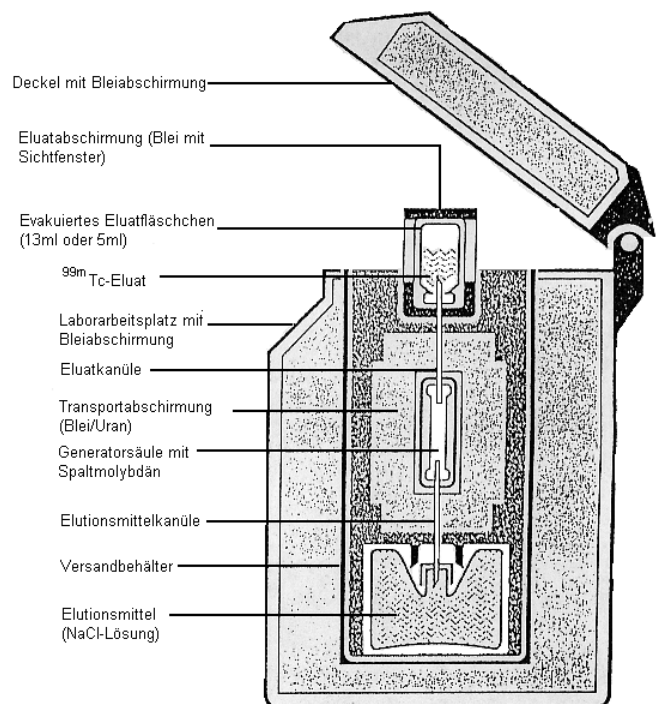


Abb. 1: [^{99}Mo]/[^{99m}Tc]-Generator

Unterdruckprinzip, d.h. die Elution erfolgt in evakuierte Eluatgefäße (Abb. 1).

Für das $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$ -System kann die eluierbare $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Aktivität für jeden beliebigen Zeitpunkt berechnet werden. Im Hinblick auf den Routinebetrieb gilt die Faustregel, daß nach 24h knapp 90% der maximal möglichen Aktivität eluiert werden können. Weitere Elutionsausbeuten können der folgenden Graphik entnommen werden (Abb. 2).

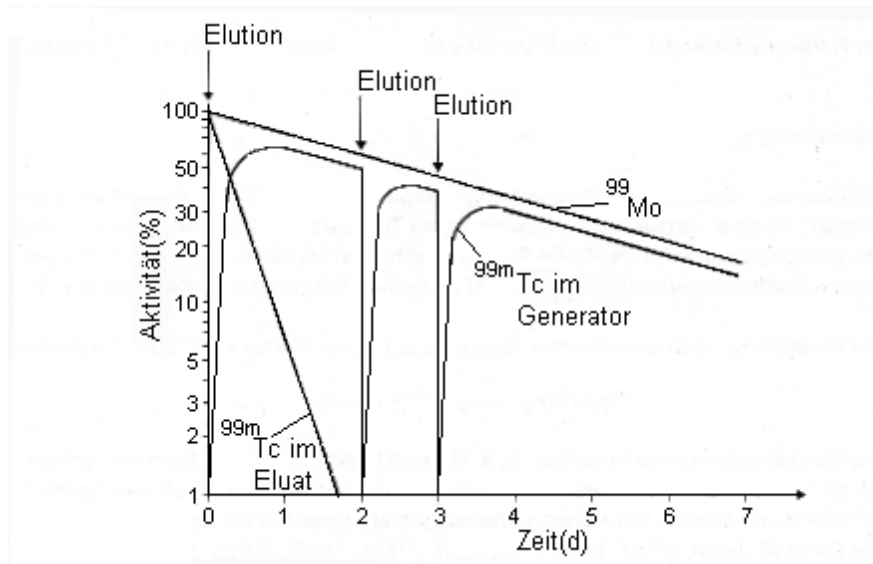


Abb. 2: Aktivitätsausbeute des Generators

Das Entstehen des langlebigen β^- -Strahlers ^{99}Tc Technetium muß bei der Herstellung und Anwendung von Technetiumradiopharmaka beachtet werden. Die vom ^{99}Tc Technetium emittierte β^- -Strahlung ist aufgrund der langen physikalischen Halbwertszeit vernachlässigbar. So entstehen beispielsweise aus 1 GBq $^{99\text{m}}\text{Tc}$ lediglich 3,27 Bq ^{99}Tc (siehe Anhang I, 5). Andererseits muß die Masse des entstehenden ^{99}Tc Technetiums unbedingt berücksichtigt werden. In der folgenden Abbildung sind die relativen Massenanteile der verschiedenen Isotope auf einem $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Generator in Abhängigkeit vom Zeitpunkt der letzten Elution dargestellt (Abb.3).

Beträgt das Massenverhältnis $^{99}\text{Tc}/^{99\text{m}}\text{Tc}$ 24h nach der letzten Elution bereits 2,58:1, so ist 3 Tage nach der letzten

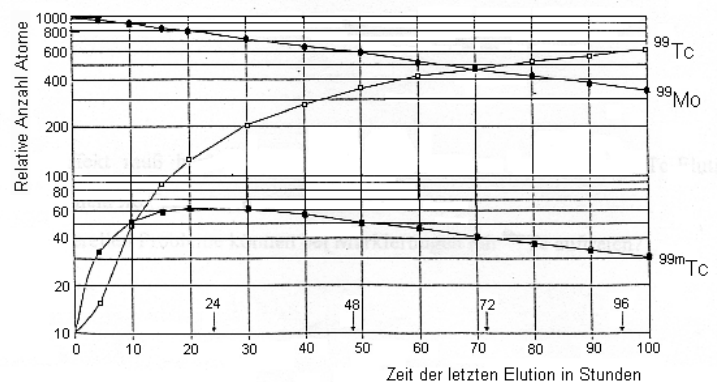


Abb. 3: Relative Atomzahl im Tc-Generator nach Elution

Elution dieses Verhältnis bereits auf einen Wert von 12:1 angewachsen, und nach 4 Tagen muß mit $^{99}\text{Tc}/^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Verhältnissen von 20:1 gerechnet werden.

2. Markierung mit [^{99m}Tc]Technetium

[^{99m}Tc]Technetium (Halbwertszeit: 6,03h; γ -Energie: 141keV) ist das wichtigste Nuklid in der Nuklearmedizin. 95% aller Untersuchungen werden mit [^{99m}Tc] markierten Verbindungen durchgeführt.

Da es Ähnlichkeiten mit dem Phosphat-Ion PO_4^{3-} aufweist, wird der Mechanismus der Aufnahme der Tc-Komplexe in Tumoren mit lokalen Veränderungen des Phosphor/Calcium-Metabolismus diskutiert. Ungeklärt scheint aber zu sein, ob es sich um einen Tc(V)-DMSA oder einen $[\text{TcO}(\text{DMSA})_2]^-$ -Komplex handelt (Abb. 4).

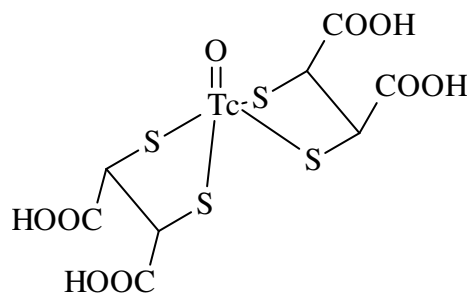


Abb. 4: $[\text{TcO}(\text{DMSA})_2]^-$ - Komplex, anti-Konformeres, daneben gibt es noch das syn-endo- und das syn-exo Konformere

Der Tc(V)-DMSA-Komplex wird neben anderen für die Nieren-Szintigraphie eingesetzt.

Durch passiven Transport, d.h. der Tracer ist nicht stoffwechselaktiv, wandert der Komplex durch Diffusion in die Nierenkapillaren und kann so ein Abbild des Organs bzw. des Tumors liefern.

Das aus dem [^{99}Mo]/[^{99m}Tc]-Generator gewonnene Pertechnetat (in Kochsalzlösung) muß für Markierungen zur Oxidationsstufe +3 bzw. +4, +5 reduziert werden. Man verwendet dafür meist Zinn(II)chlorid. Bei der Reduktion und der anschließenden Markierung können eine Reihe von Problemen auftreten, die die Ausbeute und Reinheit an Tc-Komplex verringern und/oder die Haltbarkeit beeinflussen können.

Die stabilste Oxidationsstufe des Technetiums ist +7. Als TcO_4^- , Pertechnetat-Ion, wird das Technetium eluiert und wird mittels Zinn(II)chlorid in Gegenwart einer komplexbildenden Verbindung zu Tc(III), Tc(IV) oder Tc(V)-Verbindungen reduziert.

Probleme bei der Tc-Markierung:

- hohe Oxidationsempfindlichkeit der bei der Reduktion mit SnCl_2 primär unkomplexiert entstehenden Tc-Oxidationsstufen, als auch des gebildeten Tc-Chelatkomplexes.
- hohe Oxidationsempfindlichkeit des Zinn(II)chlorids und sowie konkurrierende Chelatbildung

Vorteile:

- emittierte Gammastrahlung im meßtechnisch optimalen Energiebereich
- als Generator ständig verfügbar
- sehr niedrige Kosten

Nachteile:

- keine kovalente Bindung an C-Atom
- Stoffwechselsubstrate nicht ohne Veränderung der physiologischen Eigenschaften markierbar

2. Herstellung von $^{99\text{m}}\text{Tc(V)DMSA}$

2.1 Materialien

- DMSA für Technetium-99 mit SnCl_2 ,
Markierungskitt für die Nierenzintigraphie, Amersham,
für 2ml Reaktorlösung.
55,02 mg Trockensubstanz enthalten:
1 mg Dimercaptobernsteinsäure
0,42 mg SnCl_2
Charge: 204G
- NaHCO_3 , 0,5 ml – 8,4%-ige Lösung
Charge: 7332 C35
- Technetium-Generator Amersham
Charge: 09597/137
Aktivität: 238,6 MBq in 2ml NaCl, 10.00 Uhr
- DC-Alufolie Kieselgel 60 (Merck AG) 5×10 cm, Schichtdicke 0,2 mm, Nr. 16835
- Laufmittel: n-Butanol/Essigsäure/ H_2O 3/2/3

2.2 Durchführung

Aus dem Technetium-Generator wird mittels eines Vakuum-Vials Pertechneat-NaCl-Lösung entnommen. 2ml dieser Lösung werden mit 0,84%-iger NaHCO₃-Lösung auf pH = 8,5 eingestellt und dem DMSA-Markierungskitt zugegeben. Zur Bildung des Tc(V)-DMSA-Komplexes läßt man die Lösung 30 min bei 20°C stehen und entnimmt dann die Proben für die Dünnschichtchromatographie.

Mittels Bioimager lassen sich die einzelnen Spots auf der DC qualitativ und quantitativ auswerten.

3. Ergebnis

Ohne Untergrundkompensation ergaben sich folgende Ergebnisse:

Verbindung	Rf-Wert	Counts insgesamt	Ausbeute %
Tc(III)DMSA	0,06	0	
Tc(V)DMSA	0,56	7531	97,1
TcO ₄ ⁻	0,80	0	
Sonstige	0-0,56	226	2,9

Das gewünschte Produkt, der Tc(V)DMSA-Komplex ergibt sich mit sehr hoher Reinheit. Die Reduktion ist quantitativ, aber selektiv. Kein Tc(III)DMSA-Komplex kann detektiert werden.

Anhang I: - Molybdän-99-Zerfall

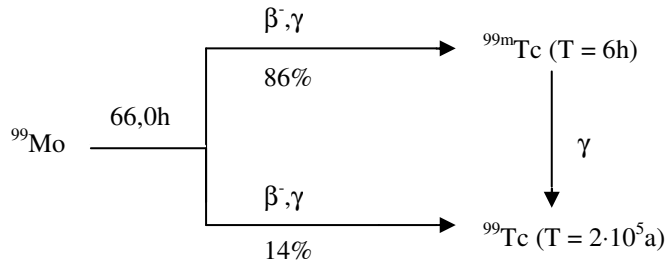
- Mathematische Erläuterungen

Anhang II: - Beispiele für den Einsatz von [^{99m}Tc]-Komplexen in der Nuklearmedizin:

Anhang III und IV: - Riodünnschichtchromatogramme der Tc(V)DMSA-Probe, aufgenommen mit dem BioImager

Anhang I

1) Schematische Darstellung des Zerfalls von Molybdän-99:



2) Berechnung des Aktivitätsverhältnisses Tc-99m zu Mo-99:

$$\frac{A_{\text{Tc}}}{A_{\text{Mo}}} = 0,88 \cdot \frac{\lambda_{\text{Tc}} \cdot (e^{-\lambda_{\text{Mo}} \cdot t} - e^{-\lambda_{\text{Tc}} \cdot t})}{(\lambda_{\text{Tc}} - \lambda_{\text{Mo}}) \cdot e^{-\lambda_{\text{Mo}} \cdot t}}$$

3) maximale Aktivität des Tochternuklids nach Zeit t:

$$t_m = \frac{1}{\lambda_2 - \lambda_1} \cdot \ln \frac{\lambda_2}{\lambda_1}$$

λ_1 Zerfallskonstante des Mutternuklids; λ_2 Zerfallskonstante Tochternuklid; Gleichung für $\lambda_2 \gg \lambda_1$
bzw. $T_{1/2(2)} \ll T_{1/2(1)}$.

4) Die Zerfallskonstante λ :

A = Aktivität
 λ = Zerfallskonstante
N = Anzahl der Atome zum Zeitpunkt t
 N_0 = Anzahl der Atome zum Zeitpunkt t = 0
 $T_{1/2}$ = Halbwertszeit

$$A = \lambda \cdot N$$

$$-\frac{dN}{dt} = \lambda \cdot N$$

$$N = N_0 \cdot e^{-\lambda \cdot t}$$

für $T_{1/2}$:

$$N = \frac{N_0}{2}$$

$$T_{1/2} = \frac{\ln 2}{\lambda} = \frac{0,69315}{\lambda} \Rightarrow \lambda = \frac{\ln 2}{T_{1/2}}$$

5) Berechnung der Masse der radioaktiven Atome:

Aus
$$A = -\frac{dN}{dt} = \lambda \cdot N$$

Zahl der radioaktiven Atome N:

$$N = \frac{A}{\lambda} = \frac{A \cdot T_{1/2}}{\ln 2} \quad m = \frac{N \cdot M}{N_A}$$

M: Nuklidmasse

N_A : Avogadro Konstante $6,02 \cdot 10^{23}$

$$m = \frac{A \cdot M}{N_A \cdot \ln 2} \cdot T_{1/2}$$

oder:

$$A = m \cdot \frac{N_A \cdot \ln 2}{M \cdot T_{1/2}}$$

oder im Falle des $^{99m}\text{Tc} \rightarrow ^{99}\text{Tc}$ -Zerfalls ($m_{(^{99m}\text{Tc})} = m_{(^{99}\text{Tc})}$; $M_{(^{99m}\text{Tc})} = M_{(^{99}\text{Tc})}$)

$$A_{(^{99m}\text{Tc})} \cdot T_{1/2(^{99m}\text{Tc})} = A_{(^{99}\text{Tc})} \cdot T_{1/2(^{99}\text{Tc})}$$

$$\frac{A_{(^{99m}\text{Tc})} \cdot T_{1/2(^{99m}\text{Tc})}}{T_{1/2(^{99}\text{Tc})}} = A_{(^{99}\text{Tc})}$$

Für: $A_{(^{99m}\text{Tc})} = 1 \text{ GBq}$
 $T_{1/2(^{99m}\text{Tc})} = 6 \text{ h}$
 $T_{1/2(^{99}\text{Tc})} = 2 \cdot 10^5 \text{ a}$

ergibt sich der Wert von 3,27 Bq für $A_{(^{99}\text{Tc})}$.

Anhang II

Beispiele für den Einsatz von [^{99m}Tc]-Komplexen in der Nuklearmedizin:

