

Criterios de calidad de dispersiones radiactivas en radiosinovectomía

Jorge Cruz Arencibia, Amed Cruz Morales, Jorge Izquierdo Pérez; José Morín Zorrilla

Centro de Isótopos, Ave. Monumental y Carretera La Rada, km 3 ½, San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba.

jcruz@centis.edu.cu

Resumen

En el trabajo se examinan los criterios de calidad de dispersiones radiactivas utilizadas en radiosinovectomía a partir de los requisitos recogidos en la farmacopea para el Fosfato Crómico-³²P de la firma Mallinkrodt, las recomendaciones de uso de radiofármacos registrados de la Asociación Europea de Medicina Nuclear y datos aportados por las firmas comercializadoras. Tomando como base el estudio de dos formulaciones propias de Fosfato Crómico, una marcada con ³²P y la otra, con ⁹⁰Y, en las que se estudia la consistencia (reproducibilidad) tanto de la pureza radioquímica como de la distribución de tamaños de partículas, se prueba que el tenor de 5 % de fosfato libre admitido en la formulación de la firma Mallinkrodt y que se extendiera a formas iónicas de otros radiofármacos de matrices diferentes, se debe probablemente al efecto inevitable de la esterilización a vapor sobre la suspensión y de que tanto al momento de decidir sobre el empleo de un lote, como en los requisitos de las farmacopeas, debiera prestarse más atención a la distribución de tamaños por estar más vinculada a la eficacia y seguridad de los radiofármacos.

Palabras clave: radiofármacos; articulaciones de los huesos; fosfatos de cromo; fosforo 32; itrio 90; garantía de calidad.

Quality criteria of the radiopharmaceutical suspensions used in radiosynoviorthesis

Abstract

The quality criteria of radioactive dispersions used in radiosynovectomy are examined, taking into account the requirements of the Pharmacopoeia for the Chromic Phosphate P-32 of Mallinkrodt, recommendations for the use of approved radiopharmaceuticals of the European Association of Nuclear Medicine and data provided by others marketing firms. The behavior of two formulations of chromic phosphate, one ³²P-labeled and the second ⁹⁰Y-labeled, from the point of view of the consistency (reproducibility) of both the radiochemical purity and the particle size distribution was assayed. It is proven that the presence of 5% of free phosphate admitted in the Mallinkrodt formulation, and extended to the presence of ionic forms of other radiopharmaceuticals of different matrices, is probably due to the inevitable effect of steam sterilization on the suspension. Based on these results and the accumulated clinical experience, it is considered that to establish the quality requirements of the radioactive suspensions for radiosynovectomy, more attention should be paid to the particle size distribution than to the percentage of free ionic forms. The first one is more related to the efficacy and safety of this kind of radiopharmaceuticals.

Key words: radiopharmaceuticals; bone joints; chromium phosphates; phosphorus 32; yttrium 90; quality assurance.

Introducción

El primer emisor β usado en radiosinovectomía (RSV) con buenos resultados clínicos fue el ¹⁹⁸Au, pero el efecto de la radiación gamma acompañante y la fuga articular apreciable a ganglios linfáticos regionales, hizo que dejara de utilizarse [1]. En su lugar se recomendó ⁹⁰Y, aunque se reportó también fuga por ausencia de un estricto control del tamaño de partículas, y se indicó que las soluciones coloidales de ⁹⁰Y a pH<6 pueden

contener iones Y³⁺ que migran desde la articulación [1]. Se hacía evidente en la eficacia y seguridad de radiofármacos para RSV la importancia de los tamaños de partículas (TP), al estar relacionados tanto con el mecanismo de acción como con la fuga articular, sin descuidar la posible influencia de formas iónicas, las que al migrar del sitio de administración pueden causar irradiación no deseada a órganos no blancos. Desde que en la farmacopea de EE.UU. se establecieron los estándares de calidad del Fosfato Crómico-³²P para uso intracavitario,

basado en el "Phosphocol" de la firma Mallinkrodt, para las dispersiones radiactivas en RSV se admite una pureza radioquímica (PRQ) del 95 %, con un 5 % en otras formas químicas, principalmente iónicas, del radionúclido de partida correspondiente [2-3].

En este trabajo se examinan los criterios de calidad de las dispersiones radiactivas más utilizadas en RSV, basándose en los requisitos reconocidos en la farmacopea para el Fosfato Crómico-³²P, las recomendaciones para el uso de radiofármacos autorizados por la Asociación Europea de Medicina Nuclear, los datos proporcionados por las empresas comercializadoras y los resultados de los estudios de consistencia (reproducibilidad) de la producción de diferentes formulaciones de Fosfato Cromático (marcado con ³²P e ⁹⁰Y), basado tanto en la pureza radioquímica como en la distribución de los tamaños de partículas.

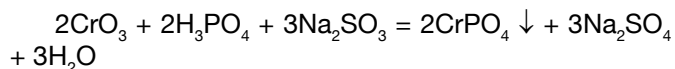
Materiales y métodos

Los reactivos empleados fueron de calidad puro para análisis. El agua para inyección se obtuvo de la estación de ósmosis reversa euRO 60 – Integra Plus, Alemania, instalada en el Centro de Isótopos (Centis), Cuba.

El ³²P como ácido ortofosfórico se adquirió de la firma Polatom, Polonia; el ⁹⁰Y de CENTIS, en forma de YCl₃, en solución ácida.

Obtención de la suspensión de Fosfato de Cromo (III)

La suspensión de Fosfato de Cromo (III) se obtuvo por metódica descrita antes [4], basada en la reacción:



El CrO₃ (110 mmol/L) se trató con solución de Na₂SO₃ (1190 mmol/L) en presencia de H₃PO₄ (100 mmol/L) a 70 °C durante 10 min y la suspensión verde azulada se centrifugó (centrífuga Presvac EPF-D, Argentina) a 10000 r.p.m. durante 10 min. El ³²P y el ⁹⁰Y se añadieron al inicio de la reacción junto con H₃PO₄ y CrO₃. El producto final se lavó con agua para inyección y se suspendió en solución de Gelatina al 2 % en tampón Acetato pH 4 - 4,5 hasta lograr una concentración radiactiva de 37 MBq/mL. La actividad varió entre 550 y 1850 MBq para el ³²P; 3,7 y 925 MBq para el ⁹⁰Y. Luego de adicionar la solución diluyente, el producto se fraccionó en bulbos a razón de 2,5 mL cada uno, que fueron esterilizados en autoclave (Raypa AE-12, España).

La PRQ del producto final se determinó por cromatografía ascendente sobre papel Whatman 3MM, utilizando agua destilada como fase móvil para la suspensión marcada con ³²P y metanol 80 %: citrato de sodio 0,05 mol/L para la suspensión marcada con ⁹⁰Y.

La determinación de tamaños de partículas se realizó por tamizado a través de filtros de membrana de diferentes diámetros de poro. A 200 µL de la suspensión radiomarcada se adicionaron 800 µL de agua destilada

y se determinó la actividad relativa inicial (A0) mediante aplicación y medición posterior de 5 µL en papel Whatman 3MM. Luego se colocó un filtro de policarbonato de la firma Nuclepore (EE.UU.) (diámetro: 13 mm) con el tamaño de poro seleccionado en un soporte de filtros marca Millipore (EE.UU.). Una jeringa de 1 mL con la suspensión diluida se conectó a un soporte de filtros marca Millipore (EE.UU.), provisto de un filtro de policarbonato de esta firma y 13 mm de diámetro y en la parte inferior del soporte se fijó una aguja hipodérmica G21. Se pasó el contenido de la jeringa a través del filtro, se recogió el filtrado en un bulbo 15R al vacío y se determinó su actividad relativa del (Af) del mismo modo que para A0. Las mediciones de actividad se realizaron en un contador de centelleo líquido (Wallac-LKB, Inglaterra). La porción de partículas que atraviesa el filtro se calculó como la razón entre Af y A0. El filtrado obtenido después de tomar la alícuota correspondiente para la medición, se filtró de manera similar por un filtro de tamaño de poro inferior y así, sucesivamente. Se usaron filtros de 5; 2; 0,8 y 0,2 µm, lo que permitió obtener una distribución del tamaño de partículas. Se realizaron 3 réplicas para cada suspensión.

En los casos en que la PRQ estuvo por debajo del 95 % se realizó un reproceso consistente en reunir en un solo bulbo el producto ya obtenido, que fue centrifugado, lavado dos veces con agua para inyección y resuspendido en la solución de gelatina al 2 % en buffer acetato y finalmente, esterilizado.

Para la evaluación de la consistencia del proceso de obtención de la suspensión marcada con ³²P se recopilaron y procesaron los resultados de PRQ y TP de los lotes producidos durante un año. La PRQ se evaluó antes y después de la esterilización con vistas a valorar el posible efecto de este proceso sobre este requisito de calidad. En el caso de la suspensión marcada con ⁹⁰Y se evaluaron 6 lotes obtenidos para estos fines.

Resultados y discusión

Suspensión marcada con ³²P

En la Tabla 1 se recogen los valores de PRQ y TP de la suspensión marcada con ³²P.

La evaluación de los datos de todos los lotes producidos arrojó los siguientes resultados:

PRQ: 94 ± 1 %;

Distribución del tamaño de partículas: <0,2 µm: 5 ± 1%; 0,2-10 µm: 92 ± 3 %; > 10 µm: 4 ± 2 %.

Se observa una disminución media de alrededor del 3 % en el PRQ cuando se comparan los resultados determinados antes y después de la esterilización, hecho que se ha indicado en otros estudios [4, 5]. Debe examinarse la influencia real de este requisito de calidad (PRQ) en el uso seguro del producto final. En el mercado han existido al menos tres formulaciones de Fosfato ³²P-Cromo (III) para uso en RSV:

- Phosphocol, suministrado por Mallinkrodt, principalmente en los Estados Unidos y otros países y que, debido a las partículas de 0,5 - 2,0 µm (95 %)

Tabla 1. Suspensión de Fosfato Crómico marcada con ³²P

Pureza radioquímica		Tamaño de partículas		
Antes de esterilizar (%)	Después de esterilizar (%)	<0,2 µm	0,2-10 µm	>10 µm
97.9	95.1	3.4	95.1	1.5
97.6	95.4	4.1	95.3	0.6
97.4	95.1	3.8	90.8	5.4
99.0	93.2	6.8	86.6	6.6
98.7	95.0	4.7	89.8	5.5
98.2	95.2	4.2	89.7	6.1
94.9	92.4	6.8	92.9	0.3
97.3	92.5	6.6	91.7	1.7
96.1	94.0	5.1	93.1	1.8
95.8	93.4	6.6	88.9	4.5
96.2	93.0	6.6	92.4	1.0
98.6	95.1	3.8	95.2	1.0
97±1	94±1	5±1	92±3	3±2

clasifica como suspensión y admite impurezas radiactivas hasta un 5 %, principalmente en forma de fosfato libre [6, 7].

- La Comisión Nacional de Energía Atómica de Argentina (Conea) producía una formulación con tamaños entre 0,06-0,2 µm, que clasifica como coloide, con impurezas no mayores del 5 %, explícitamente en forma de fosfato libre, también de eficacia demostrada en la práctica [8].
- Bacon (Argentina) comercializa un producto con un tamaño de partículas de 0,1 - 0,2 µm, efectivo en su aplicación clínica [9].

Todas estas formulaciones se basan en los trabajos desarrollados por Leopoldo Anghileri, quien obtuvo soluciones coloidales entre 0,1 - 0,3 µm y una suspensión entre 0,6 - 2,0 µm [10,11]. Estudios en animales indican que la migración en la inyección intracavitaria de las preparaciones con tamaños entre 0,1 - 0,3 µm es de aproximadamente 50 % en el hígado a las 24 h [11]. Se presume, por lo tanto, que las dispersiones con estos tamaños, independientemente de sus valores de PRQ, migran en los seres humanos, aunque no se han reportado fugas significativas [1, 8]. Por otro lado, el proceso de esterilización de la suspensión conduce a una disminución de la PRQ, que puede alcanzar hasta 5 % de impurezas radiactivas [4], principalmente en forma de fosfato libre. El requisito de la Farmacopea de EE.UU. de pureza radioquímica superior al 95 % [2] se basa en esto más que en la influencia adversa del fosfato libre como resultado de la fuga. El uso del producto de Mallinkrodt por más de 40 años en la práctica de la RSV [12, 13] permite considerar que el 5 % de fosfato libre en la formulación es tolerable. Una demostración adicional para esto es que la administración de 40 MBq, la dosis máxima considerada en RSV [14], daría lugar a la presencia en el torrente sanguíneo de no más de 2 MBq de fosfato libre, dosis 225 veces inferior a la de o-Fosfato de sodio- ³²P, recomendada y admisible en el tratamiento del dolor de hueso metastásico [15, 16].

En nuestras formulaciones de Fosfato Crómico marcado con ³²P la evaluación de los procesos de producción mostró alta reproducibilidad en cuanto a la distribución del tamaño de partículas (0,2-10 µm: 92 ± 3 %). Sin embargo, no ha sido siempre posible obtener valores de PRQ mayores del 95 % debido al efecto de la esterilización final en autoclave sobre la suspensión. Algunos lotes con PRQ inferior al 95 % fueron reprocesados para alcanzar el valor establecido en la farmacopea para este parámetro, sin que se afectara la distribución del tamaño de partículas (0,2-10 µm: 90 ± 1 %). En comparación con el Phosphocol (tamaño de partículas: 0,6-2,0 µm: 91 %), la distribución del tamaño de partículas de la suspensión Centis con ³²P se desplaza a tamaños mayores (2-10 µm), que hoy en día son considerados más convenientes [17, 18]. El producto de Centis también ha demostrado ser eficaz y seguro en la aplicación práctica y sigue en uso [19]. De lo anterior se desprende que al decidir si se libera o no un lote productivo se ha de tener en cuenta, en primer lugar, la consistencia en la distribución del tamaño de las partículas sobre el contenido libre de fosfato.

Suspensión marcada con ⁹⁰Y

La misma suspensión de fosfato crómico se marcó con ⁹⁰Y y en este caso los valores de PRQ obtenidos fueron superiores (Tabla 2). Si se comparan los resultados de las Tablas 1 y 2 se aprecia que la PRQ antes y después de esterilizar es mayor en el caso de la suspensión marcada con ⁹⁰Y, por lo que puede considerarse que tanto el calentamiento a 70 °C como la esterilización a vapor afectan menos al producto marcado con ⁹⁰Y que al marcado con ³²P, sin que en la serie con ⁹⁰Y se haya hecho necesario reprocesar por razón de PRQ por debajo del valor regulado en la farmacopea. Es presumible que el calor actúa más eficazmente sobre los compuestos de ³²P, con el ³²P moviéndose a la solución desde el volumen y la superficie de los precipitados, mientras que ⁹⁰Y se ajusta más profundamente en el volumen resultante de la coprecipitación. La disminución en la PRQ de la suspensión marcada con ⁹⁰Y puede estar asociada con el pH del sistema de dispersión (4,0 - 4,5), como se indica en [1], que junto con la acción del calor hace que parte de los iones Y³⁺ pasen a la solución.

Tabla 2. Suspensión marcada con ⁹⁰Y

Pureza radioquímica		Tamaño de partículas		
Antes de esterilizar (%)	Después de esterilizar (%)	Antes de esterilizar (%)	Después de esterilizar (%)	Antes de esterilizar (%)
97,4	98,4	2,4	91,9	4,3
97,6	96,5	3,3	92,1	4,6
97,5	97,2	2,7	92,3	5,0
96,5	97,8	5,0	90,6	4,4
99,1	97,0	7,3	89,5	3,2
97,6	95,6	3,6	90,9	5,5
98±1	97±1	4±1	91±2	4±1

Radiofármacos de ^{90}Y han sido eficaces y seguros [1,20] en RSV y se ha indicado un promedio de 3,15 % de fuga articular de ^{90}Y -citrato, que, de acuerdo con el fabricante tiene una PRQ de no menos de 95 % [21]. Todo indica que esta fuga se refiere a la migración y acumulación de las partículas en los ganglios linfáticos regionales y otros órganos y no a la fuga de los iones. Al respecto, es importante remarcar que el propio fabricante, en el Resumen de Características del Producto no hace referencia a PRQ, sino más bien a que el producto es una suspensión coloidal de color blanco lechoso, de pH entre 5,5 - 7,5 y una fracción no filtrable de radiactividad, al menos igual a 85 % a la fecha de liberación y con un tamaño de partículas entre 3-6 μm [22]. Un análisis de la radiotoxicidad del citrato de [^{90}Y]itrio en comparación con o-Fosfato de sodio [^{32}P], ambos usados en el tratamiento del dolor óseo metastásico, indica que el ^{90}Y no es necesariamente más radiotóxico que el ^{32}P , no obstante su mayor energía máxima de emisión β [15]. Es presumible, por tanto, que el Fosfato Crómico- ^{90}Y ofrezca ventajas sobre su homólogo marcado con ^{32}P y la semejante distribución de tamaños con este último sea característica obligatoria en su conducta.

Si bien se ha tendido a considerar la PRQ de las suspensiones utilizadas en RSV a partir del porcentaje en formas iónicas libres, en la práctica se debe prestar mayor atención a la distribución del TP por su importancia en el mecanismo de acción de los radiofármacos y la fuga articular relacionada con la seguridad. La Asociación Europea de Medicina Nuclear (EANM) presta justamente más atención a los tamaños de partículas de los radiofármacos registrados en Europa [23]. En nuestro trabajo se prueba que en la obtención de suspensiones de Fosfato Crómico marcadas con ^{32}P e ^{90}Y , la esterilización final en autoclave descompone en parte la suspensión, lo que se manifiesta de manera diferente en dichos radiofármacos, en razón de distintos mecanismos de formación. La distribución de tamaños es en ambos casos muy semejante y al probarse la eficacia y seguridad del producto marcado con ^{32}P , debe considerarse de conjunto con la presencia de iones libres para la liberación de los lotes. La farmacopea debiera prestar mayor atención a la distribución de tamaños que al tenor de iones libres, en dependencia de la radiotoxicidad de estos.

Conclusiones

La experiencia de uso de radiofármacos para RSV indica que la distribución de tamaños de las dispersiones utilizadas es un parámetro de mayor significación en la eficacia y seguridad de estos que la PRQ, por lo que debiera ser tomado más en cuenta al decidir si se debe liberar o no un lote productivo y en el establecimiento de los requisitos regulatorios recogidos en las farmacopeas o en las disposiciones nacionales.

Referencias bibliográficas

- [1]. KAMPEN WU, BRENNER W, CZECH N, HENZE H. Intraarticular Application of unsealed beta-emitting radionuclides in the treatment course of inflammatory joint diseases. *Curr. Med. Chem – Anti-Inflammatory & Anti-Allergy Agents*. 2002; 1(1): 77-87.
- [2]. United State Pharmacopea. Chromic Phosphate Suspension. Ed. 38. 2015. p. 3981.
- [3]. VERDERA ES, GOMEZ DE CASTIGLIA S, FIGOLS DE BARBOZA M. Control de calidad de radiofármacos. Asociación Latinoamericana de Sociedades de Biología y Medicina Nuclear: Comité de Radiofarmacia. p 169-174, 2011.
- [4]. CRUZ ARENCIBIA J, MORÍN ZORRILLA J, CRUZ MORALES A, et. al. Fosfato de cromo (III) marcado con diferentes radionúclidos para uso en radiosinovioctesis. *Rev. Cub. Farm.* 2012; 46 (2): 162-172.
- [5]. Del TURCO AM, PIETRA R. preparation of colloidal chromic phosphate (^{32}P) for medical use. *Int. J. Appl. Rad. Isot.* 1963; 14(5): 279-283.
- [6]. Phosphocol® P-32. Package insert. St Louis: Mallinckrodt Medical, 1986.
- [7]. SULLIVAN DC, HARRIS CC, CURNIE JL., et.al. Observations on the intraperitoneal distribution of chromic phosphate (^{32}P) Suspension for intraperitoneal therapy. *Radiology*. 1983; 146(2): 539-541.
- [8]. ONETTI CM, GUTIERREZ E, HLIBA E, AGUIRRE CR. Synoviothetesis with ^{32}P -colloidal chromic phosphate in rheumatoid arthritis. clinical, histopathologic and arthrographis changes. *J. of Rheumatol.* 1982; 9(2): 229-238.
- [9]. SOROA VE, Del HUERTO M, GIANNONE C, et. al. Effects of radiosynovectomy with ^{32}P colloid therapy in hemophilia and rheumatoid arthritis. *Cancer Biotherapy & Radiopharmaceuticals*. 2005; 20; (3) 344-348.
- [10]. ANGHILERI L.J. Rapid method for obtaining colloidal suspension of phosphorus-32 as chromic phosphate. 2nd. *Int. Conf. on Peaceful Uses of Atomic Energy*. UN, Geneva: 1958; 20: 50-52.
- [11]. ANGHILERI L.J. In vivo distribution of radioactive chromic phosphate: influence of the particle size and route of injection. *Int J. Appl. Radiat. Isot.* 1965; 16(11): 623-630.
- [12]. SILVA M, LUCK JV, SIEGEL E. ^{32}P chromic phosphate radiosynovectomy for chronic haemophilic synovitis. *Haemophilia*. 2001; 7 (Suppl.2): 40-49.
- [13]. MORTAZAVI SMJ, ASADOLLAHI S, FARZAN M, et. al. ^{32}P colloid radiosynovectomy in treatment of chronic haemophilic sinovitis: Iran experience. *Haemophilia*. 2007; 13(2): 182-188.
- [14]. TURKMEN C. Safety of radiosynovectomy in hemophilic synovitis: it is time to re-evaluate!. *J. of Coagulation Disorders*. 2009; 1(1): 29-36. www.slm-hematology.com.
- [15]. ALBERTI RAMÍREZ A, GARCÍA RODRÍGUEZ E, CRUZ ARENCIBIA J, MORÍN ZORRILLA J. Fósforo-32 e Itrio-90 como opciones en el tratamiento del dolor óseo metastático. *Nucleus*. 2016; (60): 24-28.
- [16]. IAEA. Criteria for Palliation of bone metastases-Clinical Applications. IAEA-TECDOC 1549. Vienna: IAEA, 2007.
- [17]. PANDEY U, MUKHEJEE A, CHAUDHARY PR, et. al. Preparation and studies with ^{90}Y -labelled particles for use in radiation synovectomy. *Appl. Radiat. Isot.* 2001; 55(4): 471-475.
- [18]. SCHNEIDER P, FARAHATI J, REINERS C. Radiosynovectomy in rheumatology, orthopedics and hemophilia. *J. Nucl. Med.* 2005; 46(suppl 1): 48S-54S
- [19]. BAGANET COBAS A, SAGARRA VERANES M, CASTILLO GONZÁLEZ D, et. al. Radiosinovioctesis con suspensión de fosfato crómico [^{32}P] en pacientes hemofílicos. *Rev. Cubana Ortop. Traumatol.* 2014; 28(1): 1-10.
- [20]. KAMPEN WU, VOTH M, PINKERTJ, KRAUSE A. Therapeutic status of radiosynoviothetesis of the knee with Yttrium [Y-90] colloid in rheumatoid arthritis and related indications. *Rheumatology*. 2007; 46(1): 16-24.
- [21]. GEDIK GK, UGAR O, ATTILA B, et. al. Comparison of extrarticular leakage values of radiopharmaceuticals used for radionuclide synovectomy. *Annals of Nucl. Med.* 2006; 20(3): 183-188.
- [22]. Yttrium (^{90}Y) citrate CIS bio international. Summary of product characteristics. Reference: YMM-1 P3400 nG 08/2013.
- [23]. Procedure guidelines for radiosynovectomy. *Eur. J. Nucl. Med.* 2003, 30: BP7 -BP11.

Recibido: 30 de octubre de 2017

Aceptado: 14 de diciembre de 2017