

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

TRƯỜNG ĐẠI HỌC DƯỢC HÀ NỘI



NGUYỄN KHẮC THẮT

**NGHIÊN CỨU XÂY DỰNG QUY TRÌNH
ĐIỀU CHẾ DƯỢC CHẤT PHÓNG XẠ
 ^{18}F -NaF CHO PET/CT**

LUẬN ÁN TIẾN SĨ DƯỢC HỌC

HÀ NỘI - 2021

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

TRƯỜNG ĐẠI HỌC DƯỢC HÀ NỘI

NGUYỄN KHẮC THẮT

**NGHIÊN CỨU XÂY DỰNG QUY TRÌNH
ĐIỀU CHẾ DƯỢC CHẤT PHÓNG XẠ
 ^{18}F -NaF CHO PET/CT**

LUẬN ÁN TIẾN SĨ DƯỢC HỌC

CHUYÊN NGÀNH: Công nghệ dược phẩm và Bào chế thuốc
MÃ SỐ: 62 72 04 02

Người hướng dẫn khoa học: **TS. Nguyễn Trần Linh**
PGS. TS. Lê Ngọc Hà

HÀ NỘI - 2021

Lời cam đoan

Luận án được tôi hoàn thành dưới sự hướng dẫn của TS. Nguyễn Trần Linh và PGS.TS. Lê Ngọc Hà. Tôi xin cam đoan những kết quả trình bày trong luận án là do bản thân tôi đã thực hiện trong thời gian làm nghiên cứu sinh. Cụ thể, chương 1 là phần tổng quan giới thiệu những vấn đề cơ sở có liên quan đến luận án. Trong chương 2 và chương 3, tôi sử dụng các kết quả nghiên cứu mà tôi đã thực hiện cùng với thầy hướng dẫn và các đồng nghiệp của tôi. Cuối cùng, tôi xin khẳng định các kết quả có trong luận án "**Nghiên cứu xây dựng quy trình điều chế dược chất phóng xạ $^{18}\text{F-NaF}$ cho PET/CT**" là kết quả mới, không trùng lặp với kết quả của các luận án và công trình đã công bố.

Hà Nội, ngày 20 tháng 10 năm 2021

Nguyễn Khắc Thất

Lời cảm ơn

Lời đầu tiên, tôi xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc đến TS. Nguyễn Trần Linh và PGS.TS. Lê Ngọc Hà là những người thầy đáng kính đã tận tình hướng dẫn, giúp đỡ tôi trong suốt quá trình nghiên cứu và hoàn thành luận án này.

Tôi xin bày tỏ lòng biết ơn chân thành Bộ môn Bào chế, Bộ môn Công nghiệp Dược, Bộ môn Dược lý, Ban Giám hiệu, phòng Đào tạo Sau đại học - Trường Đại học Dược Hà Nội.

Tôi xin trân trọng cảm ơn Trung tâm máy gia tốc, Khoa Y học Hạt nhân - Bệnh viện Trung Ương Quân Đội 108, Viện Kỹ thuật Hạt nhân đã nhiệt tình giúp đỡ tôi trong quá trình học tập và nghiên cứu.

Tôi xin chân thành biết ơn Thủ trưởng Bệnh viện Trung Ương Quân Đội 108 đã tạo mọi điều kiện về vật chất và tinh thần giúp đỡ tôi trong thời gian nghiên cứu và hoàn thành luận án này.

Cuối cùng, tôi vô cùng biết ơn cha mẹ, vợ con, người thân, bạn bè và đồng nghiệp đã luôn bên cạnh và động viên tôi trong quá trình học tập cũng như trong cuộc sống.

Luận án được hỗ trợ một phần từ đề tài Khoa học và Công nghệ "Nghiên cứu điều chế thuốc phóng xạ ^{18}F -SODIUM FLUORIDE và ^{32}P -CHROMIC PHOSPHATE.

Hà Nội, ngày 20 tháng 10 năm 2021

Nguyễn Khắc Thất

Mục lục

Lời cam đoan	i
Lời cảm ơn	ii
Danh sách thuật ngữ viết tắt	vi
Danh sách các bảng	vii
Danh sách hình vẽ	ix
Đặt vấn đề	1
Chương 1 Tổng quan	3
1.1 Giới thiệu về kỹ thuật chụp hình phân tử	3
1.2 Vai trò của dược chất phóng xạ trong kỹ thuật chụp hình PET	4
1.3 Hóa phóng xạ của ^{18}F	5
1.3.1 Khái niệm chung về hóa phóng xạ	5
1.3.2 Hóa phóng xạ của ^{18}F	6
1.3.3 Điều chế dược chất phóng xạ dán nhãn ^{18}F cho PET	8
1.4 Tự động hóa và tự động trong sản xuất ^{18}F -NaF	9
1.4.1 Thiết bị tự động trong tổng hợp hóa phóng xạ ^{18}F	10
1.4.2 Một số module điều chế ^{18}F -NaF	11
1.4.3 Quy trình điều chế ^{18}F -NaF trên một số module tự động	12
1.5 Các tiêu chuẩn kiểm nghiệm ^{18}F -NaF theo một số Dược điển	13
1.6 Vai trò của ^{18}F -NaF PET/CT trong lâm sàng	15
Chương 2 Đối tượng, nguyên liệu, thiết bị và phương pháp nghiên cứu	20
2.1 Đối tượng nghiên cứu	20
2.2 Nguyên liệu, hóa chất và thiết bị	20
2.2.1 Nguyên liệu, hóa chất	20
2.2.2 Thiết bị	21
2.3 Phương pháp nghiên cứu	22
2.3.1 Nghiên cứu gia công kit điều chế ^{18}F -NaF và chế tạo module	22
2.3.2 Phương pháp điều chế ^{18}F -NaF	23

2.3.3 Phương pháp đánh giá chất lượng và tính chất của sản phẩm . . .	25
2.3.4 Thẩm định quy trình điều chế $^{18}\text{F-NaF}$	28
2.3.5 Đánh giá khả năng ứng dụng và độc tính cấp của $^{18}\text{F-NaF}$. . .	29
2.3.6 Phương pháp xử lý số liệu	34
Chương 3 Kết quả nghiên cứu	35
3.1 Chế tạo module và kit tổng hợp dược chất phóng xạ $^{18}\text{F-NaF}$	35
3.1.1 Chế tạo bộ kit tổng hợp $^{18}\text{F-NaF}$	35
3.1.2 Thiết kế tổng thể module	36
3.1.3 Thiết kế tổng thể bộ điều khiển	37
3.1.4 Chế tạo module điều chế $^{18}\text{F-NaF}$	37
3.1.5 Đánh giá độ ổn định hoạt động của kit và module tự chế tạo . . .	40
3.1.6 Bước đầu thử nghiệm trên mẫu nóng	42
3.2 Chuẩn hóa phương pháp xác định độ tinh khiết hóa phóng xạ	44
3.2.1 Dựng đường chuẩn	44
3.2.2 Độ chính xác	44
3.2.3 Độ đúng	45
3.2.4 Độ lặp lại	46
3.2.5 Chuẩn hóa nhận diện và độ tinh khiết hóa phóng xạ	47
3.3 Xác định độ pha loãng mẫu $^{18}\text{F-NaF}$ phù hợp với mẫu thử nhanh . . .	49
3.4 Nghiên cứu xây dựng quy trình điều chế $^{18}\text{F-NaF}$	50
3.4.1 Ảnh hưởng của thể tích dung dịch NaCl 0,9% và nước rửa	50
3.4.2 Ảnh hưởng của thời gian đến hiệu suất điều chế	52
3.4.3 Điều chế $^{18}\text{F-NaF}$ quy mô 100 mCi/mẻ	53
3.4.4 Quy trình điều chế $^{18}\text{F-NaF}$ quy mô 1000 mCi/mẻ	54
3.5 Đề xuất tiêu chuẩn chất lượng của $^{18}\text{F-NaF}$	58
3.5.1 Yêu cầu về chất lượng sản phẩm	58
3.5.2 Phương pháp thử	59
3.6 Đánh giá độ ổn định của $^{18}\text{F-NaF}$	60
3.7 Thẩm định quy trình điều chế $^{18}\text{F-NaF}$	62
3.7.1 Mục đích yêu cầu	62
3.7.2 Phạm vi áp dụng	62
3.7.3 Danh mục thiết bị	62
3.7.4 Thông số thẩm định	62
3.7.5 Kết quả thẩm định các thông số trọng yếu	69
3.8 Thử nghiệm phân bố phóng xạ của $^{18}\text{F-NaF}$ trên chuột nhắt	69
3.9 Đánh giá phân bố phóng xạ của $^{18}\text{F-NaF}$ trên thỏ	74
3.9.1 Đánh giá phân bố $^{18}\text{F-NaF}$ ở hệ thống xương	74

3.9.2 So sánh bán định lượng hoạt độ phóng xạ $^{18}\text{F-NaF}$	75
3.9.3 So sánh hình ảnh chụp $^{18}\text{F-NaF}$ PET/CT với $^{99m}\text{Tc-MDP}$ SPECT	80
3.10 Nghiên cứu độc tính của $^{18}\text{F-NaF}$ trên động vật	81
3.10.1 Ảnh hưởng của $^{18}\text{F-NaF}$ đến tình trạng toàn thân	81
3.10.2 Ảnh hưởng của $^{18}\text{F-NaF}$ đến các thông số huyết học	82
3.10.3 Ảnh hưởng của $^{18}\text{F-NaF}$ đến các thông số sinh hóa	84
3.10.4 Thay đổi về mô bệnh học	86
Chương 4 Bàn luận	90
4.1 Xây dựng được công thức và điều chế $^{18}\text{F-NaF}$ tự động	90
4.1.1 kit tổng hợp $^{18}\text{F-NaF}$	90
4.1.2 Module điều khiển kit tổng hợp tự động	93
4.1.3 Một số yếu tố ảnh hưởng đến hiệu suất tổng hợp $^{18}\text{F-NaF}$	95
4.2 Một số lưu ý trong quy trình điều chế $^{18}\text{F-NaF}$	96
4.3 Chất lượng của $^{18}\text{F-NaF}$	97
4.3.1 Vai trò của cột cationit (Carboxyl methyl, CM)	97
4.3.2 Vai trò của cột QMA	98
4.3.3 Chất lượng của $^{18}\text{F-NaF}$	99
4.4 Thẩm định quy trình tổng hợp $^{18}\text{F-NaF}$	101
4.5 Đánh giá tiền lâm sàng của $^{18}\text{F-NaF}$ trên mô hình động vật	102
4.5.1 Phân bố hoạt độ phóng xạ $^{18}\text{F-NaF}$ ở xương và một số cơ quan	102
4.5.2 Độc tính cấp của $^{18}\text{F-NaF}$ trên chuột	106
4.6 Ý nghĩa thực tiễn của đề tài	107
Kết luận	109
Đề xuất	110
Danh mục các công trình đã công bố	111
Tài liệu tham khảo	112
Phụ lục	122

Danh sách thuật ngữ viết tắt

STT	Tên	Viết tắt
1	Cộng sự	CS
2	Cột trao đổi ion mạnh	SAX
3	Chụp cắt lớp vi tính	CT
4	Chụp cắt lớp vi tính phát xạ đơn photon	SPECT
5	Chụp cộng hưởng từ	MRI
6	Cục quản lý thực phẩm và dược phẩm Haa Kỳ	FDA
7	Dược chất phóng xạ	DCPX
8	Dược điển Anh	BP
9	Dược điển Châu Âu	EP
10	Dược điển Mỹ	USP
11	Đồng vị phóng xạ	ĐV PX
12	Hiệu suất	EOS
13	Hiệu suất hiệu chỉnh	EOB
14	Hóa phóng xạ	HPX
15	Hoạt độ phóng xạ	HĐPX
16	Hoạt độ phóng xạ riêng	HĐPXR
17	Hội hóa học thế giới	IUPAC
18	Mức pha loãng chuẩn tối đa	MVD
19	Phương pháp xét nghiệm nội độc tố vi khuẩn	LAL
20	Phương pháp tách chất pha rắn	SPE
21	Sắc ký bản mỏng	TLC
22	Sắc ký lỏng hiệu năng cao áp	HPLC
23	Tổ chức Hợp tác và Phát triển kinh tế	OECD
24	Trung Ương Quân Đội 108	TUWQDD108
25	Thiết bị kiểm nghiệm thuốc	PTS
26	Natri clorid	dung dịch NaCl
27	Fluorodeoxyglucose	¹⁸ F-FDG
28	¹⁸ F-sodium fluoride	¹⁸ F-NaF
29	¹⁸ F-fluoromethylcholine	¹⁸ F-FCH
30	¹⁸ F-fluorothymidine	¹⁸ F-FLT
31	^{99m} Tc-methylen diphosphat	^{99m} Tc-MDP

Danh sách bảng

1.1 So sánh một số đặc điểm của các kỹ thuật chụp hình phân tử	4
1.2 Một số đồng vị phóng xạ cho PET	5
1.3 Một số module điều chế $^{18}\text{F-NaF}$	12
1.4 Kết quả tổng hợp $^{18}\text{F-NaF}$ trên một số module	12
1.5 Chỉ tiêu yêu cầu đối với $^{18}\text{F-NaF}$ theo một số Dược điển	14
1.6 So sánh đặc tính hoá dược phóng xạ của $^{18}\text{F-NaF}$ và $^{99m}\text{Tc-MDP}$. .	17
1.7 So sánh xạ hình xương với $^{18}\text{F-NaF}$ và ^{99m}Tc	18
2.1 Nguyên liệu, hóa chất sử dụng trong nghiên cứu	20
2.2 Thành phần công thức dược chất phóng xạ $^{18}\text{F-NaF}$	23
2.3 Các thông số chính trong tổng hợp và chia liều $^{18}\text{F-NaF}$	24
2.4 Các chỉ tiêu yêu cầu chuẩn hóa theo ICH Q2(R1)	26
2.5 Bảng thông số kiểm tra nội độ tổ trên PTS	27
3.1 Các bước vận hành kit.	36
3.2 Kết quả kiểm tra độ ổn định của kit và module	41
3.3 Kết quả kiểm tra sai số vận chuyển dung môi	41
3.4 Hiệu suất điều chế của mẫu $^{18}\text{F-NaF}$	42
3.5 Các chỉ tiêu kiểm nghiệm trên 3 mẫu $^{18}\text{F-NaF}$	42
3.6 Diện tích đỉnh của NaF có nồng độ từ 0,1-5 mg/ml	44
3.7 Độ chính xác của phương pháp HPLC đối với NaF	45
3.8 Độ đúng của phương pháp HPLC đối với NaF	46
3.9 Độ lặp lại của phương pháp HPLC đối với NaF	46
3.10 Chuẩn hóa nhận diện $^{18}\text{F-NaF}$	47
3.11 Độ tuyến tính của độ tinh khiết hóa phóng xạ	48
3.12 Độ chính xác của phương pháp HPLC với $^{18}\text{F-NaF}$	49
3.13 Kết quả phân tích nội độ tổ vi khuẩn trên máy PTS	50
3.14 Ảnh hưởng của thể tích dung dịch NaCl 0,9% và nước cất	51
3.15 Ảnh hưởng của thời gian đến hiệu suất điều chế $^{18}\text{F-NaF}$	52
3.16 Hoạt độ $^{18}\text{F-NaF}$ thu được khi bắn bia với thời gian 5 phút	53
3.17 Công thức dược chất phóng xạ $^{18}\text{F-NaF}$	54
3.18 Ảnh hưởng của thời gian bắn bia lên sản lượng $^{18}\text{F-NaF}$	57

3.19 Độ ổn định của $^{18}\text{F-NaF}$	61
3.20 Các thông số thẩm định trong quá trình sản xuất $^{18}\text{F-NaF}$	63
3.21 Kết quả thẩm định các thông số trọng yếu	69
3.22 Khối lượng cơ thể chuột nhắt ở các lô tại thời điểm 24 giờ sau khi tiêm	81
3.23 Khối lượng cơ thể chuột nhắt ở các lô tại thời điểm 14 ngày	82
3.24 Các thông số huyết học của chuột nhắt trắng tiêm $^{18}\text{F-NaF}$	83
3.25 Các thông số huyết học của chuột nhắt trắng tiêm $^{18}\text{F-NaF}$	83
3.26 Các thông số sinh hóa của chuột nhắt trắng tiêm $^{18}\text{F-NaF}$	85
3.27 Các thông số sinh hóa của chuột nhắt trắng tiêm $^{18}\text{F-NaF}$	85
3.28 Tỷ lệ khối lượng các cơ quan so với khối lượng cơ thể của chuột	87
3.29 Tỷ lệ khối lượng các cơ quan so với khối lượng cơ thể của chuột	88

Danh sách hình vẽ

1.1	Sơ đồ tổng hợp các chất ^{18}F -fluorid hóa bằng phản ứng thế ái điện tử.	6
1.2	Tổng hợp $[^{18}\text{F}]\text{FDOPA}$ bằng phản ứng thế ái điện tử	7
1.3	Tổng hợp $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ bằng phản ứng thế ái nhân	8
1.4	Quá trình điều chế dược chất phóng xạ cho PET	8
1.5	Phương pháp tách chiết pha rắn	9
1.6	Sơ đồ các bước điều chế ^{18}F -NaF.	13
1.7	Hình ảnh di căn xương ở bệnh nhân ung thư vú	16
1.8	So sánh hình ảnh xạ hình xương ^{99m}Tc -MDP SPECT và ^{18}F -NaF PET	18
2.1	Sơ đồ quy trình điều chế ^{18}F -NaF	24
2.2	Hình ảnh chụp hình ^{18}F -NaF PET/CT trên thỏ	31
2.3	Hình ảnh độ hấp thu ^{18}F -NaF PET/CT trên động vật thực nghiệm . .	32
3.1	kit tổng hợp ^{11}C -Choline của Bioscan (trái) và kit tổng hợp	35
3.2	Mô hình 3D của module điều chế ^{18}F -NaF	36
3.3	Sơ đồ nguyên lý Bộ điều khiển module điều chế ^{18}F -NaF.	37
3.4	Bộ điều khiển module tổng hợp ^{18}F -NaF	38
3.5	Mạch in trong phần cứng của module tổng hợp ^{18}F -NaF.	38
3.6	Giao diện phần mềm điều khiển module điều chế ^{18}F -NaF.	39
3.7	Các trạng thái của pít tông trên phần mềm.	39
3.8	Các trạng thái của van trên phần mềm	39
3.9	Hình ảnh module tổng hợp ^{18}F -NaF hoàn thiện.	40
3.10	Thời gian lưu của NaF trên HPLC	43
3.11	Thời gian lưu của ^{18}F -NaF trên HPLC	43
3.12	Đồ thị tương quan giữa diện tích đỉnh nồng độ NaF trên HPLC . . .	45
3.13	Đồ thị biểu diễn độ tuyến tính của độ tinh khiết hóa phóng xạ . . .	48
3.14	Lưu đồ điều chế ^{18}F -NaF	56
3.15	Mối quan hệ giữa thời gian bắn bia và hoạt độ phóng xạ ^{18}F -NaF . .	58
3.16	Mối quan hệ giữa cường độ dòng và sản lượng ^{18}F -NaF	59
3.17	Sự thay đổi theo thời gian của hoạt độ phóng xạ ở các mô, cơ quan .	70
3.18	Sự biến đổi hoạt độ phóng xạ ^{18}F -NaF trong máu theo thời gian . .	70
3.19	Sự biến đổi về mức độ bắt giữ ^{18}F -NaF ở xương theo thời gian . . .	71

3.20	Sự biến đổi về mức độ bắt giữ $^{18}\text{F-NaF}$ ở cơ theo thời gian	71
3.21	Sự thay đổi tỷ lệ hoạt độ phóng xạ của xương/cơ theo thời gian	72
3.22	Sự thay đổi tỷ lệ hoạt độ phóng xạ ở thận theo thời gian	73
3.23	Sự thay đổi tỷ lệ hoạt độ phóng xạ ở thận theo thời gian	73
3.24	Hình ảnh phân bố phóng xạ $^{18}\text{F-NaF}$ ở hệ thống xương	74
3.25	Mức độ hấp thu $^{18}\text{F-NaF}$ ở xương và cơ quan, tổ chức	75
3.26	So sánh mức độ bắt giữ $^{18}\text{F-NaF}$ ở các xương chi và xương trục	76
3.27	Đặc điểm hấp thu $^{18}\text{F-NaF}$ ở các xương trục	76
3.28	So sánh hoạt độ $^{18}\text{F-NaF}$ ở các xương chi trên và chi	77
3.29	Mức độ bắt giữ $^{18}\text{F-NaF}$ ở xương và phong cơ thể theo thời gian	78
3.30	So sánh tỷ lệ hoạt độ phóng xạ $^{18}\text{F-NaF}$ ở xương và phong cơ thể	79
3.31	Đặc điểm phân bố $^{18}\text{F-NaF}$ ở xương, mô, cơ quan và phong cơ thể	79
3.32	Hình ảnh chụp $^{18}\text{F-NaF}$ PET	80
3.33	Hình ảnh chụp $^{99m}\text{Tc-MDP}$ SPECT	80
4.1	Lưu đồ tổng hợp $^{18}\text{F-NaF}$ trên kit Tracerlab FX-FN	91
4.2	Lưu đồ tổng hợp F-NaF trên kit GE Health Care	92
4.3	kit tổng hợp $^{18}\text{F-NaF}$ của hãng GE	93
4.4	kit tổng hợp $^{18}\text{F-NaF}$ của hãng IBA	93
4.5	Mô bệnh học gan của chuột nhắt trắng cái tiêm $^{18}\text{F-NaF}$	125

ĐẶT VẤN ĐỀ

Kỹ thuật chụp hình cắt lớp phát bức xạ positron (PET) khi kết hợp với kỹ thuật chụp cắt lớp vi tính (CT) được gọi là PET/CT. Ngày nay, PET/CT là kỹ thuật hiện đại, cho kết quả chính xác do kết hợp giữa hình ảnh chức năng tế bào của PET và hình ảnh giải phẫu của CT. PET là kỹ thuật không xâm lấn, được sử dụng rộng rãi trong tiền lâm sàng và lâm sàng ở mức độ phân tử. PET/CT có giá trị cao trong chẩn đoán và đánh giá các giai đoạn ung thư, Alzheimer, tưới máu cơ tim cũng như lập kế hoạch xạ trị và hóa trị [4], [7], [43], [89].

Trong các dược chất phóng xạ (DCPX) được sử dụng cho PET/CT thì ^{18}F -fluorodeoxyglucose (^{18}F -FDG) là DCPX phổ biến nhất. Nhưng kỹ thuật PET sử dụng ^{18}F -FDG đôi khi gây dương tính giả với những tổ chức viêm hoặc vị trí mới phẫu thuật do ^{18}F -FDG bị hấp thu cao tại những vị trí đó. Bên cạnh đó, những khối u hấp thu glucose thấp sẽ cho kết quả âm tính giả, làm giảm độ chính xác của kỹ thuật PET/CT. Do đó, việc nghiên cứu sản xuất các DCPX khác để khắc phục nhược điểm của ^{18}F -FDG trong kỹ thuật PET/CT là rất cần thiết. Trong đó, phải kể đến DCPX ^{18}F -natri fluorid (^{18}F -NaF hay còn gọi là Natri fluorid), được sử dụng để chẩn đoán nhiều bệnh lý về xương như ung thư xương nguyên phát hoặc di căn căn xương. Hiện nay, chưa có cơ sở nào tại Việt Nam sản xuất được ^{18}F -NaF và cũng không thể nhập khẩu được do thời gian bán rã của ^{18}F -NaF ngắn (110 phút).

Cũng như các DCPX khác cho PET, PET/CT, ^{18}F -NaF được điều chế trên các module tổng hợp hóa phóng xạ (HPX) tự động và sử dụng các ĐVPX phát positron tạo ra từ máy gia tốc vòng (cyclotron). Các module tự động đóng vai trò rất quan trọng trong quy trình điều chế DCPX cho PET/CT vì chúng điều khiển quá trình tổng hợp, tinh chế sản phẩm và đảm bảo an toàn bức xạ. Bên cạnh đó, quá trình điều chế DCPX có rất nhiều yếu tố ảnh hưởng đến hiệu suất phản ứng vì nồng độ ĐVPX tham gia phản ứng chỉ cỡ nanomol. Để có các module tự động, các trung tâm cyclotron có thể mua từ các hãng nổi tiếng trên thế giới với chi phí cao và việc nhập khẩu thiết bị phụ thuộc nhiều vào nhà cung cấp. Do đó, việc tự nghiên cứu thiết kế, chế tạo sẽ giảm được chi phí đầu tư cũng như có thể làm chủ kỹ thuật trong quy trình sử dụng.

Từ những phân tích trên cho thấy, việc nghiên cứu phát triển DCPX ^{18}F -NaF cho PET/CT ở Việt Nam là vấn đề rất cấp bách nhằm phục vụ cho nhu cầu

của bệnh nhân cũng như thúc đẩy sự phát triển của nền Y học Hạt nhân (YHHN) nước nhà. Do đó, nhóm nghiên cứu chúng tôi thực hiện đề tài: **“Nghiên cứu xây dựng quy trình điều chế dược chất phóng xạ $^{18}\text{F-NaF}$ cho PET/CT”** với các mục tiêu sau:

1. Xây dựng quy trình điều chế dược chất phóng xạ $^{18}\text{F-NaF}$ tự động hoàn toàn trên bộ kit và module tự thiết kế, tích hợp được với hệ thống cyclotron 30 MeV đạt tiêu chuẩn Dược điển Mỹ (USP) 2020 tại Bệnh viện Trung ương Quân đội 108.
2. Đánh giá khả năng ứng dụng và tính an toàn của dược chất phóng xạ $^{18}\text{F-NaF}$ trên động vật thực nghiệm cho phát triển kỹ thuật ghi hình $^{18}\text{F-NaF}$ PET/CT.

Chương 1

TỔNG QUAN

1.1 Giới thiệu về kỹ thuật chụp hình phân tử

Chụp hình phân tử là kỹ thuật chụp hình để quan sát được các hoạt động sinh học và sinh hóa ở mức độ phân tử của các đối tượng sống, không xâm lấn [43]. Chụp hình phân tử như chụp hình cắt lớp phát xạ positron (PET) và chụp cắt lớp vi tính phát xạ đơn photon (SPECT) sử dụng năng lượng và thiết bị thu nhận khác nhau cho các ứng dụng tương ứng [4], [7], [89]. Các kỹ thuật chụp hình này cung cấp độ phân giải không gian và phát hiện những thay đổi giải phẫu các bệnh lý tốt hơn các kỹ thuật chụp hình khác như cộng hưởng từ (MRI), siêu âm, chụp cắt lớp vi tính (CT)...[29], [88], [95]. Kỹ thuật SPECT sử dụng gamma camera quay xung quanh bệnh nhân để phát hiện sự phân bố phóng xạ trong cơ thể. Tia gamma có mức độ đâm xuyên tốt nhưng kỹ thuật SPECT bị hạn chế về độ phân giải không gian, do đó hạn chế trong chụp hình phân tử [31]. Chụp hình PET cho hình ảnh không gian 3 chiều bằng cách tái tạo lại dữ liệu ghi được của các cặp photon phát ra từ hiện tượng hủy hạt của các ĐVPX phát positron xảy ra trong cơ thể sống [79]. PET thích hợp cho chụp hình trong ung thư vì có độ nhạy cao, đâm xuyên đủ sâu và độ phân giải không gian tốt hơn SPECT. PET và SPECT khi kết hợp với CT có thể cung cấp thông tin chi tiết về giải phẫu và chức năng của các cơ quan và mô [27], [52]. Các công nghệ chụp hình phân tử như chụp hình huỳnh quang và chụp hình phát quang sinh học, có thể cung cấp hình ảnh có độ nhạy cao bằng cách lựa chọn các đầu dò hình ảnh thích hợp, nhưng có hạn chế về độ đâm xuyên [43]. So sánh những đặc trưng của các kỹ thuật chụp hình được thể hiện trong Bảng 1.1.

Bảng 1.1. So sánh một số đặc điểm của các kỹ thuật chụp hình phân tử [85]

Kỹ thuật	Giới hạn độ phân giải không gian	Giới hạn phát hiện đồng vị/Nồng độ thuốc cản quang (mol/kg)
MRI	1.0	10^{-5}
CT	0.3	10^{-3}
Siêu âm	0.3 (5 MHz)	Khó định lượng bằng thuốc cản quang
SPECT	7	$10^{-8} - 10^{-10}$
PET	3	$10^{-9} - 10^{-12}$

1.2 Vai trò của dược chất phóng xạ trong kỹ thuật chụp hình PET

DCPX là hợp chất chứa ĐVPX gắn với chất mang được dùng để chẩn đoán hoặc điều trị các bệnh lý, đặc biệt các bệnh lý về ung thư. Một số ĐVPX phát xạ tia beta (β) hoặc tia gamma (γ) được sử dụng để xạ trị ngoài (ví dụ: ^{60}Co , ^{137}Cs , ^{192}Ir ...). Một số ĐVPX phát xạ tia β khác như ^{14}C , ^{35}S ...ban đầu chỉ được sử dụng để nghiên cứu nhưng hiện nay, hầu hết được sử dụng trên cơ thể người. Một số DCPX dán nhãn với ĐVPX ^{99m}Tc phát xạ tia γ , được sử dụng rộng rãi trong kỹ thuật SPECT hay các ĐVPX có chu kỳ bán rã ngắn phát xạ positron dùng trong PET như ^{11}C , ^{18}F , ^{64}Cu ...Hoặc một số ĐVPX sử dụng trong điều trị ung thư như ^{90}Y ...Có những ĐVPX vừa dùng trong PET, vừa có thể điều trị ung thư như ^{67}Cu ...[75]. Để đánh giá hoạt động chức năng của một cơ quan, mô nào đó thì cần đưa DCPX thích hợp, chúng sẽ tập trung đặc hiệu tại cơ quan cần khảo sát. Theo dõi quá trình chuyển hoá, đường đi của ĐVPX có trong DCPX, có thể đánh giá tình trạng chức năng của cơ quan, mô cần nghiên cứu qua việc đo hoạt độ phóng xạ ở các cơ quan này nhờ các ống đếm đặt ngoài cơ thể tương ứng với cơ quan cần khảo sát.

Trong kỹ thuật PET, các ĐVPX phát xạ positron, các positron gặp các electron lân cận sẽ kết hợp và xảy ra hiện tượng "hủy cặp", tạo ra cặp photon có năng lượng 511 keV, được ghi nhận trong detector và tạo hình PET. Ba tiêu chí cơ bản cho một ĐVPX phát positron được sử dụng trong PET: năng lượng positron thấp, cường độ positron cao và không có tia γ . Một số ĐVPX như ^{11}C , ^{13}N , ^{15}O , ^{18}F và ^{64}Cu , ^{67}Cu được sản xuất trên cyclotron hoặc từ các máy phát (generator) như $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ và $^{82}\text{Sr}/^{82}\text{Rb}$ đáp ứng cả ba tiêu chí trên, là ứng cử viên vàng để điều chế DCPX cho kỹ thuật PET (bảng 1.2). Hiện nay, tại Việt Nam

đã có một vài trung tâm cyclotron sản xuất được ĐVPX ^{18}F cũng như điều chế được DCPX ^{18}F -FDG. Đó là tiền đề, là cơ sở để tiếp tục nghiên cứu sản xuất các DCPX khác dẫn nhán ĐVPX ^{18}F ngoài ^{18}F -FDG cho các chẩn đoán khác. Một trong những DCPX đó là ^{18}F -NaF cho xạ hình xương.

Bảng 1.2. Một số đồng vị phóng xạ cho PET [85]

Đồng vị phóng xạ	Nguồn	Năng lượng β^+ (MeV)	Chu kỳ bán rã
^{11}C	Cyclotron	0,959	20 phút
^{13}N	Cyclotron	1,197	9,97 phút
^{15}O	Cyclotron	1,738	2,03 phút
^{18}F	Cyclotron	0,635	110 phút
^{124}I	Cyclotron	2,13	4,2 ngày
^{68}Ga	Generator	1,9	68 phút
^{64}Cu	Cyclotron	2,91	12,8 giờ
^{82}Rb	Generator	3,15	76 giây

1.3 Hóa phóng xạ của ^{18}F

1.3.1 Khái niệm chung về hóa phóng xạ

Hóa phóng xạ (HPX) được hiểu là “hóa học của các chất phóng xạ trong tự nhiên cũng như nhân tạo” [61]. Khác với hóa học thông thường, HPX có những đặc tính riêng được xác định bởi lượng chất phóng xạ tham gia phản ứng vô cùng nhỏ [74]. Ví dụ, với ^{18}F -FDG, liều sử dụng cho một bệnh nhân (BN) khoảng 10 mCi với lượng ^{18}F chỉ khoảng 10^{-10}g . Trong các quá trình hóa học, tỷ lệ tham gia phản ứng của mỗi chất chịu ảnh hưởng bởi nhiều yếu tố như nồng độ chất tham gia phản ứng, các bước tạo phản ứng, áp suất, nhiệt độ, dung môi, chất xúc tác và tiết diện phản ứng [44]. Trong đó, nồng độ chất tham gia phản ứng và trình tự các bước phản ứng có ảnh hưởng nhiều hơn đến quá trình tổng hợp HPX. Vì nồng độ các chất phóng xạ tham gia phản ứng siêu nhỏ nên việc tổng hợp HPX luôn là một thách thức bởi chúng dễ dàng bị hấp phụ lên bề mặt của dụng cụ tổng hợp, kể cả màng lọc. Khó khăn trong việc tổng hợp HPX được giải quyết bằng cách sử dụng thêm các chất là đồng vị bền của chất phóng xạ tham gia phản ứng, nhằm giảm sự hao hụt của ĐVPX đó. DCPX có thành phần là ĐVPX và các chất mang. Chất mang được định nghĩa trong Sách Vàng (Gold Book) của Hội hóa học

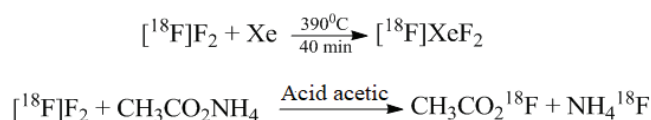
thế giới (IUPAC) như sau: “Chất mang hay còn gọi là chất đánh dấu là chất được cho thêm vào với một lượng thích hợp để kết hợp với một chất nhất định nhằm vận chuyển chất đó trong các quá trình lý hay hóa học”. Trong quá trình tổng hợp HPX sử dụng chất đánh dấu thì có thể làm giảm hoạt độ phóng xạ riêng (HĐPXR). HĐPXR của một chất phóng xạ được định nghĩa theo IUPAC là “với một ĐVPX nhất định hoặc một hỗn hợp các ĐVPX, HĐPXR riêng được xác định bằng cách lấy tổng hoạt độ phóng xạ chia cho khối lượng của chúng” [61].

1.3.2 Hóa phóng xạ của ^{18}F

^{18}F được tạo ra từ lò phản ứng hạt nhân và các máy gia tốc dưới hai dạng chính là $[^{18}\text{F}]\text{F}_2$ [82] và $^{18}\text{F}[\text{F}^-]$ [73]. $[^{18}\text{F}]\text{F}_2$ ở dạng khí được sử dụng cho các phản ứng thế ái điện tử, $^{18}\text{F}[\text{F}^-]$ có dạng dung dịch và được sử dụng trong các phản ứng thế ái nhân [53].

a. Phản ứng thế ái điện tử của $[^{18}\text{F}]\text{F}_2$

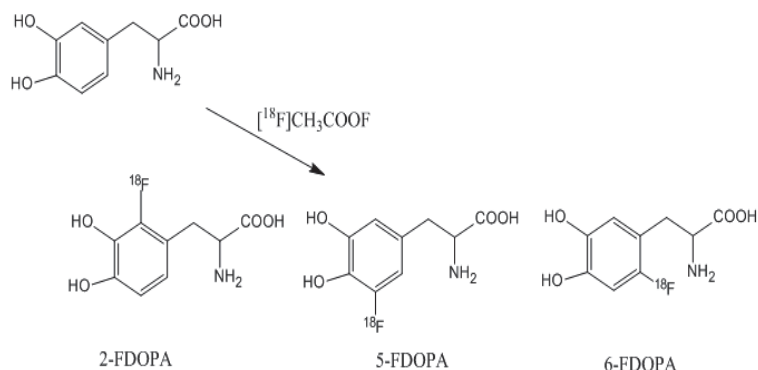
$[^{18}\text{F}]\text{F}_2$ tồn tại ở dạng khí, khả năng hoạt động cũng như khả năng ăn mòn mạnh, do đó, rất khó tổng hợp HPX của ^{18}F . Để giải quyết vấn đề này, cần bổ sung các chất mang như amoni acetat và xenon vào $[^{18}\text{F}]\text{F}_2$. Khi đó, $[^{18}\text{F}]\text{F}_2$ ít hoạt động hơn và trở thành chất Flo hóa chọn lọc, như xenondifluorid [87] và acetylhypofluorid [50] (hình 1.1).



Hình 1.1. Sơ đồ tổng hợp các chất ^{18}F -fluorid hóa bằng phản ứng thế ái điện tử.

Những chất mang chứa Flo được sử dụng để vận chuyển các ion Flo tới các chất giàu điện tử như carbanion và các hợp chất thơm, những chất không thể tham gia phản ứng thế ái nhân trực tiếp (hình 1.2) [2], [3]. Vì sử dụng chất mang nên quá trình flo hóa ái điện tử thường cho sản phẩm có hoạt độ phóng xạ riêng thấp, có thể tạo ra một số sản phẩm phụ không mong muốn và bị hạn chế sử dụng trong một số trường hợp. Để hạn chế việc tạo ra các sản phẩm phụ không mong muốn, người ta sử dụng một số phản ứng hóa học để bảo vệ các nhóm chức của

các chất đích trước khi tiến hành flo hóa nhằm làm tăng hiệu suất đánh dấu phóng xạ của các chất mang chứa Flo [17], [28].

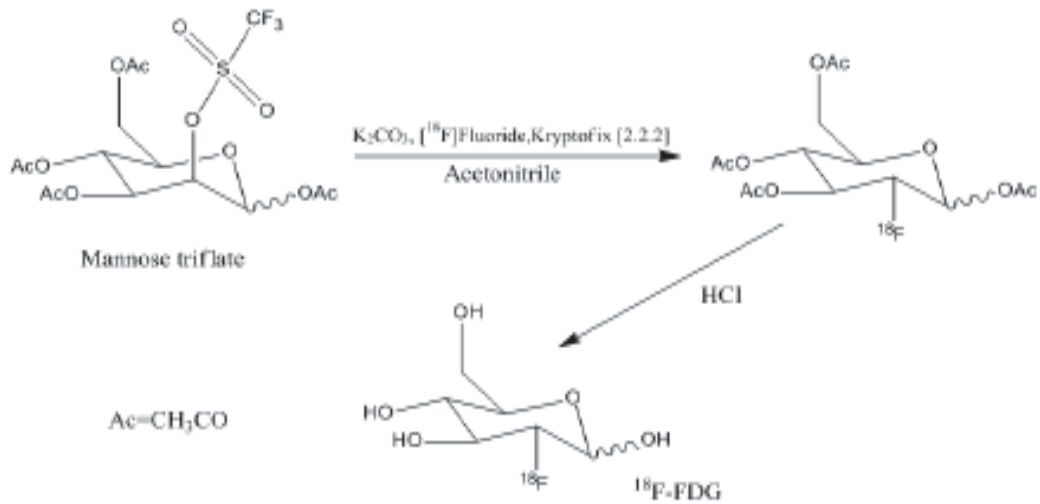


Hình 1.2. Tổng hợp $[^{18}\text{F}]\text{FDOPA}$ bằng phản ứng thế ái điện tử [3].

b. Phản ứng fluorid hóa ái nhân của ^{18}F

$[^{18}\text{F}]\text{F}_2$ và ion $^{18}\text{F}^-$ được tạo ra từ cyclotron bằng phản ứng hạt nhân $^{18}\text{O}(\text{p},\text{n})^{18}\text{F}$ trong phương pháp tổng hợp HPX không có chất mang [51]. $^{18}\text{F}^-$ hoàn toàn không hoạt động trong nước. Do vậy, cần sử dụng những phương pháp khác để tăng cường khả năng thế ái nhân của nó.

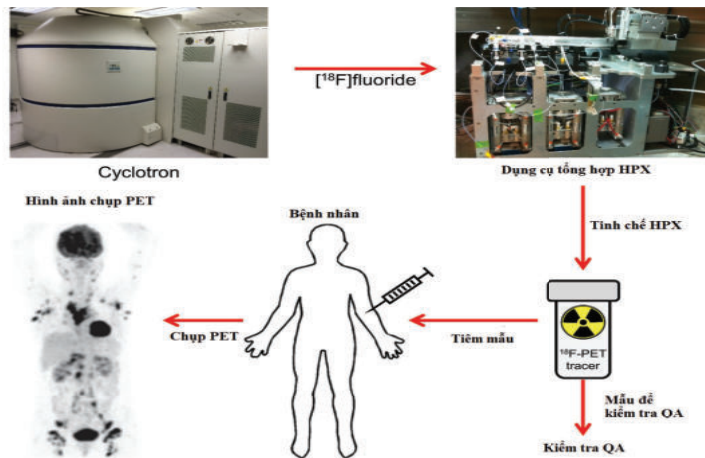
Các anion $^{18}\text{F}^-$ được tạo ra từ phản ứng bắn phá nước giàu ^{18}O dễ dàng tạo muối với các kim loại kiềm như kali fluorid, cesi fluorid hay bạc forid và với ion H^+ trong nước để tạo thành hydro fluorid. Để loại các tạp chất thì dung dịch chứa $^{18}\text{F}^-$ được cho qua một cột trao đổi anion để bắt aion ^{18}F -fluorid, sau đó sử dụng các chất xúc tác chuyển pha trong dung môi lưỡng cực aprotic như kali/kriptofix222 trong acetonitril hay muối tetraalkylamoni trong dimetylformamid đi qua cột để bắt $^{18}\text{F}^-$. Theo phương pháp này, các bazơ như kali oxalat, kali carbonat được cho thêm vào cùng các chất xúc tác chuyển pha trong dung môi lưỡng cực Aprotic nhằm chặn các phản ứng tạo ra hydro fluorid [55]. Tiếp theo, hòa tan đẳng phí nhiều lần với acetonitril nhằm loại bỏ nước dư để thu được các ion flo khan. Phản ứng thế flo ái nhân tiếp theo với dẫn chất thơm hay các chất béo được thực hiện một cách dễ dàng và tạo ra DCPX với hoạt độ phóng xạ riêng cao [39], [72], [81].



Hình 1.3. Tổng hợp $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ bằng phản ứng thế ái nhân [2], [3].

1.3.3 Điều chế dược chất phóng xạ dán nhãn ^{18}F cho PET

Quá trình điều chế một DCPX dùng cho PET, đặc biệt là các DCPX gắn ^{18}F như $^{18}\text{F}\text{-FDG}$ hay $^{18}\text{F}\text{-NaF}$ là quá trình gắn ^{18}F vào chất mang, sau đó, tinh chế và tách chiết được DCPX ở dạng thuốc tiêm như hình 1.4 [44].



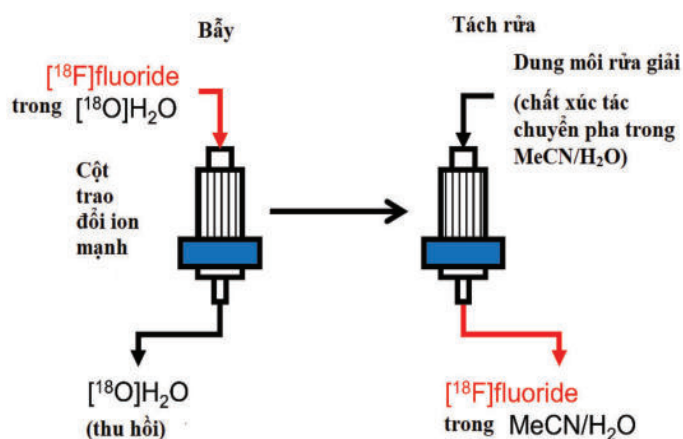
Hình 1.4. Quá trình điều chế dược chất phóng xạ cho PET [44]

^{18}F được sản xuất theo nhiều phương pháp, phương pháp phổ biến nhất hiện nay là bắn bia nước giàu ^{18}O bằng chùm proton năng lượng cao tạo ra phản ứng hạt nhân chuyển ^{18}O thành ^{18}F [39]. Lượng ^{18}F -fluorid trong dung dịch nước giàu ^{18}O tạo ra phụ thuộc từng loại cyclotron, hệ thống bia và việc cài đặt các thông số bắn bia (ví dụ: cường độ chùm tia, thời gian bắn bia) [81]. Sau khi bắn bia, dung dịch ^{18}F -fluorid trong nước được vận chuyển đến thiết bị tổng hợp HPX thành DCPX dạng tiêm. Một mẫu DCPX được lấy ra để kiểm tra chất lượng nhằm

đảm bảo an toàn khi sử dụng trên bệnh nhân. Sau khi tiêm DCPX, các bệnh nhân được chụp hình PET. Hình ảnh PET thu được để sử dụng cho việc chẩn đoán [32].

Để hoạt hóa ^{18}F -fluorid, có nhiều phương pháp đã được phát triển từ phương pháp bay hơi nước trực tiếp tới phương pháp chiết tách pha rắn (Solid-phase extraction (SPE)) nhằm thay thế dung môi và giảm thể tích [21], [42], hoặc kết hợp cả 2 phương pháp.

SPE được sử dụng đầu tiên và phổ biến nhất bằng cách bẫy ^{18}F -fluorid trên cột trao đổi anion mạnh (SAX) với một cột SPE sử dụng một lần, tiếp theo là rửa giải ^{18}F -fluorid bằng một dung dịch muối (thường nhỏ hơn 1ml) chứa anion có ái lực cao hơn SAX như natri clorid (NaCl), kali carbonat (K_2CO_3) như hình 1.5.



Hình 1.5. Phương pháp tách chiết pha rắn [44]

Kỹ thuật SPE rất hiệu quả vì hai lý do chính:

- Bẫy ^{18}F -fluorid cho phép thu hồi nước giàu ^{18}O đắt tiền để tái sử dụng [83].
- Quá trình chiết tách chỉ cần sử dụng một lượng nhỏ chất rửa giải nên làm tăng hoạt độ phóng xạ riêng của DCPX [3].

1.4 Tự động hóa và tự động trong sản xuất ^{18}F -NaF

Để điều chế DCPX ^{18}F -NaF cũng như các DCPX khác cho PET, quá trình tổng hợp HPX cần phải được thực hiện tự động hoàn toàn nhằm làm tăng hiệu suất phản ứng cũng như đảm bảo an toàn bức xạ.

Tự động hóa và tự động trong ngành Dược là sử dụng các thiết bị, máy

móc tự động để sản xuất, điều chế thuốc nhằm đạt tốc độ nhanh hơn, độ chính xác cao hơn. Đặc biệt trong lĩnh vực sản xuất DCPX, tự động hóa và tự động rất quan trọng, giúp bảo đảm an toàn bức xạ.

1.4.1 Thiết bị tự động trong tổng hợp hóa phóng xạ ^{18}F

Trong lĩnh vực HPX, Ido và cộng sự (CS) lần đầu tiên điều chế ^{18}F -FDG theo phản ứng thế flo ái điện tử năm 1976 [47]. Sau đó, Mario và CS đã phát triển quy trình này bằng một hệ thống bán tự động và tự động được điều khiển từ xa. Các hệ thống, thiết bị này điều chế ^{18}F -FDG với hiệu suất không cao do hiệu suất phản ứng thế flo ái điện tử thấp. Đến năm 1986, Hamacher và CS sử dụng Kriptofix 222 làm chất xúc tác chuyển pha trong quá trình điều chế ^{18}F -FDG, rút ngắn thời gian cũng như nâng cao hiệu suất phản ứng thế flo ái nhân. Do vậy, hiệu suất tổng hợp HPX cao hơn [34], [40]. Phương pháp tổng hợp của Hamacher đã đáp ứng được nhu cầu sử dụng ngày càng tăng ^{18}F -FDG và đem lại hiệu quả kinh tế cao cho các trung tâm cyclotron. Ngày nay, ^{18}F -NaF và các DCPX khác gắn với ^{18}F cho PET cũng được nghiên cứu phát triển trên các thiết bị tự động hóa của một số hãng nổi tiếng trên thế giới hoặc trên các thiết bị do các nhóm nghiên cứu tự thiết kế, chế tạo nhằm nâng cao hiệu suất tổng hợp, đảm bảo an toàn bức xạ cũng như đáp ứng nhu cầu phát triển DCPX mới trong chẩn đoán và điều trị ung thư.

Một module tự động cho điều chế DCPX gồm có 2 phần chính là phần cứng và phần mềm:

- **Phần cứng:** Các bộ phận của phần cứng phải phù hợp để thực hiện các phản ứng hóa học đáp ứng các điều kiện khắt khe về thể tích bình phản ứng rất nhỏ, môi trường phản ứng, nhiệt độ, áp suất và bức xạ cao. Module sử dụng các xi lanh để vận chuyển lượng dung môi, hóa chất vào các bình phản ứng được điều khiển bằng các mô tơ hoặc sử dụng bơm chân không tạo chênh lệch áp suất và sử dụng khí trơ như heli, nitrogen hoặc argon để đẩy hóa chất, dung môi. Bên cạnh đó, các van đa chiều trên mỗi một vị trí của kit tổng hợp hoạt động tương thích với từng bước điều khiển để vận chuyển dung môi theo hướng được định trước của mỗi bước trong quá trình tổng hợp. Quá trình tráng, rửa thường sử dụng khí trơ hay các loại dung môi phù hợp cho từng bước. Quá trình trộn khí trơ, tạo bọt khí trong bình phản ứng để khuấy trộn dung môi, hóa chất làm tăng tốc độ phản ứng. Các bước của quá trình tổng hợp HPX được điều khiển bởi các bộ phận cơ điện tử tích hợp với phần mềm điều khiển.

- Phần mềm: LabVIEW là phần mềm công nghệ được tích hợp với phần cứng để điều khiển quá trình tổng hợp HPX. LabVIEW có giao diện đơn giản, dễ sử dụng cho phép người dùng ngay lập tức hình dung được kết quả thu được từ quá trình tổng hợp HPX. Để chuyển dữ liệu của phần mềm thành kết quả nghiên cứu, người dùng có thể phát triển các thuật toán để phân tích dữ liệu và kiểm soát việc tính toán.

1.4.2 Một số module điều chế $^{18}\text{F-NaF}$

Module điều chế $^{18}\text{F-NaF}$ cũng như các module điều chế các DCPX khác gồm có phần cứng và phần mềm. Khó khăn nhất trong quá trình điều chế $^{18}\text{F-NaF}$ là lượng ^{18}F tham gia phản ứng rất nhỏ, dễ bị hao hụt trong quá trình tổng hợp HPX.

Để đảm bảo quy trình tổng hợp HPX đạt hiệu suất cao, cần lựa chọn các thiết bị cơ điện tử đáp ứng và tương thích với các bước tổng hợp HPX. Nhiều hãng và các trung tâm cyclotron trên thế giới đã sử dụng các module điều chế $^{18}\text{F-FDG}$ để phát triển thêm các DCPX khác, trong đó có $^{18}\text{F-NaF}$ bằng cách thiết kế các bộ kit tích hợp với module điều chế $^{18}\text{F-FDG}$ cũng như viết các phần mềm điều khiển quá trình điều chế cho từng loại DCPX (bảng 1.3). Tuy nhiên, thiết bị điều chế $^{18}\text{F-FDG}$ rất phức tạp và chi phí cao. Hơn nữa, các module điều chế $^{18}\text{F-FDG}$ sau thời gian đủ dài (thường ngày hôm sau) mới nên tháo bỏ kit do lượng HPX tồn dư khá lớn trong kit cũng như trong bình chứa dung dịch thải. Chỉ có module thể hệ mới Synthera của hãng IBA cho phép tháo dỡ kit tự động để lắp đặt kit mới ngay sau khi điều chế xong một mẻ DCPX.

Hiện nay, cũng có một số tác giả đã nghiên cứu chế tạo các module tự động hoặc bán tự động rất nhỏ, gọn, đơn giản và vẫn cho hiệu suất điều chế cao, chỉ dùng riêng cho $^{18}\text{F-NaF}$. Bên cạnh đó, loại module này hoạt động độc lập và không hề bị phụ thuộc vào việc sản xuất các DCPX khác. Nhiều module hiện đại như Synthera của hãng IBA cho phép đặt nhiều hơn một module trong một hotcell. Các module điều chế được nhiều DCPX, trong đó có $^{18}\text{F-NaF}$ được liệt kê trong bảng 1.3.

Bảng 1.3. Một số module điều chế $^{18}\text{F-NaF}$

Module	Nhà sản xuất	Các loại DCPX	Một số thông tin liên quan
FASTlab	GE	$^{18}\text{F-FDG}$ $^{18}\text{F-NaF}$ $^{18}\text{F-FMISO}$ $^{18}\text{F-FLT}$	kit tổng hợp dùng một lần/ Không tích hợp HPLC Kích thước: 41x44x51 cm (Rộng x Cao x Dài)
FDG-Plus	Eckert & Ziegler	$^{18}\text{F-FDG}$ $^{18}\text{F-NaF}$ $^{18}\text{F-FMISO}$ $^{18}\text{F-FLT}$	Không tích hợp HPLC Kích thước: 45x25x50 cm (Rộng x Cao x Dài)
Synthera	IBA	$^{18}\text{F-FDG}$ $^{18}\text{F-NaF}$ $^{18}\text{F-FMISO}$ $^{18}\text{F-FLT}$	kit tổng hợp dùng 1 lần (Tích hợp bộ xử lý lỏng) /Không tích hợp HPLC Kích thước: 17x29x28,5 cm (Rộng x Cao x Dài)

Về nguyên tắc, quy trình điều chế $^{18}\text{F-NaF}$ trên các module khác nhau không khác nhau đáng kể. Tuy nhiên, do thiết kế phần cứng khác nhau nên thời gian tổng hợp, hiệu suất phản ứng khác nhau như bảng 1.4.

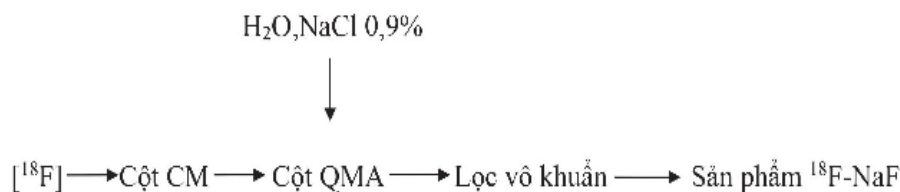
Bảng 1.4. Kết quả tổng hợp $^{18}\text{F-NaF}$ trên một số module

Module	Hãng	Thời gian	Hiệu suất
TracerLab MX _{FDG} [18]	GE Healthcare	-	87,3±6,1%
Synthera [71]	IBA	10 phút	>90%
TracerLab FX-FN [77]	GE Healthcare	10 phút	>90%
Jun Hyung Park và CS [99]		6 phút	93,7 ±2,1%

1.4.3 Quy trình điều chế $^{18}\text{F-NaF}$ trên một số module tự động

^{18}F -fluorid sau khi được tạo ra từ lò hạt nhân hay từ máy gia tốc được vận chuyển sang module tổng hợp tự động theo sơ đồ tổng hợp sau [33], [50], [71],

[77]:



Hình 1.6. Sơ đồ các bước điều chế $^{18}\text{F-NaF}$.

Sau quá trình bắn bia nước giàu ^{18}O trên cyclotron, ^{18}F -fluorid trong nước giàu ^{18}O được vận chuyển qua cột trao đổi cation CM để bắt giữ các tạp chất (do vật liệu làm bia bị bắn phá, tạo ra một số ĐVPX khác ngoài ^{18}F). Sau đó, dung dịch chứa ^{18}F -fluorid đi qua cột trao đổi anion QMA, ^{18}F -fluorid bị bắt giữ tại đây. Tiếp theo, cho nước đi qua cột QMA nhằm loại bỏ các tạp chất tan trong nước, trong khi ^{18}F -fluorid vẫn bị giữ trên cột QMA. Sau đó, cho dung dịch NaCl đẳng trương 0,9% (có thể dùng dung dịch Na_2CO_3 , nhưng rất ít sử dụng) đi qua cột QMA để tạo thành $^{18}\text{F-NaF}$. Sản phẩm tạo thành qua một màng lọc khuẩn trước khi đi vào lọ chứa sản phẩm cuối cùng, sẵn sàng để chia liều cho kiểm nghiệm và các liều đơn cho từng bệnh nhân hay liều tổng cho các cơ sở PET ở xa trung tâm cyclotron. Tất cả các bước trên đều được thực hiện tự động và được điều khiển từ xa nhằm đảm bảo an toàn bức xạ cho những người làm việc trong môi trường bức xạ cũng như đạt được hiệu suất cao trong tổng hợp HPX.

1.5 Các tiêu chuẩn kiểm nghiệm $^{18}\text{F-NaF}$ theo một số Dược điển

$^{18}\text{F-NaF}$ là DCPX có thời gian bán rã rất ngắn nên các chỉ tiêu kiểm nghiệm phải được thực hiện ngay tại phòng kiểm nghiệm của mỗi trung tâm cyclotron. Dung dịch thuốc tiêm $^{18}\text{F-NaF}$ phải đạt các tiêu chuẩn theo một trong các Dược điển như Dược điển Anh, Mỹ hoặc Dược điển châu Âu trước khi tiêm vào người bệnh. Một số chỉ tiêu kiểm nghiệm cơ bản như sau:

Bảng 1.5. Chỉ tiêu yêu cầu đối với $^{18}\text{F-NaF}$ theo một số Dược điển

Tiêu chuẩn kiểm nghiệm	DD Mỹ 2020	DD Anh 2020	DD Châu Âu 8.0 (2014)
Tính chất	Trong suốt, không màu và không có hạt	Trong suốt, không màu và không có hạt	Trong suốt, không màu và không có hạt
pH	4,5-8,0	4,5-8,5	4,5-8,5
Độ tinh khiết HPX	> 95%	>98,5%(HPLC)	> 95% (HPLC)
Thời gian bán rã (phút)	105-115	105-115	105-115
Độ tinh khiết hạt nhân	> 99,5%	> 99,9%	> 99,9%
Nội độc tố vi khuẩn	< 175V EU/ml	<175V EU/ml	< 175V EU/ml
Độ vô khuẩn	Vô khuẩn	Vô khuẩn	Vô khuẩn

Trong các chỉ tiêu yêu cầu của một DCPX thì độ tinh khiết HPX là chỉ tiêu hết sức quan trọng. Qua chỉ tiêu độ tinh khiết HPX có thể đánh giá được hiệu suất tổng hợp HPX. Việc đánh giá độ tinh khiết HPX bắt buộc phải thực hiện ngay sau khi tổng hợp HPX để nhằm kiểm tra có hay không sự biến đổi của sản phẩm trước, trong hoặc sau khi đánh dấu phóng xạ trước khi đưa vào cơ thể người bệnh. Việc đánh giá độ tinh khiết HPX được thực hiện bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao áp (HPLC) hoặc sắc ký bản mỏng (TLC), tuy nhiên HPLC cho độ chính xác cao hơn. Để thực hiện bằng HPLC, người ta so sánh thời gian lưu (t_R) của hợp chất đánh dấu phóng xạ với mẫu chuẩn [7].

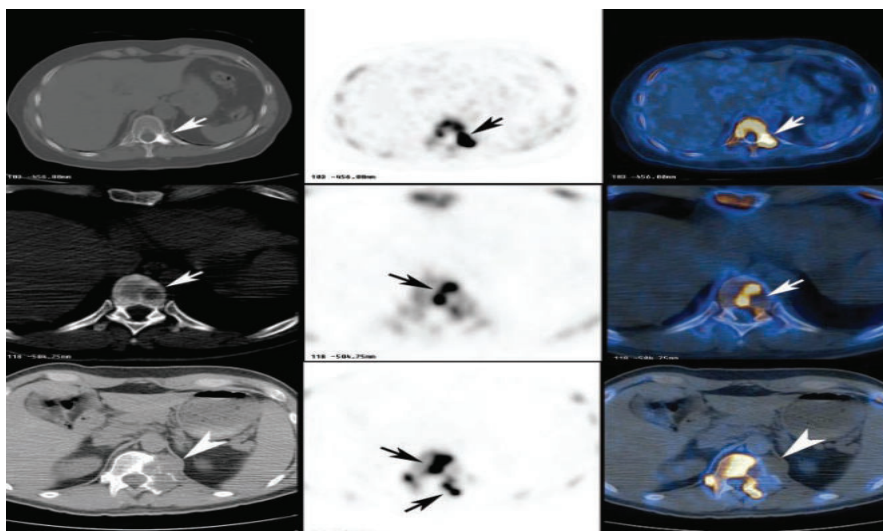
Một chỉ tiêu cũng cần lưu ý với DCPX tỷ lệ pha loãng mẫu để phát hiện chính xác lượng nội độc tố vi khuẩn ở nồng độ pha loãng nhất định và cũng để hạn chế phơi nhiễm phóng xạ cho nhân viên bức xạ. $^{18}\text{F-NaF}$ là DCPX dạng tiêm với yêu cầu nội độc tố vi khuẩn không vượt quá 175V EU/ml, trong đó EU là đơn vị đo nội độc tố và V là thể tích tối đa một lần tiêm. Phương pháp để xác định nội độc tố vi khuẩn là LAL (Limulus Amoebocyte Lysate) hoặc có thể tiến hành theo kỹ thuật gel-clot hoặc quang phổ. Với thuốc thông thường, người ta hay sử dụng kỹ thuật gel-clot, tuy nhiên mẫu phải được ủ ở nhiệt độ 37 ± 1 °C trong 60 phút. Nhưng, kỹ thuật này không phù hợp với các DCPX sử dụng cho PET, do thời gian

bán rã của chúng ngắn [4], [43].

Endosafe–PTS (PTS) là thiết bị đã được Cục quản lý thực phẩm và Dược phẩm Hoa Kỳ (FDA) cho phép sử dụng để kiểm nghiệm thành phẩm thuốc [7], được thiết kế tương tự phương pháp LAL để đo màu sắc và cường độ màu liên quan trực tiếp với nồng độ nội độc tố vi khuẩn có trong mẫu. Thực tế, phương pháp LAL bị nhiễu do phụ thuộc vào nồng độ mẫu nên phải pha loãng mẫu trước khi kiểm tra nội độc tố vi khuẩn. PTS là kỹ thuật enzym nên một số yếu tố như màu sắc, độ đục, pH, nồng độ protein, các hợp chất chelat và các chất tẩy rửa có thể gây nhiễu kết quả. Tuy nhiên, việc pha loãng mẫu ở nồng độ tối thiểu có thể hạn chế các yếu tố ức chế hay thúc đẩy giảm thiểu sai số trong quá trình thực hiện phép đo [7], [95]. Do vậy, chúng tôi khảo sát ảnh hưởng của việc pha loãng nồng độ $^{18}\text{F-NaF}$ đến kết quả kiểm tra nội độc tố vi khuẩn trên máy PTS.

1.6 Vai trò của $^{18}\text{F-NaF}$ PET/CT trong lâm sàng

Ngày nay PET và PET/CT được ứng dụng nhiều chẩn đoán hình ảnh liên quan đến các bệnh lý: thần kinh, tim mạch và đặc biệt là ung thư. Các phương pháp chẩn đoán hình ảnh như CT, chụp cộng hưởng từ (MRI) và siêu âm... chỉ phát hiện và đánh giá được các tổn thương đã có những thay đổi về cấu trúc, giải phẫu và mật độ của tổ chức nên thường gặp khó khăn hoặc bỏ sót các tổn thương có đường kính nhỏ hơn 1cm. Trong khi đó PET và PET/CT có thể cho thấy các bất thường về chuyển hoá bệnh lý sớm, kích thước khối u nhỏ khi cấu trúc còn chưa thay đổi. Trên các bệnh nhân ung thư, sau phẫu thuật, xạ trị, hoá trị các tổn thương này có thể bị biến dạng, thay đổi cấu trúc nên hình ảnh CT, MRI khó có thể phân biệt giữa tổ chức xơ hoá với tái phát hoặc di căn. Trong khi đó kỹ thuật chụp hình PET và PET/CT có thể khắc phục những nhược điểm này. Đó là ưu điểm vượt trội của kỹ thuật PET, PET/CT nên chúng có nhiều giá trị trong việc chẩn đoán cũng như lập kế hoạch điều trị. Kỹ thuật chụp hình PET luôn phải có các DCPX với độ đặc hiệu cao vào các cơ quan, mô được yêu cầu chẩn đoán và điều trị. Các chất chuyển hoá trong khối u được đánh dấu bằng các ĐVPX phát positron. Sau khi các DCPX được đưa vào cơ thể, chúng sẽ di chuyển theo máu và tập trung tại các tổ chức bệnh lý hay ung thư gây nên sự chênh lệch về độ tập trung DCPX với tổ chức lành xung quanh (hình 1.7).



Hình 1.7. Hình ảnh di căn xương ở bệnh nhân ung thư vú

Trên hình 1.7, hình ảnh bên trái là ảnh chụp CT, hình ảnh giữa là hình chụp PET và hình ảnh bên phải là ảnh chụp kết hợp PET/CT. Chất lượng hình ảnh trên hình 1.7 cho thấy, kỹ thuật chụp hình PET/CT, PET rõ nét, độ phân giải không gian tốt hơn rất nhiều so với kỹ thuật chụp CT đơn thuần, khẳng định giá trị của kỹ thuật PET, PET/CT trong chẩn đoán hình ảnh. Do đó, việc nghiên cứu điều chế DCPX cho PET là vấn đề cần thiết mang tính thời sự.

Hiện nay, xạ hình xương sử dụng ^{99m}Tc -MDP được chụp trên máy gamma camera SPECT vẫn là phương pháp phổ biến trong chẩn đoán các bệnh lý xương khớp và có độ nhạy cao trong phát hiện di căn xương. Tuy nhiên, nhược điểm của xạ hình xương ^{99m}Tc -MDP chụp trên máy gamma camera SPECT là độ phân giải không cao, tỷ lệ bắt giữ DCPX giữa xương và mô mềm còn cao, thời gian thải trừ DCPX khỏi mô mềm chậm khiến độ tương phản không cao, định vị tổn thương khó khăn và độ đặc hiệu của xạ hình xương còn thấp... Trong những năm gần đây, thế giới đang đứng trước nguy cơ thiếu hụt nguồn cung cấp ^{99m}Tc do nhiều lò hạt nhân hết hạn vận hành và nguồn ^{235}U sản xuất ^{100}Mo - nguyên liệu sản xuất ^{99m}Tc (thông qua phương pháp generator $^{100}\text{Mo}/^{99m}\text{Tc}$) ngày càng khan hiếm. Trong khi đó, nhu cầu bệnh nhân chụp xạ hình xương trong chẩn đoán các bệnh lý xương khớp và di căn xương ngày càng tăng. Do đó, việc sản xuất ^{18}F -NaF ngày càng cấp bách và thực sự cần thiết.

Gần đây, DCPX ^{18}F -NaF được phát triển trở lại là do kỹ thuật PET và PET/CT phát triển nhanh chóng. Công nghệ PET và PET/CT sử dụng ^{18}F -NaF ghi hình chức năng hệ thống xương với độ phân giải cao hơn, sự kết hợp hình ảnh

CT và PET trên cùng một hệ thống làm tăng độ nhạy, độ đặc hiệu và độ chính xác cao hơn trong chẩn đoán, phát hiện sớm các bệnh lý xương khớp, trong đó có u xương nguyên phát và di căn xương. Mặt khác, hình ảnh ^{18}F -NaF PET có độ tương phản, sắc nét hơn, độ phân giải của PET cao hơn so với xạ hình xương thông thường chụp trên gamma camera SPECT. Do đó, chụp ^{18}F -NaF PET/CT giúp định vị chính xác tổn thương, làm tăng độ nhạy và độ đặc hiệu chẩn đoán, thời gian thải trừ khỏi tuần hoàn máu và thời gian từ khi tiêm đến thời điểm chụp hình nhanh hơn, tiết kiệm thời gian chờ của bệnh nhân. Mặt khác, số lượng máy gia tốc sản xuất các đồng vị cho PET cũng không ngừng tăng lên, đặc biệt là ^{18}F đã được sản xuất thành công trên các máy gia tốc tại Việt Nam, tạo điều kiện thuận lợi cho việc điều chế ^{18}F -NaF cho xạ hình xương bằng kỹ thuật PET, hạ giá thành sản phẩm [43].

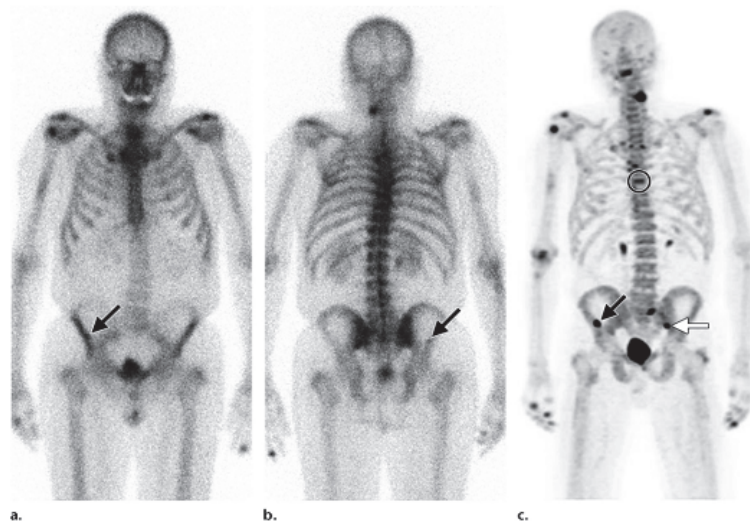
Bảng 1.6. So sánh đặc tính hoá dược phóng xạ của ^{18}F -NaF và ^{99m}Tc -MDP

[1]

Các đặc tính	^{18}F -NaF (chụp trên PET)	^{99m}Tc -MDP (chụp trên gamma camera SPECT)
Liên kết với protein huyết tương	Rất ít	Khoảng 25% từ khi sử dụng đến 70% lúc 24h
Độ phân giải không gian	Độ phân giải cao	Độ phân giải thấp hơn
Thời gian bán huỷ	110 phút	6 giờ
Tỷ lệ tách khỏi huyết tương vào xương lần đầu	Gần 100%	60 – 70%
Thời gian thải trừ khỏi tuần hoàn máu	Nhanh, cải thiện tỷ lệ xương và phong phóng xạ cơ thể	Thấp hơn
Thời gian từ khi tiêm đến khi ghi hình (giờ)	0,5 – 1,5h	3 – 4h
Khả năng ghi hình động	Hạn chế	Có thể ghi hình xương động (3 pha)

Bảng 1.7. So sánh xạ hình xương với $^{18}\text{F-NaF}$ và ^{99m}Tc [1]

Chẩn đoán	Kỹ thuật xạ hình xương	Độ nhạy (%)	Độ đặc hiệu (%)
Di căn xương ở bệnh nhân ung thư tiền liệt tuyến [6]	$^{99m}\text{Tc-MDP}$ Planar+SPECT	78	67
	$^{18}\text{F-NaF}$ PET/CT	100	100
Di căn xương ở bệnh nhân ung thư phổi [26]	$^{99m}\text{Tc-MDP}$ Planar+SPECT	100	54
	$^{18}\text{F-NaF}$ PET/CT	100	63,6
Di căn xương ở bệnh nhân ung thư vú [26]	$^{99m}\text{Tc-MDP}$ Planar+SPECT	91,2	63,2
	$^{18}\text{F-NaF}$ PET/CT	100	71,1



Hình 1.8. So sánh hình ảnh xạ hình xương giữa $^{99m}\text{Tc-MDP}$ SPECT và $^{18}\text{F-NaF}$ PET [1]

Trên hình 1.8 cho thấy, hình ảnh (c) xạ hình xương với $^{18}\text{F-NaF}$ PET cho độ tương phản và phân giải cao hơn $^{99m}\text{Tc-MDP}$ (a và b) cho phép phát hiện thêm nhiều tổn thương di căn xương trên bệnh nhân nam, 77 tuổi, ung thư tiền liệt tuyến.

Ngoài chỉ định đánh giá di căn xương, các chỉ định khác của $^{18}\text{F-NaF}$ PET/CT trong một số bệnh lý được chỉ ra ở tài liệu số [84]. Năm 2010, Hội YHHN và hình ảnh phân tử Hoa kỳ đã đưa ra hướng dẫn về chỉ định lâm sàng của $^{18}\text{F-NaF}$ PET/CT trong một số bệnh lý xương khớp như sau:

- Phát hiện di căn xương: đánh giá giai đoạn trong ung thư, đánh giá mức độ di căn, đánh giá đáp ứng điều trị.
- Đau lưng và đau xương không rõ nguyên nhân
- Nghi ngờ tổn thương xương do đè nén
- Lạm dụng trẻ em: gãy xương sườn kín đáo, đánh giá toàn diện độ rộng của tổn thương xương
- Viêm tủy xương
- Gãy xương kín đáo
- Viêm khớp, thoái hóa khớp
- Hoại tử vô khuẩn
- Bệnh lý chuyển hóa của xương
- Bệnh Paget
- Đánh giá khả năng sống của mảnh ghép xương, biến chứng sau thay khớp.
- Loạn dưỡng thần kinh giao cảm phản xạ.

Trong giai đoạn đầu, chỉ định của $^{18}\text{F-NaF}$ PET/CT chủ yếu được áp dụng trên bệnh nhân ung thư để phát hiện di căn xương, bao gồm việc định vị khu tổn thương, đánh giá phạm vi di căn. Việc ghi hình định lượng cho phép đánh giá được sự thay đổi của tổn thương trong quá trình điều trị.

Chống chỉ định $^{18}\text{F-NaF}$ PET/CT:

- Phụ nữ có thai.
- Phụ nữ đang cho con bú (nếu cần chụp PET/CT thì phải ngưng cho con bú trong vòng 24 giờ sau khi chụp).

Chương 2

ĐỐI TƯỢNG, NGUYÊN LIỆU, THIẾT BỊ VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Đối tượng nghiên cứu

Dược chất phóng xạ ^{18}F -NaF dạng tiêm

2.2 Nguyên liệu, hóa chất và thiết bị

2.2.1 Nguyên liệu, hóa chất

Bảng 2.1. Nguyên liệu, hóa chất sử dụng trong nghiên cứu

TT	Nguyên liệu	Nguồn gốc	Tiêu chuẩn
1	Lọ thủy tinh 30 ml + nút cao su + nút nhôm vô khuẩn	ABX – Đức	Nhà SX
2	Lọ thủy tinh 15ml + nút cao su + nút nhôm vô khuẩn	ABX – Đức	Nhà SX
3	kit tổng hợp ^{11}C -choline	Bioscan – Mỹ	Nhà SX
4	kit chia liều Theodorical	Comecer SPA - Ý	Nhà SX
5	Bơm tiêm 3-10ml	Vinahankook – Việt Nam	Nhà SX
6	Kim tiêm (0,5-0,9)x(25-50)mm	BD MicrolanceTM – Tây Ban Nha	Nhà SX
7	Cột trao đổi cation CM	Waters – Mỹ	Nhà SX
8	Cột trao đổi anion QMA	Waters – Mỹ	Nhà SX
9	Màng lọc khuẩn Millex lỗ xốp 0,22 μm	Merck Millipore – Đức	Nhà SX
10	Khí He 99,999%	Air Liquide – Việt Nam	Nhà SX

11	Khí H ₂ 99,999%	Air Liquide – Việt Nam	Nhà SX
12	Khí N ₂ 99,999%	Air Liquide – Việt Nam	Nhà SX
13	Bộ kit LAL	Charcles River Laboratories – Mỹ	Nhà SX
14	Thẻ Endosafe-PTS có độ nhạy 0,05 – 5,0 EU/ml	Charcles River Laboratories – Mỹ	Nhà SX
15	NaF chuẩn cho hóa phân tích	ABX – Đức	Nhà SX
16	Bơm tiêm chứa 5ml NaHCO ₃ 8,4%	ABX – Đức	Nhà SX
17	Bơm tiêm chứa 25 ml nước cất	ABX – Đức	Nhà SX
18	Natri hiđroxit dạng viên cho hóa phân tích	Merck – Đức	Nhà SX
19	Nước giàu ¹⁸ O (99,3%)	Taiyo Nippon Sanso – Nhật	Nhà SX
20	Dung dịch NaCl 0,9%	Cty Otsuka OPV – Việt Nam	Nhà SX

2.2.2 Thiết bị

a. Thiết bị sử dụng điều chế ¹⁸F-NaF

- Máy gia tốc 30 MeV của hãng IBA (Bỉ) tại bệnh viện TUQĐ108.
- Hệ robot chia liều tự động của hãng Theodorical (Pháp).
- Hotcell của hãng Commeccer (Ý).
- Hệ thống giám sát cảnh báo phóng xạ của hãng Canberra (Bỉ).
- Tủ hút vô khuẩn Laminare (Pháp).

b. Thiết bị sử dụng để đánh giá chất lượng sản phẩm

- Hệ phân tích phổ gamma đa kênh gắn đầu đo Germani siêu tinh khiết và phần mềm Ginnie 2000 của hãng Canberra (Bỉ).
- Giếng đo hoạt độ phóng xạ Curimenter-4 (Đức).

- Sắc ký lỏng hiệu năng cao 1200 của hãng Agilent (Mỹ) gắn đầu đo phóng xạ NaI(Tl) và phần mềm xử lý phổ gamma Ginastar của hãng Raytest (Đức), đầu đo UV bước sóng 220 nm.
- Cân phân tích Sartorius có độ chính xác tới 0,001 mg (Đức)
- Hệ lọc nước siêu tinh khiết Milipore Milli Q có độ dẫn điện 18,2Ω (Mỹ).
- Giấy đo pH Meter (Đức)
- Hệ đo nội độc tố vi khuẩn Endosafe - PTS (Mỹ).
- Micropipet các loại từ 0,1μL – 5 ml của Eppendorf Research Plus – Sigma Aldrich (Đức).

c. Động vật thí nghiệm

- Chuột nhắt trắng cả hai giống, chủng Swiss, trưởng thành, cân nặng 18 - 20 g và 25 ± 2 g do Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương cung cấp.
- Thỏ: giống đực, gồm 2 lô, mỗi lô 12 khỏe mạnh, 3 tháng tuổi, cân nặng 2,0-2,5 kg do trung tâm Nghiên cứu dê và thỏ Sơn Tây cung cấp.

2.3 Phương pháp nghiên cứu

2.3.1 Nghiên cứu gia công kit tổng hợp $^{18}\text{F-NaF}$ và chế tạo module điều khiển tự động kit điều chế $^{18}\text{F-NaF}$

a. Thiết kế, gia công kit điều chế $^{18}\text{F-NaF}$

Bộ kit điều chế DCPX là bộ phận vận chuyển dung môi, hóa chất, thực hiện phản ứng hóa học và tinh chế sản phẩm tự động được điều khiển bởi module thiết kế tương thích với nó. Tùy theo từng loại DCPX mà các bộ kit có cấu tạo khác nhau. Do đó, nhóm nghiên cứu đã gia công lại bộ kit điều chế $^{11}\text{C-cholin}$ của hãng Bioscan (Mỹ), bằng cách ngắt bỏ một số bộ phận trên kit để phù hợp với quy trình điều chế điều chế $^{18}\text{F-NaF}$ như sơ đồ 1.6 (mục 1.4.3), chúng tôi thu được bộ kit mới để điều chế $^{18}\text{F-NaF}$.

b. Thiết kế, chế tạo module điều khiển kit tổng hợp $^{18}\text{F-NaF}$ tự động

Module điều khiển kit tổng hợp DCPX $^{18}\text{F-NaF}$ tự động được chế tạo bằng công nghệ cơ khí chính xác điều khiển tự động bằng máy tính. Cụ thể:

- Vỏ của module được làm bằng thép không gỉ và được sơn tĩnh điện bao phủ bên ngoài.

- Động cơ điều khiển van ba chiều và xi lanh của kit điều chế DCPX $^{18}\text{F-NaF}$ là loại động cơ bước $1,8^\circ$ với phương pháp điều khiển nửa bước đáp ứng tốt cho bài toán định lượng nhỏ.
- Vi điều khiển sử dụng trong quá trình thực hiện bài toán là đĩnh 16F883 với mạch ứng dụng riêng.
- Mạch ứng dụng được xây dựng chuyên dụng, bằng những linh kiện có độ ổn định và tin cậy cao. Sử dụng RS485 truyền thông với máy tính.
- Phần mềm hiển thị, điều khiển tương tác giữa thiết bị với người là Labview.

2.3.2 Phương pháp điều chế $^{18}\text{F-NaF}$

Sau khi nghiên cứu và tham khảo một số tài liệu [8], [49], [57], [60], chúng tôi điều chế DCPX $^{18}\text{F-NaF}$ tại Trung tâm Máy gia tốc – Bệnh viện TUQĐ108 với công thức, quy trình và các thông số kỹ thuật như sau:

a. Công thức

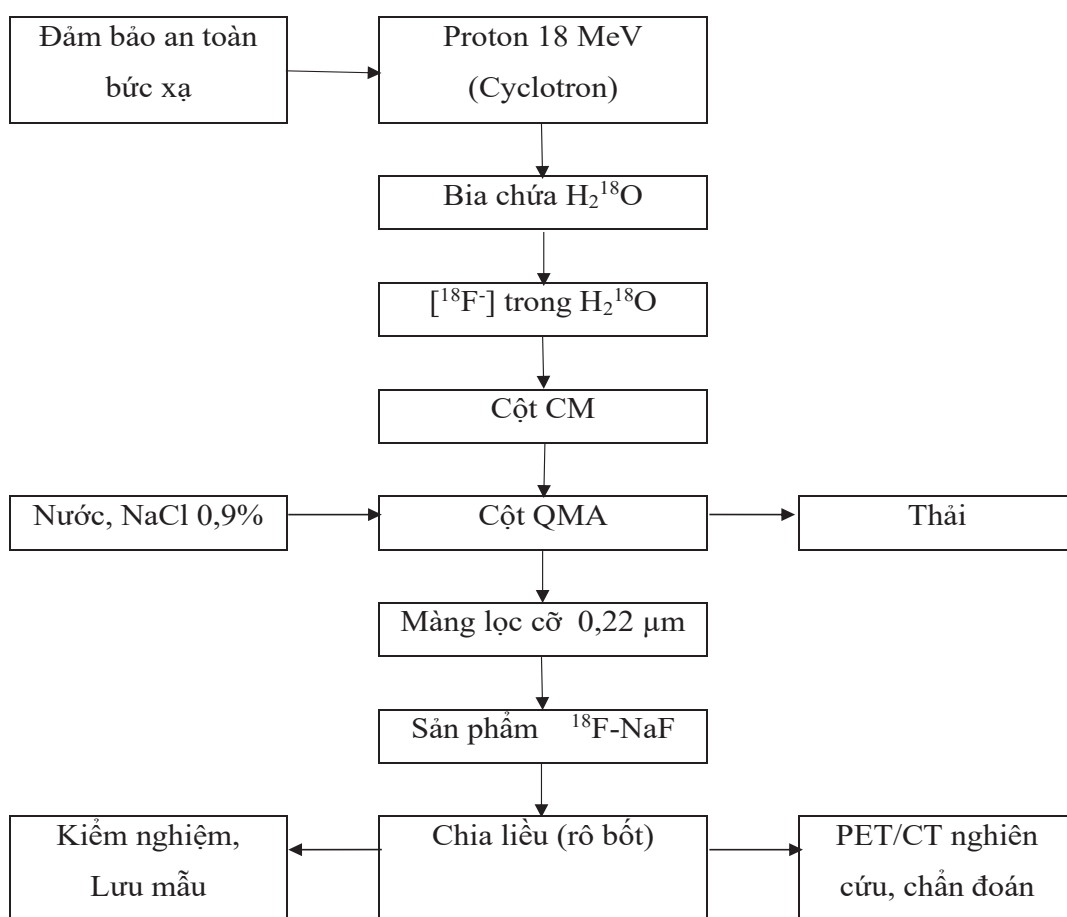
Trong quy trình điều chế $^{18}\text{F-NaF}$, $^{18}\text{F-fluorid}$ bị bắt giữ trên cột QMA được rửa giải 3ml dung dịch NaCl 0,9% tạo thành $^{18}\text{F-NaF}$ cũng như để giảm thời gian tổng hợp (với $^{18}\text{F-FDG}$ là 5 ml). Thể tích của lọ sản phẩm cuối cùng tùy thuộc vào lượng phóng xạ dự kiến tổng hợp. Nếu lượng phóng xạ lớn, có thể bổ sung sẵn dung dịch NaCl 0,9%, tối đa là 12 ml. Hoạt độ phóng xạ trên 1 ml của sản phẩm cuối cùng phụ thuộc vào lượng phóng xạ tổng hợp cũng như hiệu suất tổng hợp và có giá trị từ 10 – 400 mCi/ml. Thành phần công thức điều chế DCPX $^{18}\text{F-NaF}$ thể hiện trong bảng 2.2.

Bảng 2.2. Thành phần công thức dược chất phóng xạ $^{18}\text{F-NaF}$

TT	Thành phần	Số lượng
1	$^{18}\text{F-fluorid}$	10 - 400 mCi/ml
2	Dung dịch NaCl 0,9%	3 – 15 ml

b. Quy trình điều chế dược chất phóng xạ $^{18}\text{F-NaF}$

Quy trình điều chế $^{18}\text{F-NaF}$ theo sơ đồ hình 2.1:



Hình 2.1. Sơ đồ quy trình điều chế $^{18}\text{F-NaF}$

c. Các thông số kỹ thuật chính

Các thông số chính trong quá trình tổng hợp, chia liều DCPX $^{18}\text{F-NaF}$ được thể hiện trong Bảng 2.3.

Bảng 2.3. Các thông số chính trong tổng hợp và chia liều $^{18}\text{F-NaF}$

TT	Thông số	Đơn vị	Giá trị
Một số thông số chính trong quá trình bắn bia nước giàu ^{18}O			
1	Hiệu suất chùm tia	-	> 80%
2	Thời gian bắn	phút	5 – 120
3	Nước giàu ^{18}O	ml	1,8
Một số thông số chính trong quá trình chuẩn bị kit tổng hợp			
1	Vận tốc hoạt hóa các cột QMA	ml/phút	2 ml/phút
2	Vận tốc hoạt hóa cột CM	ml/phút	2 ml/phút
Các thông số trong quá trình tổng hợp			
1	Thời gian tổng hợp	phút	15

2	Thể tích sản phẩm cuối	ml	3 – 15
3	Hoạt độ phóng xạ lọ sản phẩm cuối	mCi	30 - 1000
4	Áp suất bên trong hotcell tổng hợp	pa	\leq - 100
5	Áp suất buồng tổng hợp và chia liều DCPX	pa	\geq 45
6	Áp suất chốt gió buồng tổng hợp và chia liều DCPX	pa	\geq 30
7	Áp suất buồng chuẩn bị cho tổng hợp DCPX	pa	\geq 15
Các thông số trong quá trình chia liều			
1	Dây nối hotcell tổng hợp – chia liều (module tổng hợp có thể đặt ở hotcell 1 hoặc hotcell 2)	-	Đúng hotcell và không bị nghẽn
2	Hoạt động cánh tay rô bốt	-	Bình thường
3	Hoạt động vận chuyển công ten nơ của hotcell chia liều	-	Bình thường
4	Áp suất trong hotcell chia liều DCPX	pa	\leq - 100

2.3.3 Phương pháp đánh giá chất lượng và tính chất của sản phẩm

a. Chuẩn hóa phương pháp đo độ tinh khiết hóa phóng xạ của $^{18}\text{F-NaF}$ trên HPLC 1200 của hãng Agilent

- Điều kiện sắc ký

- + Cột CarboPac PA 10 (Dionex) dài 250 mm, đường kính 4,5 mm, đường kính bên trong cột là 1mm.
- + Bộ tiêm mẫu bằng tay đa van thể tích vòng 20 μl .
- + Tốc độ dòng 1ml/phút.
- + Thời gian chạy mẫu 10 phút.
- + Nhiệt độ 25⁰C.
- + Chiều dài bước sóng đầu đo UV là 220 nm.
- + Cột được chạy với dung môi pha động là dung dịch natri hiđroxit 0,1M, tốc độ 1ml/phút trong 30 phút trước khi tiêm mẫu.

- + Dung dịch chuẩn mẹ được pha từ 100 mg NaF trong 20 ml nước siêu tinh khiết. Từ dung dịch mẹ sẽ pha ra các dung dịch theo yêu cầu.
- + Mẫu $^{18}\text{F-NaF}$ được pha loãng theo tỷ lệ 1:5 với dung dịch NaCl 0,9 %.

- **Chuẩn hóa HPLC**

$^{18}\text{F-NaF}$ được xác định bởi giá trị thời gian lưu (t_R) trên phổ phóng xạ, so sánh với t_R của NaF tham chiếu được xác định trên phổ UV. Thời gian lưu của NaF và $^{18}\text{F-NaF}$ không trùng nhau vì mẫu đi qua đầu đo phóng xạ trước khi đến đầu đo UV. Do vậy, cần xác định tỷ lệ sai khác t_R , sau đó hiệu chỉnh lại t_R của $^{18}\text{F-NaF}$. Chúng tôi kiểm tra 5 lần/1mẫu $^{18}\text{F-NaF}$ và xác định độ chênh lệch giữa 2 thời gian lưu (phút) và độ sai lệch (%) giá trị hiệu chỉnh của $^{18}\text{F-NaF}$ so với đường chuẩn NaF.

- **Các chỉ tiêu chuẩn hóa theo ICH Q2(R1):**

Bảng 2.4. Các chỉ tiêu yêu cầu chuẩn hóa theo ICH Q2(R1)

TT	Các chỉ tiêu	Yêu cầu
1	Sai lệch thời gian lưu của NaF và $^{18}\text{F-NaF}$	5%
2	Độ tuyến tính	$R^2 \geq 0,990$
3	Độ chính xác	$\text{RSD} \leq 5\%$

b. Xác định độ pha loãng mẫu $^{18}\text{F-NaF}$ phù hợp với mẫu thử nhanh nội độc tố vi khuẩn

- **Tính toán mức pha loãng chuẩn tối đa (MVD)**

Mức pha loãng chuẩn tối đa MVD được tính theo công thức sau [31], [79]:

$$\text{MVD} = (\text{Giới hạn nội độc tố} \times \text{nồng độ mẫu})^{\frac{1}{\lambda}}$$

Trong đó: giới hạn nội độc tố vi khuẩn là 175V EU/ml với V là thể tích tối đa 1 lần tiêm (quy ước là 15 ml). Nồng độ dung dịch mẫu là 1ml/ml và λ là độ nhạy của phương pháp hay là giá trị thấp nhất trên đường chuẩn nội độc tố vi khuẩn (0,05V EU/ml). Từ đó cho thấy $\text{MVD} \approx 230$, nghĩa là mẫu $^{18}\text{F-NaF}$ có thể pha loãng tối đa là 1:230, để ngăn chặn nguy cơ ức chế hay thúc đẩy các yếu tố ảnh hưởng.

- **Chuẩn bị mẫu $^{18}\text{F-NaF}$:**

Lấy mẫu $^{18}\text{F-NaF}$ từ 3 mẻ sản xuất tại Bệnh viện TƯQĐ108, với nồng độ phóng xạ khoảng 90 mCi/ml, sau đó tiến hành pha loãng ở các nồng độ 1:1; 1:10 và 1:100 với nước trong kit LAL. Kiểm tra pH của mẫu, phải trong khoảng 6,0 – 8,0 [48].

- **Tiến hành:**

Sử dụng micropipet lấy 25 μL mẫu vào mỗi giếng trên thẻ. Máy sẽ tự động trộn mẫu với chất phản ứng trong thẻ. Sau khi trộn, máy đo mật độ quang của các giếng và phần mềm sẽ xử lý số liệu dựa trên đường chuẩn đã được lưu trữ trong máy. Sử dụng phương pháp đo kép (2 mẫu và 2 mẫu đối chứng dương) đáp ứng yêu cầu của USP và FDA đối với kiểm tra nội độc tố vi khuẩn theo phương pháp LAL.

- **Thông số yêu cầu phải đạt:**

Các thông số yêu cầu khi thực hiện kỹ thuật LAL trên máy PTS [36], [56] được thể hiện trong bảng 2.5.

Bảng 2.5. Bảng thông số kiểm tra nội độc tố trên PTS

TT	Các thông số	Yêu cầu
1	Giới hạn nội độc tố vi khuẩn trong mẫu (EU/ml)	$\leq 11,6$
2	Độ sai lệch hệ số mẫu (CV1) (%)	≤ 25
3	Độ sai lệch hệ số thêm vào (spike) (CV2) (%)	≤ 25
4	Kiểm soát mẫu dương (PPC) (EU/ml)	0, 305 ^a và 1, 22 ^b
5	% tìm lại thêm vào (spike)	50 - 200

Ở đây: ^a theo USP 2020 và chỉ số chấp nhận đối với một chuyên luận có giá trị theo Charles River. ^b là thông số ghi trên lô thẻ PTS.

Vì thể tích tối đa 1 lần tiêm ¹⁸F-NaF là 15 ml nên giới hạn nội độc tố vi khuẩn của sản phẩm này là 11,6 EU/ml. Độ sai lệch của các hệ số CV cho thấy giá trị phân tích thống kê khác bao nhiêu so với đối chứng. Nếu các giá trị này $\geq 25\%$ mẫu thử thì không có giá trị và cần phải làm lại. Việc kiểm soát mẫu dương cho phép xác định các yếu tố ảnh hưởng trong mẫu, có thể gây ra ức chế hoặc tăng cường phản ứng LAL. Theo USP, một mẫu gel-clot có thể dương tính khi được thêm vào với một mẫu nội độc tố vi khuẩn chuẩn (2λ) và tỷ lệ tìm lại thêm vào phải trong khoảng 50-200% đối với các phương pháp động học. Vì vậy, tỷ lệ pha loãng mẫu hầu hết tuân thủ theo các thông số này.

c. Đánh giá chất lượng dược chất phóng xạ ¹⁸F-NaF

Sau khi điều chế, ¹⁸F-NaF sẽ được kiểm tra chất lượng. Mẫu sản phẩm được đánh giá theo các tiêu chuẩn của USP 2020 bao gồm các chỉ tiêu sau:

- Tính chất: trong suốt, không màu, không hạt (Quan sát bằng mắt thường qua kính chì)
- pH: 4,5 – 8,0 (Phương pháp so màu trên giấy quỳ)
- Độ tinh khiết HPX: $\geq 95\%$ (Phương pháp sắc ký lỏng cao áp – HPLC)
- Chu kỳ bán rã: 105 – 115 phút (Phương pháp giếng đo hoạt độ phóng xạ)
- Độ tinh khiết hạt nhân: phân rã của $^{18}\text{F} \geq 99,5\%$ trên phổ gamma và xuất hiện đỉnh năng lượng 511 keV hoặc có thêm đỉnh năng lượng 1022 keV tùy vào loại đầu dò phóng xạ (Phương pháp phân tích phổ gamma đa kênh).
- Nội độc tố vi khuẩn: $\leq 175\text{V EU/ml}$ (Phương pháp đo màu động học).
- Độ vô khuẩn: Vô khuẩn (Phương pháp nuôi cấy).

d. Đánh giá độ ổn định của dược chất phóng xạ $^{18}\text{F-NaF}$

Độ ổn định của $^{18}\text{F-NaF}$ được đánh giá trong 8 giờ, dựa trên một số chỉ tiêu chính theo USP 2020 như: Tính chất, pH, Độ tinh khiết HPX, chu kỳ bán rã và nội độc tố vi khuẩn.

Mẫu của mỗi lô được chia ra làm 2 lọ riêng. Một lọ được để theo phương thẳng đứng và lọ kia được để dốc, ngược xuống. Nhiệt độ duy trì trong khoảng 20-25°C. Lọ đầu tiên được sử dụng để kiểm tra sự biến đổi trong vòng 8 giờ kể từ khi kết thúc điều chế. Lọ dốc ngược để kiểm tra sự thay đổi về Tính chất, độ tinh khiết HPX và pH sau 8 giờ kể từ khi chia liều DCPX.

Để xác định độ ổn định của $^{18}\text{F-NaF}$, chúng tôi đánh giá chất lượng tại các thời điểm khác nhau dưới tác động của môi trường, riêng độ ẩm không khảo sát vì đây là thuốc tiêm được đóng gói kín trong lọ thủy tinh. Tuy nhiên, trong quá trình lấy DCPX tiêm cho bệnh nhân, nhân viên y tế phải dốc ngược lọ, do đó DCPX sẽ tiếp xúc trực tiếp với nút cao su nên chúng tôi khảo sát sự ảnh hưởng của nút cao su đến độ ổn định của $^{18}\text{F-NaF}$.

2.3.4 Thẩm định quy trình điều chế $^{18}\text{F-NaF}$ quy mô 1000 mCi/mẻ

a. Đối tượng nghiên cứu:

Quy trình điều chế DCPX $^{18}\text{F-NaF}$ đã xây dựng.

b. Phương pháp thực hiện:

Thẩm định bằng phương pháp tiên lượng, kết quả được phân tích bằng phần mềm thống kê.

c. Chuẩn bị thẩm định:

- Tài liệu thẩm định đã được phê duyệt
- Thiết bị sản xuất và kiểm nghiệm : Đã được thẩm định bởi nhà cung cấp
- Kế hoạch sản xuất 3 lô liên tiếp

d. Thẩm định thông số

- Chọn thông số trọng yếu
- Thử nghiệm : Theo phiếu thẩm định (đính kèm đề cương thẩm định)

e. Kiểm soát thông kê

f. Chọn thông số kiểm soát

2.3.5 Đánh giá khả năng ứng dụng và độc tính cấp của $^{18}\text{F-NaF}$ trên mô hình động vật

a. Nghiên cứu phân bố của $^{18}\text{F-NaF}$ trong các cơ quan tổ chức của chuột nhắt

- **Thiết kế thí nghiệm:**

Chuột nhắt trắng chủng Swiss, cân nặng $25 \text{ g} \pm 2 \text{ g}$, khỏe mạnh, được cung cấp bởi Viện Vệ sinh Dịch tễ Trung ương. Chuột thí nghiệm được nuôi trong điều kiện phòng sạch, nhiệt độ phòng được duy trì $28 \pm 0,5 \text{ }^\circ\text{C}$, độ ẩm khoảng $55 \pm 5\%$, ánh sáng được tự động điều khiển theo chu kỳ 12 giờ sáng/12 giờ tối. Chuột được cung cấp đầy đủ thức ăn tiêu chuẩn và nước uống sạch theo nhu cầu. Chuột được nuôi và làm quen với môi trường mới 3 ngày trước khi làm thí nghiệm. Chuột được chăm sóc và nuôi dưỡng theo các quy định của dược điển Việt Nam IV. Chuột được chia thành 7 nhóm, mỗi nhóm gồm 6 con được mã hóa để tránh nhầm lẫn.

- **Tiến hành:**

Hút khoảng $0,2 \text{ mCi}/0,2 \text{ ml}$ $^{18}\text{F-NaF}$ vào bơm tiêm. Đo và ghi lại hoạt độ phóng xạ bằng máy đo liều và thời gian tiêm. Đo lại hoạt độ còn dư ở bơm tiêm. Tiêm $^{18}\text{F-NaF}$ vào tĩnh mạch đuôi chuột, giết và mổ chuột tại các thời điểm 2,5 phút; 5 phút; 10 phút; 20 phút; 30 phút; 45 phút; 60 phút và tiến hành đo hoạt độ phóng xạ các mẫu bằng hệ phân tích phổ gamma [86]. Hoạt độ phóng xạ của từng mẫu được phân tích bằng phần mềm phân tích phổ Genie-2000, cho phép thu thập và xử lý số liệu một cách tự động.

- **Tính toán:**

Hoạt độ phóng xạ trong mô hoặc cơ quan trên gam ($\% \text{ID/g}$): được tính bằng cách lấy phần trăm hoạt độ phóng xạ của từng mô ($\% \text{ID}$) chia cho

trọng lượng cân được của mô đó [14].

$$\% \frac{ID}{g} = \frac{\%ID}{\text{Khối lượng của mô hoặc cơ quan}} \quad (2.1)$$

Trong đó:

- + Khối lượng các mô và cơ quan chuột được tính bằng cách lấy khối lượng ống đựng mẫu trừ đi khối lượng ống. Khối lượng máu của mỗi con chuột được tính bằng 7% trọng lượng cơ thể chuột [58].
- + Phần trăm hoạt độ phóng xạ trong mô hoặc cơ quan (%ID) được tính bằng công thức như sau:

$$\%ID = \frac{\text{Hoạt độ phóng xạ trong mô hoặc cơ quan}}{\text{Tổng hoạt độ phóng xạ tiêm vào chuột}} \times 100 \quad (2.2)$$

Tổng hoạt độ phóng xạ tiêm vào cơ thể chuột được tính bằng cách lấy tổng hoạt độ phóng xạ trong bơm tiêm trước khi tiêm trừ đi hoạt độ dư còn dư lại trên bơm tiêm sau tiêm và hoạt độ phần đuôi.

Hoạt độ phóng xạ trong mô hoặc cơ quan là hoạt độ đo được trên máy đo phổ phóng xạ gamma của mỗi mô, cơ quan chuột sau khi mổ và tách ra. Sau đó, hoạt độ phóng xạ ở các mô, cơ quan tại thời điểm đo được hiệu chỉnh theo chu kỳ bán rã phóng xạ về đúng thời điểm mổ dựa vào công thức:

$$T_{\frac{1}{2}} = \frac{0.693 \times t}{\ln \frac{A_0}{A}} \quad (2.3)$$

Trong đó: A_0 là hoạt độ phóng xạ cần xác định tại thời điểm mổ (Bq). A là hoạt độ phóng xạ đo được trên máy tại thời điểm t (Bq). T là khoảng thời gian (phút) từ lúc mổ đến lúc tiến hành đo ($t_A - t_{A_0}$). $T_{\frac{1}{2}}$ là chu kỳ bán rã (phút).

b. Đánh giá đặc điểm phân bố phóng xạ trên xạ hình $^{18}\text{F-NaF}$ PET/CT trên thỏ thực nghiệm

• Thiết kế thí nghiệm:

12 thỏ đực khỏe mạnh, 3 tháng tuổi có cân nặng 2,0 – 2,5kg được chia thành hai nhóm, mỗi nhóm 6 con. Thỏ được gắn tên và đánh dấu để tránh nhầm lẫn. Nhóm 1 được chụp hình PET/CT ở phút 30 và nhóm 2 ở phút 45 sau khi tiêm $^{18}\text{F-NaF}$.

• Tiến hành:

- + Tiêm $^{18}\text{F-NaF}$ vào tĩnh mạch tai mỗi con thỏ với liều lượng là 0,14 mCi/kg (pha trong 1 ml dung dịch NaCl 0,9%) [92]. Sau khi tiêm $^{18}\text{F-NaF}$ 30 phút và 45 phút, thỏ được gây mê bằng Propofol-Lipuro 1%

(10mg/ml) với liều 10 – 15 mg/kg cân nặng. Cố định thở, sau đó tiến hành ghi hình trên máy PET/CT.

- + **Chụp hình $^{18}\text{F-NaF}$ PET/CT trên thỏ:** kiểm tra kỹ thuật và chuẩn bị máy PET/CT theo đúng quy định để đảm bảo máy hoạt động tối ưu. Các thông số kỹ thuật được cài đặt trên máy PET/CT: Trường nhìn 50 cm, ma trận: 144 x 144, thời gian thu nhận hình ảnh là 3 phút/giờ. Hình ảnh PET được hiệu chỉnh hiệu ứng suy giảm bằng CT và dựng hình theo các mặt phẳng ngang, đứng ngang, đứng dọc và đa chiều trên hệ thống phần mềm AW4.7 của hãng GE, Hoa Kỳ [94].



Hình 2.2. Hình ảnh chụp hình $^{18}\text{F-NaF}$ PET/CT trên thỏ

Hình ảnh PET/CT về phân bố $^{18}\text{F-NaF}$ được đánh giá định tính (độ sắc nét, tương phản, độ phân giải ...) và các thông số bán định lượng mức độ bắt giữ DCPX (dựa vào SUV_{max}) ở các xương trục (xương sọ, các xương cột sống, xương ức, xương sườn, xương chậu), xương chi (hai chi trên và hai chi dưới) và hoạt độ phóng xạ tại các mô, cơ quan khác như gan, lách, thận và bàng quang...Hoạt độ phóng xạ ở cơ xung quanh xương được coi là hoạt độ phóng xạ của phong cơ thể [12].

- + **Đánh giá bán định lượng mức độ hấp thu DCPX:** được thực hiện trên phần mềm PET Viewer của hãng, GE, Hoa Kỳ. Vùng quan tâm (ROI – 10 pixels) được vẽ vào động mạch chủ ngực, gan, lách, cơ và vị trí tăng chuyển hóa cao nhất của các xương trục và đầu trên của xương chi đối xứng hai bên.

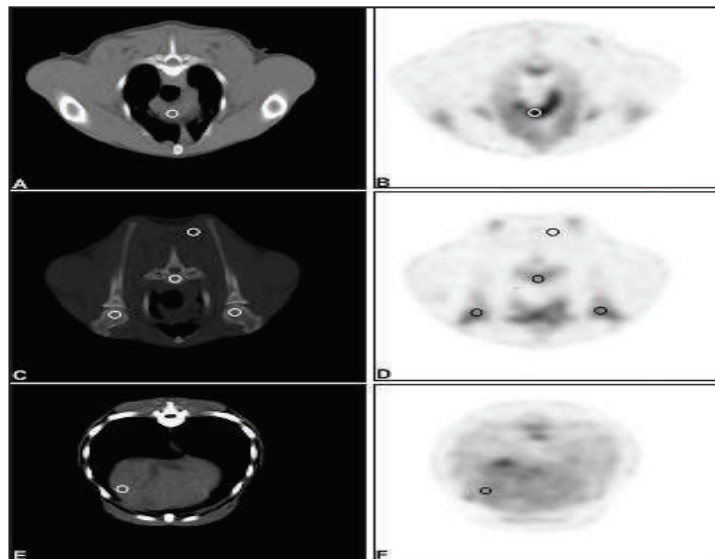
Chỉ số hấp thu chuẩn cao nhất (SUV_{max}) dùng để biểu hiện mức độ hấp thu được chất phóng xạ vào các mô, cơ quan. SUV_{max} được tính bằng mức độ tập trung được chất phóng xạ ở thời điểm đặt vùng quan tâm chia cho tổng hoạt độ phóng xạ được tiêm rồi nhân khối lượng động vật

thực nghiệm [19]:

$$SUV_{max} = \frac{\text{mức độ tập trung phóng xạ tại thời điểm đo} \times \text{khối lượng}}{\text{Hoạt độ phóng xạ được tiêm}} \quad (2.4)$$

Chỉ số SUV_{max} ở xương và phần cơ được so sánh ở các thời điểm 30 và 45 phút sau tiêm, dựa vào sự so sánh đó để tìm thời điểm mà được chất phóng xạ tập trung cao nhất vào xương và độ tương phản giữa xương và phần cơ thể là cao nhất từ đó có thể quyết định thời điểm ghi hình $^{18}\text{F-NaF}$ PET/CT hợp lý.

Độ hấp thu cần xác định các vùng quan tâm tại vị trí các cơ quan, mô (các vòng tròn nhỏ) trên hình ảnh CT (A, C và E). Chỉ số SUV_{max} đánh giá bán định lượng hoạt độ phóng xạ đo được tại vị trí tương ứng trên hình ảnh PET.



Hình 2.3. Hình ảnh độ hấp thu $^{18}\text{F-NaF}$ PET/CT trên động vật thực nghiệm

c. Thử nghiệm chụp hình $^{18}\text{F-NaF}$ PET/CT so sánh với $^{99m}\text{Tc-MDP}$ SPECT trên thỏ

- **Thiết kế thí nghiệm:**

12 thỏ đực khỏe mạnh 3 tháng tuổi có trọng lượng 2,0 -2,5 kg, chia làm 3 nhóm, mỗi nhóm 4 con. Trong mỗi nhóm, 3 con được tiêm $^{18}\text{F-NaF}$ của cùng một lô thuốc và một con tiêm NaCl 0,9% làm đối chứng, sau đó đều được gây mê và chụp hình PET/CT.

Sau khi chụp PET/CT, thỏ được nhốt trong chuồng, cho ăn đầy đủ, theo dõi nhiệt độ, mức độ ăn, hoạt động hàng ngày và trong một tuần.

Chụp ^{99m}Tc -MDP SPECT trên thỏ: Sau một tuần theo dõi, lấy một trong 3 lô thỏ ở trên tiêm ^{99m}Tc -MDP. Sau khi tiêm 3 giờ thỏ được gây mê và chụp hình SPECT.

- **Tiến hành:**

Nhóm tiêm ^{18}F -NaF: mỗi thỏ được tiêm 3 - 4 mCi ^{18}F -NaF trong 1 ml dung dịch NaCl 0,9% qua tĩnh mạch tai thỏ. Sau khi tiêm 1 giờ, thỏ được gây mê bằng Propofol-Lipuro 1% (10mg/ml) với liều 10-15mg/kg cân nặng, cố định thỏ trên một miếng gỗ và tiến hành chụp hình PET/CT.

Nhóm tiêm dung dịch NaCl 0,9%, mỗi thỏ được tiêm 1 ml dung dịch NaCl 0,9% qua tĩnh mạch tai thỏ. Sau khi tiêm 1 giờ, thỏ được gây mê bằng Propofol-Lipuro 1% (10mg/ml) với liều 10-15mg/kg cân nặng, cố định thỏ trên một miếng gỗ và tiến hành chụp hình PET/CT.

Chụp SPECT trên thỏ : thỏ được tiêm 3-4 mCi ^{99m}Tc -MDP với thể tích 1ml và sau 1 giờ được gây mê bằng Propofol-Lipuro 1% (10mg/ml) với liều 10-15mg/kg cân nặng, cố định thỏ trên một miếng gỗ và tiến hành chụp hình SPECT.

d. Đánh giá độc tính cấp của ^{18}F -NaF trên chuột nhắt trắng

DCPX ^{18}F -NaF cũng giống như các DCPX khác cho PET khá an toàn vì chưa có báo cáo nào cho thấy có biến chứng khi sử dụng trong lâm sàng. Đây là DCPX sử dụng cho chẩn đoán hình ảnh nên thử nghiệm được tiến hành dựa theo phương pháp thử độc tính đơn liều dành cho các hoạt chất dùng liều rất nhỏ theo hướng dẫn của Cơ quan quản lý Dược phẩm châu Âu (EMA) [37], kết hợp với các nguyên tắc chung trong nghiên cứu độc tính cấp theo hướng dẫn của tổ chức Hợp tác và Phát triển Kinh tế (OECD) [38], [65].

- **Thiết kế thí nghiệm:**

Chuột nhắt trắng mỗi giống (đực hoặc cái) chia ngẫu nhiên thành 2 lô, mỗi lô 16 con. Chuột nhịn ăn 3 giờ trước khi thí nghiệm, nước uống theo nhu cầu. Kiểm tra cân nặng trước khi thử nghiệm.

- **Tiến hành:**

Lô chứng được tiêm nước muối sinh lý với liều 0,2ml/20g chuột; Lô thử nghiệm được tiêm ^{18}F -NaF với liều 0,34 mCi/20g theo đường tiêm tĩnh mạch đuôi với liều duy nhất.

- **Theo dõi đánh giá:**

Cả 2 lô sau khi tiêm, chuột được cho ăn trở lại và được theo dõi tình trạng chung trong vòng 24 giờ, 14 ngày sau khi tiêm. Chọn ngẫu nhiên 10 động vật/lô/giống để lấy máu làm các xét nghiệm sinh hóa và huyết học, mổ quan

sát đại thể các cơ quan. Lấy ngẫu nhiên 3 chuột trong mỗi lô để làm tiêu bản vi thể gan và thận. Các động vật còn lại mỗi lô nuôi thêm 2 tuần để theo dõi sự hồi phục của các cơ quan sau thời gian ngừng dùng thuốc. Quy trình tương tự cũng được áp dụng với các động vật còn lại của mỗi lô (6 động vật/lô/giống) vào ngày thứ 14 của thử nghiệm.

2.3.6 Phương pháp xử lý số liệu

- Sử dụng phần mềm Microsoft Excel 2016.
- Số liệu được lưu trữ và phân tích thống kê bằng phần mềm SPSS 22.0. Kết quả được biểu diễn dưới dạng $M \pm SE$ (M: giá trị trung bình từng lô, SE: sai số chuẩn). So sánh giá trị trung bình giữa lô dùng mẫu thử với lô chứng bằng t-test Student. Sự khác biệt giữa các lô được coi là có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$.

Chương 3

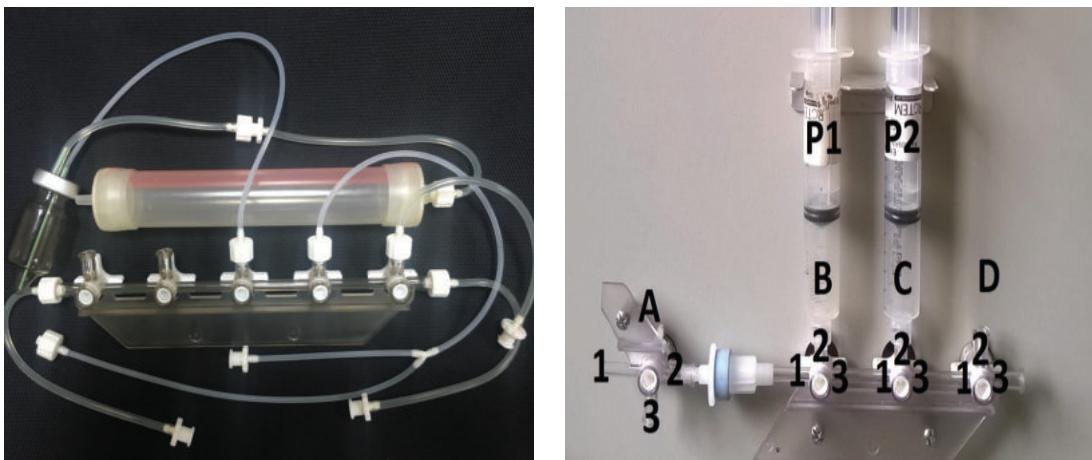
KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1 Chế tạo module và kit tổng hợp dược chất phóng xạ $^{18}\text{F-NaF}$

3.1.1 Chế tạo bộ kit tổng hợp $^{18}\text{F-NaF}$

Căn cứ vào các bước điều chế $^{18}\text{F-NaF}$ như sơ đồ 1.6 và dựa trên cơ sở bộ kit tổng hợp $^{11}\text{C-Choline}$ của hãng Bioscan–Mỹ, chúng tôi ngắt bỏ van số 1 và cắt đôi ở vị trí giữa van số 2 và số 3 từ trái sang phải để lắp cột QMA trong quá trình tổng hợp và sử dụng xi lanh P1 và P2 lắp vào vị trí số 3 và số 4 từ trái sang phải, thu được bộ kit tổng hợp $^{18}\text{F-NaF}$.

Bộ kit mới có các van ba chiều được tích hợp với các mô tơ điều khiển của module và có hình dạng như hình 3.1



Hình 3.1. kit tổng hợp $^{11}\text{C-Choline}$ của Bioscan (trái) và kit tổng hợp $^{18}\text{F-NaF}$ (phải).

Các van: A, B, C, D, mỗi van có ba nhánh được đánh số 1, 2, 3. Ký hiệu tên van - trạng thái thể hiện trạng thái của van đó, ví dụ A1-2 được hiểu là hai nhánh 1 và 2 của van A được nối với nhau.

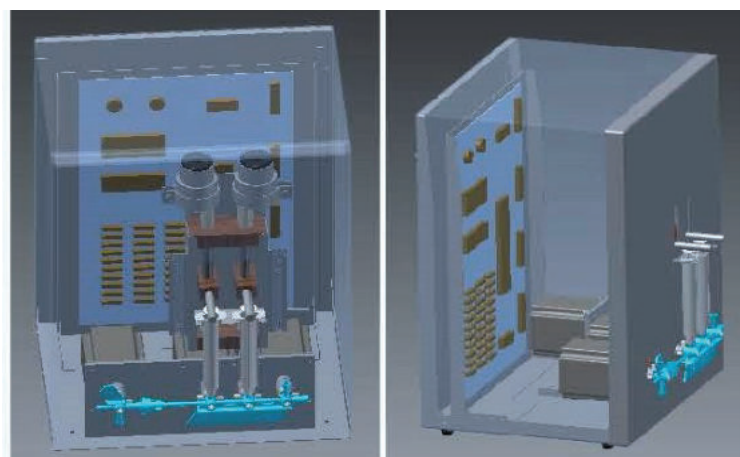
Hai xi lanh P1 và P2: trạng thái được ký hiệu “L” - lên, “X” - xuống, “D” - dừng, A1-nối với thải, A3-nối với sản phẩm, D2-nối với nước, D3-nối với xạ đầu vào. Các bước của quy trình vận hành kit tổng hợp như bảng 3.1.

Bảng 3.1. Các bước vận hành kit.

TT	A	B	C	D	P1	P2
0	1-2	1-3	2-3	1-3	D	D(dưới)
1	1-2	1-3	2-3	1-3	D	L
2	1-2	1-3	1-2	1-2	D	D(trên)
3	1-2	1-3	1-2	1-2	D	X
4	1-2	1-3	2-3	1-2	D	D(dưới)
5	1-2	1-3	2-3	1-2	D	L
6	1-2	1-3	1-2	1-2	D	D(trên)
7	1-2	1-3	1-2	1-2	D	X
8	1-2	1-3	2-3	1-2	D	D(dưới)
9	1-2	1-3	2-3	1-2	D	L
10	1-2	1-3	1-2	1-2	D	D(trên)
11	1-2	1-3	1-2	1-2	D	X
12	2-3	1-2	1-2	1-2	X	D(dưới)
13	2-3	2-3	1-3	1-2	L	D
14	2-3	1-2	1-3	1-2	X	D

3.1.2 Thiết kế tổng thể module

Dựa trên cấu tạo của bộ kit tổng hợp $^{18}\text{F-NaF}$ tự thiết kế, chế tạo, chúng tôi đã thiết kế module điều chế DCPX $^{18}\text{F-NaF}$ tổng thể dạng hình 3D như trong hình 3.2.

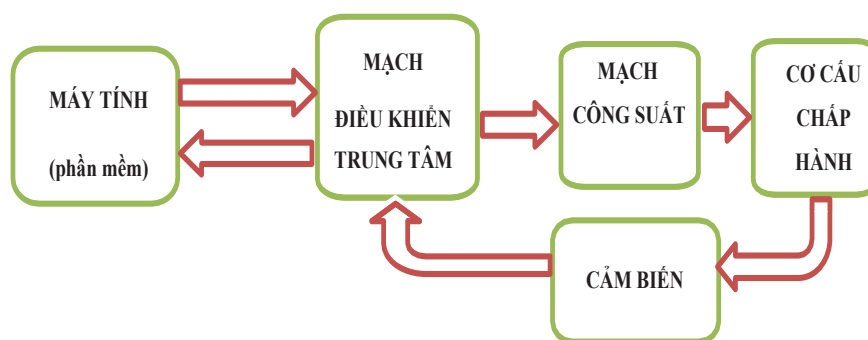


Hình 3.2. Mô hình 3D của module điều chế $^{18}\text{F-NaF}$

3.1.3 Thiết kế tổng thể bộ điều khiển

Căn cứ vào yêu cầu của thiết bị, bộ điều khiển được thiết kế như hình 3.3. Bộ điều khiển gồm 5 bộ phận chính:

- Máy tính: được cài đặt phần mềm để điều khiển quá trình điều chế DCPX. Máy tính giao tiếp với mạch điều khiển trung tâm của thiết bị qua cổng RS485.
- Mạch điều khiển trung tâm: nhận lệnh từ máy tính để đưa ra các tín hiệu điều khiển cơ cấu chấp hành; nhận các tín hiệu từ cảm biến và phản hồi về máy tính.
- Mạch công suất: khuếch đại tín hiệu từ mạch điều khiển trung tâm để điều khiển động cơ. Sử dụng 2 nguồn DC 12V dùng để điều khiển pittong P1, P2 và 4 động cơ bước để điều khiển các van A, B, C, D.
- Cơ cấu chấp hành: gồm các động cơ đẩy pittong P1, P1; các động cơ xoay van A, B, C, D.
- Cảm biến: phản hồi trạng thái của thiết bị về mạch điều khiển trung tâm. Trong thiết bị sử dụng các công tắc hành trình để giới hạn hành trình của các pittong P1 và P2.

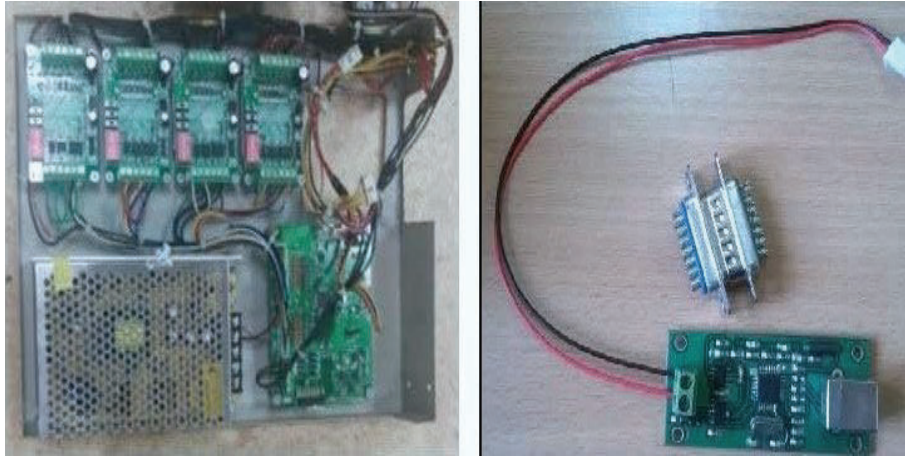


Hình 3.3. Sơ đồ nguyên lý Bộ điều khiển module điều chế $^{18}\text{F-NaF}$.

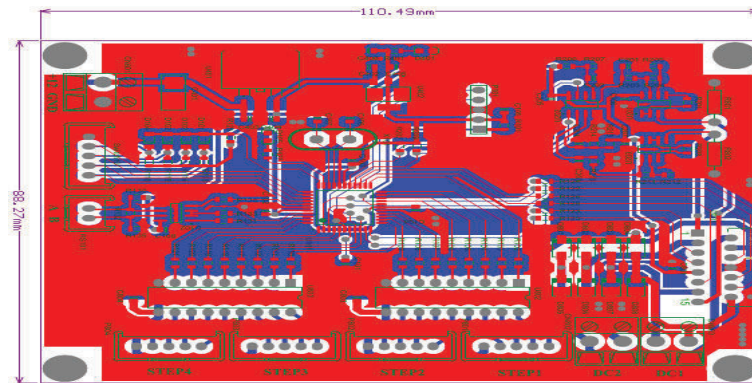
3.1.4 Chế tạo module điều chế $^{18}\text{F-NaF}$

a. Chế tạo và lắp ráp phần cứng

Từ sơ đồ nguyên lý mạch điều khiển, chúng tôi tiến hành thiết kế mạch in (hình 3.5), chế tạo mạch và lắp ráp với nguồn, mạch công suất (hình 3.4 (trái), mạch giao tiếp với máy tính (hình 3.4 (phải))).



Hình 3.4. Bộ điều khiển module điều chế $^{18}\text{F-NaF}$ (trái) và Bộ chuyển đổi RS485 \leftrightarrow USB module tổng hợp $^{18}\text{F-NaF}$ (phải)

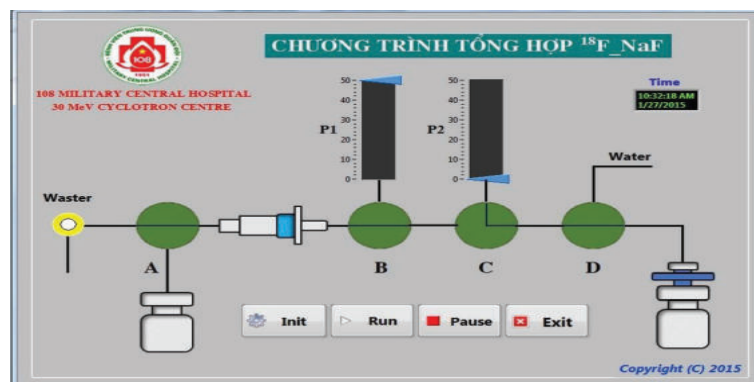


Hình 3.5. Mạch in trong phần cứng của module tổng hợp $^{18}\text{F-NaF}$.

b. Xây dựng chương trình điều khiển thiết bị

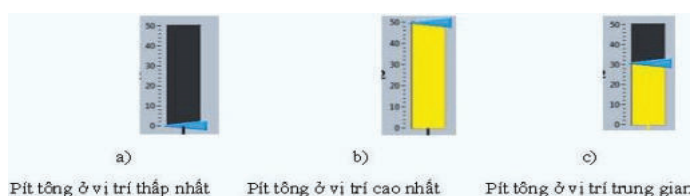
Chương trình điều khiển thiết bị được xây dựng trên phần mềm LabVIEW.

Căn cứ vào lưu đồ thuật toán điều khiển, chúng tôi tiến hành xây dựng chương trình điều khiển dựa trên ngôn ngữ lập trình LabVIEW. Giao diện phần mềm được xây dựng như hình 3.6. Trên giao diện có các nút tổng P1, P2, các van A, B, C, D.



Hình 3.6. Giao diện phần mềm điều khiển module điều chế $^{18}\text{F-NaF}$.

Pít tông P1 và P2 có ba trạng thái hoạt động để vận chuyển dung môi hóa chất theo chương trình cài đặt quy trình tổng hợp tự động $^{18}\text{F-NaF}$ như hình 3.7.

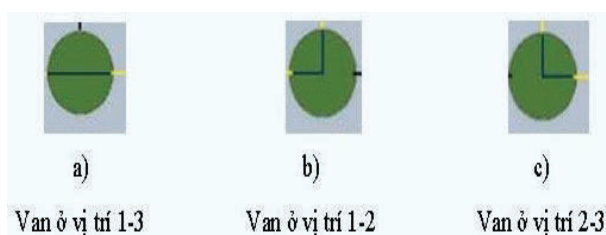


Hình 3.7. Các trạng thái của pít tông trên phần mềm.

Trong đó:

- Vị trí a là vị trí thấp nhất, pít tông chưa hoạt động hoặc đã đẩy hết dung môi, hóa chất.
- Vị trí b là vị trí cao nhất, pít tông đã hút đầy dung môi hóa chất hoặc không khí.
- Vị trí c là vị trí trung gian giữa vị trí a và b, ở vị trí này pít tông đang hoạt động lên hoặc xuống.

Hoạt động của các van ba chiều được thể hiện trong hình 3.8. Các van A, B, C, D có ba trạng thái hoạt động.



Hình 3.8. Các trạng thái của van trên phần mềm

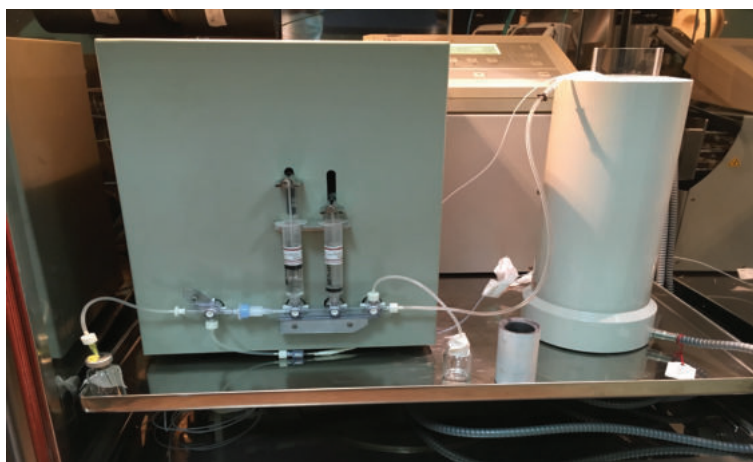
Trong đó:

- Hình a: dung môi, hóa chất khi đi qua các van A,B,C và D được vận chuyển từ vị trí 1 sang vị trí ba, nhánh đi đến vị trí 2 bị ngắt.
- Hình b: dung môi, hóa chất khi đi qua các van A, B, C và D từ vị trí 1 sang vị trí 2, vị trí 3 bị ngắt.
- Hình c: dung môi hóa chất đi qua các van A, B, C và D từ vị trí 2 sang vị trí 3, vị trí 1 bị ngắt.

Quá trình hoạt động của thiết bị: trạng thái của thiết bị được hiển thị đầy đủ trên chương trình điều khiển. Ví dụ, trong bước thực hiện vận chuyển nước giàu ^{18}O đã bị bắn phá từ bia vào module như hình 3.6: đường màu vàng báo hiệu module đang hút nước giàu ^{18}O từ lọ chứa nguyên liệu ^{18}F trong hotcell tổng hợp (vận chuyển từ máy gia tốc vào hotcell tổng hợp). Van D mở hướng 1-3, van C mở hướng 1-2 cho dung dịch đi từ lọ chứa nguyên liệu ^{18}F vào pit tông số 2. Sau đó, hai pit tông phối hợp để thực hiện các bước tiếp theo cho đến khi kết thúc quy trình.

c. Chế tạo vỏ thiết bị

Sau khi chế tạo phần cứng và tích hợp với phần mềm, thiết bị được bọc bằng vỏ thép và được sơn chống rỉ có hình dạng bên ngoài như hình 3.9



Hình 3.9. Hình ảnh module tổng hợp $^{18}\text{F-NaF}$ hoàn thiện.

3.1.5 Đánh giá độ ổn định hoạt động của kit và module tự chế tạo

Chúng tôi vận hành module trên 50 mẫu kit, kết quả thu được như bảng 3.2.

Bảng 3.2. Kết quả kiểm tra độ ổn định của kit và module

n=50	Có		Không	
	Số lần	%	Số lần	%
Các bước đúng quy trình	50	100	0	0
Các van 3 hoạt động đúng lệnh	50	100	0	0
Xi lanh 1 lên xuống đúng lệnh	50	100	0	0
Xi lanh 2 lên xuống đúng lệnh	50	100	0	0
Rò rỉ kit tổng hợp	1	2	49	98

Kết quả trong bảng 3.2 cho thấy, các bước vận hành của module chính xác và ổn định, chỉ có 2% kit rò rỉ. Tuy nhiên, đây là lỗi khi thao tác lắp kit của người vận hành. Sau khi điều chỉnh lại, kit hoạt động bình thường. Do vậy, khi thao tác cũng cần một số lưu ý để kit hoạt động hiệu quả.

Sau khi kiểm tra độ ổn định của module tích hợp với kit, chúng tôi tiến hành kiểm tra khả năng vận chuyển dung môi của kit với sự điều khiển tự động của phần mềm đã cài đặt. Kết quả thu được trong bảng 3.3.

Bảng 3.3. Kết quả kiểm tra sai số vận chuyển dung môi

Thể tích	Đầu vào (ml)	Đầu ra (ml)	Đầu ra/Đầu vào (%)
¹⁸ O sau bắn bia	1,931 ± 0,047	1,893 ± 0,069	98,032 ± 1,188
Nước rửa	2,895 ± 0,061	2,873 ± 0,084	99,240 ± 0,811
Dung dịch NaCl 0,9% cho rửa giải	2,967 ± 0,052	2,938 ± 0,078	99,023 ± 0,894

Bảng 3.3 cho thấy, tỷ lệ dung môi được vận chuyển trên 98%. Tỷ lệ dung môi hao hụt trong kit phụ thuộc chủ yếu vào chất liệu làm kit, sự trơn nhẵn của lòng kit hoặc do rò rỉ tại các mối nối.

3.1.6 Bước đầu thử nghiệm trên mẫu nóng

a. Điều chế $^{18}\text{F-NaF}$

Bia nước giàu ^{18}O được bắn phá trên máy gia tốc 30 MeV bởi chùm proton có năng lượng 18 MeV trong thời gian 10 phút với cường độ dòng 18,8 μA , kích hoạt phản ứng hạt nhân $^{18}\text{O}(p,n)^{18}\text{F}$. Sản phẩm là nước giàu ^{18}O chứa ^{18}F , được vận chuyển qua cột trao đổi cation (CM) để loại bỏ các tạp chất trong quá trình bắn bia, sau đó đi vào module, sau 20 phút $^{18}\text{F-NaF}$ được tạo ra với hiệu suất xấp xỉ 80%. Cuối cùng, các mẫu được đặt trong công ten nơ chì và xe vận chuyển che chắn bằng chì đến Labo kiểm nghiệm tại Trung tâm Máy Gia Tốc Bệnh viện TƯQĐ108.

Bảng 3.4. Hiệu suất điều chế của mẫu $^{18}\text{F-NaF}$.

TT	Mẫu	Hiệu suất (%) (EOS)
1	X1	$78,2 \pm 1,8$
2	X2	$79,6 \pm 0,4$
3	X3	$82,1 \pm 2,1$
Trung bình		$80,0 \pm 1,43$

b. Kiểm tra một số chỉ tiêu chất lượng của $^{18}\text{F-NaF}$

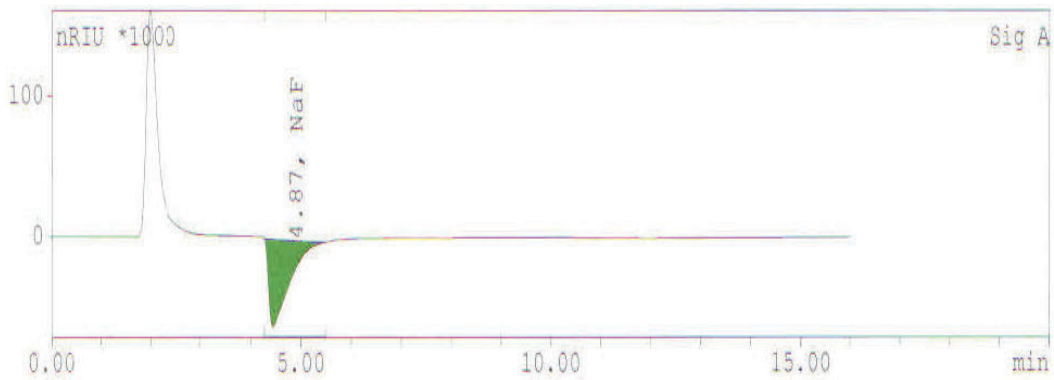
$^{18}\text{F-NaF}$ được đánh giá, kiểm tra về tính chất, pH, nhận diện, độ tinh khiết HPX, độ tinh khiết hạt nhân, nội độc tố vi khuẩn và độ vô khuẩn theo tiêu chuẩn của USP 2020, thể hiện trong bảng 3.5.

Bảng 3.5. Các chỉ tiêu kiểm nghiệm trên 3 mẫu $^{18}\text{F-NaF}$

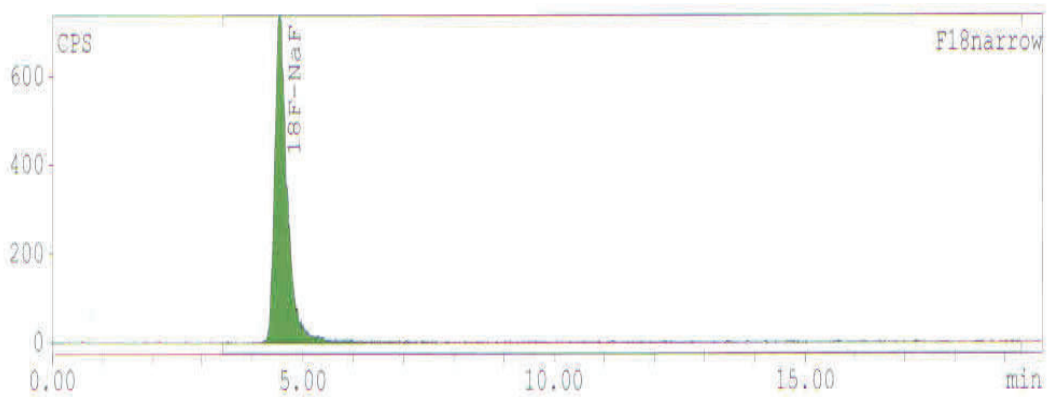
Các chỉ tiêu	Tiêu chuẩn của USP 2020	Kết quả trung bình
Tính chất	Dung dịch trong suốt, không màu, không hạt	Dung dịch trong suốt, không màu, không hạt
pH	4,5 – 8,0	$7,5 \pm 0,5$
Nhận diện hạt nhân phóng xạ	Xuất hiện đỉnh 511 keV và có thể 1022 keV	Xuất hiện đỉnh 511 keV
Độ tinh khiết HPX	$\geq 95\%$	$99,4 \pm 0,6 \%$
Chu kỳ bán rã (phút)	105 - 115	$108,7 \pm 0,9$

Độ tinh khiết hạt nhân phóng xạ	$\geq 99,5\%$	$\geq 99,9\%$
Nội độc tố vi khuẩn	$\leq 175V$ EU/ml	0,625V EU/ml
Độ vô khuẩn	Vô khuẩn	Vô khuẩn

Độ tinh khiết HPX được thực hiện trên sắc ký lỏng cao áp (HPLC), đỉnh chính trên phổ phóng xạ của mẫu $^{18}\text{F-NaF}$ có thời gian lưu tương ứng với NaF chuẩn và có HDPX chiếm trên 99% tại đỉnh ^{18}F (hình 3.10). Trên phổ gamma cho thấy, độ tinh khiết hạt nhân cao vì chỉ có một đỉnh năng lượng chính là 511 keV xuất hiện và chiếm trên 99,9% (hình 3.11). Thời gian bán rã được đo bằng máy Curimenter 4, kết quả trung bình trên ba mẫu là 108,7 phút nằm trong giới hạn yêu cầu về nhận diện của ĐVPX ^{18}F .



Hình 3.10. Thời gian lưu của NaF trên HPLC



Hình 3.11. Thời gian lưu của $^{18}\text{F-NaF}$ trên HPLC

3.2 Chuẩn hóa phương pháp xác định độ tinh khiết hóa phóng xạ của $^{18}\text{F-NaF}$ trên HPLC

Chuẩn hóa mẫu thử độ tinh khiết $^{18}\text{F-NaF}$ được thực hiện theo hướng dẫn của ICH Q2(R1). Các thông số chuẩn hóa: độ tuyến tính, độ chính xác (khả năng lặp lại, tính lặp lại), giới hạn phép đo, độ đúng và dải đo. Các chỉ tiêu cần đáp ứng như bảng 2.4.

3.2.1 Dựng đường chuẩn

Việc xác định độ tuyến tính được thực hiện với 5 bộ dung dịch chuẩn có nồng độ từ 0,101 đến 5,071 mg/ml. Căn cứ vào phổ thu được, xác định diện tích đỉnh và chiều cao, chúng tôi vẽ đồ thị các giá trị tương ứng so với nồng độ để xác định hệ số tương quan (R^2). Kết quả xây dựng đường chuẩn được thể hiện trong bảng 3.6 và hình 3.12.

Bảng 3.6. Diện tích đỉnh của NaF có nồng độ từ 0,1-5 mg/ml

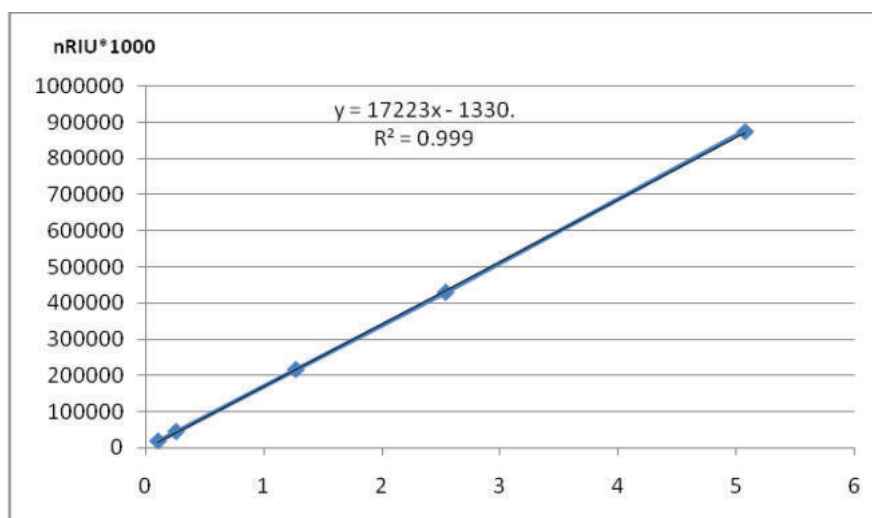
TT	Mẫu	Nồng độ thực (mg/ml)	Diện tích đỉnh (nRIU)
1	X1	0,101	17944,7
2	X2	0,254	44173,3
3	X3	1,268	216002,2
4	X4	2,536	430022,5
5	X5	5,071	874925,6

Kết quả trong bảng 3.6 và hình 3.12 cho thấy, sự phụ thuộc tuyến tính chặt chẽ giữa diện tích đỉnh và nồng độ NaF trong khoảng khảo sát từ 0,101 mg/ml đến 5,071 mg/ml với phương trình hồi quy là $y = 17223x - 1330$, hệ số tương quan R^2 là 0,999, hoàn toàn phù hợp với yêu cầu đặt ra trong bảng 2.4.

3.2.2 Độ chính xác

Để xác định độ chính xác của phương pháp sắc ký, chúng tôi tiêm dung dịch chuẩn NaF có nồng độ 2,801 mg/ml 5 lần.

Từ kết quả thu được, xác định diện tích đỉnh và thời gian lưu của từng phổ, sau đó tính độ lệch chuẩn tương đối (RSD). Kết quả trong thí nghiệm này được thể



Hình 3.12. Đồ thị tương quan giữa diện tích đỉnh nồng độ NaF trên HPLC

hiện trong bảng 3.7.

Bảng 3.7. Độ chính xác của phương pháp HPLC đối với NaF

Lần tiêm	Diện tích đỉnh (nRIU)	Thời gian lưu t_R (phút)
1	465928,30	4,53
2	479543,60	4,55
3	475648,50	4,52
4	477189,20	4,61
5	476459,30	4,57
Trung bình	474953,80	4,56
Độ lệch chuẩn	4696,20	0,03
Độ lệch chuẩn tương đối	0,99 %	0,66%

Kết quả trong bảng 3.7 cho thấy, sử dụng HPLC để định lượng NaF cho độ chính xác cao với độ lệch chuẩn tương đối $RSD = 0,79 \leq 2\%$.

3.2.3 Độ đúng

Độ đúng của quy trình phân tích là mức độ gần của các giá trị tìm thấy với giá trị thực khi phân tích trên cùng một mẫu thử trong cùng điều kiện xác định. Độ đúng được biểu thị bằng tỷ lệ tìm lại của các giá trị tìm thấy và giá trị thực của mẫu chuẩn.

Chúng tôi sử dụng dung dịch chuẩn mẹ 3,38 mg/2ml, pha loãng bằng nước tinh khiết để được các dung dịch với nồng độ lần lượt là 0,05 mg/ml; 0,2 mg/ml và 0,4 mg/ml. Tiến hành phân tích các mẫu và xác định % tìm lại như trong bảng 3.8.

Bảng 3.8. Độ đúng của phương pháp HPLC đối với NaF

Độ đúng	Mẫu	Diện tích đỉnh (nRIU*1000)	Nồng độ tìm lại (mg/ml)	Nồng độ thật (mg/ml)	% tìm lại
Độ đúng 1	DD1	7372,11	0,05	0,05	101,06
	DD2	7151,11	0,05		98,50
	DD3	7415,30	0,05		101,56
Độ đúng 2	DD1	33169,09	0,20	0,20	100,16
	DD2	33811,91	0,20		102,02
	DD3	32959,61	0,20		99,55
Độ đúng 3	DD1	68566,90	0,41	0,40	101,46
	DD2	66998,81	0,40		99,18
	DD3	67964,10	0,40		98,84

Kết quả trong bảng 3.8 cho thấy, tỷ lệ tìm lại được từ 98,84% đến 102,2% với hệ số tương quan $R^2 \geq 0,99$ và độ lệch chuẩn tương đối RSD của giá trị tìm lại $\leq 2\%$. Như vậy phương pháp định lượng NaF bằng HPLC cho độ đúng cao.

3.2.4 Độ lặp lại

Để xác định độ lặp lại, chúng tôi thực hiện thí nghiệm với 3 giá trị trong dải tuyến tính. Các dung dịch này được đo 3 lần, kết quả được thể hiện trong bảng 3.9.

Bảng 3.9. Độ lặp lại của phương pháp HPLC đối với NaF

Mẫu	Lần tiêm	Thời gian lưu (t_R) (phút)	Diện tích đỉnh (nRIU)
Mẫu 1	1	4,53	97025,90
	2	4,56	108385,40
	3	4,6	106612,30
Trung bình		4,56	104007,90

Độ lệch chuẩn		0,03	4989,80
Độ lệch chuẩn tương đối		0,66	4,80
Mẫu 2	1	4,55	295622,20
	2	4,53	297244,80
	3	4,52	294977,60
Trung bình		4,53	295948,20
Độ lệch chuẩn		0,01	953,90
Độ lệch chuẩn tương đối		0,22	0,32
Mẫu 3	1	4,52	153673,30
	2	4,55	152431,80
	3	4,54	152207,90
Trung bình		4,54	152771,01
Độ lệch chuẩn		0,01	644,50
Độ lệch chuẩn tương đối		0,22	0,42

Theo bảng 3.9, phương pháp định lượng NaF bằng HPLC cho độ lặp lại cao với độ lệch chuẩn tương đối RSD về thời gian lưu cũng như diện tích đỉnh của cả ba mẫu đều $\leq 2\%$.

3.2.5 Chuẩn hóa nhận diện và độ tinh khiết hóa phóng xạ của $^{18}\text{F-NaF}$

Các kết quả kiểm tra chuẩn hóa phương pháp HPLC để nhận diện $^{18}\text{F-NaF}$ thể hiện trong bảng 3.10 với thời gian lưu của $^{18}\text{F-NaF}$ so với NaF chuẩn không được sai lệch quá 5%.

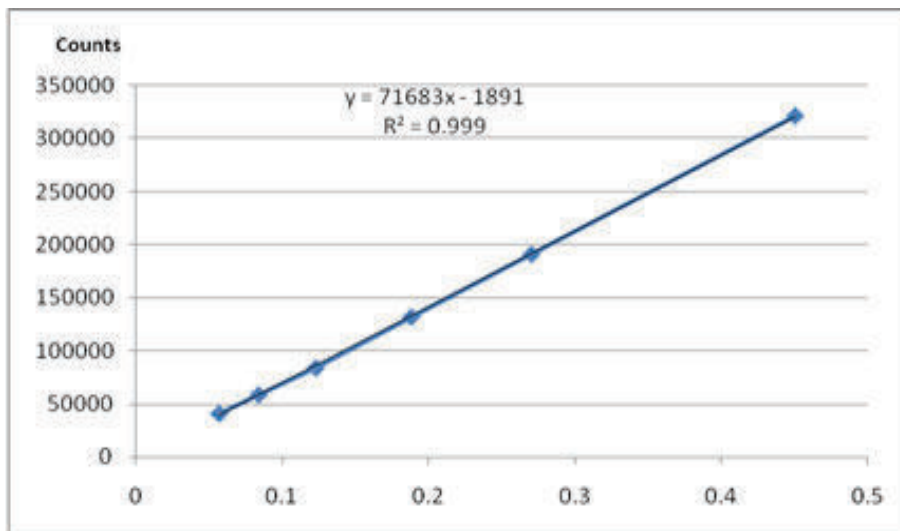
Bảng 3.10. Chuẩn hóa nhận diện $^{18}\text{F-NaF}$

TT	$t_R(^{18}\text{F-NaF})$ (phút)	$t_R(\text{NaF})$ (phút)	Sai lệch t_R (phút)	t_R hiệu chỉnh (phút)	% sai lệch sau hiệu chỉnh
1	4,55	4,75	0,20	4,48	1,56
2	4,60	4,85	0,25	4,58	0,44
3	4,58	4,83	0,25	4,56	0,44

4	4,57	4,82	0,25	4,55	0,44
5	4,53	4,88	0,35	4,61	1,74
6	4,52	4,83	0,31	4,56	0,88
TB	4,56±0,03	4,83±0,04	0,27±0,05	4,56±0,04	0,92±0,54

Kết quả trong bảng 3.10 cho thấy, thời gian lưu trung bình của $^{18}\text{F-NaF}$ và NaF lần lượt là 4,56 và 4,83 với độ lệch sau khi hiệu chỉnh nằm trong khoảng từ 0,44 đến 1,74% ($\leq 5\%$).

Việc xác định độ tuyến tính của đầu đo phóng xạ cho biết dải nồng độ của $^{18}\text{F-NaF}$ phụ thuộc vào tín hiệu nhận được của đầu đo. Để xác định độ tuyến tính, từ giá trị nồng độ phóng xạ ban đầu của mẫu, tiến hành đo mẫu đó tại các thời điểm, xác định nồng độ phóng xạ. Từ kết quả thu được của phổ sắc ký, vẽ đồ thị mối tương quan giữa nồng độ phóng xạ và diện tích đỉnh. Kết quả thu được như hình 3.13 và bảng 3.11.



Hình 3.13. Đồ thị biểu diễn độ tuyến tính của độ tinh khiết hóa phóng xạ.

Bảng 3.11. Độ tuyến tính của độ tinh khiết hóa phóng xạ

TT	Thời gian	Hoạt độ phóng xạ $^{18}\text{F-NaF}$ (mCi/ml)	Diện tích đỉnh $^{18}\text{F-NaF}$ (counts)
1	8 giờ 52 phút	0,451	321587,7
2	10 giờ 13 phút	0,270	191132,0
3	11 giờ 10 phút	0,188	131995,0

4	12 phút 18 phút	0,123	84106,82
5	13 giờ 18 phút	0,084	58882,6
6	14 giờ 18 phút	0,057	41081,0

Hệ số tương quan $R^2 = 0,999$ cho thấy, phương pháp HPLC cho độ tuyến tính cao với mẫu thử $^{18}\text{F-NaF}$.

Để xác định độ chính xác của phương pháp với $^{18}\text{F-NaF}$, chúng tôi sử dụng một mẫu $^{18}\text{F-NaF}$ để tiêm 6 lần. Kết quả thu được như bảng 3.12.

Bảng 3.12. Độ chính xác của phương pháp HPLC với $^{18}\text{F-NaF}$

TT	Lần tiêm mẫu	Độ tinh khiết HPX (%)
1	Lần 1	98,94
2	Lần 2	98,63
3	Lần 3	98,50
4	Lần 4	98,53
5	Lần 5	98,55
6	Lần 6	98,57
Trung bình		98,62
Độ lệch chuẩn tương đối		0,15%

Bảng 3.12 cho thấy, độ tinh khiết hóa phóng xạ đều đạt trên 98,5% và độ lệch chuẩn tương đối trong thí nghiệm là 0,15%.

3.3 Xác định độ pha loãng mẫu $^{18}\text{F-NaF}$ phù hợp với mẫu thử nhanh nội độc tố vi khuẩn

Hoạt động phóng xạ là một yếu tố có thể ảnh hưởng đến độ chính xác của phép thử nội độc tố vi khuẩn, do vậy, cần khảo sát tỷ lệ pha loãng của mẫu với độ chính xác của phép thử. Kết quả phân tích nội độc tố vi khuẩn của các mẫu nghiên cứu thể hiện trong bảng 3.13.

Bảng 3.13. Kết quả phân tích nội độ tổ vi khuẩn trên máy PTS

TT	Mẫu Đạt/K đạt	Hệ số pha loãng	Nội độ tổ vi khuẩn (EU/ml)	Độ lệch hệ số mẫu CV1 (%)	Độ lệch hệ số spike CV2 (%)	Kiểm soát mẫu dương (PPC)	Tỷ lệ tìm lại spike (%)	pH
1	NaF060318	1 : 1	0,891	0,0	4,5	0,545	44	7,5
2		1 : 10	$\leq 0,5$	0,0	0,0	0,540	63	7,5
3		1 : 100	$\leq 0,5$	0,0	0,0	0,688	81	7,0
1	NaF070318	1 : 1	0,832	0,0	0,0	0,342	97	7,5
2		1 : 10	$\leq 0,5$	0,0	3,9	0,602	71	7,5
3		1 : 100	$\leq 0,5$	0,0	3,8	0,567	53	7,0
1	NaF080318	1 : 1	0,673	0,0	3,7	0,479	342	7,5
2		1 : 10	0,719	4,8	2,1	0,518	61	7,5
3		1 : 100	$\leq 0,5$	0,0	3,3	0,662	315	7,0

Kết quả trong bảng 3.13 cho thấy, cả 3 lô DCXP ^{18}F -NaF có nội độ tổ mẫu thấp hơn giới hạn, một mẫu cao hơn giới hạn (50-200%). Trong khi đó, với tỷ lệ pha loãng 1:100 có hai mẫu có tỷ lệ tìm lại $\leq 200\%$. Chỉ có tỷ lệ pha loãng 1:10 là đáp ứng với các thông số yêu cầu của máy PTS.

3.4 Nghiên cứu xây dựng quy trình điều chế ^{18}F -NaF

Trước khi xây dựng quy trình tổng hợp DCPX ^{18}F -NaF, chúng tôi khảo sát một số yếu tố ảnh hưởng đến hiệu suất quá trình tổng hợp.

3.4.1 Ảnh hưởng của thể tích NaCl 0,9% và nước rửa tạp chất

Để khảo sát ảnh hưởng của thể tích dung dịch NaCl 0,9% và nước rửa tạp chất đến hiệu suất điều chế ^{18}F -NaF, chúng tôi sử dụng lượng dung dịch NaCl 0,9% và lượng nước cất với ba thể tích khác nhau. Lượng ^{18}F bắt đầu tham gia phản ứng có HĐPX cỡ 10 mCi và thời gian tổng hợp là 20 phút, kết quả thu được thể hiện trong bảng 3.14.

Bảng 3.14. Ảnh hưởng của thể tích dung dịch NaCl 0,9% và nước cất đến hiệu suất điều chế $^{18}\text{F-NaF}$

Số TT	HDPX mẫu (mCi)	Dung dịch NaCl 0,9% (ml)	Nước cất (ml)	EOS (%)	Hiệu suất hiệu chỉnh (EOB) (%)	Hiệu suất hiệu chỉnh trung bình (EOB) (%)
1	10,21	1	1	22,18	25,13	28,92±3,96
2	10,17	1	1	29,11	33,02	
3	10,35	1	1	25,20	28,58	
4	10,23	1	3	31,12	35,30	36,76±2,82
5	10,00	1	3	25,27	40,01	
6	10,25	1	3	30,83	34,97	
7	10,19	1	5	33,20	37,66	37,56±3,34
8	10,32	1	5	30,12	34,17	
9	10,36	1	5	36,01	40,85	
10	10,25	3	1	59,03	66,96	67,27±2,58
11	10,22	3	1	57,21	64,89	
12	10,18	3	1	61,72	70,01	
13	10,13	3	3	69,19	78,48	81,37±2,65
14	10,27	3	3	72,24	81,94	
15	10,20	3	3	73,78	83,69	
16	10,23	3	5	79,31	89,96	89,78±1,33
17	10,25	3	5	80,46	87,36	
18	10,34	3	5	77,73	88,17	
19	10,28	5	1	65,61	74,42	78,28±3,4
20	10,16	5	1	70,25	79,68	
21	10,24	5	1	71,17	80,73	
22	10,33	5	3	77,02	87,36	89,53±1,89
23	10,28	5	3	80,04	90,79	
24	10,18	5	3	79,74	90,45	
25	10,19	5	5	1,51	1,70	4,81±5,89
26	10,31	5	5	10,22	11,59	
27	10,34	5	5	0,97	1,10	

Thể tích nước tráng rửa kit ảnh hưởng đáng kể đến hiệu suất điều chế

$^{18}\text{F-NaF}$, hơn nữa, thể tích dung dịch NaCl 0,9% dùng trong phản ứng để tạo $^{18}\text{F-NaF}$ cũng ảnh hưởng đến hiệu suất. Nhưng tỷ lệ này không tỷ lệ thuận với hiệu suất phản ứng. Hiệu suất đạt cao khi sử dụng 3ml dung dịch NaCl 0,9%, 5 ml nước cất hoặc 5 ml dung dịch NaCl 0,9%, 3 ml nước cất. Tuy nhiên, khi dùng 3ml dung dịch NaCl 0,9%, 5 ml nước cất cho hiệu suất cao hơn một chút nhưng sự khác biệt giữa hai tỷ lệ pha này không có ý nghĩa thống kê với $p \leq 0,01$. Mặt khác, sử dụng thể tích dung dịch NaCl 0,9% lớn sẽ pha loãng nồng độ phóng xạ của sản phẩm $^{18}\text{F-NaF}$ nên chúng tôi chọn cách sử dụng với 3ml dung dịch NaCl 0,9%. Hiệu suất điều chế $^{18}\text{F-NaF}$ thấp nhất khi sử dụng 5 ml nước rửa đường ống kit và 5 ml dung dịch NaCl 0,9%, hiệu suất gần bằng 0.

3.4.2 Ảnh hưởng của thời gian đến hiệu suất điều chế $^{18}\text{F-NaF}$

Chúng tôi sử dụng tỷ lệ thể tích nước cất là 5 ml và 3 ml dung dịch NaCl 0,9% để khảo sát mối liên hệ giữa thời gian đến hiệu suất điều chế $^{18}\text{F-NaF}$. Tiến hành điều chế $^{18}\text{F-NaF}$ với lượng HDPX ^{18}F ban đầu cỡ 10 mCi, tăng tốc độ bơm dung môi để thời gian tổng hợp tương ứng là 20 phút, 15 phút và 10 phút, chúng tôi thu được kết quả như bảng 3.15.

Bảng 3.15. Ảnh hưởng của thời gian đến hiệu suất điều chế $^{18}\text{F-NaF}$.

Số TT	HDPX mẫu (mCi)	Thời gian tổng hợp (phút)	Hiệu suất (EOS)	EOB (%)	EOB trung bình (%)
1	10,226	20	79,31	89,96	89,78±1,33
2	10,25	20	80,46	87,362	
3	10,34	20	77,73	88,168	
4	10,10	15	85,79	94,30	93,92±0,74
5	10,22	15	84,68	93,07	
6	10,21	15	85,89	94,39	
7	10,23	10	1,50	1,65	2,84±1,67
8	10,11	10	1,93	2,12	
9	10,31	10	4,32	4,75	

Kết quả thể hiện trong bảng 3.15 cho thấy, với thời gian tổng hợp giảm từ 20 phút xuống 15 phút làm tăng hiệu suất gần 4%. Tuy nhiên, khi giảm thời gian tổng hợp còn 10 phút, hiệu suất chỉ còn chưa tới 3%. Cả ba mẻ với thời gian tổng

hợp là 10 phút sau khi được kiểm tra đều cho thấy cột QMA bị nứt vỡ. Điều này cho thấy, tốc độ vận chuyển dung môi tăng, thời gian tổng hợp giảm xuống ảnh hưởng nhiều đến hiệu suất tổng hợp. Thực hiện thí nghiệm trên thiết bị của nhóm nghiên cứu chúng tôi cho thấy, thời gian tổng hợp 15 phút cho hiệu suất cao nhất.

3.4.3 Điều chế $^{18}\text{F-NaF}$ quy mô 100 mCi/mẻ

Năng lượng tối ưu để gia tốc chùm proton bắn phá nước giàu ^{18}O tạo ^{18}F là 18 MeV. Tuy nhiên, cường độ chùm tia bị ảnh hưởng bởi nhiều thông số trong quá trình vận hành. Chúng tôi đã hiệu chỉnh cường độ chùm tia tối ưu nhất để chùm tia hội tụ và phân bố đều trên bia nhằm tăng hiệu suất bắn bia với các thông số vận hành như sau :

$$\begin{aligned} \text{SA} &= 2131 \pm 394 & \text{SM} &= 1199 \pm 512 & \text{QA} &= 9941 \pm 413 \\ \text{QB} &= 12224 \pm 180 & \text{QC} &= 12046 \pm 420 & \text{QD} &= 8461 \pm 829 \end{aligned}$$

Để có khoảng 100 mCi $^{18}\text{F-NaF}$, chúng tôi sử dụng các thông số kỹ thuật bắn bia như trên với thời gian bắn bia là 5 phút, thể tích dung dịch NaCl 0.9% là 3 ml, thể tích nước rửa là 5ml và thời gian tổng hợp là 15 phút, kết quả được thể hiện trong bảng 3.16.

Bảng 3.16. Hoạt độ $^{18}\text{F-NaF}$ thu được khi bắn bia với thời gian 5 phút

Số TT	Mẫu	Cường độ chùm tia (μA)	HĐPX ^{18}F (mCi)	HĐPX $^{18}\text{F-NaF}$ (mCi)	Hiệu suất tổng hợp (EOS) (%)	Hiệu suất tổng hợp hiệu chỉnh (EOB) (%)
1	F-1	36	110,34	94,90	86,01	94,55
2	F-2	35,5	101,70	87,00	85,55	94,04
3	F-3	36	112,01	90,01	80,36	88,34
4	F-4	35	104,52	87,00	83,24	91,50
5	F-5	36	100,86	86,00	85,27	93,73
6	F-6	35,5	114,12	94,14	82,49	90,69
Trung bình		$35,6 \pm 0,33$	$107,26 \pm 5,63$	$89,84 \pm 3,87$	$83,65 \pm 2,12$	$92,44 \pm 2,40$

Khi bắn bia nước giàu ^{18}O với năng lượng 18 MeV và các thông số hiệu chỉnh chùm tia như mục 3.4.3, cường độ chùm tia ổn định từ mức 35 đến 36,5 μA , thời gian bắn bia 5 phút, quy trình điều chế sử dụng 3 ml dung dịch NaCl 0,9% và 5 ml nước cất dùng để rửa với thời gian tổng hợp là 15 phút thì lượng $^{18}\text{F-NaF}$ thu

được là $89,84 \pm 3,87$ mCi với hiệu suất điều chế là $83,65 \pm 2,19\%$ và hiệu suất hiệu chỉnh về thời điểm kết thúc bắn bia là $92,44 \pm 2,40\%$ là cao và ổn định.

3.4.4 Quy trình điều chế $^{18}\text{F-NaF}$ quy mô 1000 mCi/mẻ

a. Công thức

Trên cơ sở khảo sát khả năng điều chế $^{18}\text{F-NaF}$ trên kit và module tự chế tạo, chúng tôi xây dựng công thức DCPX $^{18}\text{F-NaF}$ gồm các thành phần như sau:

- Đồng vị phóng xạ: $^{18}\text{F-fluorid}$;
- Dung môi: Dung dịch NaCl 0,9%;

Bảng 3.17. Công thức dược chất phóng xạ $^{18}\text{F-NaF}$

TT	Thành phần	Số lượng
1	$^{18}\text{F-fluorid}$	67 mCi/ml
2	Dung dịch NaCl 0,9%	15 ml

b. Thông số kỹ thuật tổng hợp

+ Các thông số chính cho bắn bia

- Năng lượng gia tốc chùm proton: 18 MeV
- Thông số chính của chùm tia: Như mục 3.4.3
- Cường độ chùm tia: 25 đến 36,5 μA
- Thời gian bắn bia: 30 phút

+ Các thông số tổng hợp hóa phóng xạ

- Thể tích NaCl 0,9%: 3 ml
- Thể tích nước tinh khiết: 5 ml
- Thời gian tổng hợp: 15 phút

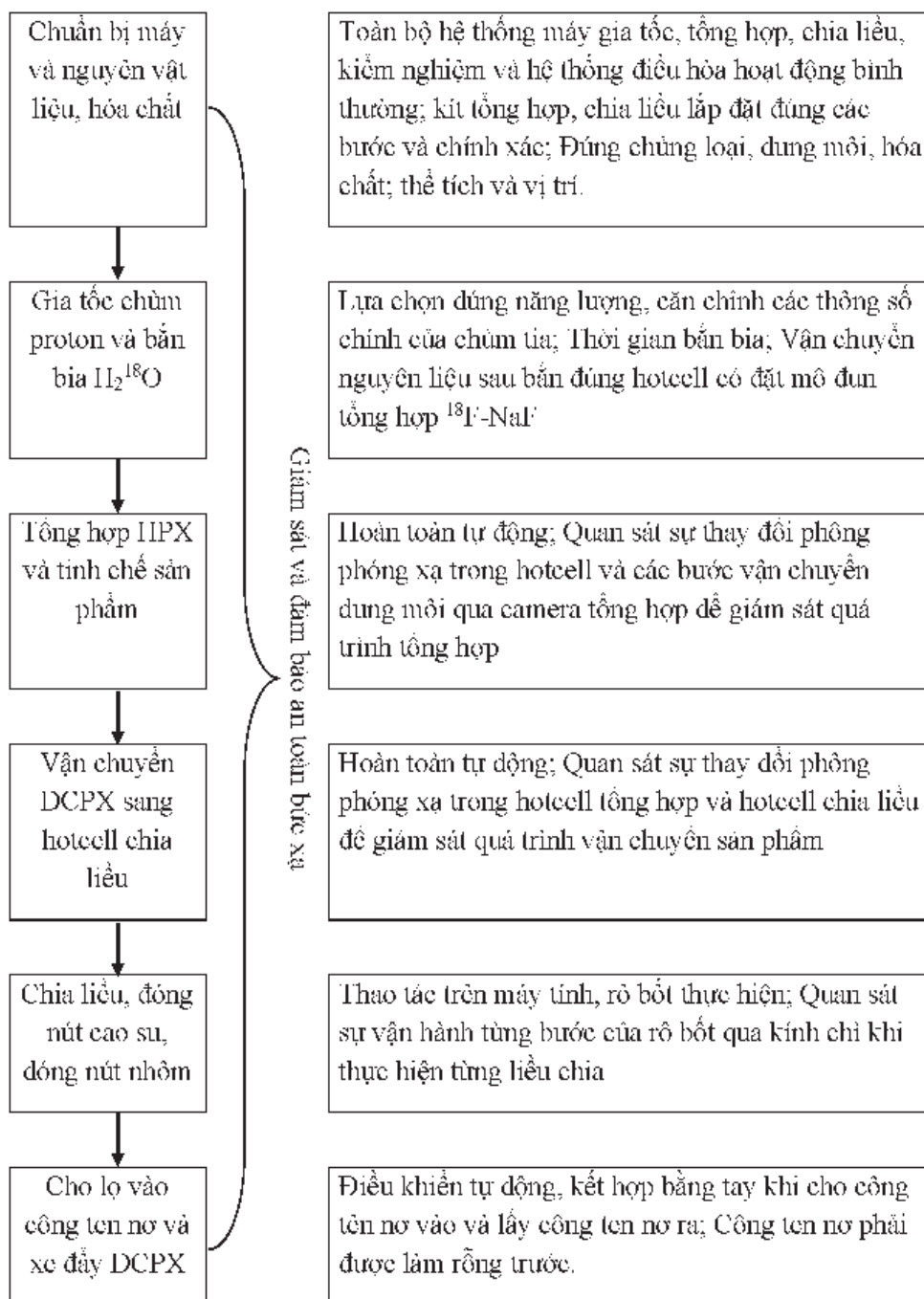
c. Quy trình điều chế

Từ kết quả nghiên cứu chế tạo kit và module điều chế tự động $^{18}\text{F-NaF}$ và khảo sát các thông số kỹ thuật ảnh hưởng đến hiệu suất tổng hợp HPX cũng như chất lượng của $^{18}\text{F-NaF}$, chúng tôi đề xuất quy trình điều chế $^{18}\text{F-NaF}$ 1000 mCi/mẻ với các bước cụ thể như sau:

- vô khuẩn bên trong và bên ngoài hai hotcell tổng hợp và chia liều DCPX bằng dung dịch cồn 70%.

- Chuẩn bị 1 bộ kit tổng hợp đã được tiệt trùng, 1 bộ kit chia liều, 1 lọ chứa 5 ml nước cất vô khuẩn và không có nội độc tố, 1 xy lanh chứa 3 ml Natri clorid 0,9% vô khuẩn, không có nội độc tố, 1 xy lanh chứa 5 ml nước cất, vô khuẩn và không có nội độc tố, 1 xy lanh chứa 20 ml nước cất, 1 xy lanh chứa 5 ml NaHCO₃ 8,4%, 1 cột QMA, 1 cột CM, 1 màng lọc khuẩn kích thước lỗ 0,22 μm, ít nhất bộ 4 lọ thủy tinh 15 ml, nút cao su, nút nhôm, 1 lọ tổng 30 ml vô khuẩn, không có nội độc tố.
- Khởi động máy gia tốc, nạp 1,85 ml ¹⁸OH₂O.
- Gia tốc chùm proton với các thông số kỹ thuật như mục b
- Thực hiện bắn bia trong 10 phút.
- Trong thời gian khởi động máy gia tốc, hoạt hóa cột QMA bằng 5ml dung dịch NaHCO₃ 8,4% với tốc độ 2ml/phút, rửa cột QMA bằng 10 ml nước cất, loại bỏ hết nước dư trong cột. Hoạt hóa cột CM bằng 5 ml nước cất sau đó loại bỏ hết nước dư; lắp đặt kit tổng hợp vào module tổng hợp; khởi động máy tính; kết nối máy tính và khởi động chương trình tổng hợp ¹⁸F-NaF; lắp đặt kit chia liều; dán nhãn lọ sản phẩm; dán nhãn công ten nơ; khởi động rô bốt chia liều; làm sạch công ten nơ và xe đẩy chứa công ten nơ; đóng cửa buồng hotcell tổng hợp và chia liều chờ kết thúc bắn bia để bắt đầu quá trình tổng hợp.
- Kết thúc bắn bia, nhấn nút vận chuyển nước giàu ¹⁸O có chứa ¹⁸F sang hotcell có đặt module tổng hợp ¹⁸F-NaF.
- Quá trình bắn bia và vận chuyển nguyên liệu ¹⁸F thành công, ghi chép hoạt độ phóng xạ của lọ chứa nước giàu ¹⁸O sau khi bắn bia, nhấn biểu tượng “Start” trên màn hình giao diện chương trình tổng hợp ¹⁸F-NaF trên máy tính. Quá trình này sẽ tự động kết thúc sau 15 phút, ¹⁸F-NaF tự động chuyển sang lọ tổng chứa sản phẩm trong hotcell chia liều.
- Cho công ten nơ vào vị trí, tiến hành chia liều phóng xạ, lọ đầu tiên là để đuổi khí trong đường ống kit chia liều, lọ thứ 2 cho kiểm nghiệm, lọ thứ 3 để lưu và các lọ tiếp theo cho các mẫu nghiên cứu.
- Khi công ten nơ chứa lọ sản phẩm được đẩy ra khỏi hotcell chia liều, nhanh tay đẩy nắp công ten nơ, cho công ten nơ vào xe vận chuyển đến các vị trí kiểm nghiệm, lưu mẫu và khu vực thí nghiệm khác.
- Toàn bộ quá trình chuẩn bị, bắn bia, tổng hợp, chia liều, kiểm nghiệm và các thí nghiệm khác đều được giám sát chặt chẽ về an toàn bức xạ bởi nhân viên an toàn bức xạ để đảm bảo an toàn cho những người trực tiếp thực hiện và môi trường xung quanh.

d. Tóm tắt lưu đồ điều chế $^{18}\text{F-NaF}$



Hình 3.14. Lưu đồ điều chế $^{18}\text{F-NaF}$

e. Khảo sát mối tương quan giữa thời gian bắn bia và hoạt độ phóng xạ $^{18}\text{F-NaF}$

$^{18}\text{F-NaF}$ sau khi được điều chế theo công thức và quy trình như mục 3.4.4 với hiệu suất tổng hợp HPX trên 90% và ổn định trong vòng 8 giờ. Trong tổng hợp HPX, khi các điều kiện tổng hợp ổn định, sản lượng sản phẩm tạo ra chủ yếu phụ thuộc vào lượng hạt nhân phóng xạ tham gia vào phản ứng HPX.

Điều này có nghĩa là sản lượng phụ thuộc vào thời gian bắn bia. Với mỗi ĐVPX cần thời gian bắn nhất định để đạt được sản lượng mong muốn mà không bị lãng phí năng lượng và nguyên vật liệu. Để có thể đáp ứng đủ nhu cầu của các máy PET/CT hiện có ở khu vực Hà nội, chúng tôi khảo sát thời gian bắn bia để tạo ra lượng $^{18}\text{F-NaF}$ có hoạt độ 1000 mCi/mẻ.

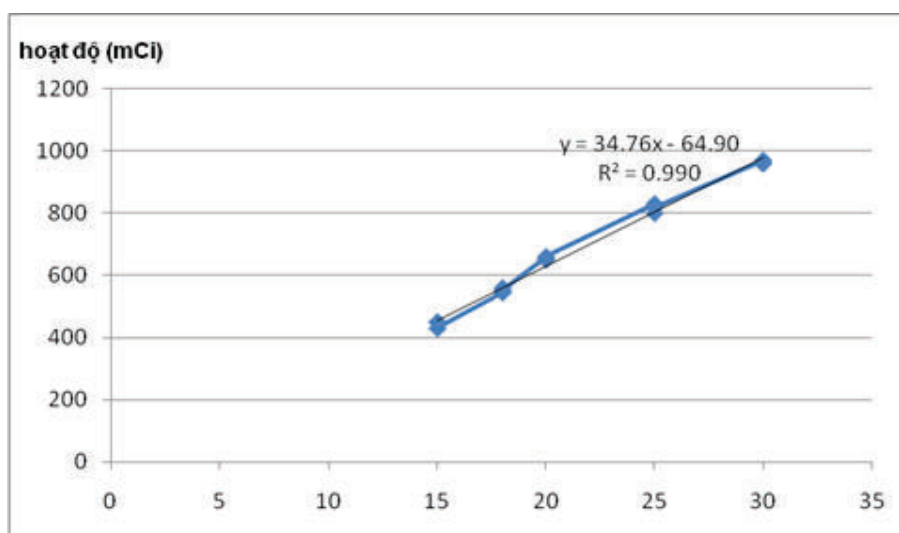
Trong quy trình điều chế $^{18}\text{F-NaF}$ thì ^{18}F đóng vai trò như một nguyên liệu đầu vào chính. Về mặt lý thuyết, khi điều chỉnh cường độ chùm proton ổn định, tăng thời gian bắn bia thì lượng ^{18}F sẽ tăng lên, đồng thời lượng $^{18}\text{F-NaF}$ được tổng hợp cũng tăng lên. Kết quả được thể hiện trong bảng 3.18.

Bảng 3.18. Ảnh hưởng của thời gian bắn bia lên sản lượng $^{18}\text{F-NaF}$

Số TT	Mẫu	Cường độ dòng (μA)	thời gian (phút)	Cường độ dòng (μAh)	Hoạt độ $^{18}\text{F-NaF}$ (EOS) (mCi)
1	X30-1	35,0	30	22,2	960
2	X30-2	36,0	30	21,0	960
3	X30-3	36,0	30	22,0	970
4	X25-1	36,5	25	20,5	820
5	X25-2	35,0	25	19,0	800
6	X25-3	36,0	25	20,0	830
7	X20-1	35,5	20	17,0	660
8	X20-2	35,6	20	16,0	650
9	X20-3	36,0	20	19,0	655
10	X18-1	36,5	18	13,5	550
11	X18-2	36,0	18	12,0	560
12	X18-3	36,5	18	18,0	545
13	X15-1	35,0	15	10,0	430
14	X15-2	35,0	15	10,5	450
15	X15-3	36,0	15	10,0	450

Các mẻ sản xuất đều cho hiệu suất điều chế trên 90%. Tất cả 15 mẫu đều được kiểm tra một số chỉ tiêu chất lượng cần thiết và cho kết quả là phổ gamma thu được có đỉnh chính có năng lượng 511 keV, thời gian bán rã khoảng 105 đến 115 phút, độ tinh khiết HPX > 95%.

Sự phụ thuộc của hoạt độ phóng xạ $^{18}\text{F-NaF}$ vào thời gian bắn bia, cường độ dòng tích hợp được thể hiện trong hai hình 3.15 và 3.16.



Hình 3.15. Mối quan hệ giữa thời gian bắn tia và hoạt độ phóng xạ $^{18}\text{F-NaF}$

Qua bảng 3.18, hình 3.15 và hình 3.16 cho thấy, khi năng lượng chùm proton là 18 MeV, cường độ chùm tia trong khoảng từ 35 đến 36,5 μA thì khi tăng cường độ dòng tích hợp, hoạt độ phóng xạ của $^{18}\text{F-NaF}$ tăng lên, tuy nhiên không hoàn toàn tuyến tính. Trong khi đó, hoạt độ phóng xạ của $^{18}\text{F-NaF}$ tăng tuyến tính với thời gian bắn tia từ 15 đến 30 phút thông qua hệ số tương quan $R^2 = 0,99$.

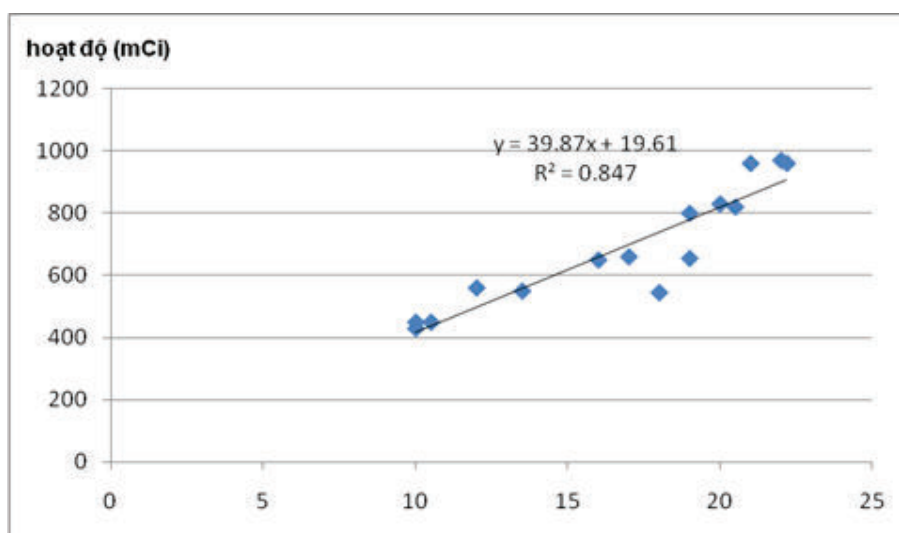
3.5 Đề xuất tiêu chuẩn chất lượng của $^{18}\text{F-NaF}$

$^{18}\text{F-NaF}$ là dung dịch vô khuẩn chứa ^{18}F -fluorid ở dạng natri fluorid, dung môi là natri clorid 0,9% phải đạt các tiêu chuẩn chất lượng như sau:

3.5.1 Yêu cầu về chất lượng sản phẩm

Theo USP 2020 và thực tế quá trình nghiên cứu, chúng tôi đề xuất tiêu chuẩn chất lượng cho DCPX $^{18}\text{F-NaF}$ như sau:

- Tính chất: dung dịch trong suốt, không màu, nắp lọ đóng kín.
- Thời gian bán rã: từ 105 đến 115 phút.
- pH: Từ 4,5 đến 8,0
- Độ tinh khiết HPX > 95%
- Độ tinh khiết hạt nhân: phổ gamma xuất hiện đỉnh 511 keV và chiếm > 99,5%



Hình 3.16. Mối quan hệ giữa cường độ dòng và sản lượng $^{18}\text{F-NaF}$

- Nội độc tố $\leq 17,5\text{V EU/ml}$
- Độ vô khuẩn: phải vô khuẩn

3.5.2 Phương pháp thử

- Tính chất: quan sát mẫu bằng mắt qua kính chì.
- Chu kỳ bán rã: sử dụng hệ đo Curimenter-4 đo HDPX của mẫu $^{18}\text{F-Na}$ tại các thời điểm 0 phút, 5 phút, 10 phút, 15 phút, 20 phút, sử dụng công thức $A = A_0 \times e^{-\lambda t}$ để suy ra chu kỳ bán rã .
- pH: thử trên giấy pH 0 - 14.
- Độ tinh khiết HPX:
 - + Sử dụng sắc ký lỏng hiệu năng cao áp
 - + Dung dịch chuẩn: Hòa tan 10 mg chất chuẩn NaF trong nước siêu tinh khiết tới thể tích V (V là thể tích của liều tối đa tính theo ml - 4,52 mg/ml)
 - + Cột phân tích: dài 25 cm, đường kính 4 mm
 - + Pha tĩnh: nhựa trao đổi anion cơ bản bền cho sắc ký phân tích (10 μm)
 - + Nhiệt độ: duy trì ở 20 – 30 $^{\circ}\text{C}$
 - + Pha động: dung dịch natri hydroxid cho phân tích nồng độ 4 g/L, được bảo vệ tránh tiếp xúc carbon dioxid từ không khí.
 - + Tốc độ dòng 1 ml/phút
 - + Phát hiện: 1 đầu đo quang phổ kế có bước sóng 220 nm.
 - + Thể tích tiêm mẫu: 20 μL

+ Thời gian chạy mẫu: 15 phút

+ Chạy mẫu chuẩn trước, sau đó chạy mẫu $^{18}\text{F-NaF}$.

- Độ tinh khiết hạt nhân

+ Phổ gamma: Xác định lượng ĐVPX của ^{18}F và các tạp đồng vị khác có thời gian bán rã > 2h. Để xác định lượng và định lượng tạp chất, cần duy trì thời gian đo sao cho đồng vị ^{18}F phân rã đến mức cho phép xác định các tạp chất. Phổ thu được không khác đáng kể so với phổ môi trường.

- Nội độc tố vi khuẩn: theo phương pháp LAL trên máy PTS Endosafe

- Độ vô khuẩn: khi DCPX $^{18}\text{F-NaF}$ bán rã hết, nuôi cấy vào môi trường phát hiện vi khuẩn hiếu khí, kỵ khí và nấm. Nuôi cấy trong tủ ấm vô khuẩn, kiểm tra hàng ngày và đọc kết quả sau 14 ngày.

3.6 Đánh giá độ ổn định của $^{18}\text{F-NaF}$

Thời gian bán rã của DCPX $^{18}\text{F-NaF}$ tương đối ngắn (khoảng 110 phút), sản phẩm sẽ được sử dụng ngay nên cách đánh giá độ ổn định cũng khác so với các thuốc tiêm thông thường hay các DCPX dạng tiêm có thời gian bán rã dài khác. Để đánh giá độ ổn định của DCPX $^{18}\text{F-NaF}$, chúng tôi kiểm tra một số chỉ tiêu chất lượng như mục 3.5.1 tại những thời điểm khác nhau trong vòng 8 giờ kể từ khi kết thúc tổng hợp ở điều kiện nhiệt độ phòng ($20 - 25^{\circ}\text{C}$). Chúng tôi tiến hành nghiên cứu trên 5 mẻ $^{18}\text{F-NaF}$, kết quả thu được thể hiện trong bảng 3.19.

Bảng 3.19. Độ ổn định của $^{18}\text{F-NaF}$

	USP 2020	EOS	1h	3h	4h	6h	7h	8h	8h (lọ ngược)
Tính chất	Không màu, trong suốt, không hạt	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt
pH	4,5-8,0	7,77 ± 0,25	-	-	-	-	-	-	7,50 ± 0,05
Tỷ lệ sai lệch t_R (%)	<5	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2
Độ tinh khiết HPX (%)	> 98,5	98,86 ± 0,12	98,88 ± 0,10	98,70 ± 0,02	98,66 ± 0,11	98,71 ± 0,11	98,67 ± 0,09	98,70 ± 0,12	98,76 ± 0,05
Chu kỳ bán rã (phút)	105 – 115	110,87 ±1,58	110,67 ±1,60	110,90 ±1,51	110,93 ±1,43	110,97 ±1,22	110,97 ±1,38	110,73 ±1,40	110,93 ±1,41
Nội độc tố vi khuẩn (EU/ml)	< 17,5	< 5	-	-	-	-	-	-	< 5

Sản phẩm $^{18}\text{F-NaF}$ sau khi tổng hợp 8 giờ không thay đổi màu sắc, dung dịch vẫn trong suốt và không màu, pH thay đổi không đáng kể, ngay sau khi tổng hợp là $7,77 \pm 0,25$ và sau 8 giờ là $7,50 \pm 0,05$. Tỷ lệ sai lệch thời gian lưu giữa mẫu $^{18}\text{F-NaF}$ và mẫu chuẩn NaF là $\leq 2\%$ so với yêu cầu là không vượt quá 5%. Thời

gian bán rã của sản phẩm luôn nằm trong giới hạn 105 – 115 phút. Điều đó có nghĩa là chất lượng của sản phẩm hoàn toàn đáng tin cậy. Sau 8 giờ, nội độ tổ của sản phẩm không có sự thay đổi. Mặt khác, độ tinh khiết hóa phóng xạ tại các thời điểm sau tổng hợp 1 giờ, 3 giờ, 4 giờ, 6 giờ, 7 giờ và 8 giờ đều trên 98,5% và nút cao su không có ảnh hưởng đến chất lượng của sản phẩm.

3.7 Thẩm định quy trình điều chế $^{18}\text{F-NaF}$ tại Trung tâm Máy Gia tốc Bệnh viện TƯQĐ108

3.7.1 Mục đích yêu cầu

Hướng dẫn tổng quát về thẩm định quy trình điều chế $\text{DCPX}^{18}\text{F-NaF}$

3.7.2 Phạm vi áp dụng

Quy trình điều chế $\text{DCPX}^{18}\text{F-NaF}$

3.7.3 Danh mục thiết bị

Chi tiết tại mục 2.2

3.7.4 Thông số thẩm định

Các thông số thẩm định như bảng 3.20

Bảng 3.20. Các thông số thẩm định trong quá trình sản xuất $^{18}\text{F-NaF}$

Giai đoạn	Nguyên cơ dự kiến	xảy ra	ảnh hưởng	Phát hiện		Biện pháp xử lý
				Ít/vừa/thường xuyên	Ít/vừa/lớn	
Bản bìa H_2^{18}O , nguyên liệu thu được vào module tổng hợp	Nháy điện gây mắt chân không của hệ thống máy gia tốc	Ít	Vừa	Dễ		Khởi động lại hệ thống, khi chân không đạt, tiếp tục gia tốc và bắn bìa.
	Cường độ dòng tích hợp thấp, không ổn định	Ít	Lớn	Dễ		Kiểm tra lại hệ thống máy gia tốc, các bơm chân không
	Truyền nguyên liệu sau bắn bìa sai địa chỉ do lỗi chủ quan hoặc lỗi thiết bị	Ít	Lớn	Dễ		Kiểm soát thao tác truyền. Khởi động lại hệ thống, kiểm tra lại quá trình truyền. Bắn mẻ khác và truyền đúng địa chỉ.

Bể bia H ₂ ¹⁸ O, nguyên liệu thu được vào module tổng hợp	Hoạt độ phóng xạ [¹⁸ F] đến module tổng hợp thấp	Ít	Lớn	Dễ	Kiểm soát quá trình truyền. Thử truyền lại một vài lần, nếu được thì tiếp tục, nếu không thì ngừng sản xuất. Thẩm định đường truyền từ bia đến module tổng hợp.
Tổng hợp HPX và tinh chế sản phẩm	Rò rỉ kit gây giảm hiệu suất tổng hợp HPX hoặc mất sản phẩm	Ít	Lớn	Dễ	Kiểm soát thao tác lắp đặt kit. Kiểm tra thể tích sản phẩm cuối. Khi phong an toàn, tổng hợp lại bằng mẫu nguội, quan sát điểm rò rỉ. Thẩm định độ kín của kit tổng hợp.
	Vỡ cột QMA gây mất sản phẩm	Ít	Lớn	Dễ	Kiểm soát bước hoạt hóa cột. Khi phong an toàn, lấy cột QMA kiểm tra. Thẩm định cột QMA sau khi tổng hợp.
	Cột QMA, cột CM hoạt hóa không đúng cách	Ít	Lớn	Dễ	Kiểm soát quá trình hoạt hóa cột QMA và cột CM

Tổng hợp HPX và tinh chế sản phẩm	Module tổng hợp đang hoạt động bỗng ngừng giữa chừng	Ít	Lớn	Đề	Kiểm soát quá trình chuẩn bị module. Kiểm tra lại đầu nối cáp truyền từ module ra máy tính.
	Module tổng hợp hoạt động bình thường nhưng không có sản phẩm	Ít	Lớn	Khó	Kiểm soát các bước chuẩn bị kit. Khi phòng an toàn, kiểm tra lại các van 3 chiều, các vị trí đầu nối, vị trí cột QMA, cột CM, vị trí các kim, thể tích bình thải tìm nguyên nhân.
	Hệ thống điều hòa ngừng hoạt động	Ít	Lớn	Đề	Vấn đề hệ thống tiếp tục hoạt động, toàn bộ nhân viên ra khỏi khu vực sản xuất. Khắc phục được điều hòa, nhân viên an toàn kiểm tra phòng đảm bảo, cho phép tiếp tục công việc
Dung dịch sản phẩm không trong suốt	Dung dịch sản phẩm không trong suốt	Ít	Lớn	Đề	Sau khi phòng an toàn. Kiểm tra cột QMA và cột CM xem có bị vỡ không.
	Sản phẩm không đạt độ tinh khiết hạt nhân phóng xạ	Ít	Lớn	Đề	Kiểm tra thời gian sử dụng bia. Nếu cần, tiến hành thay bia.

	Sản phẩm không đạt độ tinh khiết hóa phóng xạ	Ít	Lớn	Dễ	Kiểm tra cột phân tích HPLC. Kiểm soát quá trình phân tích trên HPLC. Thẩm định độ tinh khiết hóa phóng xạ.
	Tắc đường truyền từ hotcell tổng hợp sang hotcell chia liều	Ít	Lớn	Dễ	Kiểm soát bước lắp kit, bước truyền sản phẩm. Khởi động lại bước truyền sản phẩm trên máy tính hai ba lần, nếu được thì tiếp tục bước tiếp theo. Nếu không được, chờ phóng an toàn, thông rửa, thậm chí thay dây mới nếu cần. Thẩm định đường truyền từ module sang hotcell chia liều.
	Quên đầu nối dây truyền hoặc tụt mỗi nối dây sang hotcell chia liều	Ít	Lớn	Dễ	Kiểm soát quá trình chuẩn bị kit tổng hợp. Chờ phóng an toàn, mở hotcell kiểm tra, thay mới nối nếu cần.
Chia liều DCPX	Thế tích và hoạt độ phóng xạ của các mẫu sau chia liều không đúng yêu cầu	Ít	Vừa	Dễ	Kiểm tra thế tích và hoạt độ phóng xạ của các mẫu sau chia. Chuẩn lại bơm nhu động. Thẩm định bơm nhu động

Chia liều DCPX	Không chia được sản phẩm	Ít	Lớn	Dễ	Kiểm soát các bước chia liều. Khi phòng an toàn, kiểm tra hoạt động của bơm nhu động, của rô bốt chia liều, của bộ phận ra vào công ten nô. Sửa chữa thay thế các bộ phận nếu cần.
	Không đậy được nút cao su, Nút nhôm	Ít	Lớn	Dễ	Kiểm soát hoạt động của rô bốt chia liều. Nếu rô bốt lỗi, dừng sản xuất. Sau khi phòng an toàn tiến hành sửa chữa, căn chỉnh rô bốt.
	Đường truyền thông nhưng DCPX không đi hoặc đi rất ít vào lọ tổng	Ít	Lớn	Dễ	Kiểm soát quá trình lắp kit chia liều. Khi phòng toàn, kiểm tra phin lọc khuẩn, phin thông khí xem có bị tắc không.
	Hệ thống hoạt động bình thường, không bơm được mẫu từ lọ tổng	Ít	Lớn	Dễ	Kiểm soát quá trình chuẩn bị chia liều. Khi phòng an toàn, kiểm tra xem kit chia liều có rò rỉ không? Kim lấy DCPX có chạm đáy lọ tổng không.

Chia liều DCPX	Lọ mẫu sau chia liều không được thả đúng vào công ten nơ mà rơi ra ngoài	Ít	Lớn	Dễ	Kiểm soát quá trình chuẩn bị công ten nơ và vận hành ra vào công ten nơ của hotcell. Thăm định bước ra vào công ten nơ của hotcell chia liều
	Mẫu sau chia không đạt chỉ tiêu endotoxin	Ít	Lớn	Khó	Kiểm soát quá trình vô khuẩn các hotcell. Thăm định mẫu thử nhanh nội độc tố vi khuẩn của sản phẩm
	Mẫu sau chia không đạt chỉ tiêu độ vô khuẩn	Ít	Lớn	Khó	Kiểm soát quá trình vô khuẩn các hotcell, kiểm tra màng lọc khuẩn. Thăm định độ vô khuẩn của sản phẩm

3.7.5 Kết quả thẩm định các thông số trọng yếu

Kết quả thẩm định các thông số trọng yếu trong bảng 3.21.

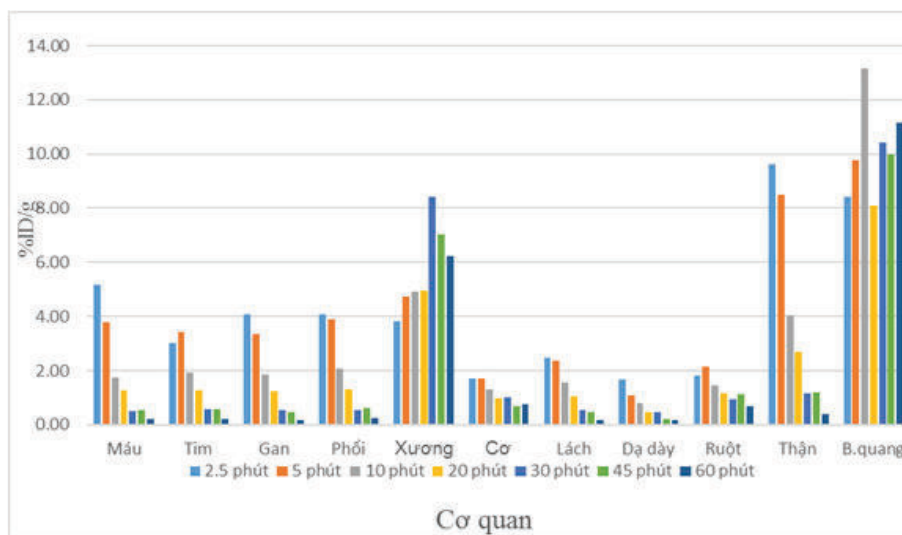
Bảng 3.21. Kết quả thẩm định các thông số trọng yếu

TT	Giai đoạn	Thông số	Yêu cầu	Kết quả
1	Bắn bia H ₂ ¹⁸ O và vận chuyển nguyên liệu sau bắn bia vào module tổng hợp	Vận chuyển nước giàu ¹⁸ O sau bắn bia sang module tổng hợp	>99%	Đạt
2	Tổng hợp HPX và tinh chế sản phẩm	Độ kín của kit tổng hợp	Không rò rỉ	Đạt
		Độ tinh khiết HPX sản phẩm cuối	≥95%	Đạt
		Độ thông của đường truyền từ module sang hotcell chia liều	Vận chuyển >99%	Đạt
3	Chia liều	Ra vào công ten nơ	Phải đạt yêu cầu	Đạt
		Nội độ tổ của sản phẩm cuối	Phải đạt yêu cầu	Đạt
		Vô khuẩn của sản phẩm cuối	Phải vô khuẩn	Đạt

3.8 Thử nghiệm phân bố phóng xạ của ¹⁸F-NaF trên chuột nhắt

Để đánh giá sự tập trung phóng xạ của ¹⁸F-NaF trên xương và biến đổi theo thời gian so với một số cơ quan khác ở chuột nhắt, chúng tôi tiến hành đo tại các thời điểm 2,5 phút, 5 phút, 10 phút, 20 phút, 30 phút, 45 phút và 60 phút sau khi tiêm ¹⁸F-NaF bằng hệ đo gamma.

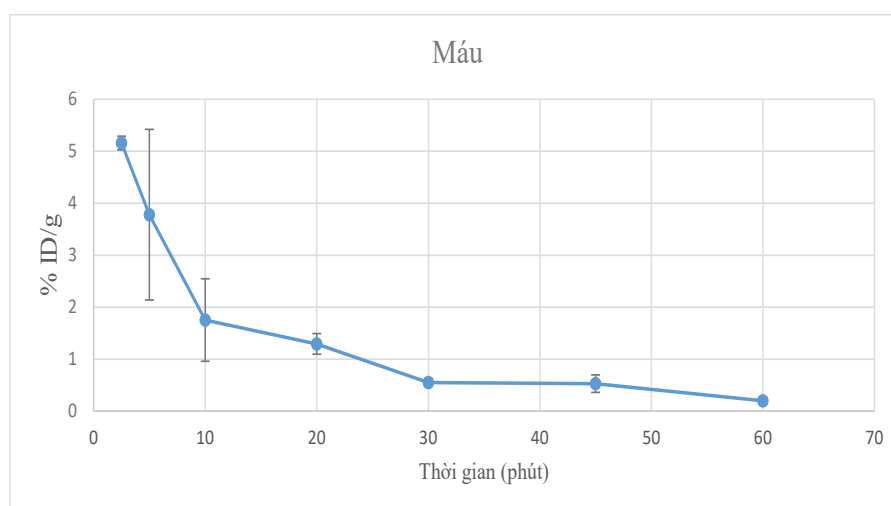
Kết quả thu được thể hiện trong biểu đồ ở hình 3.17



Hình 3.17. Sự thay đổi theo thời gian của hoạt độ phóng xạ ở các mô, cơ quan

Sau khi $^{18}\text{F-NaF}$ vào trong hệ tuần hoàn của chuột thì nhanh chóng được thải trừ khỏi huyết tương. Nó được hấp thu, tập trung chủ yếu ở xương và đào thải qua thận và bàng quang. Điều này hoàn toàn phù hợp với đặc điểm hấp thu, phân bố và thải trừ của DCPX.

DCPX $^{18}\text{F-NaF}$ không liên kết với protein huyết tương và nhanh chóng được thải trừ ra khỏi huyết tương, đặc điểm này được thể hiện rõ trong hình 3.18.

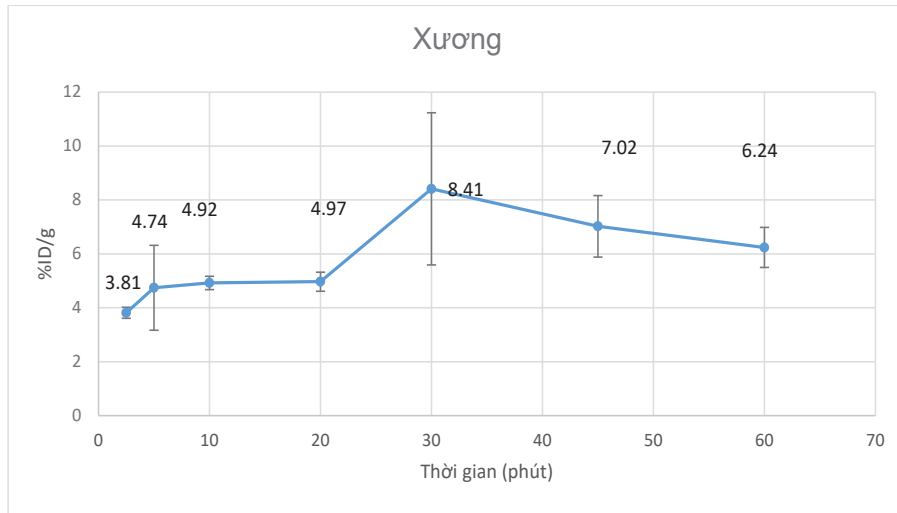


Hình 3.18. Sự biến đổi hoạt độ phóng xạ $^{18}\text{F-NaF}$ trong máu theo thời gian.

HĐPX đo được trong máu cao nhất ở phút thứ 2,5 với giá trị trung bình là $5,16 \pm 0,13$. Sau đó hoạt độ phóng xạ giảm dần theo thời gian ở các phút thứ 10, 20, 30, 45, 60. Hoạt độ phóng xạ trung bình ở phút thứ 2,5 lớn hơn so với hoạt độ phóng xạ ở phút thứ 10 cho tới phút thứ 60 với sự khác biệt có ý nghĩa thống kê

($p = 0,01$).

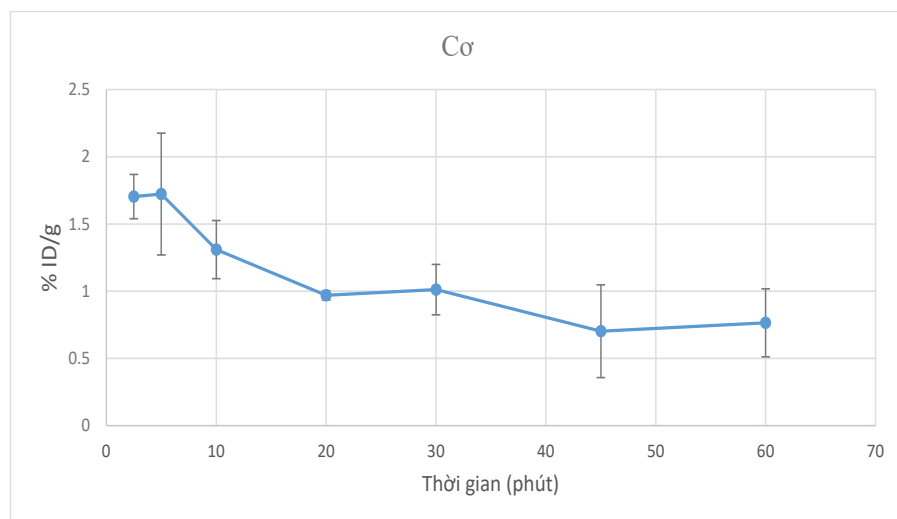
HĐPX đo được ở xương tại phút thứ 30 là cao nhất, sau đó có xu hướng giảm dần như hình 3.19.



Hình 3.19. Sự biến đổi về mức độ bắt giữ $^{18}\text{F-NaF}$ ở xương theo thời gian.

Hoạt độ phóng xạ tại xương tăng dần và đạt đỉnh trong khoảng 20 – 30 phút sau tiêm DCPX (4,97 – 8,41). Sau đó, tỷ lệ bắt giữ $^{18}\text{F-NaF}$ tại mô xương có xu hướng giảm dần ở phút 45 và 60 ($p = 0,09$) sau tiêm DCPX nhưng vẫn ở mức cao hơn rõ rệt so với mô cơ và các cơ quan như gan, lách ... ($p < 0,01$).

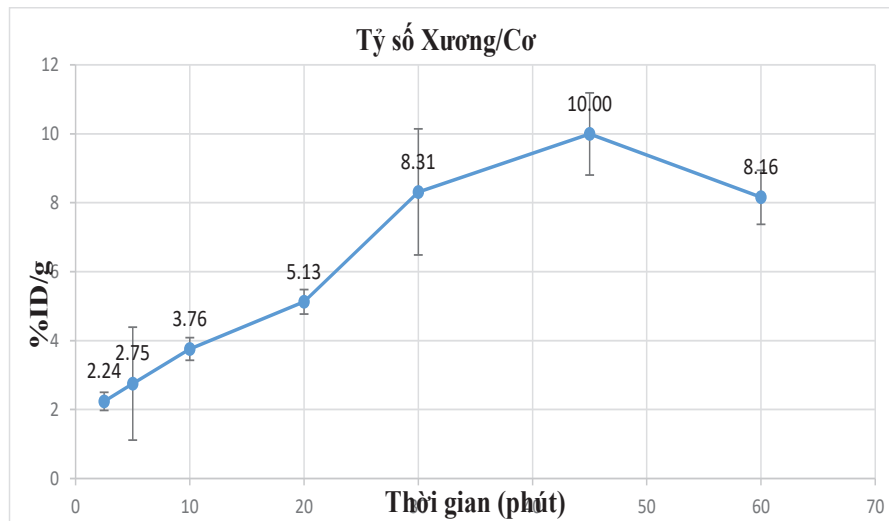
Được chất $^{18}\text{F-NaF}$ theo máu đến mô cơ nhưng không lắng đọng tại cơ nên nhanh chóng giảm dần theo thời gian và được thể hiện ở biểu đồ 3.20.



Hình 3.20. Sự biến đổi về mức độ bắt giữ $^{18}\text{F-NaF}$ ở cơ theo thời gian.

HĐPX $^{18}\text{F-NaF}$ ở cơ chuột đạt cao nhất ở phút thứ 5 là $1,72 \pm 0,45$ và không có sự khác biệt rõ rệt so với phút thứ 2,5 là $1,7 \pm 0,16$. Tuy nhiên, hoạt độ trung bình ở cơ giảm mạnh bắt đầu ở phút thứ 10 và giảm xuống thấp nhất ở phút thứ 45 và 60 với giá trị trung bình là $0,7 \pm 0,35$. Sự khác biệt giữa hoạt độ phóng xạ trung bình đo được ở phút thứ 2,5 và phút thứ 45 có ý nghĩa thống kê ($p \leq 0,05$).

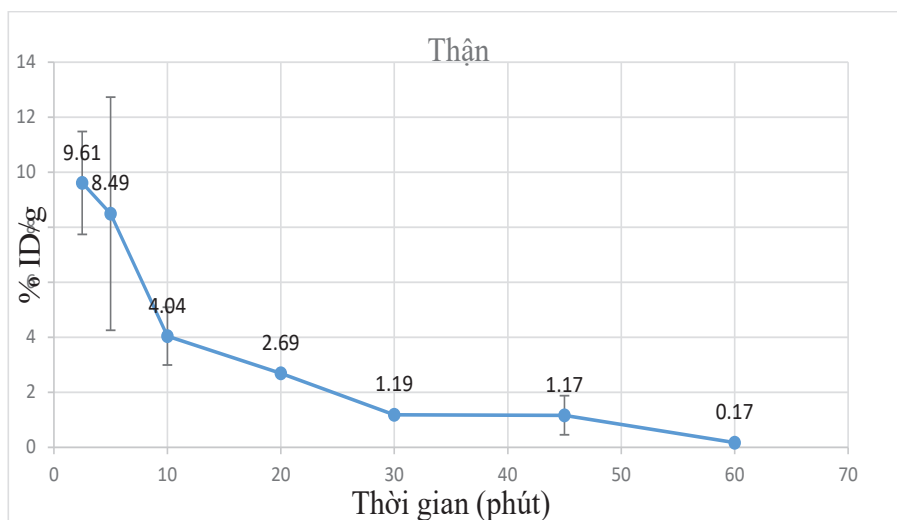
Tỷ lệ phân bố HĐPX $^{18}\text{F-NaF}$ ở xương và mô cơ chuột theo thời gian như hình 3.21.



Hình 3.21. Sự thay đổi tỷ lệ hoạt độ phóng xạ của xương/cơ theo thời gian.

Tỷ lệ hoạt độ phóng xạ ở xương/cơ thấp nhất ở phút thứ 2,5, sau đó tăng dần và đạt được cực đại ở phút thứ 45 và sau đó giảm dần. Hoạt độ phóng xạ tại xương cao hơn rõ rệt so với mô cơ tại cùng các thời điểm ($p \leq 0,01$)

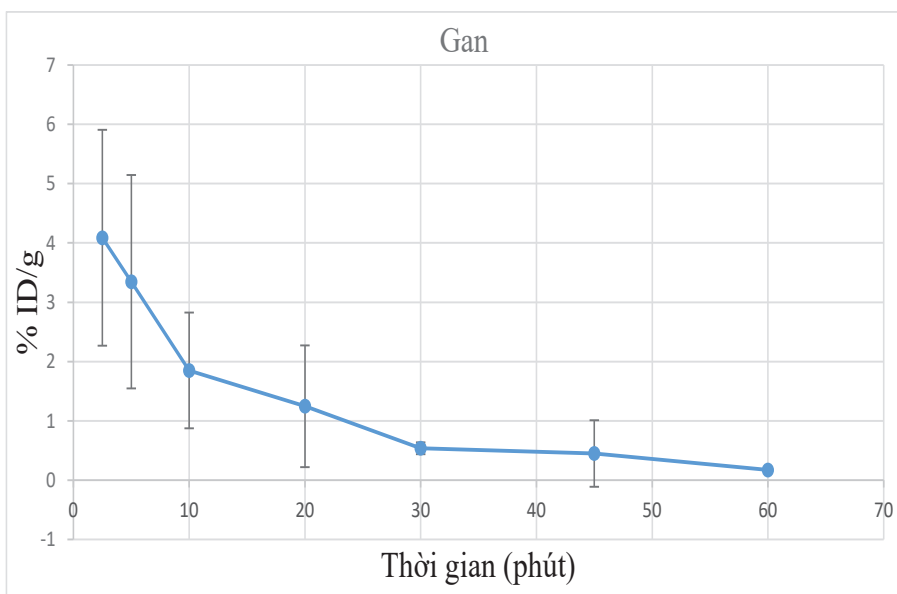
$^{18}\text{F-NaF}$ được thải trừ ra khỏi cơ thể theo đường nước tiểu. Hoạt độ phóng xạ $^{18}\text{F-NaF}$ trong thận của chuột thực nghiệm được đo bằng máy đo phổ gamma ở các phút thứ 5, 10, 20, 30, 45 và 60 được thể hiện ở hình 3.22.



Hình 3.22. Sự thay đổi tỷ lệ hoạt độ phóng xạ ở thận theo thời gian.

Sau khi vào máu và các cơ quan, DCPX ^{18}F -NaF được bài tiết qua thận ngay từ 5 – 10 phút đầu tiên sau tiêm. Sau đó, hoạt độ phóng xạ ở thận giảm dần theo thời gian và còn lại rất thấp (0,17) ở phút thứ 60.

Tại gan, ^{18}F -NaF không bị chuyển hóa và nhanh chóng bị thải trừ ra khỏi gan. Hình 3.23 thể hiện hoạt độ phóng xạ ^{18}F -NaF trong gan của chuột thực nghiệm được đo bằng máy đo phổ gamma theo thời gian ở các phút thứ 5, 10, 20, 30, 45 và 60.



Hình 3.23. Sự thay đổi tỷ lệ hoạt độ phóng xạ ở thận theo thời gian.

Hoạt độ phóng xạ đo được ở gan giảm dần theo thời gian và giảm tối đa ở

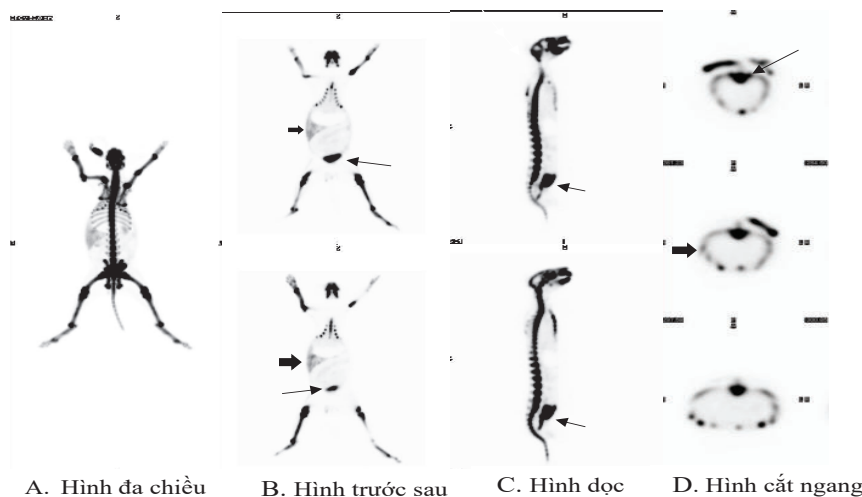
phút thứ 60. Hoạt độ phóng xạ trung bình ở gan đo được ở phút thứ 2,5 là $4,09 \pm 1,82$ cao hơn rõ rệt so với hoạt độ phóng xạ từ phút thứ 10 đến phút 60 còn 0,17 ($p < 0,01$).

3.9 Đánh giá phân bố phóng xạ của $^{18}\text{F-NaF}$ trên thỏ

3.9.1 Đánh giá phân bố $^{18}\text{F-NaF}$ ở hệ thống xương trên xạ hình PET của thỏ

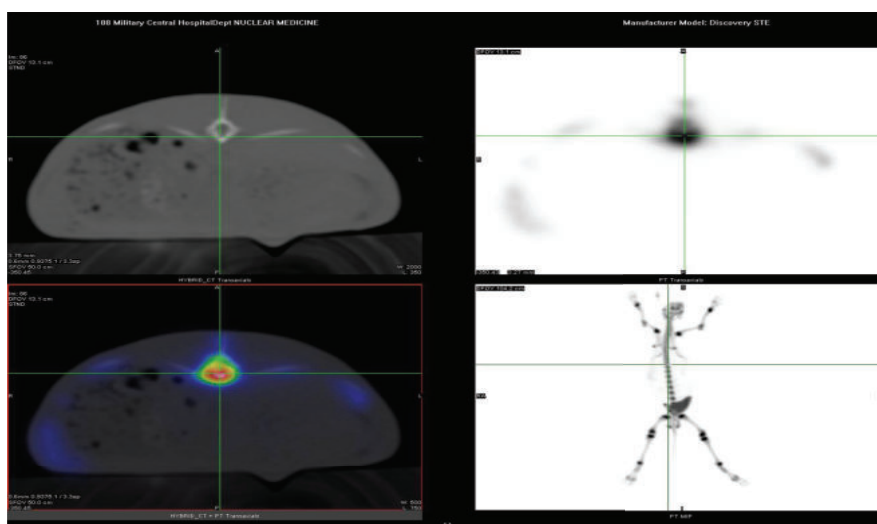
Hình ảnh phân bố phóng xạ $^{18}\text{F-NaF}$ ở hệ thống xương trên xạ hình PET ở thỏ như hình 3.24. Trong đó:

- Hình ảnh đa chiều (A): phân bố phóng xạ ở toàn bộ hệ xương.
- Hình ảnh cắt lớp trực đứng trước - sau (B) và dọc bên (C): hoạt tính phóng xạ ở hệ xương, gan (mũi tên to) và bàng quang (mũi tên nhỏ).
- Hình ảnh PET trực cắt ngang (D): hoạt tính phóng xạ ở xương sườn (mũi tên to) và cột sống ngực (mũi tên nhỏ).



Hình 3.24. Hình ảnh phân bố phóng xạ $^{18}\text{F-NaF}$ ở hệ thống xương trên xạ hình PET ở thỏ.

Hình ảnh PET trên động vật thực nghiệm cho thấy, $^{18}\text{F-NaF}$ tập trung chủ yếu ở hệ thống xương, bắt xạ mờ nhạt ở gan và phóng xạ cơ thể rất thấp. Hình ảnh hệ thống xương trên $^{18}\text{F-NaF}$ PET có độ tương phản và phân giải cao, sắc nét. $^{18}\text{F-NaF}$ tập trung ở bàng quang tương ứng với đường bài tiết của $^{18}\text{F-NaF}$.



Hình 3.25. Mức độ hấp thu $^{18}\text{F-NaF}$ ở xương và cơ quan, tổ chức trên hình ảnh PET/CT (tại thời điểm 45 phút sau tiêm DCPX).

Hình ảnh CT (trên trái): định vị cấu trúc xương cột sống ngực, xương sườn và các cơ quan, mô cơ. Hình ảnh PET (trên phải): hình ảnh bắt giữ $^{18}\text{F-NaF}$ ở xương cột sống và các xương sườn. Hình ảnh kết hợp PET/CT (dưới trái): đối chiếu hình ảnh cấu trúc và chuyển hoá xương trên cùng lát cắt. Hình ảnh đa chiều MIP (Maximum Intensity Projections) ở dưới phải: $^{18}\text{F-NaF}$ bắt giữ ở toàn bộ hệ thống xương thể nghiệm. Các mũi tên chỉ hoạt độ phóng xạ tại xương sườn, cơ và gan trên hình ảnh kết hợp PET/CT.

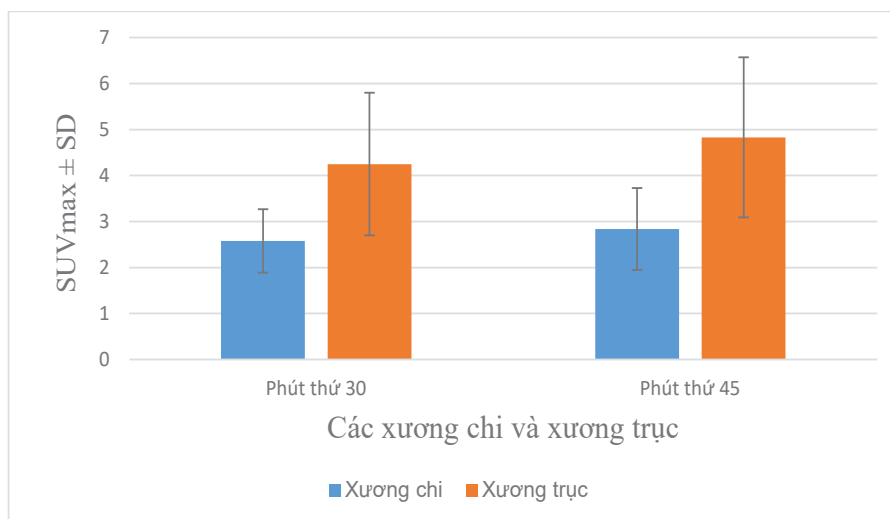
Ghi hình PET/CT sau tiêm DCPX 45 phút cho thấy mức độ bắt giữ $^{18}\text{F-NaF}$ chủ yếu ở hệ thống xương (đặc biệt là xương cột sống) và mật độ tập trung phóng xạ thấp hơn ở xương sườn. Hoạt độ phóng xạ rất thấp ở gan, tổ chức mô mềm như lách, cơ, ruột...

3.9.2 So sánh bán định lượng hoạt độ phóng xạ $^{18}\text{F-NaF}$ trên hình ảnh PET/CT ở thể nghiệm theo thời gian

Chỉ số SUV_{max} sử dụng để đánh giá bán định lượng mức độ hấp thu DCPX tại xương và các cơ quan, tổ chức trên hình ảnh PET của thể nghiệm.

a. So sánh hoạt độ phóng xạ đo được ở xương trục và xương chi trên hình ảnh PET/CT theo thời gian.

DCPX $^{18}\text{F-NaF}$ hấp thu tại xương khá đồng đều. Tuy nhiên, hoạt độ phóng xạ ở xương trục lớn hơn các xương chi.



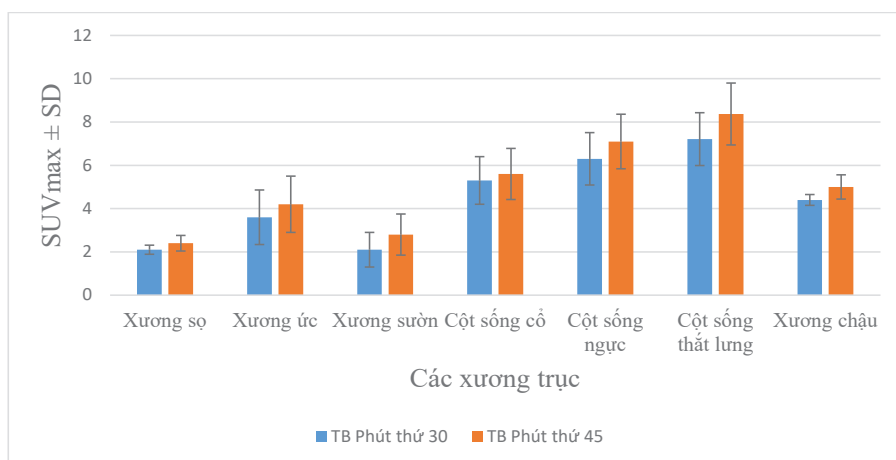
Hình 3.26. So sánh mức độ bắt giữ $^{18}\text{F-NaF}$ ở các xương chi và xương trục.

SUV_{max} trung bình ở xương trục và xương chi tại thời điểm 45 phút cao hơn so với thời điểm 30 phút sau tiêm. Tuy nhiên, sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê ($p \geq 0.05$).

SUV_{max} trung bình ở xương trục cao hơn rõ rệt so với tại xương chi ở cả hai thời điểm 30 phút và 45 phút với sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p \leq 0,05$).

b. So sánh hoạt độ phóng xạ đo được ở các xương trục trên hình ảnh PET/CT theo thời gian.

Tại các vị trí khác nhau trên cùng hệ xương trục, mức độ bắt giữ DCPX $^{18}\text{F-NaF}$ cũng khác nhau. Hình 3.27 thể hiện mức độ bắt giữ DCPX tại các vị trí khác nhau của xương trục tại thời điểm 30 và 45 phút sau tiêm.



Hình 3.27. Đặc điểm hấp thu $^{18}\text{F-NaF}$ ở các xương trục.

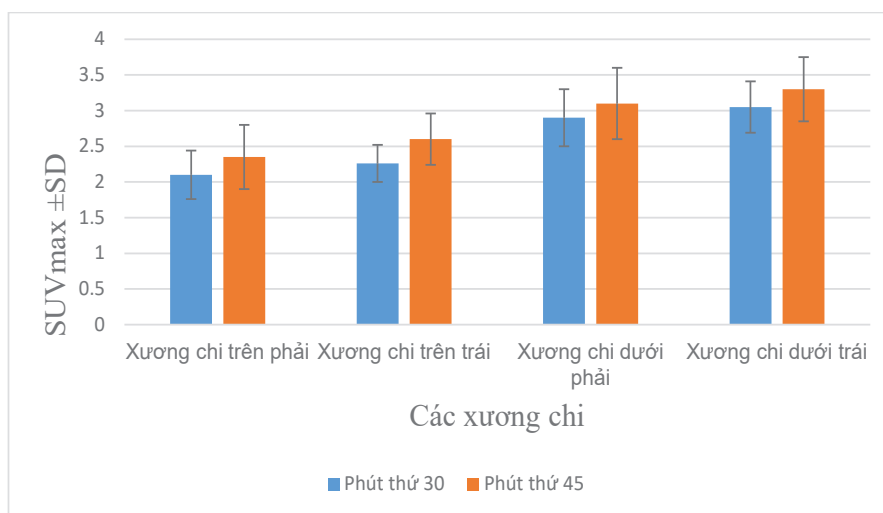
Mức độ bắt giữ DCPX ở cột sống thắt lưng ở phút thứ 30 là $7,21 \pm 1,22$ và ở phút thứ 45 là $8,37 \pm 1,43$, cao hơn so với các vị trí xương còn lại ở các thời điểm tương ứng.

Mức độ bắt giữ DCPX ở các xương trục có xu hướng tăng ở phút thứ 45 so với phút thứ 30 sau tiêm DCPX. Tuy nhiên, sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê ($p \geq 0,05$).

Mức độ bắt giữ DCPX thấp nhất ở xương sọ và xương sườn, giá trị SUV_{max} trung bình đo được trên xương sọ ở phút thứ 30 và phút thứ 45 lần lượt là 2,1 và 2,4, giá trị SUV_{max} trung bình đo được ở xương sườn là $2,1 \pm 0,8$ ở phút thứ 30 và $2,8 \pm 0,95$ ở phút thứ 45 sau khi tiêm DCPX. So với giá trị trung bình SUV_{max} của các xương khác trên hệ xương trục có sự khác biệt rõ rệt có ý nghĩa thống kê ($p \leq 0,05$).

c. So sánh hoạt độ phóng xạ đo được ở xương chi trên và xương chi dưới trên hình ảnh PET/CT theo thời gian.

Trên các xương chi mức độ bắt giữ DCPX $^{18}\text{F-NaF}$ tương đối đồng đều ở các vị trí đối xứng.



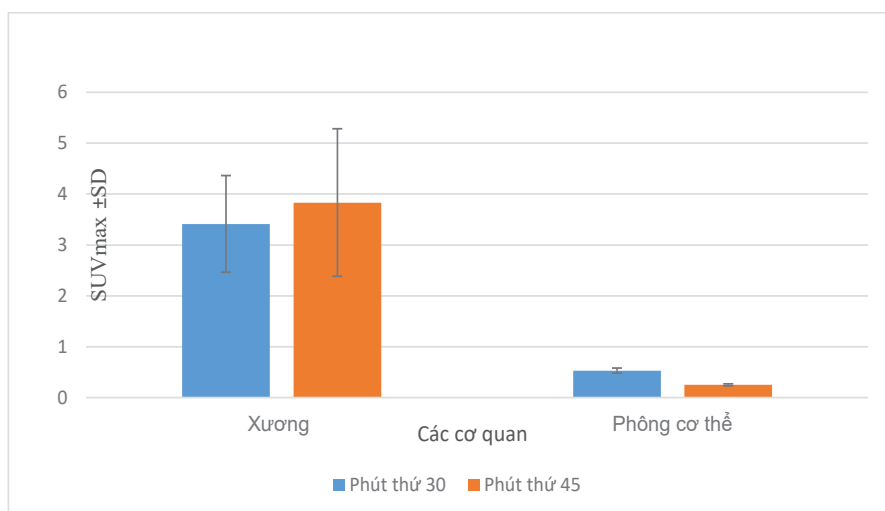
Hình 3.28. So sánh hoạt độ $^{18}\text{F-NaF}$ ở các xương chi trên và chi dưới theo thời gian.

Giá trị trung bình SUV_{max} tại xương chi trên bên phải của thỏ tại thời điểm 30 phút là $2,1 \pm 0,34$ và không có sự khác biệt mang ý nghĩa thống kê so với SUV_{max} là $2,35 \pm 0,45$ tại thời điểm 45 phút ($p \geq 0,05$). Mức độ bắt giữ DCPX $^{18}\text{F-NaF}$ ở xương chi trên bên trái ở thời điểm 30 phút là $2,26 \pm 0,26$ và ở thời điểm 45 phút là $2,6 \pm 0,38$ ($p \geq 0,05$).

Tương tự, không có sự khác biệt mang ý nghĩa thống kê về hoạt độ phóng xạ ở xương chi dưới hai bên ở thời điểm 30 và 45 phút sau tiêm dược chất phóng xạ ($p \geq 0,05$) cũng như không có sự khác biệt rõ rệt giữa giá trị trung bình của SUV_{max} tại xương chi trên, chi dưới bên phải và xương chi trên, chi dưới bên trái tại cùng thời điểm 30, 45 phút ($p \geq 0,05$).

d. So sánh hoạt độ phóng xạ đo được ở xương và phong cơ thể theo thời gian trên hình ảnh PET/CT.

Độ tương phản của hình ảnh PET được thể hiện ở mức độ bắt giữ DCPX đo được ở xương và mô mềm.



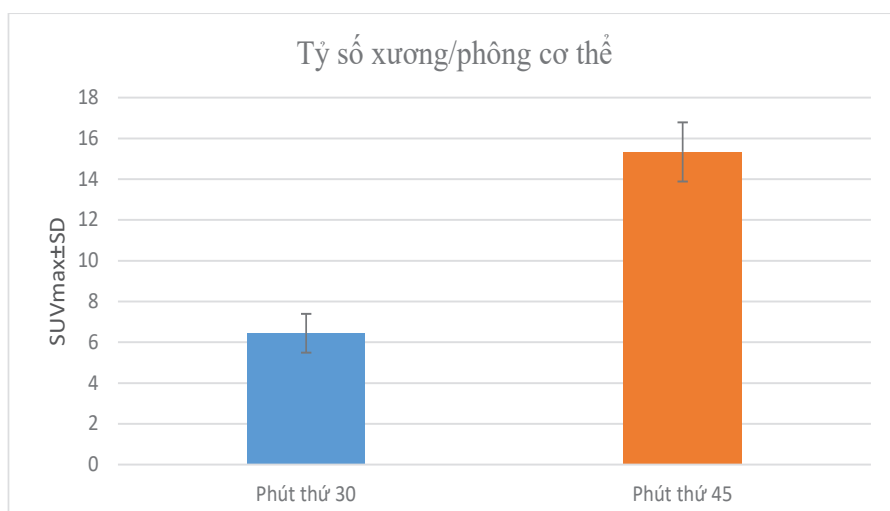
Hình 3.29. Mức độ bắt giữ $^{18}\text{F-NaF}$ ở xương và phong cơ thể theo thời gian trên hình ảnh PET/CT.

SUV_{max} trung bình của xương là $3,83 \pm 1,45$ tại phút 45 cao hơn ở thời điểm 30 phút là $3,41 \pm 0,95$ ($p > 0,05$). SUV_{max} trung bình của phong cơ thể có xu hướng giảm theo thời gian ($0,53 \pm 0,05$ ở phút thứ 30 so với $0,25 \pm 0,02$ ở phút 45 ($p \leq 0,01$)).

Giá trị SUV_{max} trung bình ở xương tại hai thời điểm 30 và 40 phút cao hơn rõ rệt so với giá trị SUV_{max} trung bình ở phong cơ thể ($p \leq 0,01$).

e. So sánh tỷ lệ hoạt độ phóng xạ ở xương và phong cơ thể theo thời gian trên hình ảnh PET/CT.

Hình ảnh $^{18}\text{F-NaF}$ PET/CT đạt độ tương phản cao, sắc nét khi tỷ lệ hoạt độ phóng xạ giữa xương và phong cơ thể cao. Tỷ lệ mức độ bắt giữ DCPX ở xương so với phong cơ thể quyết định về thời điểm thích hợp cho việc chụp xạ hình PET.

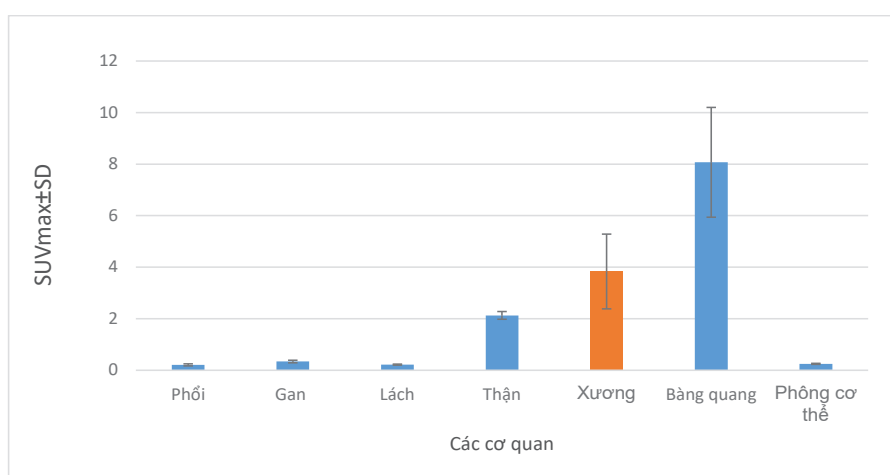


Hình 3.30. So sánh tỷ lệ hoạt độ phóng xạ ^{18}F -NaF ở xương và phông cơ thể theo thời gian trên hình ảnh PET/CT.

Tỷ lệ giá trị SUV_{max} trung bình ở xương so với phông cơ thể cao hơn rõ rệt ở phút thứ 45 là 15,33 so với thời điểm phút thứ 30 là 6,44.

f. Hoạt độ phóng xạ đo được ở các cơ quan, mô của thỏ thực nghiệm trên hình ảnh PET/CT tại thời điểm 45 phút sau tiêm.

^{18}F -NaF tách khỏi huyết tương nhanh, tập trung vào xương cao, gần như không chuyển hóa qua gan và được thải trừ qua thận vào nước tiểu. Hình 3.31 thể hiện đặc điểm phân bố ^{18}F -NaF ở các mô, cơ quan và phông cơ thể tại thời điểm ghi hình 45 phút sau tiêm.



Hình 3.31. Đặc điểm phân bố ^{18}F -NaF ở xương, mô, cơ quan và phông cơ thể.

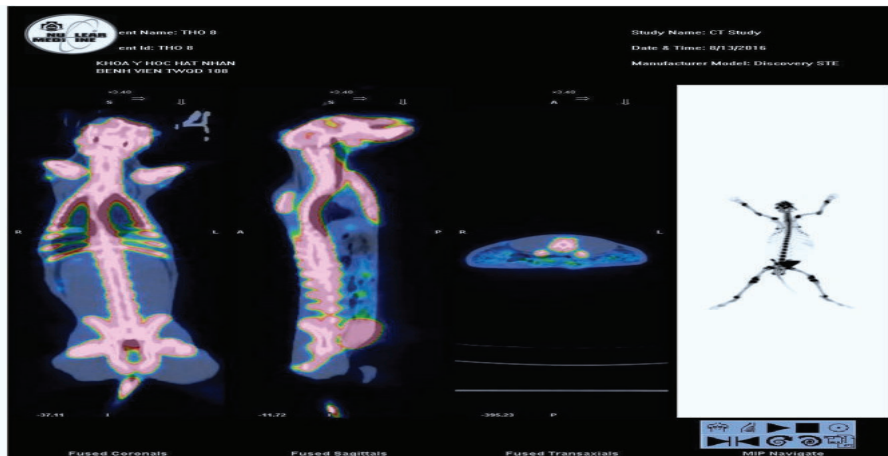
SUV_{max} trung bình ở xương cao hơn rõ rệt so với các cơ quan khác như

gan, phổi, lách, thận và phong cơ thể ($p \leq 0,01$).

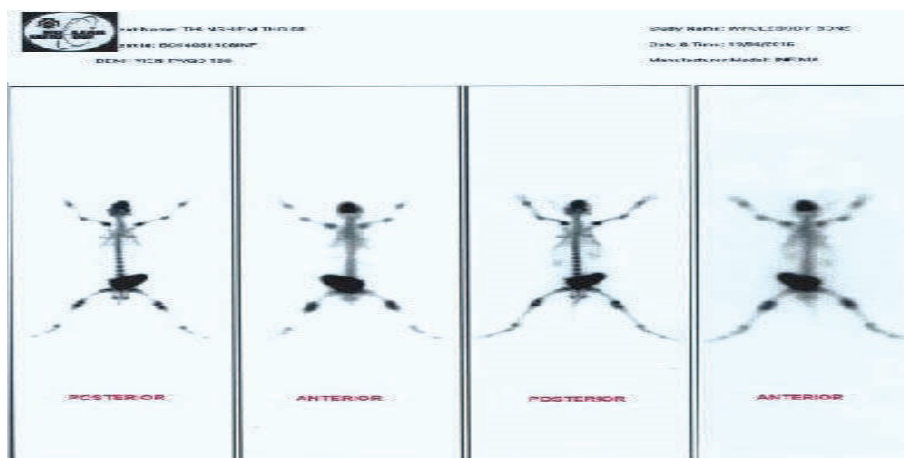
$^{18}\text{F-NaF}$ được thải trừ qua thận nên hoạt độ phóng xạ tại bàng quang đo được tại thời điểm 45 phút là $8,07 \pm 2,13$, cao hơn mang ý nghĩa thống kê so với hoạt độ phóng xạ ở các cơ quan, tổ chức khác ($p \leq 0,01$) độ phóng xạ tại xương sườn, cơ và gan trên hình ảnh kết hợp PET/CT.

3.9.3 So sánh hình ảnh chụp $^{18}\text{F-NaF}$ PET/CT với $^{99\text{m}}\text{Tc-MDP}$ SPECT

12 con thỏ sau khi chụp PET/CT được chăm sóc và theo dõi sau 1 tuần đều khỏe mạnh, không sốt, ăn uống và vận động bình thường, chúng tôi sử dụng ngẫu nhiên một nhóm tiến hành chụp $^{99\text{m}}\text{Tc-MDP}$ SPECT. Hình ảnh $^{18}\text{F-NaF}$ PET/CT cho thấy độ phân giải cao hơn, hình ảnh khung xương rõ ràng và sắc nét hơn hình ảnh $^{99\text{m}}\text{Tc-MDP}$ SPECT (hình 3.32).



Hình 3.32. Hình ảnh chụp $^{18}\text{F-NaF}$ PET



Hình 3.33. Hình ảnh chụp $^{99\text{m}}\text{Tc-MDP}$ SPECT

3.10 Nghiên cứu độc tính của $^{18}\text{F-NaF}$ trên động vật

Thử nghiệm được tiến hành dựa theo phương pháp thử độc tính đơn liều dành cho các hoạt chất dùng liều rất nhỏ theo hướng dẫn của Cơ quan quản lý Dược phẩm châu Âu (EMA) [35], [37], kết hợp với các nguyên tắc chung trong nghiên cứu độc tính cấp theo hướng dẫn của OECD [38], [65], [96].

3.10.1 Ảnh hưởng của $^{18}\text{F-NaF}$ đến tình trạng toàn thân của chuột nhắt trắng

a. Ảnh hưởng của DCPX $^{18}\text{F-NaF}$ đến tình trạng toàn thân của chuột nhắt trắng

Trong suốt thời gian nghiên cứu, chuột ở các lô đều ăn uống, hoạt động bình thường, phản xạ nhanh, mắt sáng, không tiết chất nhày mũi, miệng, lông mượt, đuôi không hoại tử, phân khô, nước tiểu không có biểu hiện bất thường. Các biểu hiện hô hấp và tuần hoàn bình thường.

b. Ảnh hưởng của DCPX $^{18}\text{F-NaF}$ đến khối lượng cơ thể của chuột nhắt trắng

Chuột nhắt trắng được cân 1 lần trước khi tiêm thuốc thử, 1 lần sau khi tiêm 24 giờ (10 động vật ngẫu nhiên/lô) và 1 lần sau khi tiêm 14 ngày (các động vật còn lại ở mỗi lô).

Kết quả thay đổi cân nặng của chuột được thể hiện ở bảng 3.22 và 3.23.

Bảng 3.22. Khối lượng cơ thể chuột nhắt ở các lô tại thời điểm 24 giờ sau khi tiêm $^{18}\text{F-NaF}$ liều 17,1 mCi/kg

Giống	Lô	n	Cân nặng trước tiêm (g)	Cân nặng sau tiêm 24 giờ (g)
Cái	Lô chứng	10	22,51 ± 0,81	22,23 ± 0,74
	Lô thử ($^{18}\text{F-NaF}$)	10	20,43 ± 0,70	20,31 ± 0,74
Đực	Lô chứng	10	23,27 ± 0,75	23,17 ± 0,71
	Lô thử ($^{18}\text{F-NaF}$)	10	23,55 ± 0,70	23,55 ± 0,64

Sau khi tiêm thuốc thử $^{18}\text{F-NaF}$ liều 17,1 mCi/kg 24 giờ, cân nặng chuột nhắt ở mỗi lô mỗi giống (cái và đực) không thay đổi so với trước khi tiêm thuốc, cũng như không có sự khác biệt về cân nặng chuột giữa lô tiêm $^{18}\text{F-NaF}$ liều 17,1 mCi/kg với lô tiêm chứng tiêm nước muối sinh lý ở cả 2 thời điểm ở mỗi

lô ($p > 0,05$).

Bảng 3.23. Khối lượng cơ thể chuột nhắt ở các lô tại thời điểm 14 ngày sau khi tiêm $^{18}\text{F-NaF}$ liều 17,1 mCi/kg

Giống	Lô	n	Cân nặng trước tiêm (g)	Cân nặng sau tiêm 24 giờ (g)
Cái	Lô chứng	6	$19,02 \pm 0,89$	$31,62 \pm 1,88$
	Lô thử ($^{18}\text{F-NaF}$)	6	$19,9 \pm 0,57$	$32,12 \pm 1,86$
Đực	Lô chứng	6	$20,00 \pm 1,07$	$35,06 \pm 0,99$
	Lô thử ($^{18}\text{F-NaF}$)	6	$23,32 \pm 1,00$	$38,04 \pm 2,62$

Sau khi tiêm thuốc và theo dõi 14 ngày, cân nặng chuột nhắt mỗi giống ở cả lô chứng tiêm nước muối sinh lý và lô tiêm thuốc thử $^{18}\text{F-NaF}$ liều 17,1 mCi/kg đều tăng lên rõ, tuy nhiên không có sự khác biệt về cân nặng chuột giữa 2 lô mỗi giống tại mỗi thời điểm nghiên cứu ($p > 0,05$).

Như vậy, thuốc thử $^{18}\text{F-NaF}$ liều 17,1 mCi/kg không ảnh hưởng đến cân nặng của chuột sau khi tiêm thuốc.

3.10.2 Ảnh hưởng của $^{18}\text{F-NaF}$ đến các thông số huyết học của chuột nhắt trắng

Ảnh hưởng của DCPX $^{18}\text{F-NaF}$ liều 17,1 mCi/kg trên chức năng tạo máu của chuột nhắt trắng được thể hiện qua các thông số: số lượng bạch cầu (WBC), số lượng hồng cầu (RBC), nồng độ hemoglobin (HGB), tỷ lệ hematocrit (HCT), thể tích trung bình hồng cầu (MCV) và số lượng tiểu cầu (PLT).

Kết quả được trình bày ở bảng 3.24 và 3.25.

Bảng 3.24. Các thông số huyết học của chuột nhắt trắng tiêm $^{18}\text{F-NaF}$ liều 17,1 mCi/kg sau 24 giờ

Giống	Lô	n	WBC ($10^9/\text{L}$)	RBC ($10^{12}/\text{L}$)	HGB (g/dL)	HCT (%)	MCV (fL)	PLT ($10^9/\text{L}$)
Cái	Lô chứng	10	$5,09 \pm 0,82$	$7,40 \pm 0,24$	$10,86 \pm 0,41$	$39,69 \pm 1,31$	$53,74 \pm 1,01$	$1249,80 \pm 62,14$
	Lô thử ($^{18}\text{F-NaF}$)	10	$3,64 \pm 0,31$	$7,15 \pm 0,40$	$11,20 \pm 0,69$	$40,25 \pm 2,44$	$56,30 \pm 0,84$	$1125,10 \pm 88,80$
Đực	Lô chứng	10	$4,43 \pm 0,42$	$7,50 \pm 0,13$	$10,88 \pm 0,41$	$38,91 \pm 1,14$	$53,02 \pm 0,84$	$1267,30 \pm 137,06$
	Lô thử ($^{18}\text{F-NaF}$)	10	$4,41 \pm 0,28$	$7,28 \pm 0,18$	$11,02 \pm 0,28$	$40,89 \pm 0,98$	$55,45 \pm 0,78^*$	$1075,60 \pm 46,87$
	p		$>0,05$	$>0,05$	$>0,05$	$>0,05$	$<0,05$	$>0,05$

Số liệu biểu diễn dưới dạng $M \pm \text{SE}$; *, $p < 0,05$ khi so sánh cùng giống

Bảng 3.25. Các thông số huyết học của chuột nhắt trắng tiêm $^{18}\text{F-NaF}$ liều 17,1 mCi/kg sau 14 ngày

Giống	Lô	n	WBC ($10^9/\text{L}$)	RBC ($10^{12}/\text{L}$)	HGB (g/dL)	HCT (%)	MCV (fL)	PLT ($10^9/\text{L}$)
Cái	Lô chứng	6	$6,94 \pm 1,01$	$8,77 \pm 0,19$	$12,56 \pm 0,20$	$46,50 \pm 0,83$	$53,10 \pm 1,27$	$1266,60 \pm 85,09$
	Lô thử ($^{18}\text{F-NaF}$)	6	$4,50 \pm 0,51$	$7,95 \pm 0,31$	$11,02 \pm 0,67$	$41,68 \pm 1,65$	$51,04 \pm 1,49$	$1457,00 \pm 167,34$
Đực	Lô chứng	6	$5,58 \pm 0,81$	$8,99 \pm 0,33$	$12,16 \pm 0,27$	$45,18 \pm 1,18$	$50,34 \pm 0,99$	$1464,60 \pm 104,28$
	Lô thử ($^{18}\text{F-NaF}$)	6	$5,40 \pm 0,79$	$8,07 \pm 0,24$	$11,24 \pm 0,65$	$42,28 \pm 1,83$	$52,30 \pm 0,90$	$1557,30 \pm 168,99$

Số liệu biểu diễn dưới dạng $M \pm \text{SE}$

Bảng 3.24 cho thấy, tại thời điểm sau tiêm mẫu thử 24 giờ, không có sự khác biệt về các thông số huyết học giữa lô tiêm DCPX thử $^{18}\text{F-NaF}$ liều 17,1 mCi/kg so với lô chứng ($p > 0,05$) ở cả hai giống, bao gồm: số lượng bạch cầu (WBC), số lượng hồng cầu (RBC), nồng độ hemoglobin (HGB), tỷ lệ hematocrit (HCT) và số lượng tiểu cầu (PLT). Riêng thể tích trung bình hồng cầu (MCV) ở lô được tiêm $^{18}\text{F-NaF}$ liều 17,1 mCi/kg cao hơn so với lô chứng ($p < 0,05$).

Bảng 3.25 cho thấy, tại thời điểm 14 ngày sau tiêm thuốc, không có sự khác biệt về các thông số huyết học giữa lô tiêm DCPX thử $^{18}\text{F-NaF}$ liều 17,1 mCi/kg so với lô chứng ($p > 0,05$) ở cả hai giống, bao gồm: số lượng bạch cầu (WBC), số lượng hồng cầu (RBC), nồng độ hemoglobin (HGB), tỷ lệ hematocrit (HCT), thể tích trung bình hồng cầu (MCV) và số lượng tiểu cầu (PLT).

3.10.3 Ảnh hưởng của $^{18}\text{F-NaF}$ đến các thông số sinh hóa của chuột nhắt trắng

Ảnh hưởng của DCPX $^{18}\text{F-NaF}$ lên các thông số sinh hóa của chuột được thể hiện qua các thông số đặc trưng cho: mức độ hủy hoại tế bào gan (AST, ALT), chức năng gan (cholesterol toàn phần, protein toàn phần, albumin huyết thanh), chức năng thận (creatinin) và glucose máu.

Kết quả được trình bày ở bảng 3.26 và 3.27.

Bảng 3.26. Các thông số sinh hóa của chuột nhắt trắng tiêm $^{18}\text{F-NaF}$ liều 17,1 mCi/kg liều 17,1 mCi/kg sau 24 giờ

Giống	Lô	n	ALT (U/L)	AST (U/L)	Creatinin ($\mu\text{mol/L}$)	Protein (g/L)	Cholesterol (mmol/L)	Glucose (mmol/L)
Cái	Lô chứng	10	51,04 \pm 4,17	145,01 \pm 14,61	30,06 \pm 1,74	30,96 \pm 1,62	2,26 \pm 0,07	4,82 \pm 0,42
	Lô thử ($^{18}\text{F-NaF}$)	10	49,26 \pm 5,76	155,06 \pm 18,42	32,96 \pm 1,33	26,72 \pm 1,53	2,50 \pm 0,14	5,69 \pm 0,32
Đực	Lô chứng	10	49,03 \pm 3,44	130,59 \pm 11,85	21,82 \pm 1,35	30,86 \pm 1,23	2,59 \pm 0,11	4,35 \pm 0,50
	Lô thử ($^{18}\text{F-NaF}$)	10	52,90 \pm 4,61	132,70 \pm 8,88	27,97 \pm 1,97*	31,18 \pm 1,27	2,68 \pm 0,07	5,35 \pm 0,23
	P		>0,05	>0,05	<0,05	>0,05	<0,05	>0,05

Số liệu biểu diễn dưới dạng M \pm SE, *, p<0,05 khi so với lô chứng cùng giống

Bảng 3.27. Các thông số sinh hóa của chuột nhắt trắng tiêm $^{18}\text{F-NaF}$ liều 17,1 mCi/kg liều 17,1 mCi/kg sau 14 ngày

Giống	Lô	n	ALT (U/L)	AST (U/L)	Creatinin ($\mu\text{mol/L}$)	Protein (g/L)	Cholesterol (mmol/L)	Glucose (mmol/L)
Cái	Lô chứng	6	57,88 \pm 5,72	109,10 \pm 13,88	31,36 \pm 1,95	47,14 \pm 0,70	2,93 \pm 0,21	7,58 \pm 0,35
	Lô thử ($^{18}\text{F-NaF}$)	6	56,16 \pm 6,14	119,66 \pm 11,48	33,68 \pm 1,78	49,00 \pm 2,22	2,54 \pm 0,13	7,45 \pm 0,50
Đực	Lô chứng	6	51,18 \pm 6,80	123,80 \pm 7,22	39,34 \pm 3,54	52,14 \pm 1,49	2,95 \pm 0,15	7,57 \pm 0,47
	Lô thử ($^{18}\text{F-NaF}$)	6	54,48 \pm 6,81	105,42 \pm 15,78	36,70 \pm 1,71	51,00 \pm 1,69	2,78 \pm 0,12	8,42 \pm 0,52
	P		>0,05	>0,05	<0,05	>0,05	>0,05	>0,05

Số liệu biểu diễn dưới dạng M \pm SE, p khi so sánh lô thử với lô chứng cùng giống

Bảng 3.26 cho thấy, tại thời điểm 24 giờ sau khi tiêm thuốc, các thông số AST, ALT, protein huyết thanh, cholesterol toàn phần, glucose huyết thanh không có sự khác biệt giữa các lô tiêm DCPX $^{18}\text{F-NaF}$ liều 17,1 mCi/kg so với lô chứng ($p>0,05$) ở mỗi giống. Riêng nồng độ creatinin huyết thanh ở lô chuột đực tiêm $^{18}\text{F-NaF}$ liều 17,1 mCi/kg cao hơn so với lô chứng ($p<0,05$).

Bảng 3.27 cho thấy, tại thời điểm 14 ngày sau khi tiêm thuốc, các thông số AST, ALT, protein huyết thanh, cholesterol toàn phần, creatinin và glucose huyết thanh không có sự khác biệt giữa các lô tiêm DCPX $^{18}\text{F-NaF}$ liều 17,1 mCi/kg so với lô chứng ($p>0,05$) ở mỗi giống.

3.10.4 Thay đổi về mô bệnh học trên chuột nhắt trắng

Để đánh giá ảnh hưởng của DCPX thử đến các cơ quan tại thời điểm sau khi tiêm thuốc 24 giờ và 14 ngày, toàn bộ động vật thực nghiệm được mổ (10 động vật mỗi lô được mổ vào 24 giờ sau tiêm thuốc và 5 động vật còn lại được mổ vào ngày thứ 14 sau tiêm) để quan sát đại thể các cơ quan. Lấy ngẫu nhiên 3 chuột ở mỗi lô để làm tiêu bản vi thể gan và thận.

a. Về đại thể

Ảnh hưởng của DCPX $^{18}\text{F-NaF}$ liều 17,1 mCi/kg lên sự thay đổi tỷ lệ khối lượng các cơ quan so với khối lượng cơ thể được trình bày ở bảng 3.28 và 3.29.

Bảng 3.28. Tỷ lệ khối lượng các cơ quan so với khối lượng cơ thể của chuột tiêm $^{18}\text{F-NaF}$ liều 17,1 mCi/kg sau 24 giờ

Giống	Lô	n	Tỷ lệ khối lượng cơ quan so với khối lượng cơ thể (%)									
			Tim	Gan	Thận	Phổi	Lách	Thượng thận	Buồng trứng	Tử cung	Tình hoàn	
Cái	Lô chứng	10	0,63± 0,03	5,09± 0,22	1,33± 0,05	0,89± 0,04	0,80± 0,05	0,064± 0,016	0,10± 0,02	0,17± 0,02		
	Lô thử ($^{18}\text{F-NaF}$)	10	0,64± 0,03	5,51± 0,33	1,45± 0,05	0,91± 0,06	0,69± 0,07	0,050± 0,005	0,09± 0,01	0,18± 0,02		
Đực	Lô chứng	10	0,57± 0,03	4,74± 0,18	1,31± 0,04	0,86± 0,04	0,71± 0,06	0,051± 0,006			0,61± 0,04	
	Lô thử ($^{18}\text{F-NaF}$)	10	0,61± 0,02	6,08± 0,13*	1,41± 0,05	0,94± 0,03	0,71± 0,06	0,045± 0,003			0,55± 0,04	

Số liệu biểu diễn dưới dạng $M \pm SE$; *: $p < 0,05$ khi so sánh với lô chứng cùng giống

Bảng 3.29. Tỷ lệ khối lượng các cơ quan so với khối lượng cơ thể của chuột tiêm $^{18}\text{F-NaF}$ liều 17,1 mCi/kg sau 14 ngày

Giống	Lô	n	Tỷ lệ khối lượng cơ quan so với khối lượng cơ thể (%)									
			Tim	Gan	Thận	Phổi	Lách	Thượng thận	Buồng trứng	Tử cung	Tinh hoàn	
Cái	Lô chứng	6	0,56± 0,02	5,19± 0,18	1,09± 0,08	0,69± 0,04	0,83± 0,06	0,046± 0,002	0,09± 0,03	0,14± 0,02		
	Lô thử ($^{18}\text{F-NaF}$)	6	0,52± 0,03	4,92± 0,34	1,11± 0,04	0,87± 0,12	0,95± 0,05	0,048± 0,007	0,04± 0,003	0,12± 0,01		
Đực	Lô chứng	6	0,46± 0,03	4,74± 0,25	1,16± 0,04	0,77± 0,06	0,68± 0,07	0,038± 0,005			0,52± 0,03	
	Lô thử ($^{18}\text{F-NaF}$)	6	0,51± 0,04	5,39± 0,31	1,30± 0,07	0,67± 0,02	0,84± 0,11	0,033± 0,004			0,60± 0,07	

Số liệu biểu diễn dưới dạng $M \pm SE$; p khi so sánh lô thử với lô chứng cùng giống

Bảng 3.28 cho thấy, tại thời điểm sau khi tiêm thuốc thử 24 giờ, tỷ lệ khối lượng các cơ quan như tim, thận, phổi, lách, thượng thận, buồng trứng và tử cung (với giống cái), tinh hoàn (với giống đực) so với khối lượng cơ thể của động vật ở các lô tiêm DCPX thử $^{18}\text{F-NaF}$ liều 17,1 mCi/kg và lô chứng nhìn chung không có sự khác biệt ($p > 0,05$). Riêng tỷ lệ khối lượng gan ở lô tiêm $^{18}\text{F-NaF}$ liều 17,1 mCi/kg của giống đực cao hơn so với lô chứng tiêm nước muối sinh lý ($p < 0,05$).

Bảng 3.29 cho thấy, tại thời điểm sau khi tiêm thuốc 14 ngày, tỷ lệ khối lượng các cơ quan như tim, gan, thận, phổi, lách, thượng thận, buồng trứng và tử cung (với giống cái), tinh hoàn (với giống đực) so với khối lượng cơ thể của động vật ở các lô tiêm DCPX thử $^{18}\text{F-NaF}$ liều 17,1 mCi/kg không khác biệt với lô chứng ($p > 0,05$).

b. Về vi thể

Tiêu bản vi thể gan, thận được thực hiện và đánh giá tại Bộ môn Giải phẫu bệnh, Trường Đại học Y Hà Nội. Kết quả cho thấy, tại thời điểm sau khi tiêm thuốc 24 giờ và 14 ngày, cấu trúc vi thể gan và thận chuột ở các lô dùng DCPX $^{18}\text{F-NaF}$ liều 17,1 mCi/kg chưa thấy sự khác biệt so với lô chứng tương ứng.

Kết quả vi thể gan chuột, các lô sau 24 giờ được mô tả trong hình hình 1 (phụ lục) và hình 2 (phụ lục), sau 14 ngày được mô tả trong hình hình 3 (phụ lục) và hình 4 (phụ lục). Tại thời điểm 24 giờ và 14 ngày sau khi tiêm mẫu thử, giữa lô tiêm $^{18}\text{F-NaF}$ liều 17,1 mCi/kg và lô tiêm nước muối sinh lý ở mỗi giống không thấy khác biệt. Một số mẫu gan có xâm nhập viêm mạn tính hoặc hoại tử ổ nhỏ có thể do nguyên nhân khác như môi trường, thức ăn, nước uống.

Kết quả vi thể thận chuột ở các lô sau 24 giờ được mô tả trong hình hình 5, hình 6 (phụ lục), sau 14 ngày được mô tả trong hình hình 7, hình 8 (phụ lục). Kết quả vi thể cho thấy tất cả các mẫu thận của chuột nhắt trắng ở lô thử và lô chứng mỗi giống tại hai thời điểm 24 giờ và 14 ngày đều không thấy tổn thương.

Chương 4

BÀN LUẬN

4.1 Xây dựng được công thức và điều chế $^{18}\text{F-NaF}$ tự động hoàn toàn trên bộ kit tổng hợp và module tự thiết kế, chế tạo.

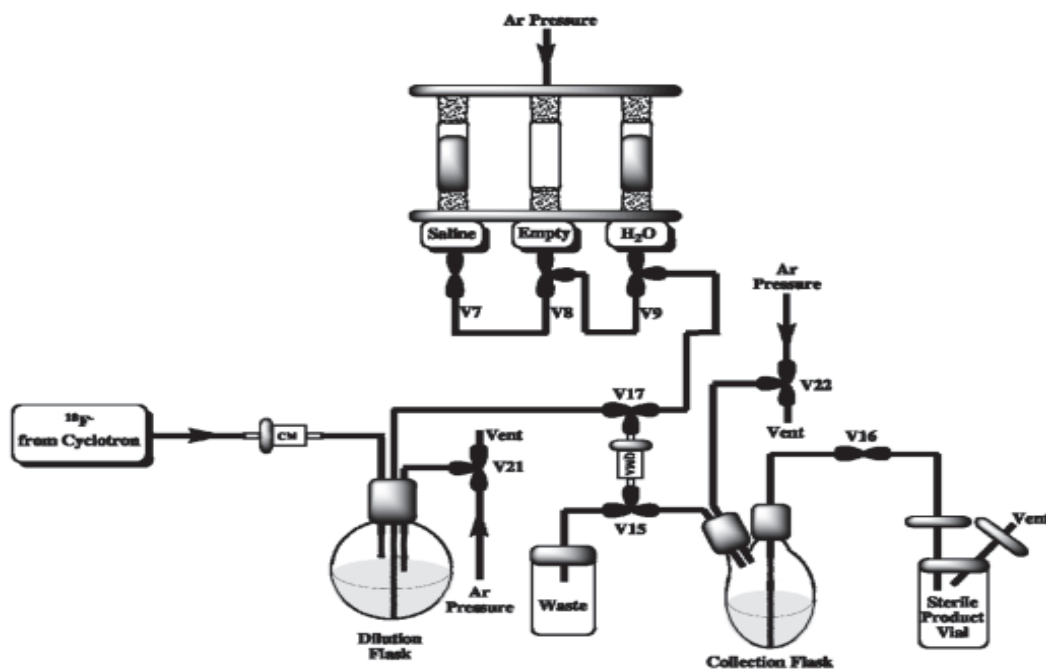
4.1.1 kit tổng hợp $^{18}\text{F-NaF}$

Chúng tôi đã nghiên cứu, điều chế $^{18}\text{F-NaF}$ bằng phương pháp đơn giản, hiệu quả và phù hợp với điều kiện trang thiết bị tại cơ sở nghiên cứu [8], [49], [57], [60]. Tuy nhiên, quy trình điều chế phải được thực hiện tự động hoàn toàn nhằm đảm bảo an toàn bức xạ cho những người làm việc trực tiếp trong khu vực sản xuất. Bước đầu tiên và rất quan trọng là thiết kế bộ kit tổng hợp để thực hiện các bước vận chuyển dung môi và tổng hợp hóa phóng xạ cho tổng hợp $^{18}\text{F-NaF}$. Do bộ kit tiếp xúc trực tiếp với hóa chất, nguyên vật liệu của quá trình tổng hợp nên vật liệu làm kit phải đảm bảo đủ tiêu chuẩn của vật tư để điều chế DCPX trong y tế. Trong nghiên cứu này, chúng tôi dựa trên bộ kit tổng hợp $^{11}\text{C-Choline}$ của hãng Bioscan và chỉnh sửa lại để phù hợp cho việc tổng hợp DCPX $^{18}\text{F-NaF}$. Sau khi được chế tạo, bộ kit được đóng gói kín trong túi polyme, tiệt trùng bằng phương pháp EO và chỉ sử dụng một lần nhằm đảm bảo chất lượng DCPX $^{18}\text{F-NaF}$.

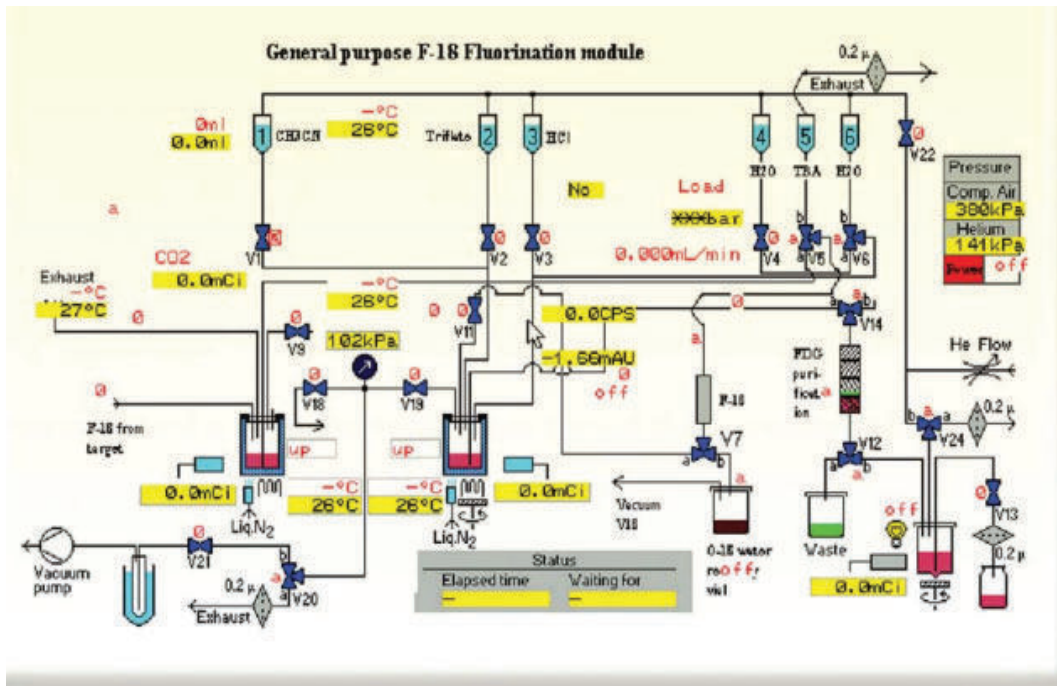
Nhóm nghiên cứu khác sử dụng bộ kit cố định và được sử dụng nhiều lần bằng cách rửa đường ống sau mỗi lần sản xuất [91]. Bộ kit này khi được xúc rửa sạch, gần như không ảnh hưởng đến hiệu suất tổng hợp. Tuy nhiên, khó đảm bảo vô khuẩn và nội độc tố vi khuẩn cho sản phẩm cuối. DCPX $^{18}\text{F-NaF}$ là thuốc tiêm, có thời gian bán rã ngắn (110 phút) nên cũng giống như $^{18}\text{F-FDG}$ và các DCPX khác dùng cho PET được quy định trong các Dược điển USP, Anh (BP), Châu Âu (EP) là có thể sử dụng trên người trước khi có kết quả của chỉ tiêu nội độc tố và chỉ tiêu vô khuẩn [23], [70]. Chính vì vậy, các khâu tham gia vào quá trình sản xuất cần phải được đảm bảo hết sức nghiêm ngặt từ nguyên liệu, hóa chất, kit tổng hợp và bao bì đóng gói. . . Đó là lý do hầu hết các cơ sở điều chế DCPX cho PET đều sử dụng kit tổng hợp vô khuẩn và dùng một lần. Hơn nữa, trong quá trình tổng hợp, ngoài DCPX ^{18}F làm nguyên liệu chính trong quá trình tổng hợp, còn có

thể xuất hiện một số ĐVPX với thời gian bán rã dài như ^{51}Cr , ^{56}Co , ^{58}Co , ^{52}Mn , ^{96}Tc ...được tạo ra từ quá trình bắn bia nước giàu ^{18}O [30]. Các ĐVPX này có thể bám dính trên đường ống của bộ kit gây ra những liều chiếu bức xạ không cần thiết với những lần tổng hợp tiếp theo. Bộ kit tổng hợp DCPX ^{18}F -NaF của chúng tôi có thiết kế đơn giản, chỉ cho phép tổng hợp DCPX ^{18}F -NaF, trong khi đó, đa số các báo cáo cho thấy, các nhóm nghiên cứu khác áp dụng quy trình tổng hợp ^{18}F -NaF như chúng tôi nhưng trên các bộ kit khác nhau và đã được thương mại hóa theo từng module tổng hợp HPX của các hãng sản xuất khác nhau trên thế giới. Các bộ kit đó thường được sử dụng để tổng hợp nhiều loại DCPX khác nhau, tất nhiên mỗi lần sử dụng chỉ tổng hợp được một DCPX và tùy theo quy trình của từng loại DCPX mà một hay nhiều bộ phận trên kit không sử dụng đến [81], [82], [83]. Tuy nhiên, chi phí đầu tư lớn, không chủ động trong quá trình vận hành. Bộ kit tổng hợp của chúng tôi chỉ riêng để tổng hợp ^{18}F -NaF (Hình 3.6) nên việc điều khiển đơn giản hơn rất nhiều.

Một số lưu đồ tổng hợp ^{18}F -NaF trên một số bộ kit khác nhau:



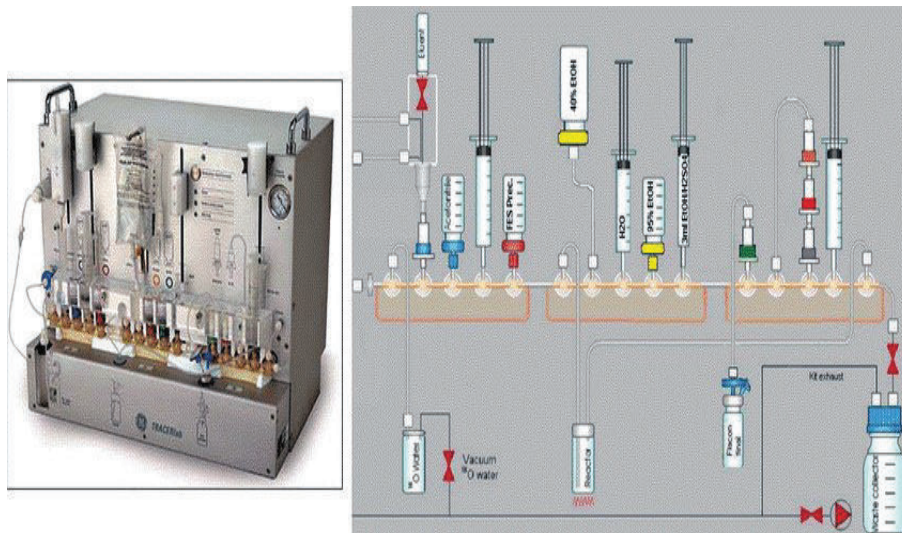
Hình 4.1. Lưu đồ tổng hợp ^{18}F -NaF trên kit Tracerlab FX-FN [45].



Hình 4.2. Lưu đồ tổng hợp F-NaF trên kit GE Health Care [62].

Trong nghiên cứu của chúng tôi, bộ kit được triển khai theo chiều ngang (Hình 3.9). Khi thiết kế bộ kit theo chiều ngang sẽ dễ dàng cho việc chế tạo module điều khiển bộ kit vì có thể nối các bộ kit nhỏ có 1 đến 5 van 3 chiều với nhau sao cho đủ các bước tổng hợp theo quy trình lý thuyết. Nếu một dược chất phóng xạ mà có quá nhiều bước tổng hợp việc bố trí kit theo chiều ngang sẽ không khả thi vì kích thước của bộ kit quá dài và khi đó module sẽ rất lớn và kéo theo hotcell che chắn phóng xạ và mặt bằng khu vực sản xuất phải lớn theo. Trong nghiên cứu của chúng tôi, do mục tiêu nghiên cứu chỉ là điều chế DCPX $^{18}\text{F-NaF}$ và DCPX này không đòi hỏi quá nhiều bước tổng hợp do vậy việc thiết kế bộ kit tổng hợp theo chiều ngang hoàn toàn đáp ứng yêu cầu để thiết kế, chế tạo một module điều khiển kit tổng hợp tự động có kích thước nhỏ gọn, có thể đặt trong các hotcell sẵn có tại cơ sở nghiên cứu.

Tùy theo thiết kế của từng nhà sản xuất mà các bộ phận của kit tổng có thể được bố trí theo chiều ngang như của hãng GE (Hình 4.3), hoặc theo không gian 3 chiều như của hãng của IBA (Hình 4.4)



Hình 4.3. kit tổng hợp $^{18}\text{F-NaF}$ của hãng GE [46].



Hình 4.4. kit tổng hợp $^{18}\text{F-NaF}$ của hãng IBA [46].

4.1.2 Module điều khiển kit tổng hợp tự động

DCPX $^{18}\text{F-NaF}$ cần phải được tổng hợp tự động hoàn toàn. Để điều khiển hoạt động của bộ kit tổng hợp $^{18}\text{F-NaF}$ cũng như các DCPX khác, các hãng phát triển các module phù hợp với từng bộ kit. Thực chất các module này chỉ có nhiệm vụ thay thế con người trong việc thao tác các bước tổng hợp trên bộ kit. Tùy theo mục đích yêu cầu của người sử dụng, nếu bộ kit cho điều chế càng nhiều DCPX và có cấu tạo phức tạp thì module càng phải tinh vi cả về phần cứng và phần mềm điều khiển. Để thực hiện các bước tổng hợp $^{18}\text{F-NaF}$ trên bộ kit tổng hợp các hãng

đều sử dụng các mô tơ [91] hoặc hệ thống khí nén 4.4 để điều khiển đóng mở hệ thống van trên bộ kit tổng hợp. Việc vận chuyển dung môi có thể sử dụng các xi lanh vận chuyển (hình 4.3). Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã thiết kế, chế tạo một module nhỏ gọn, dễ vận chuyển, dễ lắp đặt và có thể đặt 2 module trong cùng một hotcell. Điều này rất có ý nghĩa khi áp dụng vào sản xuất vì nếu module lớn chiếm hết không gian của hotcell và với đặc tính khi sản xuất các DCPX cho PET, sau khi sản xuất một mẻ DCPX khác không phải $^{18}\text{F-NaF}$ cho PET thì lượng tồn dư phóng xạ trong kit tổng hợp còn khá cao cộng với các sản phẩm thu hồi tạo ra phóng xạ cao nên thường phải đợi đến ngày hôm sau mới có thể tháo dỡ kit đó và lắp kit cho tổng hợp $^{18}\text{F-NaF}$. Như vậy nếu có thể đặt 2 module tổng hợp trong cùng một hotcell thì có thể sản xuất đồng thời 2 mẻ hoặc sản xuất DCPX $^{18}\text{F-NaF}$ trên module tổng hợp $^{18}\text{F-NaF}$ và một DCPX khác trên một module khác đồng thời trong cùng một hotcell. Một ưu điểm của module của nhóm nghiên cứu đó là dễ vệ sinh, dễ bảo dưỡng và sửa chữa cũng như thay thế các bộ phận. Đối với các module tổng hợp DCPX nhập khẩu của nước ngoài sẽ phải phụ thuộc vào hãng cung cấp máy rất nhiều. Bên cạnh đó phần mềm điều khiển module được viết bằng ngôn ngữ lập trình Labview, dễ dàng thay đổi chỉnh sửa trong quá trình nghiên cứu để tối ưu các điều kiện của các bước trong quá trình tổng DCPX $^{18}\text{F-NaF}$. Phần mềm điều khiển module tổng hợp DCPX $^{18}\text{F-NaF}$ khá đơn giản, có giao diện thân thiện với người sử dụng và dễ dàng sử dụng, dễ quan sát các bước trong quá trình tổng hợp trên màn hình máy tính. Module tổng hợp $^{18}\text{F-NaF}$ của nhóm nghiên cứu có một nhược điểm đó là quá trình vận chuyển dung môi hoàn toàn bằng cơ học do đó phải hút không khí để đẩy dung môi hóa chất còn lại trên đường ống của kit tổng hợp, điều này khác với các module tổng hợp khác hoạt động khá tinh vi, việc vận chuyển dung môi, hóa chất và làm sạch đường ống bằng khí trơ vừa nhanh và vừa hiệu quả. Do mất thời gian trong việc bơm hút xi lanh làm sạch đường ống nên module tổng hợp DCPX $^{18}\text{F-NaF}$ của nhóm nghiên cứu có thời gian tổng hợp lên tới 15 phút, trong khi đa số các module khác chỉ khoảng 10 phút và do vậy hiệu suất tổng hợp cũng thấp hơn các module khác từ 5-10% [16]. Tuy nhiên, vấn đề này không ảnh hưởng nhiều đến một mẻ sản xuất $^{18}\text{F-NaF}$ vì hiệu suất tổng hợp của $^{18}\text{F-NaF}$ khá cao (80-90%) so với các DCPX khác có đánh dấu nhân phóng xạ ^{18}F - như $^{18}\text{F-FDG}$ (>50%) [54], $^{18}\text{F-FLT}$ (>20 %) [63], $^{18}\text{F-FCH}$ (>20%)[20], do đó hoạt độ phóng xạ của $^{18}\text{F-NaF}$ một mẻ thu được sẽ có thể lên tới vài Ci và đủ cung cấp cho nhiều máy PET cùng một lúc.

4.1.3 Một số yếu tố ảnh hưởng đến hiệu suất tổng hợp $^{18}\text{F-NaF}$

a. Thể tích dung dịch NaCl 0,9% và thể tích nước

Thể tích NaCl 0,9% dùng sao cho vừa đủ để rửa giải anion $^{18}\text{F}^-$ ra khỏi cột QMA. Đây là khâu then chốt, ảnh hưởng trực tiếp tới hiệu suất tổng hợp DCPX $^{18}\text{F-NaF}$ vì tách anion $^{18}\text{F}^-$ càng nhiều thì càng tạo ra nhiều $^{18}\text{F-NaF}$ và làm tăng hiệu suất tổng hợp. Nếu sử dụng nhiều quá mức cần thiết, dung dịch NaCl 0,9% sẽ làm giảm nồng độ phóng xạ của sản phẩm cuối và đồng thời làm tăng thời gian tổng hợp do tốc độ vận chuyển dung môi đã được tối ưu ở một vận tốc nhất định. Khi thời gian tổng hợp tăng lên làm giảm hiệu suất tổng hợp vì ĐVPX ^{18}F có thời gian bán rã nhanh (110 phút). Nếu tăng thời gian tổng hợp lên 5 phút thì hiệu suất tổng hợp sẽ giảm tới 3,1%. Chính vì vậy, cần luôn tối ưu thể tích dung dịch NaCl 0,9% trong quy trình sản xuất. Thể tích cuối cùng của sản phẩm phụ thuộc vào lượng dung dịch NaCl 0,9% bổ sung sẵn trong lọ tổng chứa sản phẩm.

Thể tích nước sử dụng trong quá trình tổng hợp DCPX $^{18}\text{F-NaF}$ có hai nhiệm vụ chính. Nhiệm vụ thứ nhất là tráng rửa lượng anion $^{18}\text{F}^-$ còn bám dính trên đường ống của kit tổng hợp để làm tăng lượng anion $^{18}\text{F}^-$ được bắt giữ trên cột QMA và làm tăng thêm hiệu suất tổng hợp DCPX $^{18}\text{F-NaF}$. Nhiệm vụ thứ hai là rửa các tạp chất tan trong nước, đặc biệt là các cation của các ĐVPX có thời gian bán rã dài tạo ra trong quá trình bắn bia nước giàu ^{18}O . Tương tự, lượng NaCl 0,9%, nếu sử dụng nhiều sẽ làm tăng thời gian tổng hợp và như vậy góp phần làm giảm hiệu suất tổng hợp.

Việc phối hợp tỷ lệ giữa NaCl 0,9% và nước sao cho vừa đảm bảo rửa giải nhiều anion $^{18}\text{F}^-$ và làm sạch các tạp chất tan trong nước có trong quá trình bắn bia nước giàu ^{18}O để giảm thời gian và làm tăng hiệu suất tổng hợp DCPX $^{18}\text{F-NaF}$. Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã kết hợp NaCl 0,9% và nước theo các tỷ lệ là 3 ml:5 ml và 5 ml:3 ml cho hiệu suất tổng hợp DCPX $^{18}\text{F-NaF}$ cao nhất tới 80 % (90% sau khi hiệu chỉnh). Đây là kết quả khảo sát với lượng anion $^{18}\text{F}^-$ đầu vào quá trình tổng hợp có hoạt độ phóng xạ khoảng 10 mCi. Khi áp dụng tỷ lệ này ở quy mô phòng thí nghiệm (100 mCi $^{18}\text{F-NaF}$) và qui mô sản xuất (1000 mCi $^{18}\text{F-NaF}$) đều cho hiệu suất khoảng 80% (EOS), như vậy tỷ lệ này có thể áp dụng ở qui mô sản xuất.

b. Thời gian điều chế $^{18}\text{F-NaF}$

Thời gian tổng hợp phụ thuộc vào thời gian vận chuyển hóa chất, dung môi và thời gian làm sạch đường ống. Thời gian tổng hợp DCPX $^{18}\text{F-NaF}$ cũng như các DCPX cho PET khác càng ngắn càng tốt vì thời gian bán rã của các DCPX

này hầu như rất ngắn (Các DCPX đánh dấu với ^{11}C : 20 phút, các ĐVPX đánh dấu ^{18}F : 110 phút). Với ^{18}F -NaF, đa số các module có tổng thời gian tổng hợp chỉ trong vòng 10 phút [62]. Đặc biệt, module của Hàn Quốc thời gian này chỉ có 6 phút [66] và cho hiệu suất tổng hợp cao trên 90%. Trong nghiên cứu của chúng tôi, thời gian tổng hợp phụ thuộc vào cấu tạo của kit tổng hợp, thiết kế của module tổng hợp cũng như tỷ lệ sử dụng dung môi hóa chất và tốc độ vận chuyển dung môi. Qua khảo sát các yếu tố ảnh hưởng, chúng tôi cố định thời gian tổng hợp ^{18}F -NaF là 15 phút, cao gấp 1,5 lần so với đa số các quy trình tổng hợp khác trên thế giới, do vậy hiệu suất tổng hợp cũng thấp hơn. Điều này hoàn toàn phù hợp với lý thuyết vì do ảnh hưởng của thời gian bán rã đồng vị ^{18}F (110 phút).

4.2 Một số lưu ý trong quy trình điều chế ^{18}F -NaF

Quy trình điều chế DCPX ^{18}F -NaF được thiết kế tự động hoàn toàn, nhằm nâng cao hiệu suất cũng như đảm bảo an toàn bức xạ cho người làm việc trong khu vực sản xuất. Tuy nhiên, cần lưu ý đối trong các bước chuẩn bị thiết bị sản xuất, hoạt hóa các cột trao đổi ion, lắp đặt kit tổng hợp và quá trình bắn bia nước giàu ^{18}O như sau:

Quá trình bắn bia nước giàu ^{18}O thực chất là quá trình tạo ra ĐVPX ^{18}F , làm nguyên liệu đầu vào cho quá trình tổng hợp DCPX ^{18}F -NaF. Đây là bước ảnh hưởng lớn đến quá trình tổng hợp DCPX. Quá trình bắn bia đòi hỏi hệ thống máy gia tốc phải hoạt động ổn định. Hệ thống máy gia tốc 30 MeV là hệ thống hiện đại, có nhiều yếu tố kỹ thuật ảnh hưởng tới chất lượng chùm tia proton. Đầu tiên, hệ thống máy phải được giữ chân không ổn định, do vậy hệ thống máy gia tốc sau khi kết thúc vận hành luôn để ở chế độ hoạt động Standby giúp duy trì chân không. Máy gia tốc được điều khiển tự động, bộ thông số của máy được nhà sản xuất lắp đặt, hiệu chỉnh và cài đặt bộ thông số cho máy. Tuy nhiên, theo thời gian vận hành, bộ thông số này cũng bị sai lệch, một số thông số sẽ phải hiệu chỉnh bằng các nút điều khiển trong mỗi lần bắn bia để có hiệu suất dòng cao nhất, do đó kinh nghiệm của người vận hành máy hết sức quan trọng.

Module tổng hợp DCPX cần được cung cấp điện ổn định trong suốt quá trình tổng hợp. Cấp truyền tín hiệu giữa module (trong hotcell) và máy tính (bên ngoài hotcell) cần được nối chắc chắn. Cần kiểm tra kỹ đầu nối đường ống từ lọ chứa nước giàu ^{18}O sau khi bắn bia đã cắm tới đáy lọ hay chưa, thể tích rỗng đủ chứa nước giàu ^{18}O thu hồi (8 ml) trong lọ thu hồi và nước thải trong bình thải

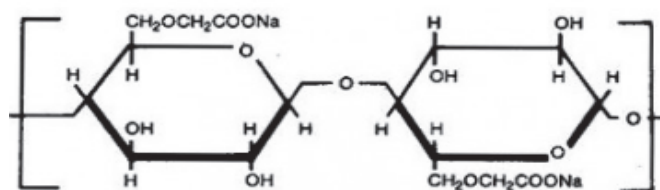
(200ml) cho mỗi mẻ sản xuất $^{18}\text{F-NaF}$. Khi lắp đặt kit tổng hợp phải đảm bảo kín và chắc chắn tại các điểm nối, pít tông 1 và pít tông 2 đặt đúng vị trí, các cột trao đổi ion phải đặt đúng chiều. Cần kiểm tra độ thông của đường truyền từ module tổng hợp sang thiết bị chia liều trước khi đấu nối đường truyền. Về kỹ thuật hoạt hóa các cột trao đổi ion khi bơm dung môi hoạt hóa cột QMA và cột CM hoặc rửa bằng nước cất cần bơm đều tay theo đúng vận tốc yêu cầu nhằm đảm bảo các cột được hoạt hóa nhưng không bị nứt, vỡ làm ảnh hưởng đến hiệu suất tổng hợp cũng như chất lượng sản phẩm cuối.

4.3 Chất lượng của $^{18}\text{F-NaF}$

Trong đảm bảo chất lượng của $^{18}\text{F-NaF}$ thì vai trò của cột CM và cột QMA rất quan trọng. Cột CM để bắt giữ các tạp dạng cation còn cột QMA ngoài đóng vai trò quan trọng trong tạo ra sản phẩm F-NaF còn giúp loại bỏ các tạp dạng anion.

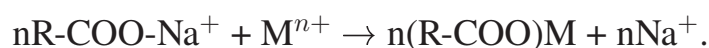
4.3.1 Vai trò của cột cationit (Carboxyl methyl, CM)

Cột CM tên đầy đủ là Sep-Pak Accell Plus CM là cột nhựa trao đổi cation có cấu trúc:



Công thức của nhựa trao đổi cation

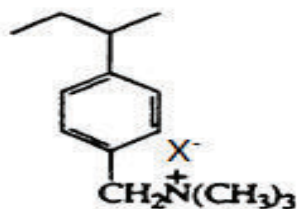
Anion Na^+ trao đổi với các cation có trong dung dịch $\text{H}^{18}\text{F-H}_2^{18}\text{O}$. Cột CM được sử dụng để tách các cation tạp chất sinh ra từ quá trình bắn bia. Trong quá trình bắn bia, các ĐVPX tạp chất được sinh ra từ các phản ứng hạt nhân giữa proton và vật liệu làm vỏ bia cũng như từ vật liệu làm cửa sổ bia. Vỏ bia thường được làm bằng Nbium hoặc hợp kim Havar, tùy thuộc vào thiết kế của nhà sản xuất. Cột trao đổi cation CM có nhiệm vụ giữ lại các nhân phóng xạ kim loại như Co, Ni, Cr, Mn, Tc, Re, Mo,... tồn tại trong dung dịch bia dưới dạng cation theo cơ chế trao đổi cation như sau:



Trong đó M^{n+} là các cation kim loại tương ứng của các ĐVPX phóng xạ Co, Mn, Cr, Mo, Tc,...n là hóa trị của kim loại.

4.3.2 Vai trò của cột QMA

^{18}F được tạo ra từ phản ứng hạt nhân $^{18}\text{O}(\text{p},\text{n})^{18}\text{F}$ khi nước giàu ^{18}O bị bắn bởi chùm proton của máy gia tốc cyclotron có năng lượng từ 18 MeV. Trong quá xảy ra phản ứng hạt nhân $^{18}\text{O}(\text{p},\text{n})^{18}\text{F}$, ^{18}O chuyển thành ^{18}F dưới dạng anion ^{18}F -fluorid trong nước giàu ^{18}O . Sau khi kết thúc quá trình bắn bia, dung dịch chứa anion ^{18}F -fluorid được chuyển từ bia sang module tổng hợp. Trước tiên, dung dịch sau bắn bia được bơm chân không đẩy vào cột trao đổi cation CM để loại bỏ các cation tạp chất và sau đó qua cột trao đổi anion QMA để giữ lại anion ^{18}F -fluorid, phần nước giàu ^{18}O dư được thu hồi. Quá trình tách và rửa giải anion ^{18}F -fluorid trên cột QMA dựa trên nguyên lý trao đổi anion với nhựa anionit. Trong trường hợp này, nhựa anionit là polyme chứa gốc amin bậc bốn mà cụ thể là $\text{R}(\text{CH}_3)_3\text{N}^+\text{X}^-$ với R có thể là mạch thẳng hoặc có thể chứa vòng thơm benzene. Cấu trúc hóa học của nhựa anionit như sau:



Cấu trúc hóa học của nhựa anionit

Trong đó, X^- có khả năng trao đổi vị trí với anion F^- trong dung dịch. X^- có thể là các ion halogen như Cl^- , Br^- ... hoặc có thể là nhóm OH^- .

Trong quá trình bắn bia có thể tạo ra một số sản phẩm phụ khác như nitơ-13 (^{13}N). ^{13}N là sản phẩm phụ của quá trình tương tác giữa proton và ^{16}O trong nước giàu bởi phản ứng $^{16}\text{O}(\text{p},\alpha)^{13}\text{N}$ do bia nước giàu không đạt độ giàu 100% ^{18}O . ^{13}N có khả năng tồn tại ở các dạng hóa học như ^{13}N -nitrite (NO_2^-), ^{13}N -nitrate (NO_3^-) hoặc dạng khí. ^{13}N dạng khí có thể bay hơi, thoát khỏi dung dịch bia trong quá trình chuyển sản phẩm sau bắn bia sang module. Các anion NO_2^- và NO_3^- cũng tham gia vào quá trình trao đổi anion và bị giữ lại trên cột QMA cùng với anion ^{18}F -fluorid. Không giống như ion ^{18}F -fluorid, ion NO_2^-

và NO_3^- có ái lực lớn đối với gốc amin bậc 4 vì bán kính anion của chúng lớn hơn bán kính anion ^{18}F -fluorid. Do đó, trong quá trình trao đổi, anion NO_2^- và ion NO_3^- liên kết chặt hơn với nhựa so với anion ^{18}F -fluorid và không thể rửa giải bằng dung dịch NaCl 0,9%. Như vậy, vai trò của cột QMA là dùng để bắt giữ anion ^{18}F -fluorid cũng như các anion tạp chất được tạo ra từ quá trình bắn bia.

4.3.3 Chất lượng của ^{18}F -NaF

Qua khảo sát chất lượng của các mẻ DCPX ^{18}F -NaF ở qui mô 100 mCi/mẻ và 1000 mCi/mẻ cho thấy, sản phẩm đều đạt các chỉ tiêu theo USP 2020. Các chỉ tiêu chính sau đây có ảnh hưởng đến chất lượng của DCPX ^{18}F -NaF:

Độ tinh khiết hạt nhân phải đạt >99,9%. Trong nghiên cứu này không nghiên cứu, khảo sát sự có mặt của các ĐVPX khác có trong sản phẩm cũng như tồn dư ở các bộ phận trên kit tổng hợp hoặc trong nước giàu ^{18}O thu hồi và bình chứa thải. Trên thế giới có nhiều tác giả đã khảo sát các tạp đồng vị dài ngày trong sản xuất ^{18}F -FDG [30]. Quá trình bắn bia nước giàu ^{18}O để sản xuất ^{18}F -NaF cũng giống hệt như cho sản xuất ^{18}F -FDG và các DCPX đánh dấu nhân phóng xạ ^{18}F khác. Các đồng vị tạp khác, đặc biệt là các tạp đồng vị hạt nhân là kim loại tạo ra trong quá trình bắn bia do chùm tia đồng thời bắn vào vật liệu làm lá chắn cửa sổ và thành trong của buồng bia, nơi tiếp xúc trực tiếp với nguyên liệu nước giàu ^{18}O và xuất hiện trong nước giàu ^{18}O sau khi bị bắn phá, cũng vào quá trình tổng hợp. Để loại trừ các tạp chất này trong quá trình tổng hợp DCPX ^{18}F -NaF, một số tác giả có sử dụng cột CM để bắt giữ [66]. Tuy nhiên, quy trình của một số tác giả khác không cần sử dụng cột này mà độ tinh khiết hạt nhân vẫn đạt > 99,9% [62] do vật liệu làm buồng bia và lá chắn cửa sổ buồng bia được làm từ các kim loại và hợp kim trơ (Thân bia làm bằng Niobium và lá chắn cửa sổ bằng Havar) [76] nên tạo ra rất ít tạp chất. Mặt khác, quá trình tổng hợp sử dụng cột QMA để bắt giữ anion ^{18}F thì hầu hết các thành phần khác sẽ theo phần nước giàu ^{18}O thu hồi vào bình thu hồi, phần còn lại bị rửa trôi bởi nước vào bình chứa thải. Trong nghiên cứu này, chúng tôi vẫn sử dụng cột CM để bắt giữ các tạp là đồng vị kim loại vì cột CM không ảnh hưởng đến thời gian tổng hợp và hiệu suất tổng hợp trong khi đảm bảo chắc chắn thêm về độ tinh khiết ĐVPX. Qua khảo sát, các mẻ sản xuất ^{18}F -NaF của nhóm nghiên cứu đều đạt chỉ tiêu độ tinh khiết ĐVPX >99,9%.

Độ tinh khiết HPX là yếu tố có ảnh hưởng lớn tới chất lượng của DCPX nên ảnh hưởng trực tiếp đến kết quả chụp hình PET. Độ tinh khiết HPX của DCPX càng cao thì chất lượng hình ảnh chẩn đoán càng tốt. Với DCPX ^{18}F -NaF đa số các

được điển trên thế giới đều qui định phải đạt > 95% giống như DCPX các DCPX khác cho PET [70], [69]. Gần đây, Dược Điển Anh nâng cao tiêu chuẩn này đối với DCPX ^{18}F -NaF lên >98,5% [22] trong khi vẫn giữ nguyên đối với DCPX ^{18}F -FDG là > 95%. Điều này cũng có thể được giải thích vì 2 qui trình tổng hợp DCPX này khác nhau. Với ^{18}F -FDG quy trình tổng hợp sử dụng nhiều hóa chất, dung môi, các điều kiện phản ứng của từng bước khắc nghiệt nên việc tinh chế gặp nhiều khó khăn. Còn đối với DCPX ^{18}F -NaF, ngoài nguyên liệu đầu vào là nước giàu ^{18}O đã được bắn phá bằng chùm proton giống như sản xuất ^{18}F -FDG, chỉ sử dụng thuốc tiêm NaCl 0,9% và nước cất là những nguyên liệu dung môi có độ tinh khiết cao và đều là thành phần của DCPX này. Một yếu tố nữa là với các DCPX khi đánh dấu với ^{18}F thì sự xuất hiện của anion này trong sản phẩm bị coi là sản phẩm phụ trong khi DCPX ^{18}F -NaF còn được gọi là ^{18}F -fluoride. Trong nghiên cứu này, chúng tôi áp dụng tiêu chuẩn của USP 2020 yêu cầu >95%. trong khi nhiều mẫu nghiên cứu đều đạt tiêu chuẩn độ tinh khiết hóa phóng xạ > 98,5% giống như yêu cầu của Dược điển Anh [22].

Chỉ tiêu vô khuẩn và nội độc tố: Do thời gian bán rã của ^{18}F ngắn nên quá trình kiểm tra chất lượng phải tiến hành nhanh, thông thường chỉ khoảng 20-30 phút. Do đó, một số chỉ tiêu chất lượng đòi hỏi nhiều thời gian như: độ tinh khiết hạt nhân, nội độc tố vi khuẩn và chỉ tiêu vô khuẩn được thực hiện và cho kết quả sau khi đã tiêm DCPX cho bệnh nhân [22], [70], [69]. Để đảm bảo chất lượng thuốc, phải thực hiện tốt các biện pháp quản lý chất lượng về nguyên liệu, hóa chất, vật tư đầu vào cần được cung cấp bởi các nhà sản xuất có uy tín, tuân thủ quy trình vệ sinh vô khuẩn, ra vào khu vực sản xuất, thường xuyên lấy mẫu kiểm tra chất lượng không khí khu vực sản xuất. Riêng với chỉ tiêu độ tinh khiết hạt nhân phải định kỳ bảo dưỡng thay thế lá chắn cửa sổ buồng bia bằng vật liệu havar và được cung cấp bởi các nhà sản xuất uy tín, vệ sinh buồng bia đúng quy trình.

Độ ổn định của DCPX ^{18}F -NaF: ^{18}F -NaF có đời sống ngắn do vậy cần được sử dụng ngay sau khi sản xuất, chia liều và làm kiểm nghiệm một số chỉ tiêu chính. Theo tài liệu số [59] khảo sát độ ổn định của DCPX ^{18}F -NaF trong vòng 8 giờ về một số chỉ tiêu như hình thức, pH, thời gian bán rã, độ tinh khiết HPX, nội độc tố vẫn đảm bảo trong vòng 8 giờ kể từ khi kết thúc sản xuất. Trong nghiên cứu này, nhóm nghiên cứu cũng đánh giá độ ổn định của DCPX ^{18}F -NaF trong vòng 8 giờ về các chỉ tiêu Tính chất, pH, $T_{1/2}$, độ tinh khiết HPX và nội độc tố. Kết quả cho thấy các chỉ tiêu này vẫn trong giới hạn trong vòng 8 giờ kể từ khi kết thúc tổng hợp yêu cầu của USP 2020. Thuốc không đổi màu, pH từ 7,5-8, độ tinh khiết hóa phóng xạ > 95%, thời gian bán rã từ 105 -115 phút và nội độc tố < 5 IU/ml. Lý do chúng tôi chỉ đánh giá độ ổn định của DCPX ^{18}F -NaF trong 8 giờ vì do máy

PET hay PET/CT chỉ có thể ghi hình một số lượng bệnh nhân trong thời gian 8 giờ. Thời gian ghi hình $^{18}\text{F-NaF}$ PET/CT tối ưu là khoảng 45-60 phút sau khi tiêm thuốc. Mỗi bệnh nhân cần 20 phút để quét toàn thân, thay ca bệnh nhân 5-10 phút.

4.4 Thẩm định quy trình tổng hợp $^{18}\text{F-NaF}$

Quy trình điều chế DCPX $^{18}\text{F-NaF}$ ở quy mô phòng thí nghiệm 100 mCi/mẻ và quy mô sản xuất 1000 ± 100 mCi/mẻ đều sử dụng các thông số bắn bia, lượng dung môi, hóa chất và thời gian tổng hợp giống nhau, chỉ khác nhau về thời gian bắn bia nước giàu ^{18}O . Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã phân tích, đánh giá nguy cơ, khả năng xảy ra, ảnh hưởng và khả năng phát hiện, chọn ra các thông số trọng yếu để tiến hành thẩm định ở các giai đoạn như: Vận chuyển nước giàu ^{18}O sau bắn bia sang module, độ kín của kit tổng hợp, độ tinh khiết hóa phóng xạ của sản phẩm cuối, độ thông của đường truyền từ module sang hotcell chia liều, Hoạt động của bơm nhu động, Ra vào công ten nơ, nội độc tố và chỉ tiêu vô khuẩn của sản phẩm cuối.

Về phương pháp thẩm định, do DCPX $^{18}\text{F-NaF}$ được tổng hợp tự động hoàn toàn trên bộ kit tổng hợp và thiết bị được nhóm nghiên cứu tự nghiên cứu, phát triển, và các hệ thống khác được cung cấp bởi các hãng nổi tiếng trên thế giới như hệ thống máy gia tốc của IBA (Bỉ), hệ thống chia liều thuốc DCPX tự động của Theodorical (Pháp) và các thiết bị kiểm nghiệm của Agilent (Mỹ) và của Raytest (Đức) nên việc thẩm định quy trình sản xuất chỉ cần thực hiện theo phương pháp truyền thống, nghĩa là trên các quy trình xác định và sẵn có, cụ thể là:

Việc đánh giá về cơ sở hạ tầng, máy móc và các yêu cầu về hiệu chuẩn thiết bị đã có sẵn và đầy đủ. Riêng module tổng hợp DCPX $^{18}\text{F-NaF}$ đã được nghiên cứu đánh giá độ ổn định, độ chính xác trên 50 mẫu nguội và nhiều mẫu nóng trong các thí nghiệm của đề tài đều cho thấy thiết bị hoạt động ổn định, đáp ứng yêu cầu của đề tài đặt ra.

Nhân viên vận hành máy gia tốc, máy chia liều và các thiết bị kiểm nghiệm đã được đội ngũ chuyên gia của Vương quốc Bỉ đào tạo và chuyển giao công nghệ từ năm 2009 và có 10 năm kinh nghiệm làm việc với DCPX $^{18}\text{F-FDG}$, DCPX đánh dấu nhân phóng xạ ^{18}F như $^{18}\text{F-NaF}$. Đội ngũ nhân viên đều được đào tạo lại hàng năm. Riêng nhân viên vận hành module tổng hợp DCPX $^{18}\text{F-NaF}$ là những người trực tiếp tham gia vào nghiên cứu thiết kế, chế tạo thiết bị này và thử nghiệm tối ưu các điều kiện tổng hợp cũng như hoạt động của module nên hiểu rất rõ về thiết

bị này.

Về thiết kế công thức, thông số kỹ thuật và thử nghiệm với quy mô phòng thí nghiệm đã được tiến hành, trong đó các giai đoạn chính và các thông số của quy trình đã được xác định.

Tiêu chuẩn đánh giá chất lượng thuốc được thực hiện theo yêu cầu của Dược điển USP 2020.

Do vậy khi nâng cấp quy trình lên quy mô 1000 ± 100 mCi/mẻ đã thực hiện trên 3 mẻ liên tiếp. Cả 3 mẻ đều được đánh giá các chỉ tiêu chất lượng theo USP 2020 và đều đạt yêu cầu.

4.5 Đánh giá tiền lâm sàng của $^{18}\text{F-NaF}$ trên mô hình động vật

4.5.1 Phân bố hoạt độ phóng xạ $^{18}\text{F-NaF}$ ở xương và một số cơ quan trên chuột thực nghiệm.

Theo một số nghiên cứu về cơ chế hấp thu và phân bố cho thấy, sau khi tiêm tĩnh mạch, ^{18}F nhanh chóng tách ra khỏi huyết tương theo hàm mũ với pha đầu tiên có thời gian bán hủy 0,4 giờ và pha thứ hai có thời gian bán hủy 2,6 giờ [80]. Tiếp theo, ^{18}F khuếch tán qua các mao mạch quanh tổ chức xương và vào dịch khoang ngoại bào ngoài xương, xảy ra sự tích tụ hóa học ở bề mặt của các tinh thể xương. Đặc biệt, các vị trí của xương đang phát triển được khoáng hóa sự tích tụ xảy ra mạnh hơn. Về cơ bản, toàn bộ ^{18}F được chuyển đến xương theo đường máu được giữ lại trong xương. Một giờ sau khi tiêm ^{18}F chỉ có khoảng 10% liều tiêm trong máu [68], [78]. Kết quả nghiên cứu của đề tài trên chuột cho thấy DCPX $^{18}\text{F-NaF}$ phân bố cao trong máu ngay sau khi tiêm với hoạt độ phóng xạ trong máu đo được cao nhất ở phút thứ 2,5 là $5,16 \pm 0,13$ và giảm rõ rệt theo thời gian tại các thời điểm tiếp theo 5, 15, 30 và 45 phút ($p < 0,05$). Ở phút thứ 60 sau tiêm DCPX $^{18}\text{F-NaF}$, hoạt độ phóng xạ trong máu chỉ còn $0,2 \pm 0,05$ (hình 3.17 và 3.21).

Tại thời điểm 2,5 phút sau tiêm DCPX, hoạt độ phóng xạ tăng cao nhất tại các mô và cơ quan, sau đó giảm dần theo thời gian (hình 3.1) do hầu như $^{18}\text{F-NaF}$ không chuyển hoá qua gan. Kết quả cho thấy, hoạt độ phóng xạ đo được ở gan giảm dần theo thời gian và giảm tối đa ở phút thứ 60. Hoạt độ phóng xạ trung bình ở gan đo được ở phút thứ 2,5 là $4,09 \pm 1,82$ cao hơn rõ rệt so với hoạt độ phóng xạ từ phút thứ 10 đến 60. Hoạt độ phóng xạ đo được ở gan tại phút thứ 60 chỉ còn

0,17, tương đương với hoạt độ trong máu. Các số liệu đo được ở các cơ quan khác như tim, phổi, lách, dạ dày và ruột cũng tương đương với hoạt độ như đo được ở gan (hình 3.17 và 3.23).

$^{18}\text{F-NaF}$ được đào thải qua thận. Kết quả nghiên cứu của đề tài cho thấy, hoạt độ phóng xạ tại thận cao ở những phút đầu (2,5 đến 15 phút) và giảm dần theo thời gian. Hoạt độ phóng xạ ở nước tiểu tại bàng quang rất cao tại những phút đầu và trong quá trình theo dõi đến phút thứ 60 (Hình 3.17 và 3.22). Hoạt độ phóng xạ đo được ở xương tại phút thứ 30 là cao nhất với giá trị trung bình là $8,41 \pm 2,82$; cao hơn rõ rệt so với hoạt độ phóng xạ tại mô xương ở các phút thứ 2,5; 5; 10 và 20 phút. Hoạt độ phóng xạ trung bình ở phút thứ 45 và 60 có xu hướng giảm so với ở thời điểm phút thứ 30 nhưng chưa có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (Hình 3.17 và 3.19). Nghiên cứu của Blake GM và CS (2001) đã cho thấy độ thanh thải $^{18}\text{F-NaF}$ phụ thuộc vào lưu lượng nước tiểu [9]. Khi lưu lượng nước tiểu cao (>5 ml/phút), độ thanh thải $^{18}\text{F}^-$ chiếm từ 60 – 90% của độ lọc cầu thận. Tuy nhiên, với lưu lượng thấp <1 ml/phút, độ thanh thải thận chỉ đạt khoảng 5% độ lọc cầu thận. Trên thực hành lâm sàng khi tiến hành chụp xạ hình xương, sau tiêm DCPX, bệnh nhân cần được uống nhiều nước để tăng lượng nước tiểu và đào thải được chất phóng xạ, giảm liều chiếu xạ, tăng tỷ lệ bắt giữ phóng xạ ở hệ thống xương so với thông phóng xạ của cơ thể [9], [41].

Một trong những vấn đề cần quan tâm khác đối với DCPX sử dụng chụp xạ hình xương là nghiên cứu khả năng bắt giữ tại tổ chức lân cận là mô cơ. Đối với, $^{99m}\text{Tc-MDP}$ do thời gian bắt giữ và đào thải khá lâu khiến cho tỷ lệ bắt giữ ở xương so với cơ còn khá cao trong giờ đầu [9], [90]. Vì vậy, hình ảnh xạ hình xương bằng $^{99m}\text{Tc-MDP}$ chỉ đạt được tối ưu khi tiến hành chụp hình ở thời điểm là 2 – 4h sau khi tiêm DCPX $^{99m}\text{Tc-MDP}$. Điều đó khiến cho thời gian bệnh nhân phải chờ đợi để chụp xạ hình sau tiêm DCPX khá lâu. Đối với $^{18}\text{F-NaF}$, các nghiên cứu trên động vật thực nghiệm và trên người đều cho thấy hình ảnh $^{18}\text{F-NaF}$ thường có độ tương phản tốt hơn giữa hệ thống xương và mô cơ [11]. Kết quả nghiên cứu trên chuột thực nghiệm của chúng tôi cho thấy hoạt độ phóng xạ trung bình cao nhất của cơ ở phút thứ 5 là $1,72 \pm 0,45$. Hoạt độ trung bình ở cơ giảm mạnh bắt đầu ở phút thứ 10 và giảm xuống thấp nhất ở phút thứ 45 và 60 với giá trị trung bình là $0,7 \pm 0,35$. Sự khác biệt giữa hoạt độ phóng xạ trung bình giữa phút thứ 2,5 và phút thứ 45 có ý nghĩa thống kê (Hình 3.20).

Một số nghiên cứu trên thế giới đã cho thấy ion fluorid thường tích tụ trong xương một cách khá đồng đều [9], [15], [64]. Sự tích tụ trong xương trục (ví dụ như tại xương cột sống và xương chậu) lớn hơn ở các xương khác và sự lắng đọng tại xương xung quanh các khớp lớn hơn là ở các trục xương dài. Lượng ^{18}F tăng sẽ

tập trung trong xương có thể xảy ra ở những vùng xương đang tăng trưởng mạnh, nhiễm trùng, ác tính (nguyên phát hay di căn) sau chấn thương hoặc viêm xương. ^{18}F khuếch tán qua các mao mạch vào dịch khoang ngoại bào ngoài xương và xảy ra sự tích tụ hóa học ở bề mặt của các tinh thể xương, ở các vị trí của xương đang phát triển được khoáng hóa nên sự tích tụ xảy ra mạnh hơn [15]. Sự tích tụ ^{18}F trong xương phản ánh chức năng của dòng máu đến xương và hiệu quả hấp thu và chuyển hoá của xương với ion $^{18}\text{F}^-$. Ion $^{18}\text{F}^-$ không liên kết với các protein huyết tương. Ở những bệnh nhân có chức năng thận bình thường, trong vòng 2 giờ đầu sau khi tiêm tĩnh mạch, ít nhất 20% ion $^{18}\text{F}^-$ được thải trừ khỏi cơ thể theo đường nước tiểu [97]. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi trên chuột thực nghiệm cho thấy hoạt độ phóng xạ tại xương tăng dần và đạt cực đại trong khoảng 20 – 30 phút sau tiêm DCPX ^{18}F -NaF (4,97 – 8,41). Sau đó, tỷ lệ bắt giữ ^{18}F -NaF tại mô xương có xu hướng giảm dần ở phút 45 và 60 sau tiêm DCPX nhưng vẫn ở mức cao hơn rõ rệt so với mô cơ và các cơ quan như gan, lách [67]. Đặc biệt, hoạt độ phóng xạ tại xương cao hơn rõ rệt so với mô cơ tại các thời điểm sau tiêm ^{18}F -NaF ($p < 0,01$). Tỷ lệ bắt giữ phóng xạ giữ xương và cơ ở các phút thứ 30, 45 và 60 phút sau khi tiêm DCPX ^{18}F -NaF lần lượt là 8,31; 10 và 8,16. Tỷ lệ hoạt độ phóng xạ ở xương/cơ thấp nhất ở phút thứ 2,5 và tăng dần và đạt được ngưỡng cao nhất đạt được ở phút thứ 45. Sau đó, tỷ lệ này có xu hướng giảm từ phút thứ 60. Phân tích hoạt độ phóng xạ trên hệ xương cho thấy được chất phóng xạ ^{18}F -NaF hấp thu nhanh vào xương, nồng độ ^{18}F -NaF tăng nhanh sau khi tiêm và đạt cực đại tại thời điểm 30 phút. Sự tích tụ ^{18}F trong xương phản ánh chức năng của dòng máu chảy vào xương [67]. Tỷ số xương/cơ cao nhất vào thời điểm 45 phút thể hiện ở hình 3.21. Hoạt độ phóng xạ ^{18}F -NaF tập trung cao nhất ở xương đạt đỉnh ($5,0 \pm 0,5\%$ ID/g) vào khoảng phút 20 sau tiêm DCPX.

Như vậy, kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy ngay sau khi tiêm ^{18}F -NaF, DCPX tăng cao ở máu và các tổ chức ngoài xương và giảm nhanh. Trái lại, ^{18}F -NaF hấp thu nhanh vào xương, nồng độ ^{18}F -NaF tăng nhanh sau khi tiêm và đạt cực đại tại thời điểm 30 phút. Tỷ số xương/cơ cao nhất vào thời điểm 45 phút.

Về đặc điểm phân bố ^{18}F -NaF trên hình ảnh PET/CT ở thỏ thực nghiệm. Trên hình ảnh ^{18}F -NaF PET và PET/CT chụp trên động vật thực nghiệm tại thời điểm sau tiêm DCPX 30 và 45 phút, ^{18}F -NaF tập trung chủ yếu ở hệ thống xương, bắt xạ mờ nhạt ở gan và phóng xạ cơ thể rất thấp. Chụp cắt lớp cho phép ghi lại hình ảnh không gian 3 chiều toàn thân với độ phân giải cao. ^{18}F -NaF tập trung cao ở bàng quang tương ứng với đường bài tiết của ^{18}F -NaF. Mức độ bắt giữ ^{18}F -NaF tập trung chủ yếu ở hệ thống xương, đặc biệt là xương trục (xương cột sống,

xương chậu, xương ức, xương sườn và xương sọ), và các xương chi, hoạt độ phóng xạ đo được ở xương sườn thấp. Trái lại, hoạt độ phóng xạ rất thấp ở gan, tổ chức mô mềm như cơ, ruột (hình 3.24). Vì vậy, hình ảnh hệ thống xương trên $^{18}\text{F-NaF PET}$ đạt độ tương phản cao, sắc nét. Chỉ định của $^{18}\text{F-NaF PET/CT}$ chủ yếu được áp dụng trên bệnh nhân ung thư để phát hiện di căn xương và các bệnh lý xương khớp khác. Việc ghi hình định lượng cho phép đánh giá được sự thay đổi của tổn thương trong quá trình điều trị. Đặc biệt, nhiều nghiên cứu $^{18}\text{F-NaF PET/CT}$ đã được tiến hành để chẩn đoán di căn xương và ung thư xương nguyên phát. Nhiều tác giả trên thế giới đã nghiên cứu so sánh về giá trị của $^{18}\text{F-NaF PET/CT}$ cho thấy độ nhạy và độ đặc hiệu cao hơn hẳn so với $^{99m}\text{Tc-MDP SPECT}$ trong chẩn đoán di căn xương chỉ định của $^{18}\text{F-NaF PET/CT}$ chủ yếu được áp dụng trên bệnh nhân ung thư để phát hiện di căn xương, bao gồm việc định khu tổn thương, đánh giá phạm vi di căn. Việc ghi hình định lượng cho phép đánh giá được sự thay đổi của tổn thương trong quá trình điều trị [25]. Bên cạnh ghi lại hình ảnh hệ thống xương toàn thân, PET còn cho phép đo lường và bán định lượng mức độ tập trung DCPX trên một đơn vị khối lượng mô, cơ quan thông qua các giá trị hấp thu chuẩn [93]. Một số nghiên cứu $^{18}\text{F-NaF PET}$ trên động vật thực nghiệm và trên người cho thấy so sánh với xạ hình xương trên gamma camera sử dụng $^{99m}\text{Tc-MDP}$, $^{18}\text{F-NaF PET}$ và PET/CT cho phép ghi hình cắt lớp toàn bộ hệ thống xương với độ nhạy, độ đặc hiệu cao trong phát hiện đánh giá các tổn thương xương [98]. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy giá trị trung bình của chỉ số SUV_{max} tại xương chi trên bên phải của thỏ tại thời điểm 30 phút là $2,1 \pm 0,34$ và không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với SUV_{max} là $2,35 \pm 0,45$ tại thời điểm 45 phút. Tương tự như vậy, không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về hoạt độ phóng xạ ở xương chi dưới hai bên ở thời điểm 30 và 45 phút sau tiêm được chất phóng xạ (hình 3.28). Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cũng thấy giá trị SUV_{max} trung bình ở xương trục và xương chi tại thời điểm 45 phút có xu hướng cao hơn so với thời điểm 30 phút sau tiêm, tuy nhiên, sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). SUV_{max} trung bình ở xương trục cao hơn rõ rệt so với SUV_{max} tại xương chi ở cả hai thời điểm 30 phút và 45 phút với sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (hình 3.26). Đối với các xương trục, mức độ bắt giữ phóng xạ ở cột sống thắt lưng ở phút thứ 30 là $7,21 \pm 1,22$ và ở phút thứ 45 là $8,37 \pm 1,43$, cao hơn so với các xương còn lại (hình 3.11). Trên hệ xương trục, mức độ bắt giữ phóng xạ ở xương sọ và xương sườn là thấp nhất, có sự khác biệt rõ rệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) (hình 3.27). Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê của SUV_{max} trung bình giữa các cơ quan, tổ chức (gan, phổi, lách). Tuy nhiên, SUV_{max} trung bình ở thận cao hơn so với các cơ quan khác vì thận là cơ quan đào thải $^{18}\text{F-NaF}$ (hình 3.29).

Độ tương phản của hình ảnh PET được thể hiện ở hoạt độ phóng xạ đo được ở xương và mô mềm. Hình ảnh $^{18}\text{F-NaF}$ PET/CT đạt độ tương phản cao, sắc nét khi tỷ lệ hoạt độ phóng xạ giữa xương và mô mềm cao. Tỷ lệ mức độ bắt giữ phóng xạ ở xương so với mô mềm là gợi ý về thời điểm thích hợp cho việc chụp xạ hình PET. Valdes-Martinez A và CS (2012) thực hành chụp PET trên chó thực nghiệm cho thấy tại nhiều thời điểm trong vòng 120 phút sau khi tiêm $^{18}\text{F-NaF}$ và phân tích các thông số kỹ thuật trên hình ảnh PET/CT thu được. Dựa trên đường cong hoạt tính phóng xạ theo thời gian và chất lượng hình ảnh thu được để đánh giá độ tương phản hình ảnh, tỷ lệ giữa tín hiệu và nhiễu, chỉ số hấp thu phóng xạ tại xương và mô mềm. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy SUV_{max} trung bình ở xương là $3,83 \pm 1,45$ ở phút 45 cao hơn không rõ rệt so với thời điểm 30 phút với SUV_{max} trung bình là $3,41 \pm 0,95$. Tuy nhiên, SUV_{max} trung bình của mô mềm có xu hướng giảm theo thời gian cụ thể là $0,53 \pm 0,05$ ở phút thứ 30 so với $0,25 \pm 0,02$ ở phút 45, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với ($p < 0,01$). Vì vậy, tỷ số giá trị SUV_{max} trung bình ở xương so với mô mềm cao hơn rõ rệt ở phút thứ 45 là 15,33 so với thời điểm phút thứ 30 là 6,44. (hình 3.13, 3.14). Tương tự như vậy, khi phân tích phân bố phóng xạ $^{18}\text{F-NaF}$ trên chuột cũng cho thấy $^{18}\text{F-NaF}$ hấp thu nhanh vào xương, nồng độ $^{18}\text{F-NaF}$ tăng nhanh sau khi tiêm và đạt cực đại tại thời điểm 30 phút và tỷ số xương/cơ cao nhất vào thời điểm 45 phút. Như vậy, kết quả nghiên cứu trên động vật thực nghiệm của chúng tôi cho thấy thời điểm thích hợp nhất để ghi hình $^{18}\text{F-NaF}$ PET/CT đạt hình ảnh chất lượng nên được thực hiện trong khoảng thời gian từ 45 – 60 phút sau tiêm DCPX $^{18}\text{F-NaF}$

4.5.2 Độc tính cấp của $^{18}\text{F-NaF}$ trên chuột

Flor là một chất phổ biến trong tự nhiên, nó có thể tồn tại ngay cả trong nước uống, thức ăn và có mặt trong nhiều sản phẩm gia dụng, thậm chí là thuốc đánh răng. Tuy nhiên Flor cũng là một chất gây độc nếu sử dụng quá liều. Ngộ độc flor cấp tính mặc dù đôi khi được báo cáo, có thể gây tử vong. Ngộ độc flor cấp tính thường xảy ra do vô tình nuốt phải dung dịch florua hoặc muối florua bị hiểu nhầm là dung dịch đường hoặc trứng bột [93]. Các triệu chứng của ngộ độc flor cấp tính phụ thuộc vào loại và bản chất hóa học của hợp chất ăn vào, tuổi và thời gian từ khi tiếp xúc đến khi bắt đầu xử trí [24]. Ví dụ, NaF độc hơn vì nó dễ hòa tan hơn và giải phóng nhiều florua hơn so với canxi florua (CaF) là một hợp chất ít hòa tan hơn [13]. Phạm vi liều độc cấp tính là 5-8 mg/kg thể trọng liều này cao hơn gấp rất nhiều lần so với lượng flor có trong $^{18}\text{F-NaF}$ (cỡ nanomol) trong 1

lần tiêm. Độc tính mãn tính của flor phổ biến hơn độc tính cấp tính. Các tác động mạn tính không chỉ phụ thuộc vào thời gian và liều lượng mà còn phụ thuộc vào một số yếu tố khác như tình trạng dinh dưỡng, chức năng thận và tương tác với các nguyên tố vi lượng khác [10, 13]. Vì vậy, trong nghiên cứu này, chúng tôi không nghiên cứu về độc tính hóa học của $^{18}\text{F-NaF}$ mà chỉ nghiên cứu về độc tính cấp về liều chiếu phóng xạ của thuốc. Trên thế giới, $^{18}\text{F-NaF}$ đã được ứng dụng từ thập niên 60 bởi Blau và CS để chụp hình xương toàn thân do hấp thu nhanh và có độ tập trung cao ở xương [80]. Ngay từ năm 1972, $^{18}\text{F-NaF}$ đã được cơ quan quản lý thuốc và thực phẩm Hoa Kỳ cho phép sử dụng. Tuy nhiên $^{18}\text{F-FDG}$ vẫn là một DCPX phổ biến nhất cho ghi hình PET trên thế hiện nay (chiếm > 90% ca PET). Số lượng bệnh nhân được chỉ định ghi hình PET là rất lớn trong vài thập kỷ qua, nhưng chưa thấy có báo cáo mất an toàn nào và chỉ có rất ít nghiên cứu về độc tính của các dược chất phóng xạ dùng cho PET kể cả $^{18}\text{F-FDG}$ [5]. Trong nghiên cứu độc tính cấp của $^{18}\text{F-FDG}$ với liều gấp 100 lần liều người lớn (15 mCi), Danielle và CS đã thiết kế nghiên cứu để đánh giá các thông số như cân nặng, mức tiêu thụ thức ăn, nước uống và các dấu hiệu lâm sàng cũng như giải phẫu bệnh các tổ chức chính của chuột trong vòng 14 ngày và cho thấy không xuất hiện độc tính cấp trên chuột [16]. Trong nghiên cứu của chúng tôi cũng đánh giá các thông số tương tự về thay đổi cân nặng, theo dõi hoạt động của chuột và các dấu hiệu hiệu lâm sàng, một số các thông chính về huyết học, sinh hóa và giải phẫu bệnh mô gan, thận của chuột 24 giờ và 14 ngày sau khi tiêm liều $^{18}\text{F-NaF}$ gấp 100 lần quy đổi từ người sang chuột đều cho thấy không có thay đổi đáng kể, kết quả này tương tự như của nhóm tác giả Danielle [5].

4.6 Ý nghĩa thực tiễn của đề tài

Năm 2009, Việt Nam có kỹ thuật xạ hình PET/CT và cả nước chỉ 3 cơ sở có máy gia tốc và máy PET/CT. Đây là một kỹ thuật tiên tiến trong YHHN và đã phát triển rất nhanh. Riêng khu vực Hà nội hiện nay có 3 máy cyclotron và 8 máy PET/CT và một số máy đang và sẽ được lắp đặt tiếp. Các máy PET/CT ở Việt nam mới chỉ thực hiện xạ hình với DCPX $^{18}\text{F-FDG}$ và kỹ thuật này có những hạn chế nhất định, trong khi đó, trên thế giới đã phát triển nhiều kỹ thuật xạ hình PET/CT với các DCPX khác nhau trong đó có $^{18}\text{F-NaF}$ cho chẩn đoán nhiều loại bệnh lý khác nhau. Ở Việt Nam, hiện nay kỹ thuật xạ hình xương chủ yếu dùng $^{99m}\text{Tc-MDP}$ SPECT, trong khi xạ hình $^{18}\text{F-NaF}$ PET/CT có nhiều ưu điểm hơn vì có độ nhạy và độ đặc hiệu cao hơn, độ phân giải tốt hơn. Cũng giống như nhiều DCPX dùng cho PET, $^{18}\text{F-NaF}$ chỉ có thể sản xuất và sử dụng trong phạm vi hẹp

và không thể nhập khẩu. do đó, việc nghiên cứu điều chế thành công DCPX ^{18}F -NaF sẽ giúp ngành YHHN trong nước phát triển thêm các kỹ thuật chẩn đoán mới hiệu quả.

Hơn nữa, chúng tôi đã nghiên cứu, chế tạo bộ kit và phát triển module tổng hợp DCPX ^{18}F -NaF tự động hoàn toàn đảm bảo các chỉ tiêu chất lượng theo USP 2020. Điều này cho thấy khả năng làm chủ kỹ thuật tự động hóa trong điều chế DCPX ^{18}F -NaF. Thiết bị tổng hợp ^{18}F -NaF do nhóm nghiên cứu phát triển nhỏ gọn dễ vận hành, hoạt động chính xác và cho hiệu suất tổng hợp cao. Khi triển khai ứng dụng DCPX ^{18}F -NaF vào lâm sàng sẽ giúp các đơn vị khác trong cả nước phát triển kỹ thuật xạ hình ^{18}F -NaF PET/CT bằng cách chuyển giao thiết bị, đào tạo nhân viên với chi phí thấp. Từ kết quả nghiên cứu thu được, trình độ nghiên cứu của nhóm nghiên cứu đã được nâng cao rõ rệt. Hiện nay, nhóm nghiên cứu đang tiếp tục nghiên cứu xây dựng quy trình 2 DCPX khác đánh dấu ĐVPX ^{18}F là ^{18}F -FCH cho xạ hình tiền liệt tuyến, ^{18}F -FLT cho xạ hình toàn thân cho nhiều bệnh lý ung thư cũng như các bệnh lý liên quan tới quá trình tăng sinh tế bào.

KẾT LUẬN

1. Xây dựng công thức điều chế DCPX ^{18}F -NaF tự động hoàn toàn

- Đã thiết kế, chế tạo được bộ kit và module điều khiển tự động hoàn toàn quá trình điều chế ^{18}F -NaF.
- Đã khảo sát được các yếu tố về công thức và thông số kỹ thuật như tỷ lệ sử dụng dung dịch NaCl 0,9% và nước cất cũng như thời gian tổng hợp ảnh hưởng đến hiệu suất điều chế ^{18}F -NaF. Đã chuẩn hóa được phương pháp xác định độ tinh khiết hóa phóng xạ trên HPLC và xác định được độ pha loãng mẫu ^{18}F -NaF phù hợp với mẫu thử nhanh nội độc tố vi khuẩn trên máy PTS Endosafe và khảo sát độ ổn định của ^{18}F -NaF trong thời gian 8 giờ kể từ khi kết thúc tổng hợp ở 20 – 25°C
- Đã xây dựng được tiêu chuẩn chất lượng cho DCPX ^{18}F -NaF theo USP 2020.

2. Đánh giá tiền lâm sàng của DCPX ^{18}F -NaF trên động vật thực nghiệm.

- Đã khảo sát được sự phân bố DCPX ^{18}F -NaF trong các cơ quan, tổ chức trên chuột nhắt trắng và cho thấy F-NaF tập trung nhiều vào hệ xương, sự thay đổi tỷ lệ ^{18}F -NaF hấp thu giữa cơ và xương từ đó cho thấy thời gian bắt đầu xạ hình PET/CT nên thực hiện từ 45-60 phút sau khi tiêm thuốc.
- Đã tiến hành so sánh bán định lượng hoạt độ phóng xạ ^{18}F -NaF trên hình ảnh PET/CT ở thử nghiệm theo thời gian qua chỉ số SUVmax được thực hiện 45 phút sau khi tiêm thuốc cho thấy DCPX tập trung chủ yếu ở xương và bàng quang.
- Đã tiến hành so sánh hình ảnh xạ hình xương giữa phương pháp truyền thống là $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -MDP SPECT và ^{18}F -NaF PET/CT cho thấy cho thấy độ tập trung phóng xạ của cả 2 phương pháp đều ở xương và bàng quang nhưng với kỹ thuật ^{18}F -NaF PET/CT cho ảnh có độ phân giải cao hơn, hình ảnh khung xương rõ ràng và sắc nét hơn hình ảnh $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -MDP SPECT.
- Đã tiến hành đánh giá độc tính cấp của DCPX ^{18}F -NaF trên chuột nhắt trắng với liều gấp 100 lần qui đổi ra liều sử dụng trên người, kết quả cho thấy với liều này vẫn chưa gây độc cho chuột ngay khi tiêm thuốc 24 giờ và sau 14 ngày.

ĐỀ XUẤT

1. Trên cơ sở các kết quả nghiên cứu đã đạt được, đề nghị tiếp tục nghiên cứu thử nghiệm trên lâm sàng để phát triển kỹ thuật xạ hình ^{18}F -NaF PET/CT giúp cho các nhà lâm sàng có thêm công cụ chẩn đoán và điều trị tốt hơn.
2. Nghiên cứu, phát triển, bào chế các DCPX khác có đánh dấu với nhân phóng xạ ^{18}F -fluorid như ^{18}F -FCH, ^{18}F -FLT, ^{18}F -FMISO, ^{18}F -FDOPA...

DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH ĐÃ CÔNG BỐ

1. Nguyễn Khắc Thất, Hà Ngọc Khoán (2015), “Nghiên cứu chế tạo module tổng hợp $^{18}\text{F-NaF}$ ”, Tạp chí Y Dược học lâm sàng 108, Vol.10 - No 5/2015.
2. Nguyễn Khắc Thất, Hà Ngọc Khoán, Hồ Trọng Tùng, Nguyễn Hữu Sơn, Bùi Quang Khải, Mai Hồng Sơn, Nguyễn Thị Kim Dung, Hán Tuấn Ngọc, Nguyễn quang Huy, Phạm Quang Quân (2016), “Tổng hợp dược chất phóng xạ $^{18}\text{F-NaF}$ cho chụp hình xương bằng PET/CT trên thỏ thực nghiệm”, Tạp chí Y Dược học lâm sàng 108, Vol. 11 - No 10/2016.
3. Nguyễn Khắc Thất, (2017), “Chuẩn hóa phương pháp HPLC cho xác định độ tinh khiết hóa phóng xạ của DCPX $^{18}\text{F-NaF}$ sản xuất tại Bệnh viện TƯQĐ108”, Hội nghị Điện Quang và Y học hạt nhân toàn quốc lần thứ 19, Đà Lạt, tháng 8 -2017, Tr 154.
4. Nguyễn Khắc Thất, Phạm Tuấn Linh, Đoàn Thị Ngọc Bích (2018), “Xác định độ pha loãng mẫu thử endotoxin với $^{18}\text{F-NaF}$ sản xuất tại Bệnh viện TƯQĐ108”, Tạp chí Y Dược học lâm sàng 108, Vol 13 - 7/2018, 169-172.
5. Nguyễn Khắc Thất, Nguyễn Thị Kim Dung, Nguyễn Quốc Thắng, Mai Hồng Sơn, Lê Ngọc Hà (2021), “Nghiên cứu đặc điểm hình ảnh ^{18}F Fluorine–Sodium Fluoride PET/CT trên thỏ thực nghiệm”, Tạp chí Y Dược Học số 18,04/2021, 168-172.
6. Nguyễn Khắc Thất, Trần Văn Diện, Bùi Thanh Rin, Nguyễn Văn Dinh, Phạm Tuấn Linh, Nguyễn Trần Linh (2021), “Nghiên cứu nâng cấp quy trình tổng hợp dược chất phóng xạ $^{18}\text{F-NaF}$ quy mô sản xuất”, Tạp chí Y Dược học lâm sàng 108, Vo.16 – No 2/2021, 136-142.
7. Nguyễn Khắc Thất, Nguyễn Thị Kim Dung, Nguyễn Trần Linh, Lê Ngọc Hà, Nguyễn Thùy Dương (2021), “Nghiên cứu độc tính của $^{18}\text{F-NaF}$ trên động vật thực nghiệm”, Tạp chí Y Dược học lâm sàng 108, Vo.16 – No 2/2021, 120-127

Tài liệu tham khảo

- [1] Abdelaziz, S. and Moustafa, H. (2019). Comparison between ^{99m}Tc -MDP and ^{18}F -NaF is in diagnosis in bone metastases. *Egyptian J. Nucl. Med*, 19(2).
- [2] Adam, M. J., Grierson, J. R., Ruth, T. J., and Jivan, S. (1986a). Reaction of [^{18}F] acetyl hypofluorite with derivatives of dihydroxyphenylalanine: synthesis of L-[^{18}F] 6-fluorodopa. *International Journal of Radiation Applications and Instrumentation. Part A. Applied Radiation and Isotopes*, 37(8):877–882.
- [3] Adam, M. J., Ruth, T. J., Grierson, J. R., Abeysekera, B., and Pate, B. D. (1986b). Routine synthesis of L-[^{18}F] 6-fluorodopa with fluorine-18 acetyl hypofluorite. *Journal of nuclear medicine*, 27(9):1462–1466.
- [4] Antonini, A. and Isaias, I. U. (2008). Single photon-emission computed tomography imaging in early parkinson's disease. *Expert review of neurotherapeutics*, 8(12):1853–1864.
- [5] Bastawrous, S., Bhargava, P., Behnia, F., Djang, D. S., and Haseley, D. R. (2014). Newer PET application with an old tracer: role of ^{18}F -naf skeletal PET/CT in oncologic practice. *Radiographics*, 34(5):1295–1316.
- [6] Been, L. B., Suurmeijer, A. J., Cobben, D. C., Jager, P. L., Hoekstra, H. J., and Elsinga, P. H. (2004). [^{18}F] FLT-PET in oncology: current status and opportunities. *European journal of nuclear medicine and molecular imaging*, 31(12):1659–1672.
- [7] Berman, D. S., Hachamovitch, R., Kiat, H., Cohen, I., Cabico, J. A., Wang, F. P., Friedman, J. D., Germano, G., Van Train, K., and Diamond, G. A. (1995). Incremental value of prognostic testing in patients with known or suspected ischemic heart disease: a basis for optimal utilization of exercise technetium- 99m sestamibi myocardial perfusion single-photon emission computed tomography. *Journal of the American College of Cardiology*, 26(3):639–647.
- [8] Berridge, M., Apana, S., and Hersh, J. (2009). Teflon radiolysis as the major source of carrier in fluorine-18. *Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals: The Official Journal of the International Isotope Society*, 52(13):543–548.
- [9] Blake, G. M., Park-Holohan, S.-J., Cook, G. J., and Fogelman, I. (2001). Quantitative studies of bone with the use of ^{18}F -fluoride and ^{99m}Tc -methylene

- diphosphonate. In *Seminars in nuclear medicine*, volume 31, pages 28–49. Elsevier.
- [10] Blau, M., Nagler, W., and Bender, M. (1962). Fluorine-18: a new isotope for bone scanning. *J. Nuclear Med.*, 3.
- [11] Blomberg, B. A., Thomassen, A., de Jong, P. A., Simonsen, J. A., Lam, M. G., Nielsen, A. L., Mickley, H., Mali, W. P., Alavi, A., and Høilund-Carlsen, P. F. (2015). Impact of personal characteristics and technical factors on quantification of sodium 18f-fluoride uptake in human arteries: prospective evaluation of healthy subjects. *Journal of Nuclear Medicine*, 56(10):1534–1540.
- [12] Brandes, S. J. and Katzenellenbogen, J. A. (1987). Fluorinated androgens and progestins: molecular probes for androgen and progesterone receptors with potential use in positron emission tomography. *Molecular pharmacology*, 32(3):391–403.
- [13] Bridges, R. L., Wiley, C. R., Christian, J. C., and Strohm, A. P. (2007). An introduction to na18f bone scintigraphy: basic principles, advanced imaging concepts, and case examples. *Journal of nuclear medicine technology*, 35(2):64–76.
- [14] Campbell, M. G. and Ritter, T. (2014). Late-stage fluorination: from fundamentals to application. *Organic Process Research & Development*, 18(4):474–480.
- [15] Carvalho, G., Marin, J. F. G., Garcez, A. T., Duarte, P. S., Sapienza, M. T., and Buchpiguel, C. A. (2016). SUV normalized by skeletal volume on 18F-fluoride PET/CT studies. *Clinical nuclear medicine*, 41(7):529–533.
- [16] Carvalho, L. G. d. *Desenvolvimento do radiofármaco 18F-acetato para a detecção de tumores primários através do PET/CT*. PhD thesis, Universidade de São Paulo.
- [17] Cen, Y. and Sauve, A. A. (2009). Diastereocontrolled electrophilic fluorinations of 2-deoxyribonolactone: syntheses of all corresponding 2-deoxy-2-fluorolactones and 2'-deoxy-2'-fluoro-NAD⁺ s. *The Journal of organic chemistry*, 74(16):5779–5789.
- [18] Chirakal, R., Firnau, G., Adams, M., Schrobilgen, G., Coates, G., Bida, G., and Garnett, E. (1995). Routine Production of [18 F] F 2 from 11 MeV Proton-Only Cyclotron and Its Use for the Synthesis of 18 F-Tracers for Heart and Brain. In *Chemists' Views of Imaging Centers*, pages 425–429. Springer.

- [19] Choe, Y. S., Lidstroem, P. J., Chi, D. Y., Bonasera, T. A., Welch, M. J., and Katzenellenbogen, J. A. (1995). Synthesis of 11. beta.-[18F] Fluoro-5. alpha.-dihydrotestosterone and 11. beta.-[18F] Fluoro-19-nor-5. alpha.-dihydrotestosterone: preparation via halofluorination-reduction, receptor binding, and tissue distribution. *Journal of medicinal chemistry*, 38(5):816–825.
- [20] Chua, S. and Groves, A. (2014). Biomedical positron emission tomography (pet) imaging. In *Biomedical Imaging*, pages 3–40. Elsevier.
- [21] Chun, J.-H., Telu, S., Lu, S., and Pike, V. W. (2013). Radiofluorination of diaryliodonium tosylates under aqueous–organic and cryptand-free conditions. *Organic & biomolecular chemistry*, 11(31):5094–5099.
- [22] Commission, B. P. et al. (2017). *British pharmacopoeia 2018*. Stationery Office (UK).
- [23] Commission, B. P. et al. (2020). *British pharmacopoeia 2020*. Stationery Office (UK).
- [24] Czernin, J., Satyamurthy, N., and Schiepers, C. (2010). Molecular mechanisms of bone 18F-NaF deposition. *Journal of Nuclear Medicine*, 51(12):1826–1829.
- [25] Damle, N., Bal, C., Bandopadhyaya, G., Kumar, L., and Kumar, P. (2007). Role of 18F Fluoride PET/CT in the detection of bone metastases in breast cancer patients. *Journal of Nuclear Medicine*, 48(supplement 2):142P–142P.
- [26] Damle, N. A., Bal, C., Bandopadhyaya, G., Kumar, L., Kumar, P., Malhotra, A., and Lata, S. (2013). The role of 18 F-fluoride PET-CT in the detection of bone metastases in patients with breast, lung and prostate carcinoma: a comparison with fdg pet/ct and 99m tc-mdp bone scan. *Japanese journal of radiology*, 31(4):262–269.
- [27] Del Vecchio, S., Zannetti, A., Fonti, R., Iommelli, F., Pizzuti, L., Lettieri, A., and Salvatore, M. (2010). PET/CT in cancer research: from preclinical to clinical applications. *Contrast media & molecular imaging*, 5(4):190–200.
- [28] Fateev, I. V., Antonov, K. V., Konstantinova, I. D., Muravyova, T. I., Seela, F., Esipov, R. S., Miroshnikov, A. I., and Mikhailopulo, I. A. (2014). The chemoenzymatic synthesis of clofarabine and related 2'-deoxyfluoroarabinosyl nucleosides: the electronic and stereochemical factors determining substrate recognition by *E. coli* nucleoside phosphorylases. *Beilstein Journal of Organic Chemistry*, 10(1):1657–1669.

- [29] Fenster, A. and Downey, D. B. (2000). Three-dimensional ultrasound imaging. *Annual review of biomedical engineering*, 2(1):457–475.
- [30] Ferguson, D., Orr, P., Gillanders, J., Corrigan, G., and Marshall, C. (2011). Measurement of long lived radioactive impurities retained in the disposable cassettes on the tracerlab MX system during the production of [¹⁸F] FDG. *Applied Radiation and Isotopes*, 69(10):1479–1485.
- [31] Fogelman, I., Gnanasegaran, G., and Van der Wall, H. (2013). *Radionuclide and hybrid bone imaging*. Springer.
- [32] Glaudemans, A. W., de Vries, E. F., Galli, F., Dierckx, R. A., Slart, R. H., and Signore, A. (2013). The use of F-FDG-PET/CT for diagnosis and treatment monitoring of inflammatory and infectious diseases. *Clinical and Developmental Immunology*, 2013.
- [33] Gona, K. B., Gómez-Vallejo, V., Padro, D., and Llop, J. (2013). [¹⁸F] fluorination of o-carborane via nucleophilic substitution: towards a versatile platform for the preparation of ¹⁸F-labelled BNCT drug candidates. *Chemical communications*, 49(98):11491–11493.
- [34] Guette, J.-P., Crenne, N., Bulliot, H., Desmurs, J.-R., and Igersheim, F. (1988). Automation in the organic chemistry laboratory: Why? how? *Pure and Applied Chemistry*, 60(11):1669–1678.
- [35] Guideline, I. et al. (2009). ICH guideline M3 (R2) on nonclinical safety studies for the conduct of human clinical trials and marketing authorization for pharmaceuticals. *ICH, European Medicines Agency*, pages 1–26.
- [36] Guideline, I. H. T. (2005). Validation of analytical procedures: text and methodology Q2 (R1). In *International conference on harmonization, Geneva, Switzerland*, volume 11.
- [37] Guideline, I. H. T. (2009). Guidance on nonclinical safety studies for the conduct of human clinical trials and marketing authorization for pharmaceuticals M3 (R2). In *International conference on harmonisation of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use*.
- [38] Guideline, O. et al. (2002). Test no. 423: Acute oral toxicity-acute toxic class method.
- [39] Guillaume, M., Luxen, A., Nebeling, B., Argentini, M., Clark, J. C., and Pike, V. W. (1991). Recommendations for fluorine-18 production. *International journal of radiation applications and instrumentation. Part A. Applied radiation and isotopes*, 42(8):749–762.

- [40] Hamacher, K., Coenen, H. H., and Stöcklin, G. (1986). Efficient stereospecific synthesis of no-carrier-added 2-[¹⁸F]-fluoro-2-deoxy-D-glucose using aminopolyether supported nucleophilic substitution. *Journal of nuclear medicine*, pages 235–238.
- [41] Hausner, S. H., Bauer, N., and Sutcliffe, J. L. (2014). In vitro and in vivo evaluation of the effects of aluminum [¹⁸F] fluoride radiolabeling on an integrin $\alpha v\beta 6$ -specific peptide. *Nuclear medicine and biology*, 41(1):43–50.
- [42] He, P., Haswell, S. J., Pamme, N., and Archibald, S. J. (2014). Advances in processes for PET radiotracer synthesis: separation of [¹⁸F] fluoride from enriched [¹⁸O] water. *Applied Radiation and Isotopes*, 91:64–70.
- [43] Herschman, H. R. (2003). Molecular imaging: looking at problems, seeing solutions. *Science*, 302(5645):605–608.
- [44] Hjelstuen, O. K., Svadberg, A., Olberg, D. E., and Rosser, M. (2011). Standardization of fluorine-18 manufacturing processes: new scientific challenges for PET. *European journal of pharmaceuticals and biopharmaceutics*, 78(3):307–313.
- [45] Hockley, B. G. and Scott, P. J. (2010). An automated method for preparation of [¹⁸F] sodium fluoride for injection, usp to address the technetium-99m isotope shortage. *Applied Radiation and Isotopes*, 68(1):117–119.
- [46] Huang, Y.-Y., Tsai, C.-L., Chang, Y.-N., and Yan, R.-F. (2017). Automated production of gmp-compliant ¹⁸F-FES as an estrogen receptor ligand for breast cancer imaging. *Ann. Nucl. Med. Mol. Imaging*, 30:143.
- [47] Ido, T., Wan, C.-N., Casella, V., Fowler, J., Wolf, A., Reivich, M., and Kuhl, D. (1978). Labeled 2-deoxy-d-glucose analogs. ¹⁸f-labeled 2-deoxy-2-fluoro-d-glucose, 2-deoxy-2-fluoro-d-mannose and ¹⁴c-2-deoxy-2-fluoro-d-glucose. *Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals*, 14(2):175–183.
- [48] Ion, I., Bogdan, D., and Ion, A. C. (2014). Improvement in the determination of traces of nitrate and nitrite in natural mineral waters by ion chromatography. *UPB Sci. Bull. series B*, 76:113–122.
- [49] Iwata, R., Yamazaki, S., and Ido, T. (1990). Automated injection of a radioactive sample for preparative hplc with feedback control. *International journal of radiation applications and instrumentation. Part A. Applied radiation and isotopes*, 41(12):1225–1227.

- [50] Jewett, D., Potocki, J., and Ehrenkauffer, R. E. (1984). A gas-solid-phase microchemical method for the synthesis of acetyl hypofluorite.
- [51] Kasbollah, A., Eu, P., Cowell, S., and Deb, P. (2013). Review on production of ^{89}Zr in a medical cyclotron for PET radiopharmaceuticals. *Journal of nuclear medicine technology*, 41(1):35–41.
- [52] Keidar, Z., Israel, O., and Krausz, Y. (2003). SPECT/CT in tumor imaging: technical aspects and clinical applications. In *Seminars in nuclear medicine*, volume 33, pages 205–218. Elsevier.
- [53] Kirk, K. L. (2008). Fluorination in medicinal chemistry: methods, strategies, and recent developments. *Organic Process Research & Development*, 12(2):305–321.
- [54] Krasikova, R. (2007). Synthesis modules and automation in F-18 labeling. In *PET chemistry*, pages 289–316. Springer.
- [55] Lasne, M.-C., Perrio, C., Rouden, J., Barré, L., Roeda, D., Dolle, F., and Crouzel, C. (2002). Chemistry of β^+ -emitting compounds based on fluorine-18. In *Contrast Agents II*, pages 201–258. Springer.
- [56] Leonardi, N. M., Casale, G. A., Nicolini, J., Zubata, P. D., Salgueiro, M. J., and Zubillaga, M. B. (2012). Validation of a paper chromatographic methodology as an alternative for determination of the radiochemical purity of Na^{18}F . *Journal of Nuclear Medicine Technology*, 40(4):271–274.
- [57] Liu, A., Dence, C. S., Welch, M. J., and Katzenellenbogen, J. A. (1992). Fluorine-18-labeled androgens: radiochemical synthesis and tissue distribution studies on six fluorine-substituted androgens, potential imaging agents for prostatic cancer. *Journal of Nuclear Medicine*, 33(5):724–734.
- [58] Mccullough, K. Z. and Weidner-Loeven, C. (1992). Variability in the lal test: comparison of three kinetic methods for the testing of pharmaceutical products. *J Parenter Sci Technol*, 46(3):69–72.
- [59] Mihon, M., Tuta, C., Lavric, V., Niculae, D., and Draganescu, D. (2015). Quality control and stability study of the sodium fluoride injection [^{18}F] NaF. *Farmacia*, 63(5):765–769.
- [60] Moore, M. D., Quinn, K., Claggett, S., Lazari, M., Shah, G. J., Satyamurthy, N., Phelps, M. E., and van Dam, R. M. (2012). ARC-P HS+: A versatile radiosynthesizer for the production of pet tracers.
- [61] Myers, R. (2003). *The basics of chemistry*. Greenwood Publishing Group.

- [62] Nandy, S., Rajan, M., Soni, P., and Rangarajan, V. (2007). Production of sterile [f-18] naf for skeletal pet imaging. *Indian J. Nucl. Med*, 281:16–23.
- [63] Nascimento, L. T., Silveira, M. B., Ferreira, S. M., Silva, J. B., et al. (2017). Comparison between Two Ethanolic Solutions for 3'-Deoxy-3'-[18 F] Fluorothymidine Elution. *Advances in Chemical Engineering and Science*, 7(01):23.
- [64] Nawata, S., Kaneta, T., Ogawa, M., Ishiwata, Y., Kobayashi, N., Shishikura-Hino, A., Yoshida, K., Inaba, Y., Saito, T., and Inoue, T. (2017). Differences in sodium fluoride-18 uptake in the normal skeleton depending on the location and characteristics of the bone. *Nuklearmedizin*, 56(03):91–96.
- [65] Oecd, O. (1981). Guidelines for the testing of chemicals. *Test Guideline*, 201.
- [66] Park, J. H., Lee, H. J., Park, H. S., Jo, B. M., Moon, B. S., Lee, I. W., Lee, B. C., and Kim, S. E. (2014). Development of the 'one-click' 18F-NaF module. *Journal of Nuclear Medicine*, 55(supplement 1):2517–2517.
- [67] Peters, M. J., Wierds, R., Jutten, E. M., Halders, S. G., Willems, P. C., and Brans, B. (2015). Evaluation of a short dynamic 18 F-fluoride PET/CT scanning method to assess bone metabolic activity in spinal orthopedics. *Annals of nuclear medicine*, 29(9):799–809.
- [68] Pharmacopeia, U. (2009). Sodium Fluoride F 18 Injection.
- [69] Pharmacopoeia, J. et al. (2013). European pharmacopoeia. *Strasbourg: Council of Europe*.
- [70] Pharmacopoeia, U. S. (2016). Usp39. In *The USP Convention*. Rockville.
- [71] Phelps, M. E. (2000). Positron emission tomography provides molecular imaging of biological processes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97(16):9226–9233.
- [72] Phelps, M. E. (2004). *PET: molecular imaging and its biological applications*. Springer Science & Business Media.
- [73] Pillai, M. and Haji-Saeid, M. (2008). Cyclotron produced radionuclides: Principles and practice. *IAEA, Vienna*.
- [74] Pretze, M., Wängler, C., and Wängler, B. (2014). 6-[18F] fluoro-l-dopa: A well-established neurotracer with expanding application spectrum and strongly improved radiosyntheses. *BioMed research international*, 2014.

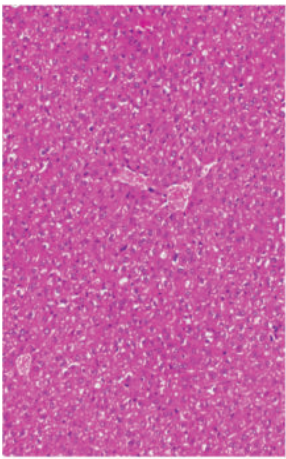
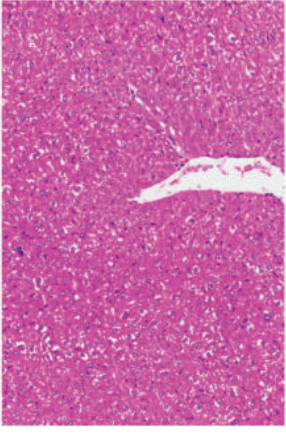
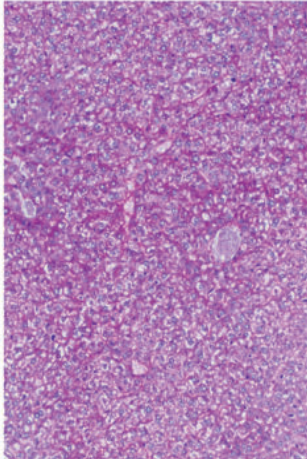
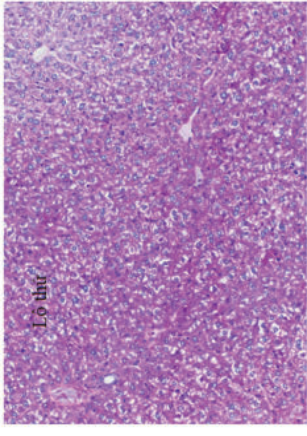
- [75] Qaim, S. M. (2019). *Medical Radionuclide Production: Science and Technology*. Walter de Gruyter GmbH & Co KG.
- [76] Radioisotopes, I. and No, R. S. (2012). Cyclotron produced radionuclides: Operation and maintenance of gas and liquid targets. *International Atomic Energy Agency, Vienna*.
- [77] Ray, P., Pimenta, H., Paulmurugan, R., Berger, F., Phelps, M., Iyer, M., and Gambhir, S. (2002). Noninvasive quantitative imaging of protein–protein interactions in living subjects. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(5):3105–3110.
- [78] Rockville, M. (2009). Substance abuse and mental health services administration. *Center for Substance Abuse Treatment*.
- [79] Saha, G. (2005). Basics of pet imaging-physics, chemistry, and regulations springer verlag. *New York*.
- [80] Saha, G. B. and Saha, G. B. (2010). *Fundamentals of nuclear pharmacy*, volume 6. Springer.
- [81] Satyamurthy, N., Amarasekera, B., Alvord, C. W., Barrio, J. R., and Phelps, M. E. (2002). Tantalum [18O] water target for the production of [18F] fluoride with high reactivity for the preparation of 2-deoxy-2-[18F] fluoro-D-glucose. *Molecular Imaging & Biology*, 4(1):65–70.
- [82] Schlyer, D., Van den Winkel, P., Ruth, T., Vora, M., Pillai, M., and Haji-Saeid, M. (2008). Cyclotron produced radionuclides: Principles and practice. *IAEA Technical Reports Series*, page 465.
- [83] Schlyer, D. J., Firouzbakht, M. L., and Wolf, A. P. (1993). Impurities in the [18O] water target and their effect on the yield of an aromatic displacement reaction with [18F] fluoride. *Applied radiation and isotopes*, 44(12):1459–1465.
- [84] Segall, G., Delbeke, D., Stabin, M. G., Even-Sapir, E., Fair, J., Sajdak, R., and Smith, G. T. (2010). Snm practice guideline for sodium 18f-fluoride PET/CT bone scans 1.0. *Journal of Nuclear Medicine*, 51(11):1813–1820.
- [85] Shih, I. H. (2014). DEVELOPMENT OF A MULTI-PURPOSE AUTOMATED SYNTHESIS MODULE FOR PRODUCTION OF NOVEL PET RADIOPHARMACEUTICALS.
- [86] Silveira, M. B., Soares, M. A., Valente, E. S., Waquil, S. S., Ferreira, A. V., Santos, R. G. d., and Silva, J. B. d. (2010). Synthesis, quality control and

- dosimetry of the radiopharmaceutical ^{18}F -sodium fluoride produced at the Center for Development of Nuclear Technology-CDTN. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 46(3):563–569.
- [87] Sood, S., Firnau, G., and Garnett, E. (1983). Radiofluorination with xenon difluoride: a new high yield synthesis of [^{18}F] 2-fluoro-2-deoxy-d-glucose. *The International journal of applied radiation and isotopes*, 34(4):743–745.
- [88] Spencer, S. S., Theodore, W. H., and Berkovic, S. F. (1995). Clinical applications: Mri, spect, and pet. *Magnetic resonance imaging*, 13(8):1119–1124.
- [89] Strauss, L. G. and Conti, P. S. (1991). The applications of pet in clinical oncology. *Journal of nuclear medicine*, 32(4):623–648.
- [90] Thrall, J. H. and Ziessman, H. A. (2001). *Nuclear medicine the requisites*. Mosby,.
- [91] Tran Manh Thang, Mai Van Vinh, D. T. T. N. Q. A. L. T. T. H. P. M. D. N. T. A. N. V. S. N. T. H. D. Q. B. N. X. V. N. T. K. D. (2019). Preparation of ^{18}F -naf radiopharmaceuticals using home-made automatic synthesis module at hanoi irradiation center. *Nuclear Science and Technology*, 9(10):41–51.
- [92] Valdés-Martínez, A., Kraft, S. L., Brundage, C. M., Arceneaux, B. K., Stewart, J. A., and Gibbons, D. S. (2012). Assessment of blood pool, soft tissue, and skeletal uptake of sodium fluoride f 18 with positron emission tomography–computed tomography in four clinically normal dogs. *American journal of veterinary research*, 73(10):1589–1595.
- [93] Valk, P. E., Delbeke, D., Bailey, D. L., Townsend, D. W., and Maisey, M. N. (2006). *Positron emission tomography: clinical practice*. Springer Science & Business Media.
- [94] Vargas, H. A., Wassberg, C., Fox, J. J., Wibmer, A., Goldman, D. A., Kuk, D., Gonen, M., Larson, S. M., Morris, M. J., Scher, H. I., et al. (2014). Bone metastases in castration-resistant prostate cancer: associations between morphologic CT patterns, glycolytic activity, and androgen receptor expression on PET and overall survival. *Radiology*, 271(1):220–229.
- [95] Vierikko, T. (2010). Computed tomography screening for lung diseases among asbestos-exposed workers.
- [96] Wang, B., Feng, W., Wang, M., Wang, T., Gu, Y., Zhu, M., Ouyang, H., Shi, J., Zhang, F., Zhao, Y., et al. (2008). Acute toxicological impact of nano-and

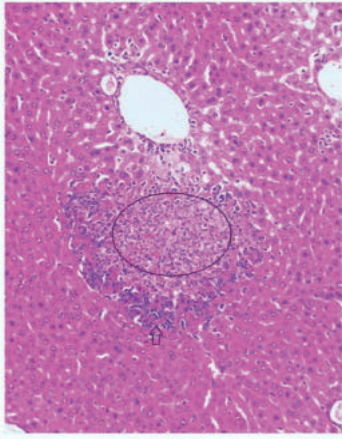
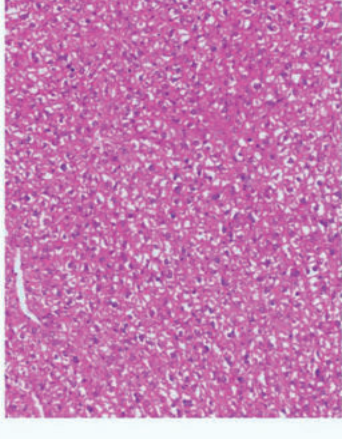
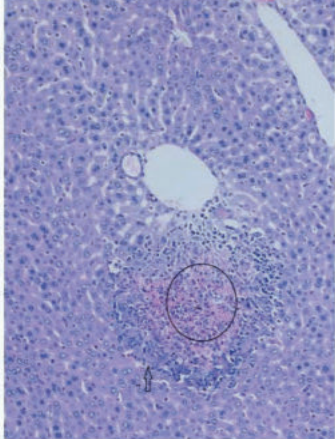

submicro-scaled zinc oxide powder on healthy adult mice. *Journal of Nanoparticle Research*, 10(2):263–276.

- [97] Win, A. Z. and Aparici, C. M. (2014). Normal SUV values measured from ¹⁸F-NaF PET/CT bone scan studies. *PLoS One*, 9(9):e108429.
- [98] Workman, R. B. and Coleman, R. E. (2006). Fundamentals of PET and PET/CT imaging. In *PET/CT*, pages 1–22. Springer.
- [99] Yonai, S., Baba, M., Nakamura, T., Yokobori, H., and Tahara, Y. (2008). Extension of spallation-based BNCT concept to medium-to high-energy accelerators. *Journal of nuclear science and technology*, 45(5):378–383.

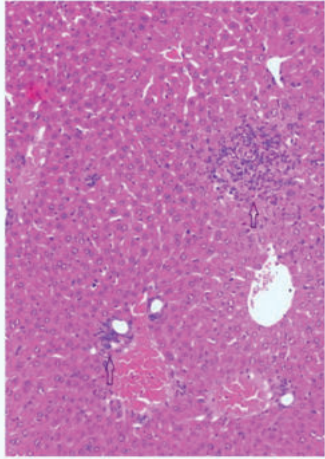
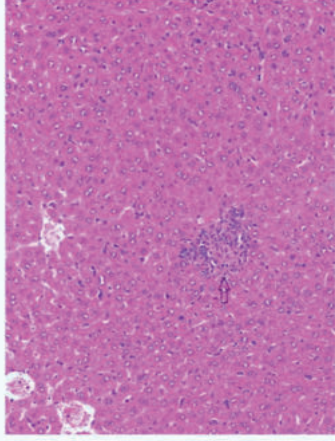
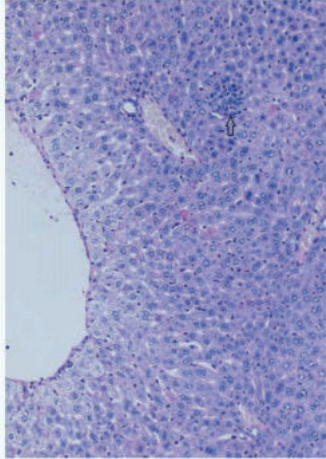
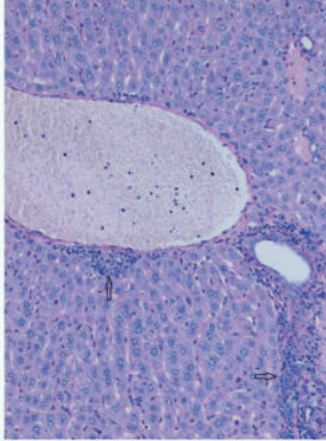
PHỤ LỤC

	Lô chứng	Lô thử
Nhuộm HE x 20		
Nhuộm PAS x 200		
Mô tả	Cấu trúc gan bình thường, các tế bào gan có hình thái bình thường, 1-2% tế bào gan thoái hóa nhẹ, không thấy xâm nhập viêm. Kết luận: Mô gan không thấy tổn thương.	Cấu trúc gan bình thường, các tế bào gan có hình thái bình thường, 1-2% tế bào gan thoái hóa nhẹ, không thấy xâm nhập viêm. Kết luận: Mô gan không thấy tổn thương.

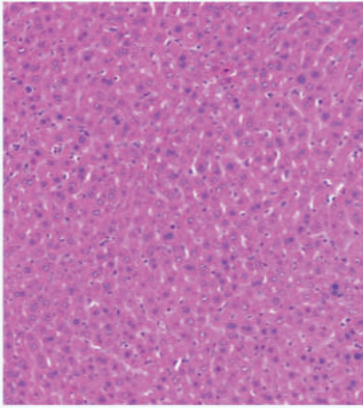
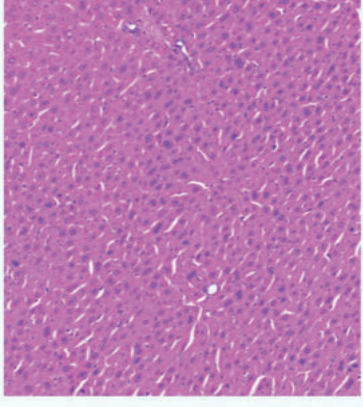
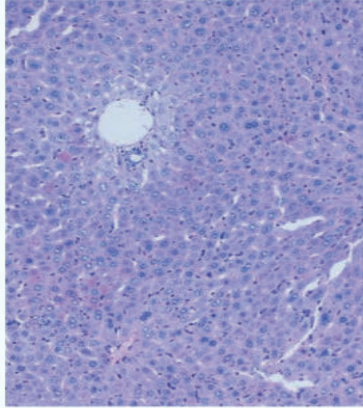
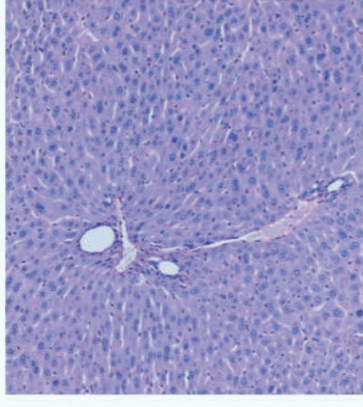
Hình 1: Mô bệnh học gan của chuột nhất trắng cái tiêm $^{18}\text{F-NaF}$ liều 17,1 mCi/kg sau 24 giờ

	Ló chứng	Ló thử
Nhuộm HE x 200		
Nhuộm PAS x 200		
Mô tả	Cấu trúc gan bình thường, các tế bào gan có hình thái bình thường, nhu mô gan vùng gần khoang cửa có một vài ổ hoại tử tế bào gan nhỏ, xâm nhập bạch cầu đa nhân trung tính, bạch cầu ái toan và lympho bào. Kết luận: Viêm gan hoại tử dạng ổ nhẹ	Cấu trúc gan bình thường, các tế bào gan có hình thái bình thường, nhu mô gan vùng gần khoang cửa có một vài ổ hoại tử tế bào gan nhỏ, xâm nhập bạch cầu đa nhân trung tính, bạch cầu ái toan và lympho bào. Kết luận: Mô gan không thấy tổn thương

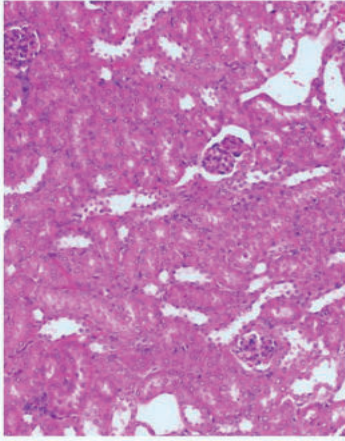
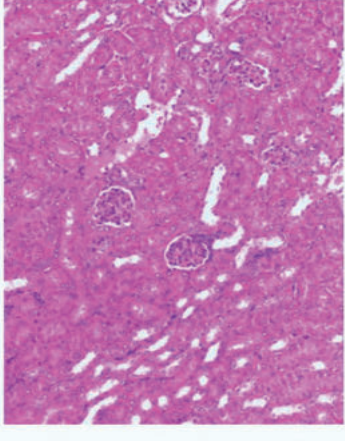
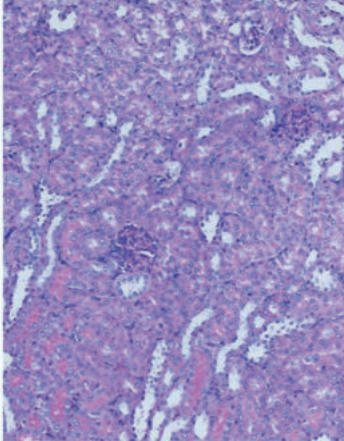
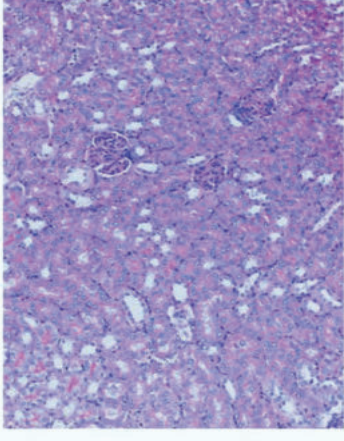
Hình 2: Mô bệnh học gan của chuột nhất trắng đực tiêm $^{18}\text{F-NaF}$ liều 17,1 mCi/kg sau 24 giờ

	Lô chứng	Lô thử
Nhuộm HE x 200		
Nhuộm PAS x 200		
Mô tả	<p><i>Mô gan viêm mạn tính</i>: Cấu trúc gan bình thường, các tế bào hình thái bình thường, nhu mô gan xâm nhập viêm mạn tính, chủ yếu là lympho bào.</p> <p>Kết luận: <i>Mô gan viêm mạn tính</i></p>	<p><i>Mô gan viêm mạn tính</i>: Cấu trúc gan bình thường, các tế bào gan có hình thái bình thường, nhu mô gan xâm nhập viêm mạn tính, chủ yếu là lympho bào.</p> <p>Kết luận: <i>Mô gan viêm mạn tính</i></p>

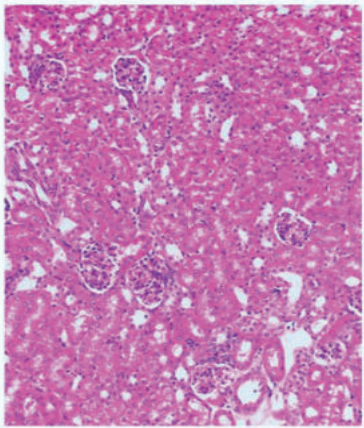
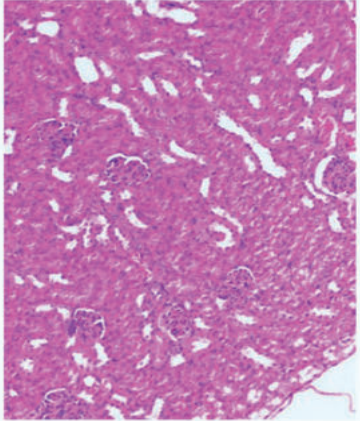
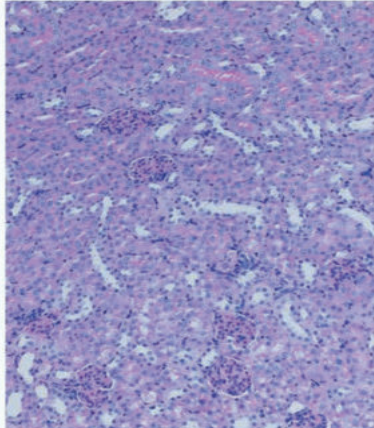
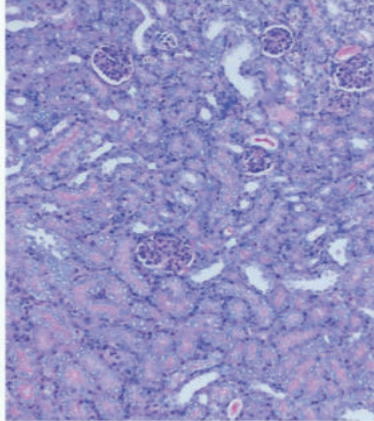
Hình 3: Mô bệnh học gan của chuột nhất trắng cái tiêm $^{18}\text{F-NaF}$ liều 17,1 mCi/kg sau 14 ngày

<p>Nhuộm HE x 200</p>		
<p>Nhuộm PAS x 200</p>		
<p>Mô tả</p>	<p>Cấu trúc gan bình thường, các tế bào gan có hình thái bình thường, 1-2% tế bào gan thoái hóa nhẹ, không thấy xâm nhập viêm. <i>Kết luận: Mô gan không thấy tổn thương</i></p>	

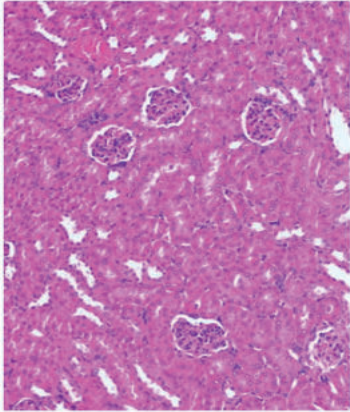
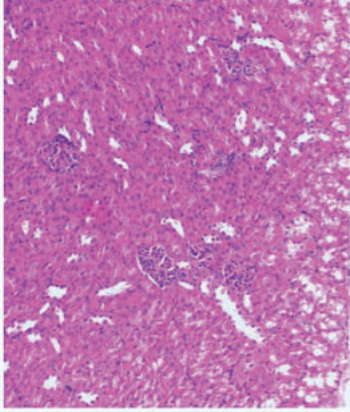
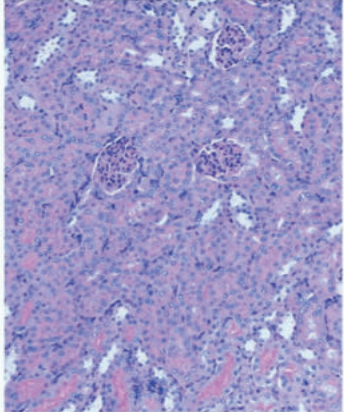
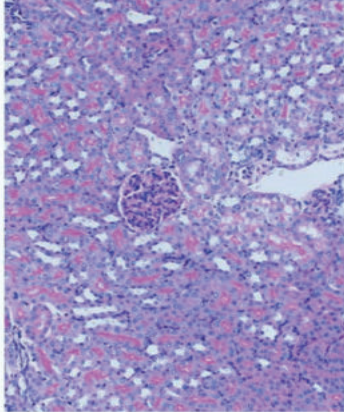
Hình 4.5. Hình 4: Mô bệnh học gan của chuột nhất trắng đực tiêm $^{18}\text{F-NaF}$ liều 17,1 mCi/kg sau 14 ngày

	Lô chứng	Lô thử
Nhuộm HE x 200		
Nhuộm PAS x 200		
Mô tả	Cấu trúc thận bình thường, không hoại tử, không tăng sinh xơ, không xâm nhập viêm, không lắng đọng glycogen. <i>Kết luận: Mô thận không thấy tổn thương</i>	Cấu trúc thận bình thường, không hoại tử, không tăng sinh xơ, không xâm nhập viêm, không lắng đọng glycogen. <i>Kết luận: Mô thận không thấy tổn thương</i>

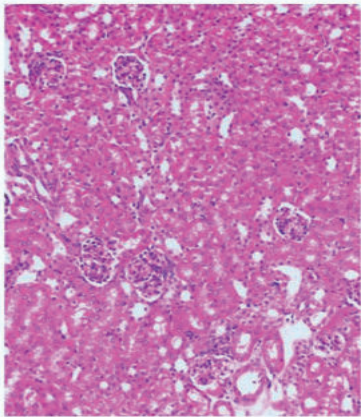
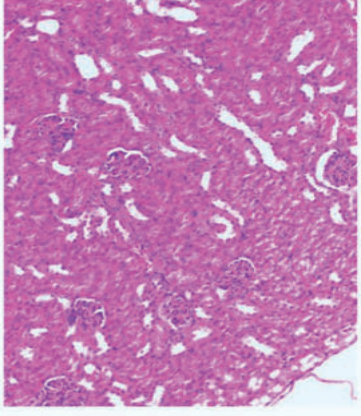
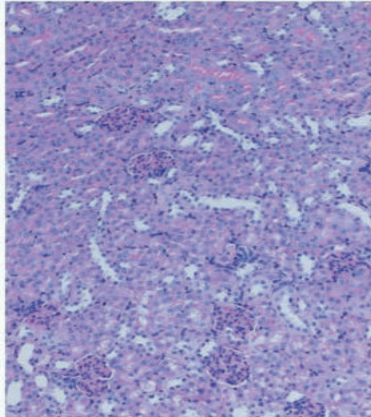
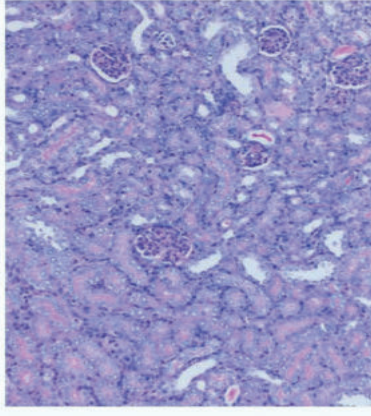
Hình 5: Mô bệnh học thận của chuột nhất trắng cái tiêm $^{18}\text{F-NaF}$ liều 17,1 mCi/kg sau 24 giờ

<p>Nhuộm HE x 200</p>		
<p>Nhuộm PAS x 200</p>		
<p>Mô tả</p>	<p>Cấu trúc thận bình thường, không hoại tử, không lắng sinh xơ, không xâm nhập viêm, không lắng đọng glycogen. <i>Kết luận: Mô thận không thấy tổn thương</i></p> <p>Cấu trúc thận bình thường, không hoại tử, không lắng sinh xơ, không xâm nhập viêm, không lắng đọng glycogen. <i>Kết luận: Mô thận không thấy tổn thương</i></p>	

Hình 6: Mô bệnh học thận của chuột nhất trắng đực tiêm $^{18}\text{F-NaF}$ liều 17,1 mCi/kg sau 24 giờ

	Lô chứng	Lô thử
Nhuộm HE x 200		
Nhuộm PAS x 200		
Mô tả	Cấu trúc thận bình thường, không hoại tử, không tăng sinh xơ, không xâm nhập viêm, không lắng đọng glycogen. <i>Kết luận: Mô thận không thấy tổn thương</i>	Cấu trúc thận bình thường, không hoại tử, không tăng sinh xơ, không xâm nhập viêm, không lắng đọng glycogen. <i>Kết luận: Mô thận không thấy tổn thương</i>

Hình 7: Mô bệnh học thận của chuột nhất trắng cái tiêm $^{18}\text{F-NaF}$ liều 17,1 mCi/kg sau 14 ngày

<p>Nhuộm HE x 200</p>		
<p>Nhuộm PAS x 200</p>		
<p>Mô tả</p>	<p>Cấu trúc thận bình thường, không hoại tử, không tăng sinh xơ, không xâm nhập viêm, không lắng đọng glycogen. <i>Kết luận: Mô thận không thấy tổn thương</i></p> <p>Cấu trúc thận bình thường, không hoại tử, không tăng sinh xơ, không xâm nhập viêm, không lắng đọng glycogen. <i>Kết luận: Mô thận không thấy tổn thương</i></p>	

Hình 8: Mô bệnh học thận của chuột nhất trắng được tiêm $^{18}\text{F-NaF}$ liều 17,1 mCi/kg sau 14 ngày