

300627

UNIVERSIDAD LA SALLE

28

2 F 1

ESCUELA DE CIENCIAS QUÍMICAS

INCORPORADA A LA U.N.A.M.

**DETERMINACIÓN INDIRECTA DE LA UNIÓN DE
RADIOFÁRMACOS EN PROTEÍNAS SÉRICAS COMO
UN MÉTODO PARA EL CONTROL DE CALIDAD**

TESIS PROFESIONAL

PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA

PRESENTA :

LAURA MELÉNDEZ ALAFORT

DIRECTOR DE TESIS:

Q.F.B. ENRIQUE CALDERON GARCÍA.

1995

FALLA DE ORIGEN



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DEDICATORIA

- A mis padres, por su amor, apoyo y comprensión incondicional, que me alienta a seguir cada día adelante sin importar los obstáculos que pueda haber en el camino y por que solo gracias a ellos he podido lograr esta meta tan ansiada.

- A mis hermanos Vero, Beto y Erick que me apoyaron en todo momento y contagiaron su alegría haciéndome sentir mejor cuando las cosas no salían bien.

- A la Q.B.P. Consuelo Arteaga de Murphy por su ayuda generosa, enseñanzas y apoyo para la realización de este trabajo. ¡Muchas Gracias!

- Al Dr. José Domingo Méndez, Q.F.B. Enrique Calderón, Q.B.P. Guadalupe Morales y la Q.F.B. Martha Mustre, por sus enseñanzas, consejos y ayuda en la elaboración de este trabajo. ¡ Muchas Gracias!

Este trabajo fue realizado en el Laboratorio de Radiofarmacia del Departamento de Medicina Nuclear y Clínica de Tiroides del Instituto Nacional de la Nutrición "Salvador Subirán", con la asesoría de la Q.B.P. Consuelo Arteaga de Murphy.

ÍNDICE

Página

I OBJETIVOS	1
II ANTECEDENTES	2
III GENERALIDADES	4
1 Radiofármacos	5
1.1 Radiofármacos para el procedimiento diagnóstico	5
1.2 Radiofármacos de ^{99m}Tc	6
1.2.1 Características del Tecnecio	6
1.2.2 Descripción del generador ^{99}Mo - ^{99m}Tc	7
1.2.3 Marcado de los radiofármacos con ^{99m}Tc	8
1.2.4 Estuches de reactivos para radiofármacos con ^{99m}Tc	9
2 Características de algunos radiofármacos marcados con ^{99m}Tc	10
2.01 Pertecneciato de sodio	10
2.02 ^{99m}Tc -seroalbúmina humana	10
2.03 ^{99m}Tc -Azufre coloidal	11
2.04 ^{99m}Tc -Ácido 2,3 -dimercaptosuccínico	11
2.05 ^{99m}Tc -Ácido dimercaptosuccínico (v)	12
2.06 ^{99m}Tc -Ácido dietilentriaminopentacético	12
2.07 ^{99m}Tc -Ácido N-[N' (2,6-dimetilfenil) carbamoil-metil] iminodiacético	13
2.08 ^{99m}Tc -Macroagregados de albúmina	14
2.09 ^{99m}Tc -Pirofosfato	15
2.10 ^{99m}Tc -Metilendisfosfonato	16
3 Control de calidad	17
3.1 Controles biológicos	17
3.2 Controles físicos y fisicoquímicos	18
3.3 Controles químicos	20

4	Proteínas plasmáticas	21
4.1	Características del plasma sanguíneo	22
4.2	Unión de los radiofármacos en proteínas séricas	22
IV	MATERIAL	24
V	METODOLOGÍA	25
VI	RESULTADOS	31
VII	DISCUSIÓN DE RESULTADOS	60
VIII	CONCLUSIONES	65
IX	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	66

I OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL:

Estudiar la unión de los radiofármacos a las proteínas séricas como un método de control de calidad en radiofarmacia.

OBJETIVOS PARTICULARES:

- * Establecer un método sencillo, rápido y seguro, para precipitar proteínas séricas radiactivas y detectar la radiactividad en el coprecipitado y el sobrenadante.
- * Determinar la estabilidad del radiofármaco en presencia de proteínas séricas.
- * Determinar "*in vitro*" el porcentaje de unión de los radiofármacos producidos en el Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Zubirán (INNSZ) a las proteínas de una mezcla de sueros normales obtenidos en el Laboratorio de Química Clínica.
- * Comparar los valores experimentales con los obtenidos para los radiofármacos comerciales.

II ANTECEDENTES

GARANTIA DE CALIDAD EN MEDICINA NUCLEAR

La tecnología nuclear, cuando es aplicada adecuadamente e interpretada correctamente en la medicina, sirve para resolver una amplia variedad de problemas diagnósticos. Por consiguiente, el ideal de todo servicio de medicina nuclear debe ser mantener un alto nivel de eficiencia en sus estudios.

Para lograr esto se requiere de una garantía de calidad total, lo que implica la suma de controles de todos los factores involucrados como: la preparación y experiencia profesionales desde la toma de decisión del procedimiento que debe ser empleado en cada caso, el radiofármaco a ser utilizado, la selección y estandarización de metodologías, hasta la presentación de los resultados y su interpretación. En cada una de estas áreas deben ser identificados parámetros susceptibles de evaluación y aún cuantificación.

Es por esto, que el Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Zubirán (INNSZ) cuenta con un programa de aseguramiento de la calidad, establecido en el Laboratorio de Radiofarmacia del Departamento de Medicina Nuclear, que incluye los protocolos para verificar la calidad de los radiofármacos que se preparan en el mismo laboratorio.

Los protocolos incluyen pruebas fisicoquímicas como pureza radionuclídica, pureza radioquímica, pureza química, isotonicidad, pH, apariencia; pruebas biológicas como esterilidad, apirogenicidad y toxicidad, además de todas las pruebas preliminares de radiofarmacocinética en animales, como biodistribución en tejidos, depuración plasmática y eliminación urinaria y fecal. Sin embargo, a la fecha en el laboratorio no se ha determinado el porcentaje de unión de los radiofármacos a las proteínas séricas.

Se conoce que la unión a proteínas séricas de un radiofármaco está determinada por muchos factores como la carga de la molécula radiactiva, el pH, la naturaleza de las proteínas plasmáticas y la concentración de aniones en el plasma (49).

Es importante determinar la unión de los radiofármacos a proteínas séricas debido a que algunos complejos de ^{99m}Tc sufren transquelación dentro del organismo porque la unión débil del tecnecio con el quelato compite con la unión del tecnecio a las proteínas plasmáticas dando como resultado la separación del radionúclido (^{99m}Tc) que queda circulando en el torrente sanguíneo. Este hecho afecta negativamente la calidad, (poca resolución y nitidez) de la imagen gammagráfica, perjudicando finalmente al paciente ya que el médico nuclear no cuenta con un estudio fidedigno que le permita un diagnóstico preciso.

Es por esto que el presente trabajo tiene como finalidad completar la caracterización de los radiofármacos del INNSZ determinando *in vitro* el grado de unión proteica y compararlo con los datos que aparecen en la literatura médica, los cuales además de ser escasos en varias ocasiones son también discrepantes.

III GENERALIDADES

Existen varias técnicas desarrolladas para la obtención de imágenes, que involucran radiación, como la medicina nuclear, radiología, tomografía axial computarizada, el ultrasonido y la termografía, dentro de las cuales ninguna es superior a la otra, sino que se complementan, ya que cada una de ellas aporta una información diferente, por tanto es indispensable tener un criterio para elegir la mejor en cada caso.

Una opción son las imágenes obtenidas por medio de la medicina nuclear ya que aportan un aspecto morfológico semejante en cierto modo a la radiología (expresión de densidades) sin embargo difiere de esta porque además de proporcionar información sobre la estructura del órgano o sistema en estudio, es posible medir el funcionamiento y la fijación del trazador sobre el mismo.

La medicina nuclear esta condicionada a un proceso de captación activa y selectiva, de ahí que cualquier alteración sea significativa porque se traduce como un déficit funcional, y es posible hacer estudios dinámicos cardiovasculares, de flujo cerebral y de las funciones renales entre otros, sin causar daño al paciente utilizando un sistema detector como una gammacámara.

La medicina nuclear ha sido definida como una especialidad multidisciplinaria dedicada al uso de compuestos radiactivos para el diagnóstico y terapia. Todo procedimiento en medicina nuclear para poder ser observado requiere de dos componentes esenciales, un radiofármaco con un grado aceptable de localización en un órgano o tejido determinado y un sistema detector de la radiación con sensibilidad y resolución adecuadas.

Por tanto los grandes avances de esta disciplina implican la necesidad de diseñar nuevos radiofármacos cada vez más específicos que permitan realizar exámenes de manera segura y efectiva, debido a que la imagen depende de la capacidad del órgano o tejido para concentrar el material radiactivo. La distribución de un radiofármaco en un lapso de tiempo esta dada por los factores fisiológicos como el flujo sanguíneo, volúmenes de fluidos vasculares y extravasculares, la actividad metabólica o la presencia de células fagocíticas y por las propiedades fisicoquímicas del mismo. Consecuentemente es esencial contar con radiofármacos que posean un buen control de calidad (20, 42).

1.0 RADIOFÁRMACOS

Un radiofármaco puede definirse como una sustancia química que contiene átomos radiactivos o radionúclidos en su composición y que por su forma farmacéutica, cantidad y calidad de radiación emitida es adecuada para su administración en seres humanos con fines diagnósticos y/o terapéuticos (24).

Generalmente los radiofármacos son compuestos que no tienen un efecto farmacológico comprobable, y si lo poseen, no se pone de manifiesto porque se utilizan en cantidades trazas con las que no se observa ninguna relación dosis-respuesta. Esta es la principal diferencia que presentan con un fármaco convencional (24, 33).

Para escoger una sustancia con actividad biológica en radiofarmacia, se debe tomar en cuenta su paso a través de la zona fisiológica o anatómica de interés, la distribución y localización en determinado órgano o compartimiento, ya que la captación de un órgano en condiciones normales difiere a la captación en condiciones patológicas y además debe ser seguro con dosis de radiación mínima, no tóxico (16, 49).

Las unidades convencionales para medir la radiación son el curie (Ci), definido como 3.7×10^{10} desintegraciones / segundo, y el Becquerel (Bq), desintegración / segundo, recomendado por el Sistema Internacional (S.I.) (52).

1.1 RADIOFÁRMACO IDEAL PARA EL PROCEDIMIENTO DE DIAGNÓSTICO.

Para encontrar el radiofármaco ideal ha sido necesario probar, dentro de la medicina nuclear, numerosos agentes radiofarmacéuticos y complejos de un metal de transición radiactivo unido a un ligante (42).

Ya que los radiofármacos son compuestos marcados para uso en humanos, es deseable que reúna una serie de características básicas:

- 1) Proporcionar una dosis mínima de radiación para el paciente.
- 2) Esta radiación debe ser detectada fácilmente y a distancia por instrumentos, el mismo día de ser posible.
- 3) Debe tener vida media compatible con el tiempo requerido para rastrear el fenómeno biológico estudiado.

4) Emitir preferentemente un rayo gamma monocromático con energía entre 100 y 300 keV.

5) No debe emitir ninguna radiación corpuscular.

6) Tener una fácil disponibilidad y ser económico.

7) Conservarse sin que se contamine.

Un radiofármaco ideal para procedimientos diagnósticos debería reunir todas las propiedades anteriores, sin embargo estos criterios son tan exigentes que el radiofármaco ideal no existe, por tanto el de elección será aquel que ofrezca las mejores propiedades (23, 49).

1.2 RADIOFÁRMACOS DE ^{99m}Tc .

1.2.1 CARACTERÍSTICAS DEL TECNECIO

El tecnecio fue obtenido por primera vez en 1937 por Perrier y Ségre al bombardear molibdeno con deuterones en un ciclotrón. La presencia del tecnecio en forma natural dentro de la corteza terrestre no es muy probable y se ha sugerido que el origen de todo el tecnecio que existe en la tierra es secundario, es decir, que proviene tanto de la fisión del uranio, como de la activación del molibdeno, niobio y rutenio por radiaciones cósmicas de alta energía.

El tecnecio es de color gris claro brillante y se ennegrece con lentitud al oxidarse por el contacto con el aire húmedo, pero no al aire seco; forma redes de cristales hexagonales estrechamente empacado; es ligeramente paramagnético y se comporta como un superconductor a bajas temperaturas.

Las propiedades físicas del tecnecio se encuentran en la tabla 3.1

TABLA 3.1

Número atómico	43
Peso atómico	98.913 (98.8, 98.906)
Radio iónico	0.56 Å
Radio atómico	1.36 Å
Densidad	11.50 g/cm. ³
Punto de fusión	2250 +/- 50 °C
Punto de ebullición	4877°C
Temp. de superconductor	-281.8 °C

El tecnecio trabaja con todos los estados de oxidación desde -1 hasta +7; la valencia +7 es la más estable, siguiendo la +4 y dentro de los compuestos de coordinación existe en forma estable con valencia de +3, +5 y +6. Debido a sus múltiples estados de oxidación la química del tecnecio resulta ser muy compleja.

La primera aplicación clínica del ^{99m}Tc fue efectuada por Harper y colaboradores en 1965 en la Universidad de Chicago, EE.UU., y a partir de ese momento su uso en tales fines fue en continuo crecimiento, llegando a la posición prominente que ocupan actualmente en el campo de los procedimientos diagnósticos en medicina nuclear (34).

El ^{99m}Tc se considera como el radionúclido "ideal" para marcar fármacos gracias a que reúne las siguientes características.

- 1.- Fácil obtención a partir del generador ^{99}Mo - ^{99m}Tc
- 2.- Ausencia de emisión β y su emisión gamma de energía baja de 140-keV, que presenta una adecuada penetración en los tejidos
- 3.- Vida media corta de 6 horas.
- 4.- Eficiencia con que se detecta,
- 5.- Facilidad y rapidez con que se puede unir o complejar a diversas sustancias, drogas o fármacos para así formar los radiofármacos
- 6.- Las dosis radiactivas en uso permiten hacer estudios dinámicos y estáticos (34, 42).

Entre los avances tecnológicos que contribuyeron a que alcanzara la posición que actualmente ocupa en la rutina diaria de medicina nuclear se encuentra la producción de generadores de ^{99}Mo - ^{99m}Tc que posibilitaron la disponibilidad a nivel de las clínicas de medicina nuclear y solucionaron los problemas de transportación que ocasiona debido a su vida media corta (9).

1.2.2 DESCRIPCIÓN DE UN GENERADOR DE ^{99}Mo - ^{99m}Tc .

Un generador de radionúclidos es un sistema que contiene una serie radiactiva, donde el radionúclido hijo está siendo producido constantemente por el decaimiento del radionúclido padre, originando un equilibrio entre los dos. Este equilibrio solo es afectado por la separación de los dos radionúclidos, que se lleva a cabo comúnmente basándose en la diferencia de solubilidad de los compuestos en un disolvente (9, 47).

El generador de ^{99}Mo - $^{99\text{m}}\text{Tc}$ es un sistema automático y altamente protegido con un blindaje de plomo, que permite obtener fácilmente una solución estéril y apirógena de $^{99\text{m}}\text{Tc}$ en forma de pertechnetato de sodio.

Consta de una columna cromatográfica de vidrio, provista en su base de un filtro esmerilado, que contiene alúmina, sobre la cual se absorbe el ^{99}Mo que se desintegra a $^{99\text{m}}\text{Tc}$ (Figura 3.1). A esta columna se le hace pasar una solución acuosa eluyente de cloruro sódico al 0.9% que arrastra al pertechnetato (sin arrastrar al molibdato), y que se recibe en un vial estéril y al vacío (17).

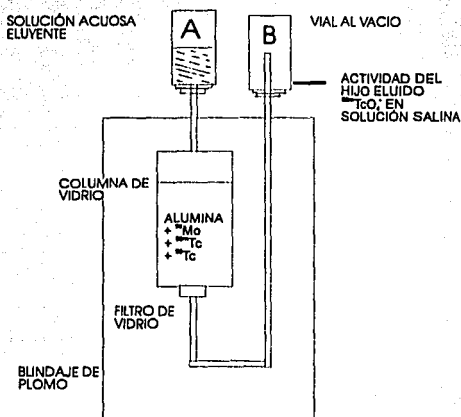


Figura 3.1 Diagrama de un generador ^{99}Mo - $^{99\text{m}}\text{Tc}$.

1.2.3 MARCADO DE LOS RADIOFÁRMACOS CON $^{99\text{m}}\text{Tc}$

En medicina nuclear algunos radionúclidos son utilizados en su forma química simple, como el pertechnetato de sodio y otros se encuentran incorporados como marcadores en una variedad de compuestos químicos, que pueden ser interesantes, debido a sus propiedades fisiológicas, metabólicas, y bioquímicas (9).

La marcación es un procedimiento por el cual un radionúclido (obtenido por irradiación o generador) se incorpora a una molécula más compleja, dando lugar al radiofármaco de interés. Los métodos de marcación son variados, entre ellos se mencionan síntesis química, biosíntesis y reacciones de intercambio (34, 42).

El pertechnetato se obtiene del generador $^{99}\text{Mo}-^{99\text{m}}\text{Tc}$ en su máximo estado de oxidación y la mayor parte de los compuestos químicos marcados con $^{99\text{m}}\text{Tc}$ se lleva a cabo reduciéndolo a Tc^{3+} , Tc^{4+} , Tc^{5+} y complejando estos con el compuesto químico apropiado. El agente más comúnmente usado para reducir el tecnecio es el cloruro estano (SnCl_2) por presentar algunas ventajas como baja toxicidad, buen poder reductor, y posibilidad de efectuar el marcado con un gran número de moléculas obteniendo buenos rendimientos (34, 42, 51).

1.2.4 ESTUCHES DE REACTIVOS PARA RADIOFÁRMACOS CON $^{99\text{m}}\text{Tc}$

Como la vida media del $^{99\text{m}}\text{Tc}$ es corta, existía el problema de preparar los radiofármacos poco antes de ser utilizados, que se resolvió con el uso de estuches de reactivos estériles y libres de pirógenos (kits).

Estos estuches son viales que contienen todos los reactivos necesarios y en las proporciones adecuadas para obtener el radiofármaco $^{99\text{m}}\text{Tc}$ de interés, con el nivel de calidad requerido para su empleo en humanos.

El procedimiento de marcado es muy sencillo y consiste en agregar la solución de pertechnetato ($^{99\text{m}}\text{TcO}_4^-$) con la actividad adecuada seguido de una operación sencilla como agitación, calentamiento etc., en el momento que se va a utilizar el radiofármaco.

Los principales componentes de estos estuches de reactivos son el agente complejante (ligando) y el agente reductor (SnCl_2), aunque se puede agregar otros componentes como antioxidantes, y/o agentes dispersantes según sea el caso (9, 34, 42).

2.0 CARACTERÍSTICAS DE ALGUNOS RADIOFÁRMACOS MARCADOS CON TECNECIO

2.1 Pertecneciato de sodio ($^{99m}\text{TcO}_4\text{Na}$)

El pertecneciato de sodio en la actualidad se utiliza para estudios de cerebro, tiroides, glándulas salivales y estómago.

Este radiofármaco es obtenido directamente del generador ^{99}Mo - ^{99m}Tc en solución salina, en sistemas biológicos se comporta en forma similar al ión yodato ya que después de una administración oral o intravenosa, es concentrado selectivamente en la tiroides, glándulas salivales, estómago y plexos coroideos en un lapso de 30 min, por lo que sirve para hacer estudios de morfología de estos órganos (9).

Después de la inyección intravenosa parte del $^{99m}\text{TcO}_4^-$ queda unido a las proteínas plasmáticas. Cerca del 50% del compuesto es rápidamente diluido dentro de los espacios extravasculares en un lapso de 15 a 20 min., el resto desaparece del plasma en 3 horas aproximadamente (42).

El 50% $^{99m}\text{TcO}_4^-$ es eliminado por excreción urinaria y fecal en 3 días, y casi el 70% en 8 días (49).

2.2 ^{99m}Tc -Seroalbúmina humana (^{99m}Tc -HSA)

En el ^{99m}Tc -HSA el ^{99m}Tc cumple únicamente la función de radiotrazador es decir, permite la visualización de la biodistribución del HSA (34).

Se utiliza en estudios de determinación del volumen sanguíneo, de función ventricular y para imágenes de poza sanguínea en la evaluación de la funcionalidad dinámica del corazón.

De acuerdo a su mecanismo de localización biológica se clasifica dentro del grupo de los radiofármacos sustrato no específico de localización compartimental, porque permite estudiar el compartimento sanguíneo bajo condiciones normales ya que por ser una proteína plasmática permanece en la sangre el tiempo necesario para efectuar los estudios sin ser removida por difusión ni por transporte activo (20, 33, 40, 50).

Después de la administración intravenosa es retenido en el plasma por un largo período de tiempo (9).

El ^{99m}Tc -HSA se mantiene en buenas condiciones para ser administrado durante un período de tres horas después de haber sido reconstituido, pasado este tiempo el compuesto se hidroliza formando pertecneciato libre (49).

2.3 ^{99m}Tc -Azufre coloidal

Este agente se utiliza principalmente para estudios diagnósticos de hígado, bazo, médula ósea y en estudios de vaciamiento gástrico.

En este radiofármaco el ^{99m}Tc cumple únicamente la función de radiotrazador es decir, permite la visualización de la biodistribución del azufre coloidal que permanece prácticamente inalterada por la inclusión del ^{99m}Tc (34, 42).

De acuerdo con su mecanismo de localización biológica se clasifica como un radiofármaco sustrato no específico ya que permite la localización y visualización de órganos con células del retículo endotelial (SRE) debido a que es removido de la sangre por las células de Kupffer mediante el mecanismo fisiológico de fagocitosis (20, 33, 50).

La distribución relativa del coloide en los diferentes órganos depende del tamaño, la cantidad de micelas, y de la sangre suministrada al órgano. El azufre coloidal marcado con ^{99m}Tc , con un tamaño de micela aproximado de 200 a 500 nm, se localiza un 86% en el hígado, aproximadamente un 6% es depositado en el bazo, y el resto en la médula ósea, en un lapso de 10 a 20 min. después de la administración intravenosa (9, 36).

Este radiofármaco se prepara agregando ácido a una mezcla de $^{99m}\text{TcO}_4^-$ con tiosulfato de sodio, y calentando después a 100°C en baño maría por 5 min. y se mantiene estable por un periodo de 6 hrs. después de su preparación. La dosis utilizada para un adulto de aproximadamente 70 Kg. es de 148 - 296 MBq (4 - 8 mCi) (49).

2.4 ^{99m}Tc -Acido 2,3-dimercaptosuccínico (^{99m}Tc -DMSA)

El ácido dimercaptosuccínico es complejado con ^{99m}Tc para proveer una buena imagen cortical, o un gammagrama renal, porque se fija a la corteza renal. Puede ser utilizado en evaluación de pielonefritis aguda ya que aunque no mide directamente un parámetro específico de la función renal se puede calcular

puesto que el grado de fijación renal es directamente proporcional al estado funcional del riñón; algunas veces también se utiliza como un índice del funcionamiento de la masa tubular (16, 36).

La extracción renal del ^{99m}Tc -DMSA aproximada es de 4 a 5 % del pasaje renal. El 35% de la dosis renal inyectada se filtra y el 65% restante se acumula en los tubos corticales en una hora y allí permanece 24 horas después de la inyección, aunque no está claro de qué forma contribuye a la captación de la corteza renal. Un 12% de la dosis inyectada es excretada en orina en una hora aproximadamente, y más del 30% es excretado después de 14 horas sin metabolizarse (27, 42).

La unión a proteínas séricas informada por algunos autores varía de un 75% a 90% (49).

2.5 ^{99m}Tc -Acido 2,3-dimercaptosuccínico (preparado en medio alcalino) [^{99m}Tc -DMSA (V)]

Se utiliza en gammagrafía de cáncer medular de tiroides, tumores de tejido blando y otros tumores de cabeza y cuello.

Este radiofármaco a pH neutro participa en el proceso metabólico de las células en división y el proceso de maduración de osteocitos. Se ha postulado la teoría de que al inyectarse el ^{99m}Tc -DMS se diluye en el torrente circulatorio y se forma el complejo polinuclear que puede penetrar dentro de las células en división, pero que una vez dentro ya no se puede difundir al exterior, este hecho es una gran ventaja en gammagrafía porque el tumor queda con más radiactividad que el tejido circundante y se delimita mejor (15, 49).

2.6 ^{99m}Tc -Acido dietilentriaminopentacético (^{99m}Tc -DTPA)

El ^{99m}Tc -DTPA inyectable se utiliza para realizar gammagramas de riñón o cerebro, para determinar filtración renal y estimar porcentajes de filtración glomerular.

De acuerdo a su mecanismo de localización biológica se puede clasificar dentro del grupo sustrato no específico, teniendo dos usos principales:

- 1.- En gammagramas cerebrales, ya que en caso de lesión cerebral

puede atravesar la barrera hematoencefálica por medio de difusión simple o intercambio, acumulándose en lesiones intracraneales con excesiva formación vascular nueva o en una barrera hematoencefálica alterada, ayudando a visualizar la zona dañada. La dosis utilizada es 185 - 555 MBq (5 -15 mCi) para un adulto.

2.- En estudios de funcionalidad renal, basándose en el hecho de que por ser una sustancia extraña al organismo con una unión a proteínas séricas relativamente baja (3.7 - 10% dependiendo del método de preparación (2)) es removido rápidamente de la sangre por los riñones mediante el mecanismo de filtración glomerular sin ser metabolizado. La dosis utilizada es de 148 - 370 MBq (4 -10 mCi) para un adulto (3, 33, 50).

La molécula del complejo con Tc reducido por Sn es un anión de dos cargas, tanto a pH 4.6 como pH 7.0 por lo que se representa $(^{99m}\text{Tc-DTPA})^{-2}$ (48). Por estudios polarográficos y yodométricos se le ha asignado al Tc valencia 3 en este complejo (52).

Los estuches de reactivos comerciales de $^{99m}\text{Tc-DTPA}$ contienen comúnmente de 5 a 90 mg. de la sal pentasódica de DTPA y la cantidad apropiada de cloruro estanoso (SnCl_2), liofilizados en atmósfera de nitrógeno. El marcado se lleva a cabo fácilmente por la adición del $^{99m}\text{TcO}_4^-$ seguida de agitación (49).

Al hacer pruebas de pureza radioquímica por métodos cromatográficos se ha demostrado que los estuches de reactivos con mayor correlación molar DTPA/Sn producen mayores rendimientos del complejo y menores niveles de impurezas (49).

2.7 ^{99m}Tc -Acido N-[N'(2,6-dimetilfenil)carbamoil-metil]iminodiacético (^{99m}Tc -HIDA)

Las imágenes obtenidas del sistema hepatobiliar con el ^{99m}Tc -HIDA inyectable ayuda al diagnóstico y localización de patología del hígado y de la vesícula biliar.

Dentro del complejo del ^{99m}Tc -HIDA las propiedades del átomo de ^{99m}Tc son esenciales para la distribución y localización del radiofármaco, ya que los estudios revelan que el HIDA no quelado con ^{99m}Tc es eliminado en mayor parte por los riñones, y el ^{99m}Tc -HIDA es eliminado por el hígado (16, 42).

De acuerdo a su mecanismo de localización biológica el ^{99m}Tc -HIDA se clasifica como sustrato específico por ser removido selectivamente desde la sangre por el hepatocito. El ^{99m}Tc -HIDA tiene alta y rápida captación hepática, rápido tránsito a través de las células poligonales del hígado hacia el intestino, ausencia de reabsorción intestinal y eliminación renal. Es excretado a través del árbol biliar a la vesícula en 30 min. aproximadamente (39) y eliminado hacia la luz intestinal (33, 20, 50).

Los estuches de reactivos del ^{99m}Tc -HIDA contienen generalmente el derivado del ácido-iminodiacético y el agente reductor. La marcación se lleva a cabo adicionando de 185 - 370 MBq (5 -10 mCi) de $^{99m}\text{TcO}_4^-$ al estuche de reactivos, agitando bien e incubando 30 min. a temperatura ambiente y en la oscuridad (39, 49)

2.8 ^{99m}Tc -Macroagregados de albúmina (^{99m}Tc -MAA)

Su mayor aplicación es en los estudios de perfusión pulmonar, aunque algunas veces también se utilizan para estimar la circulación sanguínea regional.

Los MAA son partículas de albúmina obtenidas por desnaturalización de la albúmina humana con calor y variaciones de pH. Su mecanismo de localización se basa en el bloqueo capilar, o sea, la producción de microembolizaciones por la administración de partículas marcadas, de un tamaño mayor que el diámetro de los capilares sanguíneos (10 a 100 μm), por lo tanto el ^{99m}Tc solo actúa como radiotrazador (33, 20, 50).

Para una localización pulmonar efectiva, los ^{99m}Tc -MAA, deben tener un tamaño entre 15 y 75 μm ; de ser menores a 12 μm son atrapados por el sistema retículo endotelial.

En un lapso de 5 a 10 min. después de la administración intravenosa, un 90 o 95 % de la dosis inyectada de ^{99m}Tc -MAA es transportada por el flujo sanguíneo hasta las arteriolas y los capilares de los pulmones, donde es atrapada. La distribución de estas partículas es función del flujo de sangre pulmonar, si este es normal se distribuyen por todo el pulmón, pero si el flujo sanguíneo está alterado u obstruido las partículas no pueden alcanzar la zona afectada (9, 42).

Los ^{99m}Tc -MAA son aclarados de las arteriolas pulmonares por varios eventos bioquímicos, como ruptura del agregado por efecto de la presión hemodinámica o contracción de los vasos, degradación enzimática, disolución química y fagocitosis por los macrófagos (21). La vida media biológica de los ^{99m}Tc -MAA es alrededor de 8 horas, sin embargo la eliminación de ^{99m}Tc -MAA de las arteriolas se lleva a cabo aproximadamente en 1 hora. (16, 21)

Los estuches de reactivos de ^{99m}Tc -MAA comúnmente contienen de 0.34 a 2 mg. de MAA y de 70 a 300 μg de cloruro estannoso (SnCl_2) y algunas formulaciones contienen además agentes dispersantes. La dosis administrada a un adulto es de 37 - 74 MBq (1 - 2 mCi) o 1.5 millones de macroagregados.

^{99m}Tc -Pirofosfato (^{99m}Tc -PYP)

El ^{99m}Tc -PYP se utiliza para: gammagrafía ósea, marcado de eritrocitos y localizar infartos de miocardio. La localización del infarto miocárdico se basa en la formación de un complejo polinuclear con las macromoléculas desnaturalizadas por la necrosis, ya que en la periferia de la zona afectada se produce una calcificación apareciendo cristales de hidroxapatita, que ocasiona la concentración del radiofármaco en la zona de infarto (7, 14, 26).

De acuerdo a su mecanismo de localización biológica algunos autores lo clasifican como sustrato no específico porque este radiofármaco difunde desde la sangre hacia los fluidos del espacio extracelular, quedando en contacto con el tejido óseo, al cual es rápidamente fijado manteniendo un gradiente de concentración favorable para que continúe la difusión del agente marcado desde la sangre hacia el fluido extracelular (8, 42, 49). Otros autores lo clasifican como sustrato específico porque se adhiere específicamente al ión Ca^{+2} de los cristales de hidroxapatita (33, 20, 50).

El ^{99m}Tc -Pirofosfato presenta un alto porcentaje de captación por hueso, sin embargo no ha tenido el éxito deseado porque su depuración sanguínea es lenta debido a su alto porcentaje de unión a proteínas plasmáticas y a su marcada difusión hacia el interior de los glóbulos rojos. Se requieren aproximadamente 4 horas para obtener una imagen ósea de calidad adecuada, además de ser inestable y de hidrolizarse con el paso del tiempo por medio de las enzimas pirofosfatasas (46).

Los estuches de reactivos de ^{99m}Tc -PYP normalmente contienen de 10 a 20 mg. de $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ y de 1 a 3 mg. de cloruro estannoso (SnCl_2), algunas formulaciones agregan ácido genticóico como antioxidante (46).

2.10 ^{99m}Tc -Metileno-bisfosfonato (^{99m}Tc -MDP)

El ^{99m}Tc -MDP es otro complejo de ^{99m}Tc que sirve como agente para la obtención de imágenes óseas, es de gran utilidad donde la osteogénesis está alterada como sucede en las metástasis óseas, enfermedad de Paget, artritis y osteomielitis.

De acuerdo a su mecanismo de localización biológica algunos autores lo clasifican como sustrato no específico por su difusión desde la sangre hacia los fluidos del espacio extracelular, quedando en contacto con el tejido óseo, al cual es rápidamente fijado manteniendo un gradiente de concentración favorable para que continúe la difusión del agente marcado desde la sangre hacia el fluido extracelular (8, 42, 49). Otros autores lo clasifican como sustrato específico porque se adhiere específicamente al ión Ca^{+2} de los cristales de hidroxiapatita (33, 20, 50).

Al inyectar intravenosamente el ^{99m}Tc -MDP es rápidamente liberado de la sangre, debido a la ausencia de unión a los glóbulos rojos, es acumulado en el esqueleto por la unión del radiofármaco al ión Ca^{+2} de la hidroxiapatita del hueso (46), las áreas de osteogénesis anormal muestran una captación alterada, haciendo posible visualizar una variedad de lesiones óseas (16).

Los estuches de reactivos de ^{99m}Tc -MDP normalmente contienen de 10 a 20 mg. de ácido metileno-bisfosfonato (ácido medrónico) y de 0.3 a 1.2 mg. de cloruro estannoso (SnCl_2), algunas formulaciones agregan 1 o 2 mg. de ácido ascórbico como estabilizador. La dosis administrada a un adulto es de 370 - 740 MBq (10 - 20 mCi) (49).

La unión P-C-P presente entre los átomos de fósforo del ^{99m}Tc -MDP lo hace resistente a la hidrólisis enzimática "in vivo" (46).

3.0 CONTROL DE CALIDAD

Todos los radiofármacos deben someterse a un estricto control de calidad que garantice se encuentran en condiciones óptimas para ser utilizados.

3.1 CONTROLES BIOLÓGICOS

1.- UNIÓN EN PROTEÍNAS SÉRICAS.

La unión en proteínas plasmáticas es un factor importante que debe determinarse debido a que afecta la velocidad de distribución del radiofármaco, la distribución en el tejido, la depuración plasmática, y su captación por el órgano de interés.

Generalmente se determina precipitando las proteínas séricas con ácido tricloroacético y midiendo la actividad en el precipitado (49).

2.- ESTERILIDAD

La esterilidad es un requisito para toda preparación parenteral, sin embargo, los radiofármacos marcados con radionúclidos de vida media corta como el tecnecio, pueden utilizarse sin el resultado del ensayo de esterilidad, pero este se debe realizar como parte del control del proceso (54).

El procedimiento a seguir para la esterilización de los radiofármacos es igual al de los fármacos comunes, siendo de uso más frecuente en radiofarmacia, el tratamiento con calor húmedo y la filtración (4, 37).

El control de esterilidad se realiza según lo indicado en la farmacopea para las preparaciones parenterales, solo que utilizando volúmenes de inoculación más pequeños (0.1 - 0.2 ml) para reducir la exposición a la radiación. Otros métodos no oficiales se basan en la determinación de compuestos volátiles resultantes del metabolismo de diferentes especies bacterianas por cromatografía de gases o por medidas radiométricas (10, 13, 38).

3.- APIROGENICIDAD

Los pirógenos son, en su gran mayoría, endotoxinas, de tamaño entre 0.05-1 $\mu\text{m.}$, generalmente hidrosolubles y termoestables. Por ello la esterilidad no garantiza la apirogenicidad (54).

El método oficial del control se basa en la respuesta febril obtenida en conejos por administración de la sustancia a controlar (6, 29). Su uso en radiofarmacia tiene limitaciones, particularmente en preparaciones con radionúclidos de $T_{1/2}$ corta. Afortunadamente la determinación "in vitro" con el Lisado de Amebocitos de Limulus (LAL) para endotoxinas bacterianas, presenta mayor sensibilidad, rapidez y facilidad de realización, y es aplicable a productos radiactivos de vida media corta (17, 41, 44).

4.- BIODISTRIBUCIÓN EN ANIMALES DE LABORATORIO.

Los estudios de biodistribución en animales de experimentación deben ser un control de rutina en centros de producción de estuches de reactivos porque contribuyen en la determinación de su vida útil y sirven para evaluar la pureza radioquímica debido a que las impurezas presentan patrones de biodistribución diferente al radiofármaco y por lo tanto pueden ser fácilmente identificadas.

Paralelamente estos estudios son una etapa esencial para el establecimiento y eficacia de todo nuevo agente diagnóstico.

El objetivo de esta evaluación preclínica es determinar la utilidad en humanos a partir de resultados en modelos animales. Por ello la elección del modelo debe tener en cuenta las diferencias anatómicas y/o funcionales, además de otros factores menos importantes, como son el costo, facilidad de manejo y mantenimiento de los animales (54).

3.2 CONTROLES FISICOS Y FISICOQUIMICOS

1.- ASPECTO VISUAL

La apariencia y verificación de los atributos exigidos a una preparación es importante ya que su alteración puede reflejar cambios que influyan sobre su utilidad o eficacia (54).

2.- TAMAÑO Y NÚMERO DE PARTÍCULAS

En el caso de suspensiones, además de su aspecto, debe verificarse el tamaño y número de las partículas (43), por observación al microscopio empleando una cámara cuenta glóbulos. En preparaciones coloidales el control de tamaño puede efectuarse por filtración en gel, paso a través de la membrana o microscopía electrónica (54).

3.- DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD

Es la medida de la cantidad de radiactividad presente en una preparación. Se realiza con equipos de detección seleccionados en base al tipo y energía de la radiación emitida, siendo común el empleo de cámaras de ionización para la medición de radiofármacos marcados con emisores gamma (29, 54).

La actividad del radiofármaco a ser administrado en un paciente depende del radiofármaco, el propósito del estudio, y las características del paciente (12, 28).

4.- IDENTIDAD Y PUREZA RADIONUCLÍDICA

El uso seguro y eficaz de los radiofármacos requiere que presenten la mayor pureza desde el punto de vista radionuclídico (54).

Se define como pureza radionuclídica la relación de la actividad de un radionúclido dado respecto a la actividad total de la muestra, expresándose en términos de porcentaje (53).

La pureza radionuclídica no es un fenómeno estacionario sino que depende de los períodos de semidesintegración de las impurezas y del radionúclido de interés; generalmente se elige 99% de pureza radionuclídica al momento de ser utilizado el material, debido a que los contaminantes pueden causar error de dosificación, incremento de la radiación absorbida y/o error en el diagnóstico. (1, 23)

5.- pH

La importancia del valor del pH en productos radiofarmacéuticos está directamente relacionada con su estabilidad.

En caso de administración por vía endovenosa pueden ser toleradas grandes diferencias de pH por el efecto amortiguador de la sangre, lo que no sucede por vía intrarraquídea (11); sin embargo su determinación debe hacerse en todos los casos, a fin de corroborar el intervalo establecido para las preparaciones o revelar eventualmente anomalías.

Esta determinación por seguridad radiológica se efectúa generalmente con papel pH (54).

6.- ISOTONICIDAD.

En el caso de los radiofármacos que se administran por vía endovenosa, el volumen utilizado es tan pequeño que pueden tolerarse desviaciones importantes, sin tener inconvenientes. Sin embargo la isotonicidad es esencial para otras

pruebas como la marcación de glóbulos rojos.

El control se puede realizar por varios métodos, siendo los más prácticos aquellos que determinan la presión osmótica por medio del descenso crioscópico (54).

3.3 CONTROLES QUÍMICOS

1.- PUREZA QUÍMICA

Un radiofármaco debe contener sólo el producto químico deseado. La pureza química en radiofarmacia se refiere a la cantidad en que se presentan especies químicas indeseables tanto en la materias primas y accesorias empleadas en la preparación del radionúclido y/o fármacos como en el producto final (54).

Fundamentalmente se requiere que esté libre de impurezas químicas tóxicas, o que puedan alterar el comportamiento fisicoquímico y/o biológico del preparado (42).

2.- PUREZA RADIOQUÍMICA

Es el porcentaje de actividad del radionúclido en la forma química establecida en relación con la actividad total presente de dicho radionúclido.

Las impurezas radioquímicas pueden originarse como resultado de reacciones químicas competitivas durante el procedimiento de marcación, por descomposición química o radiolítica del producto final o por un cambio en el estado de oxidación de los radionúclidos.

La presencia de impurezas radioquímicas tiene gran importancia en radiofarmacia ya que presentan patrones de biodistribución diferentes al radiofármaco deseado y ello puede disminuir la calidad de la imagen, incrementar la dosis absorbida o causar problemas en la interpretación diagnóstica (54).

El análisis es frecuentemente llevado "in vitro" por medio de métodos cromatográficos en papel, capa fina, cromatografía líquida de alta resolución y filtración en gel o "in vivo" por biodistribución en animales.

Los límites de pureza radioquímica se establecen en función del uso específico de la preparación radiofarmacéutica y del comportamiento biológico de las impurezas (18, 19, 31, 45).

4.0 PROTEÍNAS PLASMÁTICAS

La biodistribución de los radiofármacos es afectada directamente por su unión a proteínas séricas y por tanto es importante determinar su porcentaje de unión. Debido a que la naturaleza de las proteínas y las características del plasma son algunos de los factores que más influyen sobre la unión a proteínas es necesario estudiarlas un poco más a fondo.

TABLA 3.2 PRINCIPALES FRACCIONES PROTEICAS DEL PLASMA

Proteína	Cantidad mg./ 100 ml	P.M. Daltones	Función
Seroalbúmina	3500-4500	66,000	Regulación del volumen de sangre, transporte de ácidos grasos.
α_1 - Globulinas	300-600	40,000-60,000	Transporte de lípidos, tiroxina, hormonas adrenocorticales
α_2 - Globulinas	400-900	100,000-400,000	Transporte de lípidos, cobre.
β - Globulinas	600-1100	110,000-120,000	Transporte de lípidos, hierro, hemos, actividad de anticuerpo.
γ -Globulinas	700-1500	150,000-200,000	La mayor parte de los anticuerpos que circulan.
Fibrinógeno	3000	340,000	Precursor de los coágulos de fibrina de la sangre
Protrombina	100	69,000	Precursor de la trombina, necesaria para la coagulación de la sangre

4.1 CARACTERÍSTICAS DEL PLASMA SANGUÍNEO.

La sangre es el vehículo para la comunicación metabólica entre los órganos del cuerpo, por lo tanto tiene una composición química muy compleja ya que es portadora de un gran número de elementos nutritivos, metabolitos, productos de eliminación, y iones inorgánicos que permiten establecer una interrelación y la integración del metabolismo de los diversos órganos.

La sangre en el sistema vascular de un ser humano adulto tiene un volumen de unos 5 a 6 litros, casi la mitad de este volumen esta ocupado por células.

La porción líquida es el plasma sanguíneo y está constituido en un 90% de agua y un 10 % de materia disuelta. Alrededor del 70% de los sólidos del plasma están constituidos por proteínas plasmáticas (Tabla 3.2), cerca del 20% por metabolitos orgánicos y el 10 % restante por sales inorgánicas (22).

4.2 UNIÓN DE LOS RADIOFÁRMACOS EN PROTEÍNAS SÉRICAS.

Todos los fármacos dentro del organismo se encuentran unidos a las proteínas séricas en distinto grado, la fracción del fármaco que se encuentra unida está determinada por la afinidad y el número de sitios de unión de las proteínas (22).

La proteína que se encuentra en mayor proporción dentro del plasma es la albúmina, la mayoría de los radiofármacos se unen a ella por lo que se usa como modelo frecuentemente para investigar la unión a proteínas séricas. La albúmina tiene un peso molecular de 66000 daltones aproximadamente, y cuenta con cerca de 100 cargas positivas y negativas en su punto isoeléctrico (pH=5), cada carga puede ser considerada como un sitio de unión. A pH plasmático (7.4) tiene carga neta negativa por lo que interacciona mejor con los cationes que con los aniones (5).

La unión de los radiofármacos en proteínas séricas es importante ya que generalmente es reversible y produce consecuencias como las siguientes:

1) La unión a proteínas séricas mantiene a los fármacos poco solubles disueltos en plasma sanguíneo y ayuda a transportarlos a la zona en que realizan su función (22, 35).

2) La fracción de los fármacos unida a las proteínas séricas es farmacológicamente inactiva, para los radiofármacos la fracción unida a las proteínas además de ser inactiva en la mayoría de los casos es indeseable porque produce una radiactividad de fondo que disminuye la calidad de la imagen gammagráfica.

3) La fracción de los radiofármacos unida a proteínas séricas se excreta con dificultad, debido a que las proteínas difícilmente atraviesan el glomérulo renal normal y quedan en circulación aumentando la dosis de radiación en el paciente.

4) La porción de los radiofármacos unidos a proteínas es difícil de captar por los tejidos y el líquido cefalorraquídeo, cuando estos no poseen un receptor específico, lo que ocasiona que el radiofármaco permanezca en circulación produciendo una radiactividad de fondo que disminuye la calidad de la imagen.

5) Una combinación proteica difícilmente tiene acceso a los lugares de metabolismo o biotransformación de los fármacos quedando así protegidos por algún tiempo, y ocasionado un aumento en la dosis de radiación.

La unión a proteínas plasmáticas esta influida por muchos factores como la carga del radiofármaco en solución, el pH, la naturaleza de la proteína, y la concentración de los aniones en el plasma, por lo que para cada radiofármaco existe un grado de unión a proteínas séricas apropiado de acuerdo con su solubilidad en plasma sanguíneo, mecanismo fisiológico de localización y función (49).

MATERIAL

EQUIPO Y APARATOS:

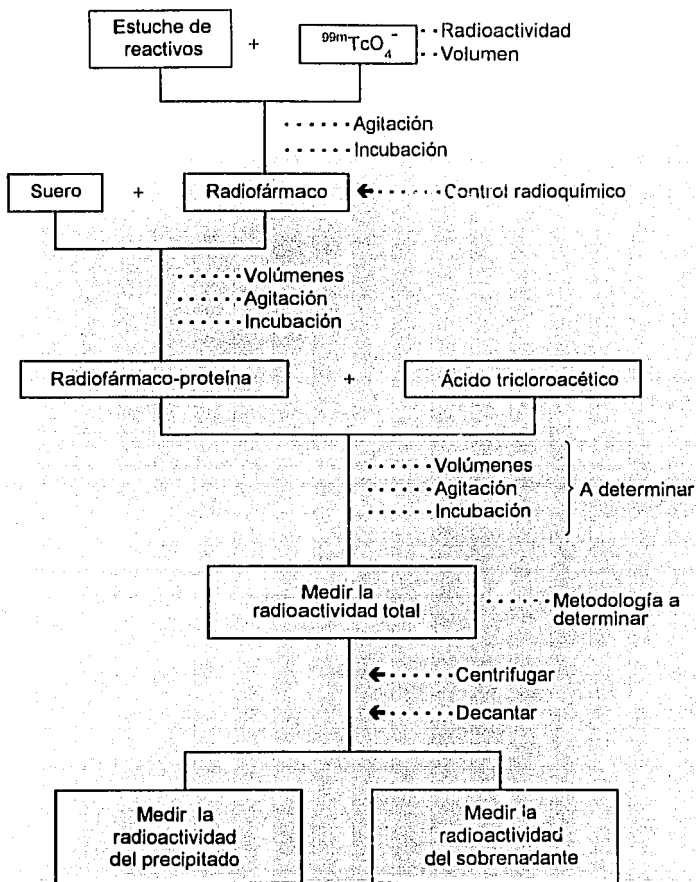
Calibrador de dosis, escala en mCi (Mediac, Nuclear Chicago)
Cámara de centelleo o gammacámara (Siemens)
Contador de cristal de centelleo tipo pozo. (Canberra)
Centrífuga (Internacional Equipment CO Boston Mass)
Generador de Tc. "Getec" del ININ
Potenciómetro (Corning)
Balanza Analítica (Mettler H35)

REACTIVOS (GRADO ANALÍTICO):

Ácido tricloroacético (Baker)
Cloruro de estaño II $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (Merck)
Solución isotónica de cloruro de sodio al 0.9% (PiSA)
Agua destilada estéril libre de pirogenos (PiSA)
Ácido clorhídrico (Merck)
Suero humano (mezcla de sueros de pacientes con concentraciones de proteínas normales)
Pertecneiato de sodio.
Seroalbúmina humana (HSA) al 25% (Pasteur Mérieux)
Estuche de reactivos de azufre coloidal
Estuche de reactivos de ácido dimercaptosuccínico (DMSA)
Ácido dimercaptosuccínico (v) (DMS)
Estuche de reactivos de ácido dietilentriaminopentacético (DTPA)
Estuche de reactivos de ácido N-[N'-(2,6-dimetilfenil) carbamoil metil] iminodiacético (HIDA)
Estuche de reactivos de macroagregados de Albúmina (MAA)
Estuche de reactivos de pirofosfato de sodio (PYP)
Estuche de reactivos de metilénbifosfonato (MDP)
Tecnecio reducido hidrolizado $\text{TcO}-(\text{OH})_n$
Acetona
Papel Whatman número 1.

V METODOLOGÍA

DIAGRAMA DE FLUJO DEL MÉTODO GENERAL PARA DETERMINAR LA UNIÓN DE UN RADIOFÁRMACO EN PROTEÍNAS SÉRICAS



$$\% \text{ de unión a proteínas} = \frac{\text{Radioactividad del precipitado}}{\text{Radioactividad total}} \times 100$$

Para establecer el método a ser utilizado en este trabajo se determinaron los factores mencionados en el diagrama anterior de la siguiente manera.

DETERMINACIÓN DEL VOLUMEN DEL ÁCIDO TRICLOROACÉTICO

Es necesario determinar la cantidad del ácido tricloroacético al 10% que debe agregarse a cada muestra, debido a que en la bibliografía solamente se menciona la concentración más no el volumen de ácido (49). Por lo que se realiza lo siguiente:

A 12 ml de una mezcla de sueros sanguíneos normales (analizados previamente por el laboratorio de química clínica) se le añade aproximadamente 3 ml de $^{99m}\text{Tc-MDP}$ (20 mCi). La mezcla se divide en varios tubos y se agrega ácido tricloroacético como se indica en la Tabla 5.1.

TABLA 5.1 Volúmenes de suero marcado con $^{99m}\text{Tc-MDP}$ y ácido tricloroacético agregados a cada tubo.

No. de tubo	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
Vol. de suero más $^{99m}\text{Tc-MDP}$ (ml)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.1	0.1	0.1
Vol. de Ácido tricloroacético (ml)	0.5	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	5.5	6	6.5	7.5	10	2.5	3	4

Se agita y centrifuga cada uno de los tubos, para separar el precipitado y medir su radiactividad.

VERIFICACIÓN DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS

Para comprobar que el porcentaje de radiactividad del precipitado no se debe al efecto de dilución por el aumento de volumen del ácido tricloroacético, se agregan diferentes volúmenes de ácido tricloroacético al 10%, 20%, 30% y ácido perclórico 1M y 2M a un volumen constante de suero marcado con $^{99m}\text{Tc-MDP}$ como se muestra en la Tabla 5.2, con el fin de trazar una curva con cada concentración y compararlas.

Tabla 5.2 Volumen del agente precipitante agregado a 1 ml. de suero marcado con ^{99m}Tc-MDP

Número de tubo	Agente Precipitante	Volumen del Suero + ^{99m} Tc-MDP	Volumen del	Agente precipitante	Concentración final del Agente precipitante en la muestra (µmol/l)
			Agente precipitante (ml)	agregado a la muestra (gr)	
1	TCA 10%	1 (ml)	1,00	0,10	0,31
2	TCA 10%	1 (ml)	2,00	0,20	0,41
3	TCA 10%	1 (ml)	3,00	0,30	0,48
4	TCA 10%	1 (ml)	5,00	0,50	0,51
5	TCA 10%	1 (ml)	10,00	1,00	0,56
6	TCA 10%	1 (ml)	15,00	1,50	0,57
7	TCA 20%	1 (ml)	0,50	0,10	0,41
8	TCA 20%	1 (ml)	1,00	0,20	0,61
9	TCA 20%	1 (ml)	1,50	0,30	0,73
10	TCA 20%	1 (ml)	2,50	0,50	0,87
11	TCA 20%	1 (ml)	5,00	1,00	1,02
12	TCA 20%	1 (ml)	7,50	1,50	1,08
13	TCA 30%	1 (ml)	0,33	0,10	0,46
14	TCA 30%	1 (ml)	0,66	0,20	0,74
15	TCA 30%	1 (ml)	1,00	0,30	0,82
16	TCA 30%	1 (ml)	1,60	0,50	1,18
17	TCA 30%	1 (ml)	3,30	1,00	1,42
18	TCA 30%	1 (ml)	5,00	1,50	1,53
19	Perclórico 1M	1 (ml)	1,00	0,10	0,50
20	Perclórico 1M	1 (ml)	2,00	0,20	0,67
21	Perclórico 1M	1 (ml)	5,00	0,50	0,83
22	Perclórico 1M	1 (ml)	10,00	1,00	0,91
23	Perclórico 1M	1 (ml)	15,00	1,50	0,94
24	Perclórico 1M	1 (ml)	20,00	2,00	0,95
25	Perclórico 1M	1 (ml)	25,00	2,50	0,96
26	Perclórico 1M	1 (ml)	30,00	3,00	0,97
27	Perclórico 2M	1 (ml)	1,00	0,20	1,00
28	Perclórico 2M	1 (ml)	2,00	0,40	1,33
29	Perclórico 2M	1 (ml)	5,00	1,00	1,66
30	Perclórico 2M	1 (ml)	10,00	2,00	1,82
31	Perclórico 2M	1 (ml)	20,00	4,00	1,90

DETERMINACIÓN DE VOLÚMENES DE TRABAJO

Una vez establecida la cantidad del ácido tricloroacético necesario para precipitar completamente una muestra, se procede a determinar los volúmenes de trabajo de las muestras.

El volumen óptimo a utilizarse en los experimentos, debe ser lo más pequeño posible, sin dejar de ser práctico y fácil de manejar. Para determinarlo se varía el volumen final de la muestra, manteniendo siempre la relación 1:10 suero marcado / ácido tricloroacético.

El experimento se realiza de la siguiente forma:

Se marcan 20 ml de suero sanguíneo humano con una concentración de proteínas normales con 2 ml de MDP que contienen aproximadamente 5 mCi, se divide en varios tubos y se agrega ácido tricloroacético como se muestra en la Tabla 5.3.

Tabla 5.3 Determinación de volúmenes de trabajo

No. de tubo (n=5)	1	2	3
Suero + 99mTc-MDP (ml)	0.1	0.5	1
Vol. de ácido tricloroacético (ml)	1.0	5.0	10.0
Vol. total de la muestra (ml)	1.1	5.5	11

Se agita, centrifuga, separa el precipitado del sobrenadante, y se calcula el porcentaje de radiactividad en el precipitado.

PROCEDIMIENTO A SEGUIR PARA LA MEDICIÓN DE LA UNIÓN DE LOS RADIOFARMACOS A PROTEÍNAS SÉRICAS

Del generador de 99Mo-99mTc se eluye el pertechnetato de sodio en frascos estériles al vacío.

a) Agregar al frasco que contiene el estuche de reactivos (kit) 1 ml de pertechnetato de sodio, que contenga de 10-12 mCi de radiactividad, con una jeringa desechable.

b) Agitar y dejar reposar unos segundos para asegurar la formación del complejo.

c) Hacer un control radioquímico por cromatografía ascendente en papel filtro utilizando acetona como eluyente. Observar la cromatografía en la gammacamara.

d) Una vez comprobado que no existen impurezas radioquímicas agregar a 3 ml de la mezcla de sueros sanguíneos 1 ml del radiofármaco, que contenga una radiactividad aproximada a 10 mCi, agitar y dejar reposar por 5 min.

e) Tomar cinco alícuotas de 0.5 ml de la mezcla anterior y colocarlas en tubos de ensayo.

f) Agregar 5 ml de ácido tricloroacético al 10% a cada uno los tubos y agitar para que toda la muestra se ponga en contacto con el ácido.

g) Centrifugar 15 min. a 3000 revoluciones para separar el precipitado formado.

h) Medir la radiactividad total de la muestra en el calibrador de dosis.

i) Decantar el sobrenadante, medir la radiactividad del precipitado y la del sobrenadante en el calibrador de dosis.

j) Medir la radiactividad del medio ambiente y restársela a los resultados anteriores para obtener la radiactividad neta de cada uno.

k) Debido a que el calibrador de dosis mide la radiactividad con respecto al volumen se debe multiplicar la radiactividad del precipitado neta por el factor 0.98 para igualar los volúmenes.

l) Con los valores de la radiactividad total neta y la radiactividad del precipitado multiplicada por el factor, calcular el porcentaje de radiactividad en el precipitado, que representa el porcentaje de unión del radiofármaco en las proteínas séricas.

Para determinar la eficacia del método se realizaron al mismo tiempo pruebas con ^{99m}Tc -seroalbúmina humana y con ^{99m}Tc -macroagregados de albúmina, otros dos radiofármacos utilizados en INNSZ que sirvieron como controles, debido a que se encuentran en su mayor parte constituidos por albúmina, que en presencia del ácido tricloroacético precipita, obteniéndose más del 90% de la radiactividad en el precipitado.

Dentro de los experimentos realizados se incluyó el Tc reducido hidrolizado para utilizarlo como control de pureza.

Los radiofármacos analizados fueron :

^{99m}Tc -Metilendifosfonato (^{99m}Tc -MDP)

^{99m}Tc -Azufre coloidal

^{99m}Tc -Ácido dietilentriaminopentacético (^{99m}Tc -DTPA)

^{99m}Tc -Ácido N-[N'-(2,6-dimetilfenil)carbamoyl-metil]iminodiacético (^{99m}Tc -HIDA)

^{99m}Tc -Ácido dimercaptosuccínico (^{99m}Tc -DMSA)

Pertecneciato de sodio ($^{99m}\text{TcO}_4^-$)

^{99m}Tc -Pirofosfato de sodio (^{99m}Tc -PYP)

^{99m}Tc -Macroagregados de Albúmina (^{99m}Tc -MAA)

Tecnecio reducido hidrolizado $\text{TcO}-(\text{OH})_n$

Seroalbúmina humana (HSA)

^{99m}Tc -Ácido dimercaptosuccínico preparado en medio básico [^{99m}Tc -DMSA(V)]

VI RESULTADOS

DETERMINACIÓN DE VOLÚMENES

Al determinar la cantidad del ácido tricloroacético al 10% que se debería agregar a cada muestra se obtuvieron los resultados que se muestran en la Figura 5.1, donde se observa que con volúmenes desde 9 ml de ácido tricloroacético, el porcentaje de la radiactividad en el precipitado se estabiliza y la meseta prácticamente continúa hasta la concentración 1:40.

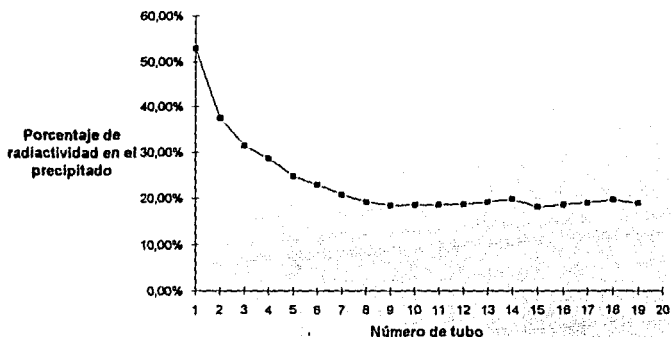


Figura 5.1 Porcentaje de la radiactividad en el precipitado obtenido al agregar diferentes volúmenes de ácido tricloroacético.

VERIFICACIÓN DE LOS RESULTADOS

Para probar que la disminución en el porcentaje de radiactividad del precipitado no se debe al efecto de dilución por el aumento de volumen, se agregaron diferentes volúmenes de ácido tricloroacético y ácido perclórico a diferentes concentraciones a un volumen constante de suero marcado con ^{99m}Tc -MDP obteniéndose los resultados que se encuentran graficados en la figura 5.2.

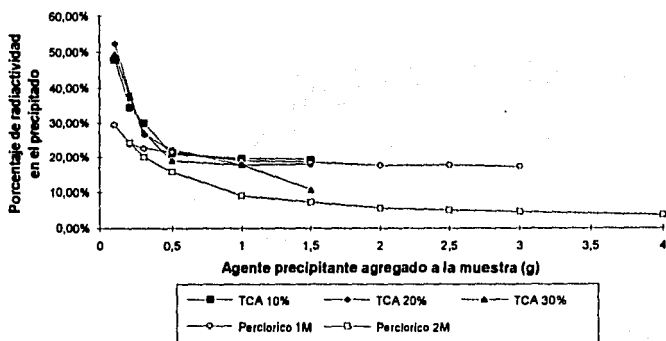


Figura 5.2 Comparación del porcentaje de radiactividad en el precipitado obtenido al agregar diferentes volúmenes de algunos agentes precipitantes.

DETERMINACIÓN DEL VOLUMEN DE TRABAJO

Establecida la cantidad del ácido tricloroacético necesario para precipitar completamente una muestra, se determinan los volúmenes de trabajo variando el volumen final de la muestra, pero manteniendo siempre la relación 1:10 suero marcado/ácido tricloroacético.

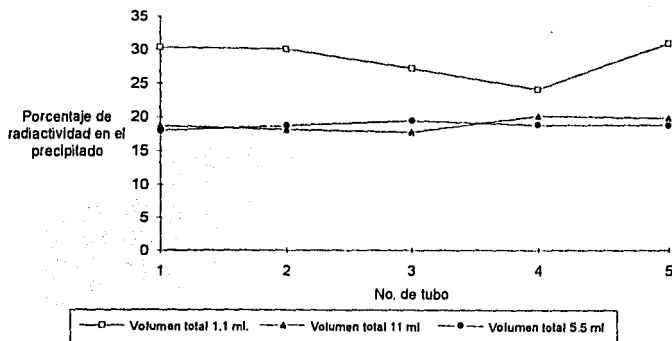


Figura 5.3 Resultados del porcentaje de radiactividad en el precipitado manteniendo la relación 1:10 suero marcado : ácido tricloroacético y variando el volumen final de la muestra

Los resultados se muestran en la Figura 5.3 donde se observa que no existe mucha diferencia entre los valores obtenidos utilizando 5.5 y 11 ml como volumen final, sin embargo cuando se utiliza 1.1 ml el porcentaje de radiactividad en el precipitado se eleva casi al doble.

RESULTADOS DE LOS RADIOFÁRMACOS ANALIZADOS

Al hacer la determinación de la unión en proteínas séricas de los radiofármacos producidos en el INNSZ y los comerciales se obtuvieron los resultados que se muestran en la tablas 6.01 - 6.11, donde se encuentran las columnas encabezadas como sigue:

Muestra: Se refiere al numero de muestras analizadas

Número de suero: Para comprobar la validez de los resultados se utilizaron 3 mezclas diferentes de sueros, todos ellos fueron analizados anteriormente por el laboratorio de química clínica y resultaron normales para concentración de proteínas. En número en la tabla se refiere al número de suero utilizado.

Fecha: la fecha en la que se realizo la determinación.

Rad. total neta (mCi): Se refiere a la radiactividad total de la muestra menos la radiactividad del medio ambiente.

Rad. del pp neta (mCi): se refiere a la radiactividad medida en el precipitado menos la radiactividad del medio ambiente.

Rad. del pp neta por 0.98 (mCi): Como el calibrador de dosis mide la radiactividad con respecto al volumen de la muestra, es necesario multiplicar por un factor para igualar los volúmenes. Estos factores se encuentran contenidos en el manual del aparato.

Porcentaje de unión a proteínas séricas: Es igual al porcentaje de radiactividad en el precipitado y se calcula con la siguiente formula.

$$\text{Unión Proteinas} = \frac{\text{Radiactividad en el precipitado} \times 9.8}{\text{Radiactividad total}} \times 100$$

Media: Es el promedio de las muestras

Desviación estándar de la las muestras

Variabilidad de las muestras.

TABLA 6.01 RESULTADOS DEL 99mTc-MDP

ELABORADO EN EL INNSZ

Muestra	Número de suero	Fecha	Rad. total neta (mCi)	Rad. del pp neta (mCi)	Rad. del pp neta por 0.98 (mCi)	% de Unión a proteínas	Media	Desviación Estándar	Variabilidad
1	1	18/05/94	3,560	0,702	0,688	19,32	18,35%	1,91	0,037
2	1	18/05/94	3,314	0,632	0,620	18,72			
3	1	18/05/94	3,454	0,645	0,632	18,30			
4	1	18/05/94	3,514	0,739	0,724	20,60			
5	1	18/05/94	3,444	0,713	0,699	20,29			
6	1	18/05/94	1,743	0,331	0,325	18,62			
7	1	18/05/94	1,813	0,357	0,350	19,31			
8	1	18/05/94	1,703	0,347	0,340	19,99			
9	1	18/05/94	1,693	0,332	0,326	19,23			
10	1	18/05/94	1,664	0,327	0,320	19,24			
11	1	25/05/94	2,148	0,359	0,352	16,38			
12	1	25/05/94	2,270	0,363	0,356	15,67			
13	1	25/05/94	2,160	0,387	0,379	17,55			
14	1	25/05/94	1,970	0,384	0,376	19,10			
15	1	25/05/94	1,840	0,317	0,311	16,88			
16	1	1/06/94	1,572	0,349	0,342	21,76			
17	1	1/06/94	1,441	0,312	0,306	21,22			
18	1	1/06/94	1,531	0,356	0,349	22,79			
19	1	1/06/94	1,711	0,370	0,363	21,19			
20	1	1/06/94	1,621	0,360	0,353	21,76			
21	2	9/06/94	2,412	0,440	0,432	17,89			
22	2	9/06/94	1,873	0,306	0,300	16,01			
23	2	9/06/94	2,294	0,412	0,403	17,58			
24	2	9/06/94	2,284	0,410	0,401	17,58			
25	2	9/06/94	2,164	0,387	0,380	17,54			
26	2	9/06/94	1,874	0,317	0,310	16,57			
27	2	9/06/94	1,884	0,314	0,307	16,32			
28	2	9/06/94	1,883	0,313	0,307	16,29			
29	2	9/06/94	1,934	0,312	0,305	16,04			
30	2	9/06/94	1,964	0,342	0,335	17,04			
31	2	9/06/94	2,233	0,387	0,379	16,99			
32	2	9/06/94	2,213	0,404	0,396	17,81			
33	2	9/06/94	2,164	0,366	0,358	16,56			
34	2	9/06/94	2,215	0,387	0,379	17,10			
35	2	9/06/94	2,153	0,368	0,361	16,76			

COMERCIAL

Número de muestra	Rad. total neta (mCi)	Rad. del pp neta (mCi)	Rad. del pp neta por 0.98 (mCi)	% de Unión a proteínas	Media	Desviación Estándar	Variabilidad
1	1,130	0,208	0,204	18,02	18,46%	0,66	0,005
2	1,190	0,222	0,217	18,25			
3	1,179	0,233	0,229	19,39			
4	1,209	0,218	0,214	17,70			
5	1,119	0,216	0,212	18,85			

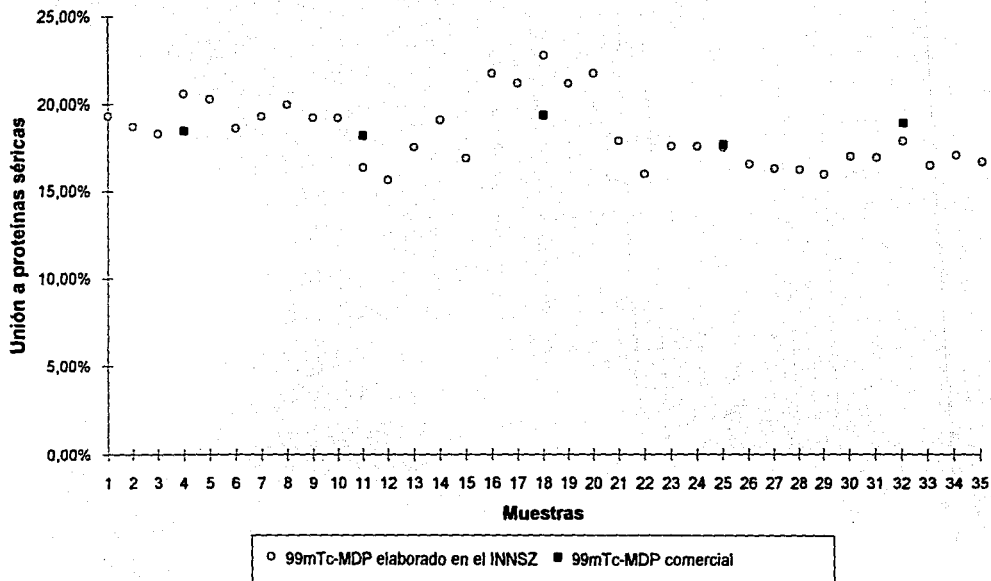


FIGURA 6.01 Porcentaje de unión en proteínas séricas del ^{99m}Tc -MDP

TABLA 6.02 RESULTADOS DEL 99mTc-AZUFRE COLOIDAL

ELABORADO EN EL INNSZ

Muestra	Número de suero	Fecha	Rad. total neta (mCi)	Rad. del pp neta (mCi)	Rad. del pp neta por 0.98 (mCi)	% de Unión a proteínas	Media	Desviación Estándar	Variabilidad
1	1	25/05/94	0.940	0.900	0.882	93.83	95.57%	1.60	0.026
2	1	25/05/94	0.930	0.910	0.892	95.89			
3	1	25/05/94	0.910	0.910	0.892	98.00			
4	1	25/05/94	0.850	0.840	0.823	96.85			
5	1	26/05/94	1.018	0.978	0.958	94.15			
6	1	26/05/94	0.701	0.692	0.678	96.74			
7	1	26/05/94	0.653	0.649	0.636	97.40			
8	1	26/05/94	0.536	0.526	0.515	96.17			
9	1	26/05/94	0.372	0.367	0.360	96.68			
10	1	26/05/94	0.399	0.385	0.377	94.56			
11	1	26/05/94	0.500	0.493	0.483	96.63			
12	1	26/05/94	0.501	0.496	0.486	97.02			
13	1	26/05/94	0.455	0.452	0.443	95.26			
14	1	27/05/94	1.572	1.542	1.511	96.13			
15	1	27/05/94	1.431	1.421	1.393	97.32			
16	1	27/05/94	1.432	1.402	1.374	95.95			
17	1	27/05/94	1.441	1.401	1.373	95.28			
18	2	8/06/94	0.475	0.483	0.474	99.65			
19	2	8/06/94	0.501	0.496	0.488	97.41			
20	2	8/06/94	0.513	0.509	0.498	97.24			
21	2	8/06/94	0.508	0.504	0.494	97.23			
22	2	8/06/94	0.499	0.504	0.494	98.98			
23	2	8/06/94	0.370	0.352	0.345	93.20			
24	2	8/06/94	0.369	0.370	0.362	98.27			
25	2	8/06/94	0.359	0.354	0.357	99.37			
26	2	8/06/94	0.362	0.357	0.349	95.64			
27	2	8/06/94	0.356	0.341	0.335	83.88			
28	2	8/06/94	0.342	0.337	0.330	96.57			
29	2	8/06/94	0.365	0.358	0.351	96.12			
30	2	8/06/94	0.369	0.361	0.354	95.88			
31	2	8/06/94	0.350	0.351	0.354	98.27			
32	2	8/06/94	0.366	0.364	0.356	97.45			
33	3	21/05/94	0.185	0.186	0.182	98.53			
34	3	21/05/94	0.173	0.172	0.169	97.43			
35	3	21/05/94	0.184	0.175	0.172	93.21			
36	3	21/05/94	0.195	0.193	0.189	96.99			
37	3	21/05/94	0.190	0.188	0.184	96.97			

COMERCIAL

Número de muestra	Rad. total neta (mCi)	Rad. del pp neta (mCi)	Rad. del pp neta por 0.98 (mCi)	% de Unión a proteínas	Media	Desviación Estándar	Variabilidad
1	0.7354	0.7364	0.722	98.13	95.51%	1.30	0.017
2	0.7417	0.7267	0.712	96.02			
3	0.7523	0.7393	0.725	95.04			
4	0.7445	0.7225	0.708	95.10			
5	0.7666	0.7649	0.750	96.26			

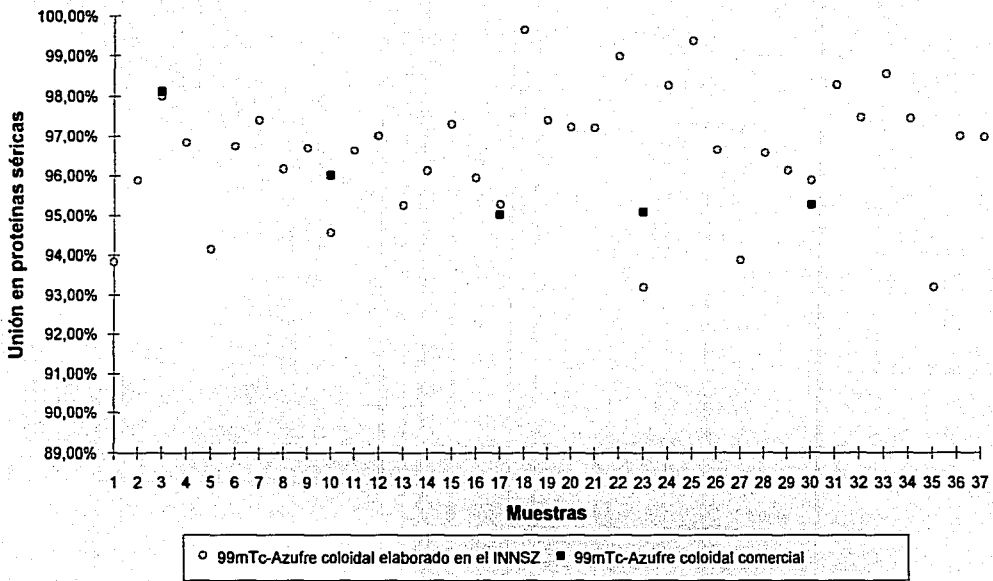


FIGURA 6.02 Porcentaje de unión en proteínas séricas del ^{99m}Tc-Azulfre Coloidal

TABLA 6.03 RESULTADOS DEL 99mTc-DTPA

ELABORADO EN EL INNSZ

Muestra	Número de suero	Fecha	Rad. total neta (mCi)	Rad. del pp neta (mCi)	Rad. del pp neta por 0.98 (mCi)	% de Unión a proteínas	Media	Desviación Estándar	Variabilidad
1	1	19/05/93	3.490	0.343	0.336	9.63	11.45%	1.06	0.611
2	1	19/05/93	3.030	0.301	0.295	9.74			
3	1	19/05/93	3.710	0.392	0.384	10.35			
4	1	27/05/94	2.392	0.256	0.251	10.49			
5	1	27/05/94	3.233	0.377	0.369	11.43			
6	1	27/05/94	3.293	0.403	0.395	11.99			
7	1	27/05/94	3.332	0.403	0.395	11.85			
8	1	27/05/94	3.273	0.391	0.383	11.71			
9	1	27/05/94	0.798	0.084	0.082	10.30			
10	1	27/05/94	0.775	0.079	0.077	9.99			
11	1	27/05/94	0.832	0.085	0.083	10.01			
12	1	27/05/94	0.812	0.083	0.081	10.02			
13	1	27/05/94	0.763	0.081	0.079	10.40			
14	2	9/06/94	1.383	0.168	0.165	11.90			
15	2	9/06/94	1.374	0.171	0.168	12.20			
16	2	9/06/94	1.363	0.176	0.172	12.65			
17	2	9/06/94	1.393	0.168	0.165	11.82			
18	2	9/06/94	1.303	0.155	0.152	11.66			
19	3	20/06/94	0.642	0.072	0.071	10.99			
20	3	20/06/94	0.649	0.086	0.084	12.99			
21	3	20/06/94	0.703	0.080	0.078	11.15			
22	3	20/06/94	0.566	0.066	0.065	11.43			
23	3	20/06/94	0.640	0.070	0.069	10.72			
24	3	20/06/94	0.692	0.090	0.088	12.75			
25	3	20/06/94	0.700	0.093	0.091	13.02			
26	3	20/06/94	0.701	0.087	0.085	12.16			
27	3	20/06/94	0.681	0.081	0.079	11.66			
28	3	20/06/94	0.666	0.080	0.078	11.77			
29	3	20/06/94	0.692	0.081	0.079	11.47			
30	3	20/06/94	0.800	0.111	0.109	13.60			
31	3	20/06/94	0.707	0.093	0.091	12.89			
32	3	20/06/94	0.831	0.100	0.098	11.79			
33	3	20/06/94	0.787	0.101	0.099	12.58			

COMERCIAL

Número de muestra	Rad. total neta (mCi)	Rad. del pp neta (mCi)	Rad. del pp neta por 0.98 (mCi)	% de Unión a proteínas	Media	Desviación Estándar	Variabilidad
1	1.087	0.134	0.132	12.10	12.02%	0.36	0.061
2	1.128	0.143	0.140	12.41			
3	1.128	0.141	0.138	12.27			
4	1.148	0.134	0.131	11.43			
5	1.136	0.138	0.136	11.90			

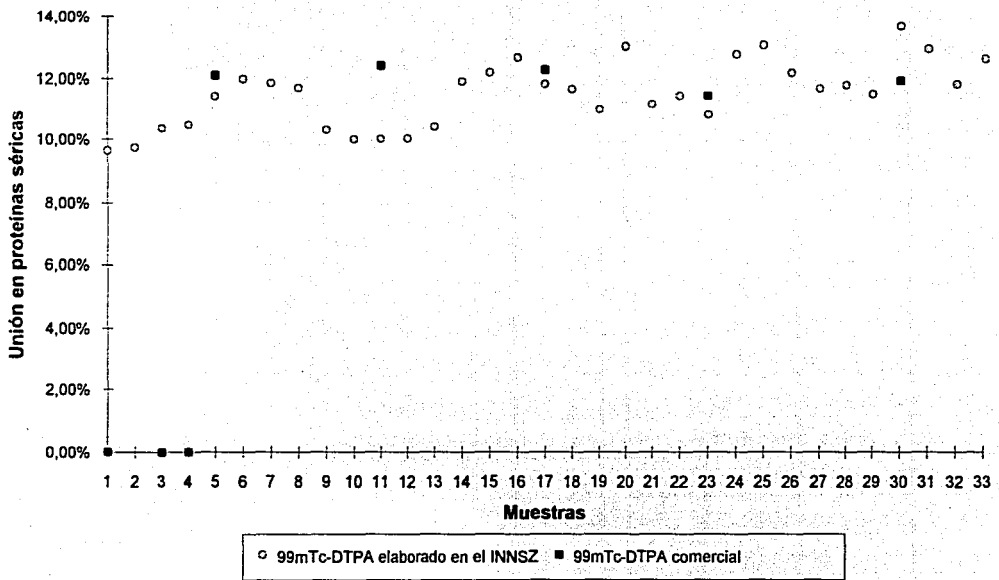


FIGURA 6.03 Porcentaje de unión en proteínas séricas del ^{99m}Tc-DTPA

TABLA 6.04 RESULTADOS DEL 99mTc-HIDA

ELABORADO EN EL INNSZ

Muestra	Número de suero	Fecha	Rad. total neta (mCi)	Rad. del pp neta (mCi)	Rad. del pp neta por 0.98 (mCi)	% de Unión a proteínas	Media	Desviación Estándar	Varabilidad
1	1	6/06/94	0.654	0.453	0.443	67.86	70.56%	2.48	0.062
2	1	6/06/94	0.822	0.594	0.582	70.81			
3	1	6/06/94	0.831	0.606	0.594	71.47			
4	1	6/06/94	0.834	0.610	0.598	71.68			
5	1	6/06/94	0.833	0.584	0.572	68.71			
6	1	6/06/94	0.666	0.460	0.451	67.67			
7	1	6/06/94	0.686	0.499	0.489	71.28			
8	1	6/06/94	0.703	0.524	0.514	73.05			
9	1	6/06/94	0.718	0.511	0.501	69.75			
10	1	6/06/94	0.729	0.537	0.526	72.19			
11	1	6/06/94	0.546	0.398	0.390	71.42			
12	1	6/06/94	0.564	0.427	0.418	74.19			
13	1	6/06/94	0.508	0.362	0.355	69.82			
14	1	6/06/94	0.514	0.390	0.382	74.35			
15	1	6/06/94	0.560	0.418	0.410	73.16			
16	2	7/06/94	0.865	0.598	0.576	66.62			
17	2	7/06/94	0.874	0.644	0.632	72.26			
18	2	7/06/94	0.866	0.609	0.597	68.93			
19	2	7/06/94	0.847	0.613	0.600	70.91			
20	2	7/06/94	0.734	0.488	0.478	65.16			

COMERCIAL

Número de muestra	Rad. total neta (mCi)	Rad. del pp neta (mCi)	Rad. del pp neta por 0.98 (mCi)	% de Unión a proteínas	Media	Desviación Estándar	Varabilidad
1	1.277	0.931	0.912	71.44	72.33%	1.75	0.031
2	1.306	0.946	0.927	70.99			
3	1.286	0.939	0.920	71.56			
4	1.336	0.986	0.966	72.32			
5	1.246	0.958	0.939	75.35			

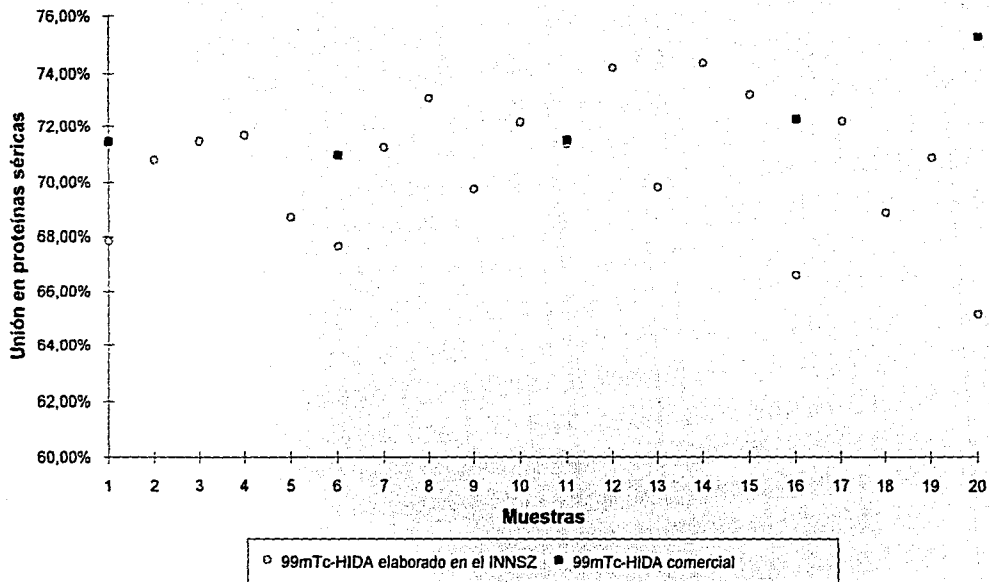


FIGURA 6.04 Porcentaje de unión en proteínas séricas del ^{99m}Tc-HIDA

TABLA 6.05 RESULTADOS DEL 99mTc-DMSA

ELABORADO EN EL INNSZ

Muestra	Número de suero	Fecha	Rad. total neta (mCi)	Rad. del pp neta (mCi)	Rad. del pp neta por 0.98 (mCi)	% de Unión a proteínas	Media	Desviación Estándar	Variabilidad
1	1	30/05/94	0.170	0.160	0.157	92.24	70.46%	18.15	3.294
2	1	30/05/94	0.092	0.089	0.087	94.80			
3	1	30/05/94	0.188	0.144	0.141	84.00			
4	1	30/05/94	0.138	0.130	0.127	92.32			
5	1	30/05/94	0.078	0.075	0.074	94.23			
6	1	30/05/94	0.171	0.159	0.156	91.12			
7	1	30/05/94	0.174	0.161	0.158	90.88			
8	1	30/05/94	0.185	0.173	0.170	91.64			
9	1	30/05/94	0.178	0.164	0.161	90.29			
10	1	31/05/94	1.809	1.569	1.538	85.00			
11	1	31/05/94	1.809	1.519	1.489	82.29			
12	1	31/05/94	1.828	1.538	1.507	82.45			
13	1	31/05/94	1.718	1.458	1.429	83.17			
14	1	31/05/94	1.839	1.529	1.498	81.48			
15	1	3/06/94	0.477	0.399	0.391	81.99			
16	1	3/06/94	0.523	0.452	0.443	84.70			
17	1	3/06/94	0.505	0.438	0.429	84.99			
18	1	3/06/94	0.460	0.394	0.386	83.94			
19	1	3/06/94	0.504	0.434	0.425	84.38			
20	1	6/06/94	0.785	0.440	0.431	54.86			
21	1	6/06/94	0.816	0.460	0.451	55.25			
22	1	6/06/94	0.912	0.499	0.486	53.30			
23	1	6/06/94	0.809	0.455	0.445	55.12			
24	1	6/06/94	0.729	0.379	0.371	50.95			
25	1	3/06/94	0.270	0.218	0.214	79.14			
26	1	3/06/94	0.307	0.255	0.249	81.37			
27	1	3/06/94	0.292	0.251	0.246	84.24			
28	1	3/06/94	0.280	0.228	0.223	79.78			
29	1	3/06/94	0.251	0.206	0.202	80.42			
30	2	13/06/94	0.560	0.407	0.399	71.22			
31	2	13/06/94	0.598	0.456	0.446	74.67			
32	2	13/06/94	0.602	0.441	0.432	71.77			
33	2	13/06/94	0.623	0.476	0.466	74.86			
34	2	13/06/94	0.564	0.464	0.455	76.56			
35	2	13/06/94	0.626	0.354	0.347	55.41			
36	2	13/06/94	0.647	0.370	0.362	56.02			
37	2	13/06/94	0.658	0.413	0.405	61.51			
38	2	13/06/94	0.5869	0.3619	0.355	60.43			
39	2	13/06/94	0.5708	0.3578	0.351	61.43			
40	2	13/06/94	0.579	0.3119	0.306	52.79			
41	2	13/06/94	0.6012	0.3562	0.349	58.06			
42	2	13/06/94	0.601	0.374	0.367	61.00			
43	2	13/06/94	0.598	0.362	0.355	59.32			
44	2	13/06/94	0.651	0.363	0.356	54.67			

TABLA 6.05 RESULTADOS DEL 99mTc-DMSA (Cont.)

ELABORADO EN EL INNSZ									
Muestra	Número de	Fecha	Rad. total neta (mCi)	Rad. del pp neta (mCi)	Rad. del pp neta por 0.98 (mCi)	% de Unión a proteínas			
45	3	22/06/94	0.702	0.240	0.236	33.54			
46	3	22/06/94	0.563	0.182	0.176	31.68			
47	3	22/06/94	0.616	0.224	0.219	35.49			
48	3	22/06/94	0.567	0.204	0.200	34.06			
49	3	22/06/94	0.5438	0.2098	0.206	37.81			
COMERCIAL									
	Número de muestra		Rad. total neta (mCi)	Rad. del pp neta (mCi)	Rad. del pp neta por 0.98 (mCi)	% de Unión a proteínas	Media	Desviación Estándar	Vanabilidad
	1		1.0893	0.9593	0.979	89.90	89.18%	1.37	0.019
	2		1.1288	1.0186	0.998	88.45			
	3		1.109	1.009	0.989	89.16			
	4		1.1185	1.0385	1.018	90.99			
	5		1.109	0.989	0.969	87.40			

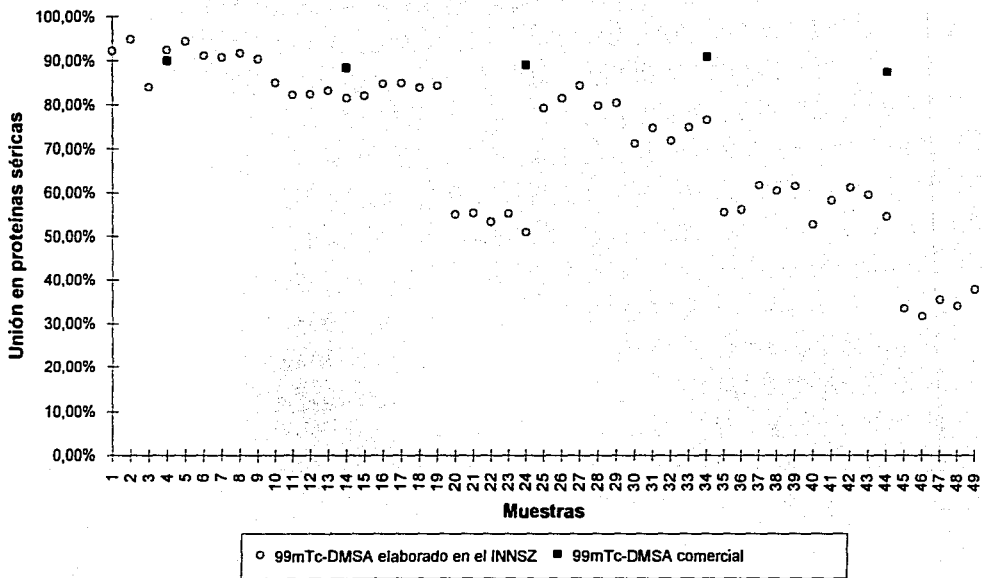


FIGURA 6.05 Porcentaje de unión en proteínas séricas del ^{99m}Tc -DMSA

TABLA 6.06 RESULTADOS DEL 99mTcO4

NACIONAL									
Muestra	Número de suero	Fecha	Rad. total neta (mCi)	Rad. del pp neta (mCi)	Rad. del pp neta por 0.98 (mCi)	% de Unión a proteínas	Media	Desviación Estándar	Variabilidad
1	1	25/05/94	2,531	0,316	0,310	12,24	11,65%	1,47	0,021
2	1	25/05/94	2,731	0,35	0,343	12,56			
3	1	25/05/94	2,821	0,378	0,370	13,13			
4	1	25/05/94	2,961	0,425	0,417	14,07			
5	1	25/05/94	2,791	0,413	0,405	14,50			
6	1	27/05/94	0,355	0,037	0,036	10,21			
7	1	27/05/94	0,392	0,040	0,039	10,00			
8	1	27/05/94	0,403	0,040	0,039	9,73			
9	1	27/05/94	0,399	0,041	0,040	10,07			
10	1	27/05/94	0,427	0,046	0,045	10,56			
11	1	30/05/94	2,557	0,271	0,266	10,39			
12	1	30/05/94	1,218	0,127	0,124	10,22			
13	1	30/05/94	2,509	0,299	0,293	11,68			
14	1	30/05/94	3,127	0,366	0,359	11,47			
15	1	6/06/94	4,870	0,550	0,539	11,07			
16	1	6/06/94	4,661	0,543	0,532	11,42			
17	1	6/06/94	4,721	0,579	0,568	12,02			
18	1	6/06/94	4,121	0,460	0,451	10,94			
19	1	6/06/94	3,690	0,379	0,371	10,05			
20	1	6/06/94	1,860	0,211	0,207	11,12			
21	1	6/06/94	1,780	0,198	0,194	10,91			
22	1	6/06/94	1,710	0,187	0,183	10,70			
23	1	6/06/94	1,779	0,197	0,193	10,85			
24	1	6/06/94	1,879	0,212	0,208	11,07			
25	1	7/06/94	0,446	0,057	0,056	12,49			
26	1	7/06/94	0,461	0,055	0,054	11,64			
27	1	7/06/94	0,458	0,053	0,052	11,40			
28	1	7/06/94	0,463	0,053	0,052	11,29			
29	1	7/06/94	0,456	0,054	0,052	11,51			
30	2	8/06/94	1,620	0,232	0,227	14,02			
31	2	8/06/94	1,560	0,238	0,233	14,96			
32	2	8/06/94	1,601	0,246	0,241	15,08			
33	2	8/06/94	1,562	0,230	0,226	14,45			
34	2	9/06/94	0,663	0,070	0,069	10,39			
35	2	9/06/94	0,643	0,067	0,066	10,20			
36	2	9/06/94	0,652	0,095	0,093	14,30			
37	2	9/06/94	0,648	0,074	0,073	11,19			
38	2	9/06/94	0,612	0,075	0,073	11,95			
39	2	9/06/94	1,863	0,205	0,201	10,79			
40	2	9/06/94	1,983	0,224	0,220	11,09			
41	2	9/06/94	1,973	0,217	0,213	10,78			
42	2	9/06/94	1,933	0,226	0,222	11,47			
43	2	9/06/94	1,854	0,206	0,201	10,81			

TABLA 6.06 RESULTADOS DEL 99mTcO4 (Cont.)

EXTRANJERO								
	Número de muestra	Rad. total neta (mCi)	Rad. del pp. neta (mCi)	Rad. del pp. neta por 0.98 (mCi)	% de Unión a proteínas	Media	Desviación Estándar	Varabilidad
	1	0.592	0.082	0.081	13.53	13.06%	0.86	0.007
	2	0.613	0.083	0.081	13.19			
	3	0.590	0.073	0.072	12.15			
	4	0.616	0.092	0.090	14.57			
	5	0.604	0.078	0.077	12.70			
	6	0.625	0.082	0.080	12.84			
	7	0.621	0.080	0.079	12.67			
	8	0.616	0.075	0.073	11.89			
	9	0.624	0.089	0.087	13.94			

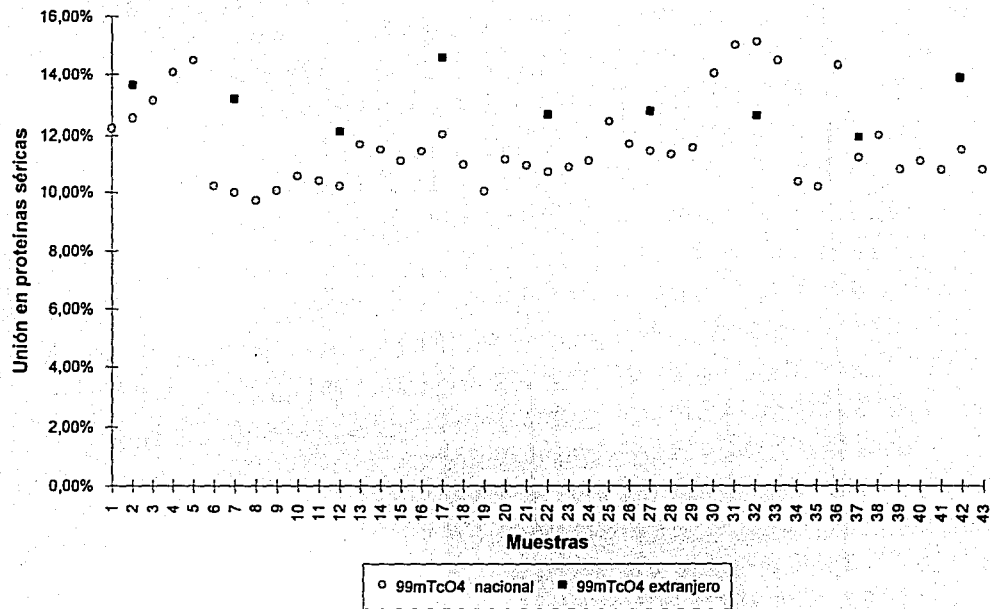


FIGURA 6.06 Porcentaje de unión en proteínas séricas del $^{99m}\text{TcO}_4^-$

TABLA 6.07 RESULTADOS DEL 99mTc-PYP

ELABORADO EN EL INNSZ									
Muestra	Número de suero	Fecha	Rad. total neta (mCi)	Rad. del pp neta (mCi)	Rad. del pp neta por 0.98 (mCi)	% de Unión a proteínas	Media	Desviación Estándar	Varianbilidad
1	1	30/05/94	3,730	1,120	1,038	29.43	27.26%	6.07	0.369
2	1	30/05/94	3,950	1,121	1,099	27.81			
3	1	30/05/94	3,170	0,960	0,941	29.68			
4	1	30/05/94	3,421	1,171	1,148	33.55			
5	1	30/05/94	2,960	0,870	0,853	28.80			
6	1	30/05/94	2,850	1,040	1,019	35.76			
7	1	30/05/94	3,189	1,229	1,204	37.77			
8	1	30/05/94	3,119	1,179	1,155	37.04			
9	1	30/05/94	2,649	0,949	0,930	35.11			
10	1	30/05/94	2,430	0,880	0,862	35.49			
11	1	1/06/94	1,452	0,523	0,513	33.30			
12	1	1/06/94	1,222	0,438	0,429	35.13			
13	1	1/06/94	1,172	0,447	0,438	37.38			
14	1	1/06/94	1,301	0,468	0,459	35.25			
15	1	1/06/94	1,371	0,492	0,482	35.17			
16	1	1/06/94	0,811	0,299	0,293	36.13			
17	1	1/06/94	0,782	0,277	0,271	34.71			
18	1	1/06/94	0,842	0,300	0,294	34.92			
19	1	1/06/94	0,837	0,292	0,286	34.19			
20	1	1/06/94	0,781	0,258	0,253	32.37			
21	2	20/06/94	0,062	0,011	0,011	18.05			
22	2	20/06/94	0,060	0,016	0,016	26.13			
23	2	20/06/94	0,064	0,017	0,017	26.03			
24	2	20/06/94	0,068	0,018	0,018	25.94			
25	2	20/06/94	0,060	0,015	0,015	24.50			
26	2	20/06/94	0,654	0,139	0,136	20.83			
27	2	20/06/94	0,715	0,142	0,139	19.46			
28	2	20/06/94	0,751	0,150	0,147	19.57			
29	2	20/06/94	0,730	0,144	0,141	19.33			
30	2	20/06/94	0,687	0,161	0,158	22.97			
31	2	20/06/94	0,799	0,184	0,180	22.57			
32	2	20/06/94	0,857	0,218	0,214	24.93			
33	2	20/06/94	0,823	0,207	0,203	24.65			
34	2	20/06/94	0,964	0,224	0,220	22.77			
35	2	20/06/94	0,877	0,206	0,202	23.02			
36	3	20/06/94	0,722	0,157	0,154	21.31			
37	3	20/06/94	0,697	0,163	0,160	22.92			
38	3	20/06/94	0,758	0,179	0,175	23.14			
39	3	20/06/94	0,805	0,184	0,180	22.40			
40	3	20/06/94	0,706	0,169	0,166	23.46			
41	3	21/06/94	1,643	0,242	0,237	22.74			
42	3	21/06/94	0,502	0,206	0,202	22.38			
43	3	21/06/94	0,935	0,226	0,221	23.69			
44	3	21/06/94	0,543	0,218	0,214	22.66			
45	3	21/06/94	0,533	0,228	0,223	23.95			

TABLA 6.07 RESULTADOS DEL ^{99m}Tc-PYP (Cont.)

ELABORADO EN EL INNSZ									
Muestra	Número de	Fecha	Rad. total	Rad. del pp	Rad. del pp neta	% de Unión			
	suero		neta (mCi)	neta (mCi)	por 0.98 (mCi)	a proteínas			
46	3	21/06/94	0.752	0.169	0.166	22.02			
47	3	21/06/94	0.763	0.175	0.172	22.48			
48	3	21/06/94	0.775	0.178	0.174	22.51			
49	3	21/06/94	0.760	0.173	0.170	22.31			
50	3	21/06/94	0.807	0.191	0.187	23.19			
COMERCIAL									
	Número de		Rad. total	Rad. del pp	Rad. del pp neta	% de Unión	Media	Desviación	Variabilidad
	muestra		neta (mCi)	neta (mCi)	por 0.98 (mCi)	a proteínas		Estándar	
	1		0.910	0.168	0.165	18.13	16.69%	1.02	0.010
	2		1.070	0.193	0.189	17.65			
	3		1.070	0.170	0.166	15.53			
	4		0.858	0.145	0.142	16.60			
	5		0.817	0.138	0.135	16.51			

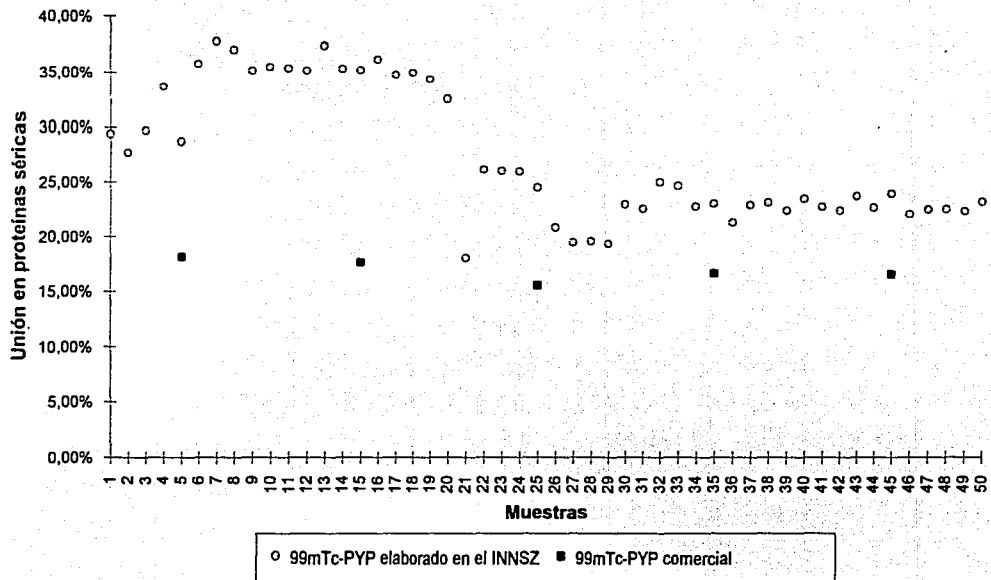


FIGURA 6.07 Porcentaje de unión en proteínas séricas del ^{99m}Tc -PYP

TABLA 6.08 RESULTADOS DEL 99mTc-MAA

ELABORADO EN EL INNSZ									
Muestra	Número de suero	Fecha	Rad. total neta (mCi)	Rad. del pp neta (mCi)	Rad. del pp neta por 0.98 (mCi)	% de Unión a proteínas	Media	Desviación Estándar	Variabilidad
1	1	3/06/94	0.425	0.427	0.478	98.23	98.23%	1.28	0.016
2	1	3/06/94	0.549	0.552	0.541	98.54			
3	1	3/06/94	0.542	0.552	0.541	98.81			
4	1	3/06/94	0.492	0.492	0.492	98.00			
5	1	3/06/94	0.473	0.474	0.465	98.21			
6	1	3/06/94	0.559	0.561	0.550	98.35			
7	1	3/06/94	1.631	1.571	1.540	94.39			
8	1	3/06/94	0.660	0.649	0.636	96.37			
9	2	9/06/94	1.841	1.831	1.794	97.47			
10	2	9/06/94	3.259	3.299	3.233	99.20			
11	2	9/06/94	1.341	1.321	1.295	96.54			
12	2	9/06/94	1.760	1.770	1.735	98.56			
13	2	9/06/94	0.866	0.865	0.852	98.34			
14	2	9/06/94	1.080	1.100	1.078	99.81			
15	2	9/06/94	1.081	1.061	1.040	96.19			
16	2	9/06/94	2.610	2.580	2.526	96.87			
17	2	9/06/94	1.961	1.991	1.951	99.50			
18	2	9/06/94	1.340	1.340	1.313	98.00			
19	2	9/06/94	1.401	1.421	1.393	99.40			
20	2	9/05/94	1.351	1.371	1.344	99.45			
21	3	21/06/94	1.000	1.020	1.000	99.96			
22	3	21/06/94	0.939	0.956	0.937	99.77			
23	3	21/06/94	0.950	0.960	0.941	99.03			
24	3	21/06/94	1.790	1.800	1.764	98.55			
25	3	21/06/94	0.593	0.589	0.577	97.34			
26	3	21/06/94	0.693	0.697	0.683	98.57			
27	3	21/06/94	0.671	0.672	0.659	98.15			
28	3	21/06/94	0.457	0.463	0.454	97.16			
29	3	21/06/94	0.549	0.550	0.539	98.18			
30	3	21/06/94	1.851	1.870	1.833	99.01			
COMERCIAL									
	Número de muestra	Rad. total neta (mCi)	Rad. del pp neta (mCi)	Rad. del pp neta por 0.98 (mCi)	% de Unión a proteínas	Media	Desviación Estándar	Variabilidad	
	1	1.550	1.528	1.498	96.63	96.47%	1.32	0.017	
	2	1.540	1.518	1.488	96.61				
	3	1.500	1.508	1.478	98.52				
	4	1.520	1.478	1.449	95.31				
	5	1.500	1.459	1.430	95.30				

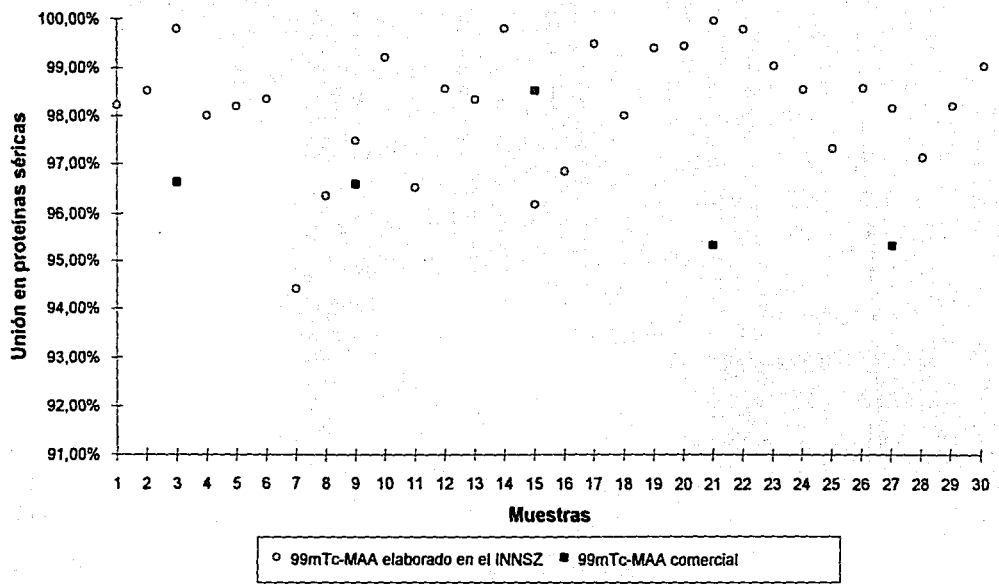


FIGURA 6.08 Porcentaje de radioactividad en el precipitado de los ^{99m}Tc -MAA

TABLA 6.09 RESULTADOS DEL ^{99m}Tc REDUCIDO HIDROLIZADO

NACIONAL									
Muestra	Número de suero	Fecha	Rad. total neta (mCi)	Rad. del pp neta (mCi)	Rad. del pp neta por 0.98 (mCi)	% de Unión a proteínas	Media	Desviación Estándar	Varianbilidad
1	1	3/06/94	0.528	0.498	0.488	92.43	94.60%	1.63	0.027
2	1	3/06/94	0.558	0.543	0.532	95.36			
3	1	3/06/94	0.550	0.523	0.513	93.19			
4	1	3/06/94	0.570	0.544	0.533	93.53			
5	1	3/06/94	0.583	0.560	0.549	94.13			
6	1	3/06/94	0.554	0.526	0.515	93.04			
7	1	3/06/94	0.650	0.623	0.610	93.93			
8	1	3/06/94	0.546	0.522	0.512	93.69			
9	1	3/06/94	0.566	0.541	0.530	93.67			
10	1	3/06/94	0.567	0.547	0.536	94.54			
11	1	3/06/94	0.536	0.516	0.506	94.34			
12	1	3/06/94	0.610	0.591	0.579	94.95			
13	1	3/06/94	0.505	0.479	0.470	92.96			
14	1	3/06/94	0.460	0.444	0.435	94.59			
15	1	3/06/94	0.476	0.454	0.445	93.47			
16	2	9/06/94	1.052	1.082	1.060	97.10			
17	2	9/06/94	1.162	1.122	1.100	94.63			
18	2	9/06/94	1.143	1.103	1.080	94.67			
19	2	9/06/94	1.203	1.130	1.107	92.05			
20	2	9/06/94	1.023	0.973	0.953	93.21			
21	2	9/06/94	1.102	1.039	1.019	92.40			
22	2	9/06/94	1.093	1.053	1.031	94.41			
23	2	9/06/94	1.063	1.073	1.051	98.92			
24	2	9/06/94	1.052	1.042	1.022	97.07			
25	2	9/06/94	1.022	1.012	0.992	97.64			
26	2	9/06/94	0.587	0.577	0.563	96.57			
27	2	9/06/94	0.716	0.707	0.693	96.77			
28	2	9/06/94	0.669	0.647	0.634	94.78			
29	2	9/06/94	0.688	0.668	0.654	95.15			
30	2	9/06/94	0.658	0.641	0.629	95.47			

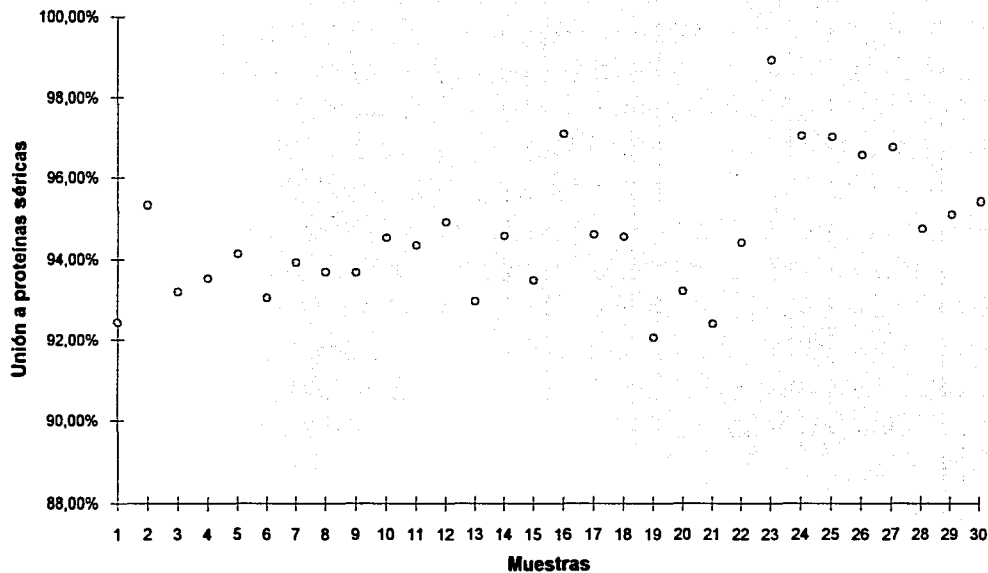


FIGURA 6.09 Porcentaje de unión en proteínas séricas del ^{99m}Tc -Reducido Hidrolizado

TABLA 6.10 RESULTADOS DEL 99mTc-SEROALBUMINA HUMANA

ELABORADO EN EL INNSZ

Muestra	Número de suero	Fecha	Rad. total neta (mCi)	Rad. del pp neta (mCi)	Rad. del pp neta por 0.98 (mCi)	% de Unión a proteínas	Media	Desviación Estándar	Variabilidad
1	1	31/05/94	0.549	0.528	0.517	94.25	93.95%	1.69	0.029
2	1	31/05/94	0.510	0.497	0.487	95.50			
3	1	31/05/94	0.542	0.521	0.511	94.20			
4	1	31/05/94	0.545	0.522	0.512	93.86			
5	1	31/05/94	0.516	0.513	0.503	97.05			
6	2	20/6/94	0.611	0.591	0.579	94.82			
7	2	20/6/94	0.599	0.560	0.548	91.62			
8	2	20/6/94	0.580	0.550	0.539	92.93			
9	2	20/6/94	0.584	0.545	0.534	91.46			
10	2	20/6/94	0.623	0.596	0.584	93.75			

FIGURA 6.10 Porcentaje de radioactividad en el precipitado de la ^{99m}Tc -Seroalbumina Humana

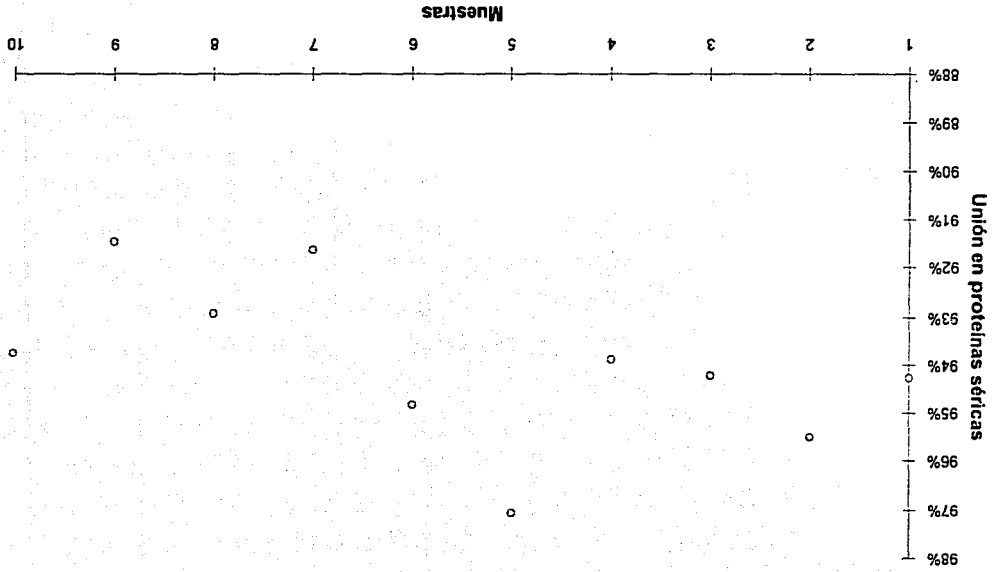


TABLA 6.11 RESULTADOS DEL 99mTc-DMSA (V)

ELABORADO EN EL INNSZ

Muestra	Número de suero	Fecha	Rad. total neta (mCi)	Rad. del pp neta (mCi)	Rad. del op neta por 0.98 (mCi)	% de Unión a proteínas	Media	Desviación Estándar	Varabilidad
1	1	6/06/94	1,380	0,294	0,288	20,88	19,95%	2,27	0,051
2	1	6/06/94	1,282	0,296	0,290	22,63			
3	1	6/06/94	1,341	0,290	0,284	21,19			
4	1	6/06/94	1,322	0,312	0,306	23,13			
5	1	6/06/94	1,301	0,281	0,275	21,17			
6	1	6/06/94	1,202	0,276	0,270	22,50			
7	1	6/06/94	1,252	0,270	0,265	21,13			
8	1	6/06/94	1,193	0,287	0,281	23,58			
9	1	6/06/94	1,172	0,248	0,243	20,74			
10	1	6/06/94	1,211	0,267	0,262	21,61			
11	1	6/06/94	0,671	0,121	0,119	17,67			
12	1	6/06/94	0,624	0,116	0,114	18,22			
13	1	6/06/94	0,659	0,128	0,125	19,03			
14	1	6/06/94	0,670	0,125	0,123	18,28			
15	1	6/06/94	0,690	0,123	0,121	17,47			
16	2	7/06/94	0,140	0,024	0,024	16,80			
17	2	7/06/94	0,139	0,030	0,029	21,15			
18	2	7/06/94	0,154	0,030	0,029	19,09			
19	2	7/06/94	0,146	0,025	0,025	16,78			
20	2	7/06/94	0,146	0,025	0,024	16,51			

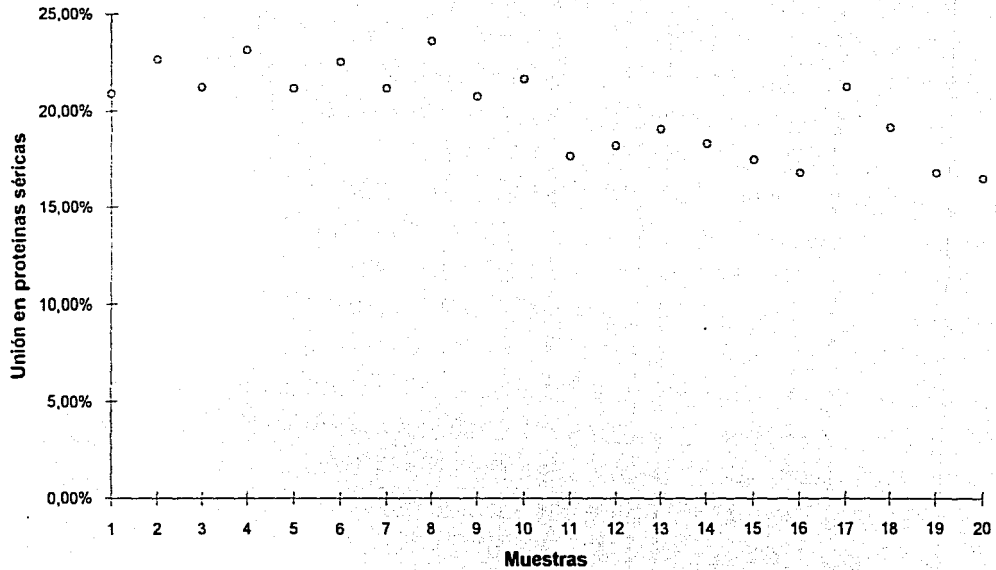


FIGURA 6.11 Porcentaje de unión en proteínas séricas del ^{99m}Tc -DMSA (V)

Los resultados obtenidos de la unión en proteínas séricas para de cada radiofármaco se encuentran resumidos la Tabla 6.12.

TABLA 6.12 CONCENTRACION DE RESULTADOS OBTENIDOS									
	RADIOFARMACO	RESULTADOS				VALOR DE LA PROBABILIDAD	DIFERENCIA SIGNIFICATIVA		
		Elaborado		Comercial					
			en el INNSZ				(p)		
1	^{99m} Tc-MDP	n=35	18.4%	+/- 1.9%	n=5	18.5%	+/- 0.7%	0.895	No existe
2	^{99m} Tc-Azulfre Col.	n=37	96.6%	+/- 1.6%	n=5	95.9%	+/- 1.3%	0.383	No existe
3	^{99m} Tc-DTPA	n=33	11.5%	+/- 1.1%	n=5	12.1%	+/- 0.4%	0.270	No existe
4	^{99m} Tc-HIDA	n=20	70.6%	+/- 2.5%	n=5	72.3%	+/- 1.8%	0.150	No existe
5	^{99m} TcO ₄	n=43	11.7%	+/- 1.5%	n=9	13.1%	+/- 0.9%	0.007	Si existe
6	^{99m} Tc-DMSA	n=49	70.5%	+/- 18.2%	n=5	89.2%	+/- 1.4%	0.028	Si existe
7	^{99m} Tc-PYP	n=50	27.3%	+/- 8.1%	n=5	16.9%	+/- 1.1%	0.000	Si existe
8*	^{99m} Tc-MAA	n=30	98.3%	+/- 1.3%	n=5	96.5%	+/- 1.3%	0.008	Si existe
9*	^{99m} Tc Red. Hid.	n=30	94.6%	+/- 1.6%					
10*	^{99m} Tc-SAH	n=10	94.0%	+/- 1.7%					
11	^{99m} Tc-DMSA (V)	n=20	20.0%	+/- 2.3%					

* Controles.

VII DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Para determinar el volumen adecuado de ácido tricloroacético que debía añadirse a la muestra se probó con varios volúmenes y se construyó una gráfica con los resultados obtenidos (Figura 5.1) observándose una disminución en el porcentaje de radiactividad en el precipitado conforme se añadían volúmenes mayores de ácido tricloroacético, hasta estabilizarse al llegar a un volumen de 9 ml, por lo que se llegó a la conclusión que por cada volumen de muestra se requieren diez volúmenes de ácido tricloroacético para asegurar la precipitación de todas las proteínas presentes.

Para demostrar que la disminución en el porcentaje de radiactividad del precipitado no era causada por la dilución de una parte de la muestra al aumentar su volumen final se realizaron otras pruebas utilizando como agentes precipitantes ácido tricloroacético al 10%, 20% 30%, ácido perclórico 1M y 2M a un volumen constante de suero marcado con ^{99m}Tc -MDP. Con la gráfica obtenida (Figura 5.2) se demostró que la baja en el porcentaje de radiactividad del precipitado no se debe al fenómeno de dilución sino al aumento de acidez en el medio, porque al agregar diferentes volúmenes de ácido a la muestra manteniendo el mismo número de gramos del agente precipitante obtenemos los mismos resultados.

La acidez del medio influye sobre el porcentaje de unión de los radiofármacos en las proteínas séricas, debido a que en el medio ácido se desnaturaliza la albúmina cambiando su estructura lo que provoca una disminución en la afinidad del radiofármaco por ciertos sitios de unión, por tanto también una disminución en su porcentaje de unión a proteínas séricas .

En la gráfica de la figura 5.4 también podemos observar que cuando la concentración final del ácido en la muestra es demasiado alta como en el caso del ácido perclórico 2M y el ácido tricloroacético al 30% la albúmina continúa desnaturalizándose liberando al radiofármaco por lo que sigue disminuyendo la radiactividad en el precipitado. Este fenómeno puede identificarse en la práctica porque en vez de formarse un precipitado completamente blanco se observa la formación de un precipitado amarillento y al aumentar la cantidad del ácido el precipitado se transforma en una "resina" amarilla que se queda adherida al fondo del tubo.

Por los resultados anteriores se concluye que los mejores agentes precipitantes son el ácido tricloroacético al 10%, 20% y el ácido perclórico 1M.

Al determinar el volumen de trabajo observamos que con un volumen muy pequeño el porcentaje de radiactividad en el precipitado aumenta, lo que atribuimos a la concentración del material radiactivo, ya que en volúmenes grandes se encuentra más diluido y el poco sobrenadante que queda adherido a las paredes del tubo después de decantar no aumenta la actividad, mientras que cuando el volumen de la muestra es muy pequeño, el material radiactivo se encuentra más concentrado y por muy poco que quede adherido a las paredes del tubo provoca un aumento significativo en la actividad, afectando la exactitud del método.

Debido a los resultados anteriores concluimos que el volumen óptimo en este caso sería 5 ml de ácido tricloroacético, porque al trabajar con menor volumen se disminuye también la cantidad de radiactividad, es práctico de medir y no afecta la exactitud del método.

Una vez establecido el método se procede a medir la radiactividad en el precipitado de cada uno de los radiofármacos, sin embargo como no todos los radiofármacos utilizados tienen las mismas funciones o características, es imposible comparar los datos obtenidos en general, por lo que se analizaron los resultados para cada estuche de reactivos por separado comparándolo con los comerciales de Mallinckrodt Medical por medio de la prueba estadística de *t* de Student.

El número de muestra de los radiofármacos elaborados en el Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Zubirán (INNSZ) en cada caso depende de la frecuencia con que se utiliza en el departamento de medicina nuclear, a excepción del ^{99m}Tc -DMSA y ^{99m}Tc -PYP, que por presentar mucha variación en los resultados fue necesario realizar un mayor número de pruebas.

El número de muestras de los estuches de reactivos comerciales fue pequeño debido su alto costo, sin embargo como se utilizaron sólo para hacer una comparación con los radiofármacos elaborados en el INNSZ, el estudio no se vio alterado

Los primeros cuatro radiofármacos: el ^{99m}Tc -MDP, el ^{99m}Tc -Azufre coloidal, el ^{99m}Tc -DTPA y el ^{99m}Tc -HIDA, no presentan ninguna diferencia estadísticamente significativa con los comerciales, por lo que se supuso que tienen un grado aceptable de unión en proteínas séricas.

El ^{99m}Tc -MDP y el ^{99m}Tc -DTPA deben tener un porcentaje de unión a proteínas séricas relativamente bajo, debido a que son eliminados del organismo por los riñones mediante filtración glomerular, mientras el ^{99m}Tc -Azufre coloidal tiene un alto porcentaje de unión a las proteínas séricas porque está constituido por pequeñas micelas que se unen a las proteínas plasmáticas mediante atracción de cargas, y son precipitadas junto con ellas al agregar el ácido tricloroacético.

El ^{99m}Tc -HIDA tiene un porcentaje de unión a proteínas séricas relativamente alto, ya que debe quedarse en la sangre hasta ser removido selectivamente por los hepatocitos, para poder ser eliminado posteriormente por los conductos biliares.

Al compararse los resultados experimentales de unión a proteínas séricas obtenidos para el $^{99m}\text{TcCO}_4^-$ nacional y extranjero por medio de la *t* de Student se observó que existía una diferencia estadísticamente significativa entre ellos (11.7% +/- 1.5% y 13.1% +/- 0.9%, $p = 0.007$), sin embargo esta diferencia no es de importancia para fines clínicos.

El ^{99m}Tc -DMSA es uno de los radiofármacos que presenta mayor variación en la unión a proteínas séricas, como se observa en el cuadro de resumen de resultados. Se utilizaron muestras de 2 lotes distintos, el primero (de la muestra 1 a la 19) tenía un porcentaje de unión a proteínas séricas promedio de 87.1% +/- 4.61 muy cercano al del radiofármaco comercial (89.2% +/- 1.4), mientras que el segundo lote tenía valores de 60.6% +/- 15.7, y de la comparación por el método estadístico de la *t* de Student resultó $p < 0.05$ que indica existe una diferencia estadísticamente significativa entre los dos lotes. Debido a lo anterior se concluyó que el problema se encuentra en el proceso de elaboración, ya que si no se controla perfectamente el pH se puede propiciar la formación del complejo ^{99m}Tc -DMSA (V) con porcentaje de unión a proteínas séricas mucho menor que disminuye los valores.

Al compararse el ^{99m}Tc -PYP elaborado en el Instituto con el comercial, se observa que existe diferencia estadísticamente significativa en la unión a proteínas séricas, esta diferencia se atribuye a que el radiofármaco comercial contiene el Sn en una concentración casi cuatro veces mayor al radiofármaco elaborado en el INNSZ, convirtiéndolo en un compuesto más estable.

El ^{99m}Tc -PYP producido en el INNSZ siempre ha ocasionado problemas en la definición de las imágenes, este problema se puede atribuir a que al ser inestable es degradado más fácilmente por las pirofosfatasa liberando al Tc reducido hidrolizado que queda en circulación produciendo una radiactividad de fondo que interfiere con la definición de la imagen del órgano en estudio. Por tanto convendría revisar la formulación del radiofármaco elaborado en el INNSZ para tratar de mejorar su estabilidad tanto in vitro como in vivo.

En el caso de los ^{99m}Tc -macroagregados de albúmina (^{99m}Tc -MAA) y la ^{99m}Tc -Seroalbumina humana (^{99m}Tc -HSA) (controles), hablamos de porcentaje de radiactividad en el precipitado porque al ser la albúmina una proteína se valora la eficiencia de la coprecipitación y el marcado, no su unión a proteínas séricas. Los resultados obtenidos demuestran que efectivamente se precipita la casi totalidad de las proteínas y que existe una buena eficiencia en el marcado, ya que el porcentaje de radiactividad del precipitado es mayor al 90% (98.3% +/- 1.3% para los ^{99m}Tc -macroagregados de albúmina y 94% +/- 1.7% para la ^{99m}Tc -Seroalbumina humana).

El porcentaje de radiactividad presente en el sobrenadante se puede atribuir al marcado o al 3% de error inherente que acompaña a toda medición de radiactividad.

Al comparar los resultados obtenidos para el estuche de reactivos de ^{99m}Tc -macroagregados de albúmina elaborado en el INNSZ y el comercial por medio de la t de Student, presentan una diferencia estadísticamente significativa ($p=0.008$) debida probablemente a que el radiofármaco comercial además de los principios activos contiene conservadores y estabilizadores que provocan menor eficiencia en el marcado, aunque para fines prácticos es lo mismo tener un 96.48% que un 98.23% de la radiactividad en el precipitado y esta diferencia no tiene importancia desde el punto de vista gammagráfico.

El Tc reducido hidrolizado fue analizado para poder utilizar los resultados como un control de pureza, ya que es imposible detectarlo por medio de la cromatografía en papel con acetona debido a que se queda en el origen junto con el radiofármaco. Una vez determinado el promedio del porcentaje de unión a proteínas séricas del Tc reducido hidrolizado (94%), se podría sospechar que se encuentra como contaminante de algún radiofármaco al aumentar su valor en el porcentaje de unión a proteínas séricas.

Se recomienda implantar dentro del control de calidad radioquímico de rutina la cromatografía con solución salina al 0.9% para separar al radiofármaco hidrosoluble del Tc reducido hidrolizado como se muestra en la figura 7.1.

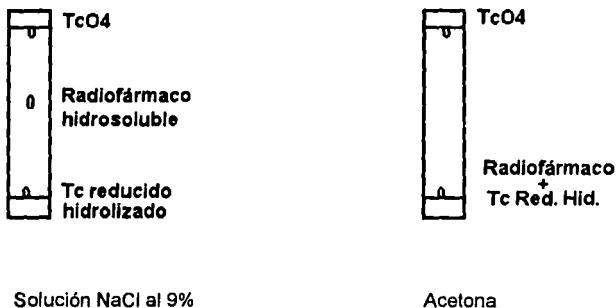


Figura 7.1 Representación esquemática de la cromatografía en capa fina para analizar la pureza radioquímica de los radiofármacos marcados con ^{99m}Tc

No se cuenta con el estuche de reactivos comercial del ^{99m}Tc -DMSA(V), porque se prepara muy fácilmente variando el pH del ^{99m}Tc -DMSA en el momento de ser utilizado, y como no se encontraron informados los valores de unión a proteínas séricas de este radiofármaco, no se sabe en realidad si los valores obtenidos experimentalmente están dentro de los límites aceptables, sin embargo el ^{99m}Tc -DMSA (V) preparado en el INNSZ ha sido utilizado con éxito durante algún tiempo para la localización de tumores.

VIII Conclusiones

1.- En este trabajo se logró establecer un método sencillo, rápido y seguro para precipitar las proteínas séricas, que tiene la ventaja de reducir la manipulación del material radiactivo. Con este método fue posible determinar y evaluar el porcentaje de unión a las proteínas séricas de algunos radiofármacos elaborados en el Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Zubirán (INNSZ).

2.- Al comparar el porcentaje de unión en proteínas séricas de los radiofármacos elaborados en el Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Zubirán (INNSZ) con los comerciales se observó que el $^{99m}\text{Tc-MDP}$, el $^{99m}\text{Tc-Azufre coloidal}$, el $^{99m}\text{Tc-DTPA}$, el $^{99m}\text{Tc-HIDA}$, el $^{99m}\text{TcO}_4^-$ y el $^{99m}\text{Tc-MAA}$ preparados en el INNSZ son semejantes a los radiofármacos comerciales.

3.- Observamos dos radiofármacos el $^{99m}\text{Tc-DMSA}$ y el $^{99m}\text{Tc-PYP}$ que presentan una desviación estándar muy grande (70.5% +/- 18.2% y 27.3% +/- 6.1% respectivamente), lo que denota una gran variación individual, por tanto, se debe mejorar su formulación para poder administrarlos.

Para el caso del $^{99m}\text{Tc-PYP}$ la formulación podría ser mejorada agregando SnCl_2 , en la misma proporción que las formulaciones comerciales, y el $^{99m}\text{Tc-DMSA}$ se podría mejorar controlando el pH en cada uno de los pasos del proceso de elaboración, evitando así la formación del complejo $^{99m}\text{Tc-DMSA (V)}$.

4.- Dentro del control radioquímico de rutina es necesario implantar la cromatografía con solución salina al 0.9%, ya que por este método es posible separar al radiofármaco hidrosoluble del tecnecio reducido hidrolizado.

5.- Para estar seguros de que un radiofármaco llena las características apropiadas para ser utilizado en seres humanos es necesario contar con un programa de aseguramiento de la calidad que ayude a caracterizar e identificar mejor cada lote de radiofármacos, así como validar cada una de las etapas de su fabricación. El aseguramiento de la calidad debe incorporarse desde el principio y durante toda la trayectoria, y sólo es posible llegar a resultados satisfactorios cuando el personal se responsabiliza del autocontrol, eliminado así la inspección.

IX REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1.- Anexo de manual de control de calidad de radiofármacos. Buenos Aires: Asociación Latinoamericana de Sociedades de Biología y Medicina Nuclear (ALASBIMN) 1992.
- 2.- Atkins H. Cardinale K. Eckelman W. Hauser W. Klopper J. Evaluation of ^{99m}Tc -DTPA prepared by three different methods. Radiology 1971; 98: 674-7.
- 3.- Atkins H. Eckelman W. Hauser W. Klopper J. Richards P. Evaluation of glomerular filtration rate with ^{99m}Tc -DTPA. J Nucl Med 1971; 12: 338-40.
- 4.- Avis KE. Sterilization. In: Lachman. Liberman, Konin, editors. The theory and practice of industrial pharmacy. Philadelphia: Lea & Febiger, 1976.
- 5.- Avram G. Lewis A. Summer M. Principles of drug action, The basis of pharmacology, 2nd ed. USA: A Wiley biomedical-health publication, 1990.
- 6.- Bangham DR. Relevance and standarizacion in pyrogen test. J Pharm Belg 1979; 34:134-6.
- 7.- Bevan J. Tofe A. Benedict J. Francis M. Barnett B. Tc-99m HMDP (hidroxymethylene diphosphonate): a radiopharmaceutical for skeletal and acute myocardial infarct imaging II. Comparison of Tc-99m hydroxymethylene diphosphonate (HMDP) with other technetium-labeled bone imaging agents in canine model. J Nucl Med 1980; 21: 967-70.
- 8.- Burns H. Worley P. Wagner H. Marzilli L. Risch V. Design of technetium radiopharmaceuticals. In: Heindel N, Burns H, Honda T, Brandy L, editors. The chemistry of radiopharmaceuticals. New York: Masson publishing, 1978:269-89
- 9.- Chandra R. Introductory physics of nuclear medicine. Philadelphia: Lea & Febiger, 1976.
- 10.- Chen M. Rodhes BA. Steven ML. Wagner HN. Sterility testing of radiopharmaceuticals. J Nucl Med 1974; 15: 1142-44.
- 11.- Cradock JC. Kleinmann LD. Davignon JP. Intrathecal injection. A review of pharmaceutical factors. Bull Parent Drug Assoc 1977; 31: 237-47.
- 12.- Day KE. Method for calculating pediatric radioactive doses. Metodopes-transient equilibrium SQIBB Nuclear Alumni Newsletter, 1977 Jan Vol 6 N° 1.
- 13.- De-Land FH. Wagner HN. Early detection of bacterial growth with ^{14}C -labeled glucose. Radiology 1969; 92: 154.

- 14.- Dewanjee M. Kahn P. Mechanism of localization of ^{99m}Tc -labeled pyrophosphate and tetracycline in infarcted myocardium. J Nucl Med 1976; 17: 639-46.
- 15.- Endo K. Ohta H. Torizuka K. Horiuchi K. Yomoda I. Yokoyama A. Technetium-99m(V) DMSA in the imaging of medullary thyroid carcinoma. J Nucl Med 1987; 28: 252-3.
- 16.- Fields T. Seed L. Clinical use of radioisotopes. 2^a Ed. Chicago: The year book Publishers, 1961
- 17.- Frauch P. Slide test as a micromethod of modified Limulus endotoxin test. J Pharm Sc 1974; 63: 808-9.
- 18.- Fritzberg AR. Nunn AD. Radio-HPLC application to organic and metal chelate chemistry. In: Wieland DM. Tobes MC. Mangner TJ. editors. Analytical and chromatographic techniques in radiopharmaceutical chemistry. New York: Springer-Verlag, 1986.
- 19.- Gelman Instrument company. Radiochemicals purity of radiopharmaceuticals using gelman seprachrom TM (ITLC-TM) Chromatography. 1977 Jun. Technical Bulletin N° 32.
- 20.- González Z. Factores que afectan la biodistribución de los radiofármacos. In: Curso de radiofarmacia patrocinado por el Organismo Internacional de Energía Atómica (OIEA). Montevideo Uruguay: 1994 Jun.
- 21.- González Z. Radiofármacos pulmonares. In: Curso de radiofarmacia patrocinado por el Organismo Internacional de Energía Atómica (OIEA). Montevideo Uruguay: 1994 Jun.
- 22.- Goodman GA. Rall T. Nies A. Taylor P. Goodman & Gilman The pharmacological basis of therapeutics. 8th Ed. New York: Pergamon Press, 1990
- 23.- Handbook of radiopharmaceutical quality control. 2^a ed. Montevideo: Latinamerican Association of nuclear Biology and Medicine Societies (ALASBIMN) 1989.
- 24.- Helndel N. Burns H. Honda T. Brandy L. The chemistry of radiopharmaceuticals. New York: Masson publishing, 1978
- 25.- Helman J. Prógenos bacterianos. In: Helman J. editor. Farmacotecnia teórica y práctica. México: Cia. Editorial Continental, 1981: tomo IV.
- 26.- Hillis LD. Draunwald E. Myocardial Ischemia. N Engl J Med, 1977; 296:971
- 27.- Ikeda I. Inoe O. Kurata K. Preparation of various Tc-99m dimercaptosuccinate complexes and their evaluation as radiotracers. J Nucl Med 1977; 18: 1222-9.

- 28.- James. Wagner. Cook. Pediatric nuclear medicine. Philadelphia: Saunders company, 1974.
- 29.- Johnson RE. Basic instrumentation. In: Bernier. Lagan. Wells. editors. Nuclear medicine technology and techniques. Mosby, 1981: 87-113
- 30.- Kass EJ. Fink-Bennett D. Contemporary techniques for the radioisotopic evaluation of dilated urinary track. Urologic Clinics of North America, 1990 May; 17-2.
- 31.- Kronauge J. Leon A. Verderas S. et al. Farmacokinetic studies of myocardial perfusion agent: technetium (2-carbomethoxy-2-isocyano-propane). J Nucl Med 1992; 33: 1949-57.
- 32.- Lehninger L. Principios de bioquímica. Barcelona: Ediciones omega, 1988.
- 33.- León A. Generalidades de radiofarmacia. In: Curso de radiofarmacia patrocinado por el Organismo Internacional de Energía Atómica (OIEA). Montevideo Uruguay: 1994 Jun.
- 34.- León A. Radiofármacos del ^{99m}Tc . In: Curso de radiofarmacia patrocinado por el Organismo Internacional de Energía Atómica (OIEA). Montevideo Uruguay: 1994 Jun.
- 35.- Litter M. Farmacología experimental y clínica. 7ª ed. Buenos Aires: El ateneo, 1988
- 36.- López-Campuzano L. López-Ulloa R. López-Ulloa F. Nuevas opciones de la medicina nuclear. Quito Ecuador: Editorial Olmedo, 1984.
- 37.- Lugones ZM. Lugones ZR. Esterilización. In: Helman J. editor. Farmacotecnia teórica y práctica. México: Cia. Editorial Continental, 1981: tomo IV.
- 38.- Mitruka BM. Carmichael LE. Alexander M. Detección de actividades of pathogenic microorganisms by gas chromatography. Bacteriol proc 1968; M-37,71.
- 39.- Mitta A. Radiofármacos hepatobiliares. In: Curso de radiofarmacia patrocinado por el Organismo Internacional de Energía Atómica (OIEA). Montevideo Uruguay: 1994 Jun.
- 40.- Murphy CA. Manual de radiofarmacocinética, 1ª Ed. México D.F: Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Zubirán, 1992
- 41.- Murphy CA. ^{99m}Tc -radiopharmaceuticals and the Limulus test. J Parents Drug Assoc 1980; 34: 268-71.
- 42.- Murphy CA. El tecnecio en la medicina nuclear. México: Sociedad Mexicana de Medicina Nuclear, 1989

43.- Nikeev NB. Radioactive colloidal solutions and suspensions for medical use. Atomic Energy Review 1976; 14: 3-36

44.- Noordwijk JV. A comparison between the Limulus amoebocyte lysate test and the rabbit pyrogen test. J Pharm Belg 1979; 34: 142-4.

45.- Persson BR. Gel chromatography Column Scanning (GCS) a method for identification and quality control of ^{99m}Tc -radiopharmaceuticals. In: Subramanian, Rhodes, Cooper, Sodd, editors. Radiopharmaceuticals. New York: Society of Nuclear Medicine, 1975.

46.- Rey A. Radiofármacos para centellografía ósea. In: Curso de radiofarmacia patrocinado por el Organismo Internacional de Energía Atómica (OIEA). Montevideo Uruguay: 1994 Jun.

47.- Robles A. Generador ^{99m}Mo - ^{99m}Tc . In: Curso de radiofarmacia patrocinado por el Organismo Internacional de Energía Atómica (OIEA). Montevideo Uruguay: 1994 Jun.

48.- Russell CD, Crittenden RC, Cash AG. Determination of net ionic charge on $\text{Tc-}^{99m}\text{DTPA}$ and $\text{Tc-}^{99m}\text{EDTA}$ by a column ion-exchange method. J Nucl Med 1980; 21: 354-60.

49.- Saha G B. Fundamentals of nuclear pharmacy. Third Ed. New York: Springer-Verlag,

50.- Zgile LA, Jay MJ. Factors influencing radiopharmaceutical distribution. In: Spencer RP, editors. Radiopharmaceutical distribution. New York: Grune & Stratton, 1981: 129

51.- Steigman J, Meinken G, Richards P. The reduction of pertechnetate-99 by stannous chloride - I. The stoichiometry of the reaction in HCl, in citrate buffer and in a DTPA buffer. Int J Appl Rad and Isot 1975; 26: 601-609.

52.- Taylor A, Frederick L. Clinical Practice of Nuclear Medicine. First Ed. New York: Churchill Livingstone, 1991.

53.- Verdera S. Control de calidad en radiofármacos. In: Curso de radiofarmacia patrocinado por el Organismo Internacional de Energía Atómica (OIEA). Montevideo Uruguay: 1994 Jun.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA