

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA**

**Evaluación de la Estabilidad de los Radiofármacos Marcados con
^{99m}Tc, Mediante Cromatografía de Capa Delgada**

Informe de Tesis

Presentado por

Walter Augusto Méndez Figueroa

Para optar al Título de

Químico Farmacéutico

Guatemala, noviembre de 1.994

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Biblioteca Central

Dh
06
T(91)

JUNTA DIRECTIVA DE LA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA

DECANO	Lic. Jorge Rodolfo Pérez Folgar
SECRETARIA	Licda. Eleonora Gaitán Izaguirre
VOCAL I	Lic. Miguel Angel Herrera Gálvez
VOCAL II	Lic. Gerardo Leonel Arroyo Catalán
VOCAL III	Lic. Miguel Orlando Garza Sagastume
VOCAL IV	Br. Jorge Luis Galindo Arévalo
VOCAL V	Br. Edgar Antonio García del Pozo

DEDICATORIA

A:

Dios

La Virgen María

Mis padres: Modesto Méndez Hernández
María Agustina Figueroa Alfaro

Mis hermanos Héctor Gerardo, Edgar Rolando
Emma Judith y Mirna Maritza

Mi familia en general: En especial a mi tía Guillermina Vda. de
Maul

Mis amigos

Guatemala

La Universidad de San Carlos de Guatemala

La Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia

AGRADECIMIENTOS

A:

La Dirección General de Energía Nuclear del Ministerio de Energía y Minas

Licda. Claudía Quinteros, Técnicos Flaviano y Mauricio Telón

Lic. Oscar Federico Nave Herrera por su ayuda en la asesoría estadística

Licda. Diana Yolanda Freire de Nave por su asesoría en la investigación

**Y a todas las personas que de una u otra forma
han colaborado en la realización de esta investigación.**

INDICE

Contenido:	Página
1. Resumen	1
2. Introducción	2
3. Antecedentes	3
4. Justificación	16
5. Objetivos	17
6. Hipótesis	18
7. Materiales y Métodos	19
8. Resultados	24
9. Discusión de Resultados	44
10. Conclusiones	48
11. Recomendaciones	50
12. Referencias	51
13. Anexos	53

1. RESUMEN

Se evaluó la estabilidad de cuatro radiofármacos, ácido diisopropiliminodiacético, ácido dimercaptosuccínico, metilendifosfonato y macro agregados de albúmina, teniendo en cuenta las condiciones experimentales siguientes: protección: sin luz, con luz (luz de laboratorio diurna y/o fluorescente), recipiente: vial (vidrio tipo I), jeringa (polipropileno); tomando muestras cada hora desde el tiempo de marcación hasta siete horas después de marcados, con el objeto de determinar la existencia de posibles interacciones en las condiciones dadas una vez reconstituido el liofilizado del radiofármaco mediante radiocromatografía en capa fina y poder determinar el tiempo en que los radiofármacos estudiados poseían un porcentaje apropiado (no menos del 90%) de marcación para su aplicación en gammagrafía o centellografía.

Los radiofármacos ácido diisopropiliminodiacético, ácido dimercaptosuccínico, metilendifosfonato y macro agregados de albúmina mantuvieron en las condiciones establecidas un porcentaje de marcación arriba del 90% a excepción del metilendifosfonato en condición jeringa-con luz y de los macro agregados de albúmina cuando se mantuvo en recipiente de polipropileno (jeringa), en los cuales la marcación se dio por abajo del 90%, porcentaje inadecuado para centellografía.

Se establecieron dos grupos de acuerdo al comportamiento o tendencia que mostraron. Primer Grupo: ácido diisopropiliminodiacético y ácido dimercaptosuccínico, radiofármacos que desde el inicio presentaron un porcentaje de marcación arriba del 90% y que después disminuyeron su marcación, y, el Segundo Grupo: metilendifosfonato y macro agregados de albúmina, radiofármacos que alcanzaron un porcentaje cercano o superior al 90% al inicio para luego incrementarlo lentamente.

El tiempo, en las condiciones en donde los radiofármacos mantuvieron un porcentaje de marcación superior o igual al 90%, fue mayor a un período de semidesintegración del ^{99m}Tc con lo cual se puede decir que la moléculas son aptas para la marcación de tejidos de interés, emitiendo radiación gamma.

2 INTRODUCCION

En la elaboración de un producto farmacéutico entran en juego varios factores que determinan su calidad; por mencionar algunos de éstos se tiene la calidad de la materia prima, las condiciones de manufactura, el proceso de la elaboración del producto, capacitación del personal, etc. Aunque dos o varias formas farmacéuticas tengan una formulación similar o igual no se puede decir que estos productos se comportarán de igual manera al ser administrados o durante su almacenamiento.

Durante la fabricación de radiofármacos se toman en cuenta también los controles de calidad que normalmente se le realizan a cualquier medicamento y que se efectúan en general por los procedimientos habituales descritos en las farmacopeas, con algunas salvedades en lo referente a cantidad de muestra derivado de su condición adicional de ser radiactiva.

Dentro de los controles que adicionalmente se les realizan a los radiofármacos por su naturaleza radiactiva se tienen la pureza radionuclídica, pureza radioquímica, actividad específica, concentración de actividad. Estos radiofármacos, como todo compuesto medicinal, puede ser alterados en las condiciones en que se maneje y por lo tanto fallar al momento de ser utilizado.

El estudio de la estabilidad de un medicamento es necesario para conocer las interacciones que le puedan estar afectando y poder mejorar su formulación, forma de presentación, envasado y/o condiciones de almacenamiento. Entre los factores que pueden provocar alteraciones se tienen: la temperatura, la luz, el grado de humedad, el contacto con el aire, agentes contaminantes catalíticos etc. Estos estudios se pueden realizar de dos maneras: con pruebas acelerada y no aceleradas; en este caso los radiofármacos ya marcados no se hizo necesario pruebas aceleradas debido al corto período de semidesintegración del ^{99m}Tc , en las cuales son sometidos a pruebas de condiciones extremas. Como son muchas las variables que afectan la estabilidad, estas pruebas incluyen estudio en cuatro áreas, como lo son: pruebas físicas, fisicoquímicas, químicas y biológicas.

En esta investigación se hizo énfasis en una área de ellas, la fisicoquímica, siendo el principal propósito del estudio determinar la estabilidad de cuatro radiofármacos marcados con ^{99m}Tc en diferentes condiciones de protección y recipiente durante siete horas, y el período de eficacia para su uso en el diagnóstico centellográfico.

3. ANTECEDENTES

3.1 Radiofármacos

Se denomina radiofármaco a 'toda sustancia radiactiva que por su forma farmacéutica y cantidad y calidad de radiación emitida, puede usarse en el diagnóstico o tratamiento de las enfermedades de los seres vivientes, cualquiera que sea la vía de administración empleada' (1).

Otros autores en cambio sostienen que los radiofármacos, salvo excepciones, no pueden considerarse fármacos propiamente dichos, por no ser usados en el tratamiento de las enfermedades (como curativos o paliativos del dolor). Proponen para ellos la denominación de 'agentes de radiodiagnóstico' de empleo en Medicina Nuclear, admitiendo que se asemejan a los fármacos clásicos en lo que a control de calidad respecta (1).

Dos son principalmente las cualidades de los radionucleidos que los hacen útiles para la medicina nuclear 1o) la incapacidad de los sistemas biológicos para establecer diferencias entre los diversos isótopos de un elemento y 2o) la propiedad de emitir radiaciones susceptibles de ser detectadas y analizadas (1).

La desintegración radiactiva de los átomos da lugar a la emisión de partículas α , partículas β y también libera energía electromagnética γ (Ver Anexo No. 1). Interesa en particular esta última, que es la de mayor poder de penetración y, por ello, atraviesa con más facilidad los tejidos. Justamente los métodos modernos de diagnóstico con radionucleidos consisten en introducir una fuente de emisores γ en el organismo y localizar y medir en el exterior la radiación electromagnética emitida, con equipos capaces de expresarla en términos cuantitativos o cualitativos. Las técnicas que se basan en estos fundamentos, se conocen como técnicas de diagnóstico centellográficas; son las más difundidas y con ellas se obtiene la representación bidimensional del órgano o tejido en estudio (es decir información sobre su morfología). En otros casos (ensayos dinámicos y cinéticos), lo que se obtiene es información funcional de dicho órganos (1).

Los radionucleidos, en estado elemental o como sales simples, no son biológicamente utilizables, es necesario tener muy en cuenta, que el avance de la

medicina nuclear se debió a la marcación de un considerable número de moléculas, en general orgánicas, con diversos nucleidos radiactivos (moléculas marcadas) (1).

Esta molécula, que una vez marcadas continúan conservando sus propiedades farmacológicas y siguiendo caminos metabólicos determinados, son fácilmente detectables, aun en cantidades en extremo pequeñas, gracias a los átomos radiactivos que han incorporado (1).

3.2 Radioquímica del Tecnecio ^{99m}Tc

El método más usado de preparación de ^{99m}Tc es por elución como $^{99m}\text{Tc}-\text{TcO}_4^-$ de un generador de molibdeno (Mo) (3). El tecnecio 99m es el hijo del ^{99}Mo (Ver Anexo No. 1 y 2) (2,3).

Todos los nucleidos de tecnecio son radiactivos, rango en $t_{1/2}$ de 5 segundos para el ^{102}Tc a ^{97}Tc cuyo $t_{1/2}$ ha sido determinado de 2.6×10^6 años. Para aplicaciones biomédicas el Tc utilizado es el ^{99m}Tc de corta vida (3).

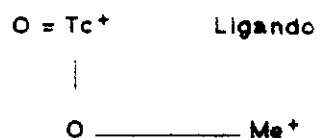
El tecnecio posee estados de oxidación en el rango de -1 a +7. De estos, el +4 y +7 parecen ser unos de los más estables, especialmente el estado de oxidación +7 (3).

Como modelo de trabajo, se tiene la siguiente hipótesis: reducción del Tc(VII) (TcO_4^-) a Tc(IV) produce TcO_2 estable, el cual se comporta como un anfótero y puede ser escrito como una de sus dos formas



donde la forma polarizada puede ser ahora tanto protonada como hidroxilada (3).

Uno de estos puede ahora formar un quelato bimetálico si otro metal está presente (3).



La preparación de radiofármacos con ^{99m}Tc es una formación compleja de un ligando con ^{99m}Tc en un estado de oxidación del tecnecio más bajo que +7. La composición exacta y estructura del(de los) complejo(s) formado(s) no son conocidos con certeza. En coloides o partículas la especie reducida ^{99m}Tc está menos definido y no están específicamente estabilizadas. Dependiendo de las condiciones de reacción, en algunos sistemas ^{99m}Tc /ligando varios complejos pueden ser formados con diferente comportamiento biológico. Por lo tanto, en todos los procedimientos de marcaje con ^{99m}Tc el pertechnetato- ^{99m}Tc es reducido por un agente reductor, seguido por la formación estable de un quelato complejo con el ligando, o por la unión a una partícula conveniente. La reducción del pertechnetato- ^{99m}Tc en la preparación de muchos radiofármacos puede ser ventajosamente realizado usando ion estafioso en vista de su gran eficiencia reductora, facilidad de manejo y poca toxicidad (4).

La secuencia de los pasos en la preparación de radiofármacos con ^{99m}Tc son: (a) preparación del Sn(II) , (b) reducción del pertechnetato- ^{99m}Tc con Sn(II) unión simultánea del ^{99m}Tc reducido al ligando (4).

3.3 Antecedentes y Definición del Término Estabilidad

La estabilidad de un producto farmacéutico era considerada tan solo desde un punto de vista cualitativo y un medicamento se consideraba estable, mientras que no se presentara un cambio de olor, color, sabor, consistencia, la formación de un precipitado, el desarrollo y crecimiento de microorganismos o la evolución de gas. Hoy en día, en la medida que se dispone de nuevos y sofisticados métodos de análisis, cada vez más exactos, sensibles y selectivos, se pueden determinar no solamente cualitativamente sino cuantitativamente los componentes remanentes -activos y auxiliares- de un medicamento, sino también, los posibles productos resultantes de la descomposición de los mismos (5).

A finales de la década del 50, el Comité de la Academia Danesa de Ciencias Técnicas, da la primera definición que se intenta dar al término Estabilidad. Se sugirió que la Estabilidad de una preparación farmacéutica se definiera como: «Intervalo de tiempo comprendido desde que se completa la elaboración de un producto, hasta que este no cumple más las especificaciones de la Farmacopea», sin embargo esta definición solamente podría ser aplicable a

aquellos productos cuyas características hubiesen sido especificadas en las diferentes farmacopeas existentes. S.A. Schou efectuó una modificación a esta definición en el año de 1959 y dice así: «La estabilidad de una preparación farmacéutica es el intervalo de tiempo comprendido desde el momento que se completa la elaboración del producto hasta que su potencia se haya reducido en no más de un porcentaje previamente establecido, por ejemplo un 10%». Si se combinara las dos definiciones se obtendría una más práctica como sería: «La estabilidad de una preparación farmacéutica es el intervalo de tiempo comprendido desde el momento que finaliza la elaboración del producto hasta que este no cumple más las especificaciones dadas en la Farmacopea o hasta que la potencia se haya reducido en no más del 10%» (5).

Haciendo una amplia interpretación del término Estabilidad, el Dr. T.D. Whittet, tiene en cuenta para su análisis, todos aquellos factores que pueden provocar una reducción en la eficacia o un aumento en la toxicidad del medicamento, lo cual puede no ser debido estrictamente a cambios de tipo químico. De acuerdo con lo publicado por él en 1964, todo lo que interfiera con la efectividad e incrementa el riesgo de un medicamento, es tan importante como la misma descomposición del componente o componentes farmacológicamente activos (5).

Geoffrey Smith en 1965 define el término Estabilidad cuando se aplica a medicamentos, como la propiedad que tiene el producto de retener sus características originales. De acuerdo con su experiencia, el deterioro es a menudo, pero no siempre manifestado por alteraciones en el producto, las cuales pueden ser detectados por los sentidos. Estas modificaciones pueden deberse a un sin número de reacciones de tipo químico y físico, las cuales pueden involucrar interacciones entre los componentes activos, los auxiliares o excipientes y el recipiente de envase, también pueden deberse al crecimiento de microorganismos y verse afectadas por factores como las condiciones de transporte y almacenamiento de los medicamentos (5).

En 1974, C.J. Lintner, definió la Estabilidad de un producto farmacéutico, como la capacidad que tiene una cierta formulación en un envase determinado de mantenerse dentro de sus especificaciones físicas, químicas, terapéuticas y toxicológicas. También puede definirse como el tiempo transcurrido desde la

fecha de elaboración de la formulación hasta que su actividad química o biológica no es menor que un nivel predeterminado de la potencia etiquetada y sus características físicas no han cambiado en forma perjudicial o apreciablemente (5).

3.3.1 Causas del Deterioro de un Producto

Al analizar las posibles causas de deterioro que pueden afectar la estabilidad de un medicamento, nos encontramos de nuevo frente a un hecho concreto y es el de diferenciar entre las varias causas de deterioro que afecta directamente al fármaco como tal, o a este, en una forma farmacéutica específica. También deben tenerse en cuenta ciertos factores que pueden provocar variación en la magnitud y tipo del deterioro producido (5).

Schou y Morch efectuaron la siguiente clasificación para las reacciones que provocan deterioro en los fármacos y medicamentos (5).

- a. Reacciones de tipo Químico
- b. Reacciones de tipo Fisicoquímico
- c. Reacciones de tipo Bioquímico (5).

Dentro de las reacciones de tipo químico le dan un tratamiento preferencial a las de tipo hidrolítico y a las de tipo oxidativo. Ellos clasifican bajo la denominación de otras reacciones químicas a los problemas de: Reducción, Racemización, formación de Complejos, y agrupan bajo el término micelanea a otro tipo de reacciones menos frecuentes como son la descarboxilación, la isomerización, etc. (5).

Como reacciones de tipo fisicoquímico consideran aquellas que provocan variación en la presión de vapor y en las propiedades de flujo, a las que ocurren en los sistemas coloidales, a las que involucran fenómenos de sorción, de corrosión y a las que causan daños mecánicos. Igualmente se consideran aquí aquellas con efectos de tipo biofarmacéutico y a las causadas por radiaciones ionizantes (5).

Desde el punto de vista del tipo de reacciones posibles, S.A. Schou considera también la importancia de la velocidad de desarrollo de las mismas y en especial de la forma de presentación del fármaco; para ello clasifica las preparaciones farmacéuticas desde un punto de vista fisicoquímico así:

a. Sistemas sólidos heterogeneos, por ejemplo polvos, tabletas, cápsulas, etc.

b. Sistemas líquidos heterogeneos, por ejemplo suspensiones, emulsiones, aerosoles, etc.

c. Sistemas líquidos homogeneos, por ejemplo soluciones, jarabes, parenterales en solución, etc.(5)

3.3.2 Factores de Inestabilidad (6)

1. Solvólisis
2. Catálisis:
 - General
 - Específica
3. Oxido-reducción.
 - Auto-oxidación
 - Procesos redox
 - Sinergismo (efecto del pH y de secuestrantes)
4. Polaridad del vehículo:
 - Constante dieléctrica aparente
 - En la solubilidad
 - En el proceso degradativo
 - Efecto del cosolvente
5. Fuerza iónica
 - En la solubilidad
 - En el proceso degradativo
6. Efecto del pH
 - En la solubilidad
 - En procesos catalíticos

7. **Efectos ambientales:**
 - Radiaciones:** Intensidad de la radiación
Longitud de onda
 - Temperatura:** Energía de activación
Velocidad de reacción
 - Humedad relativa:** Procesos de sorción
Contenido de humedad de equilibrio
Higroscopicidad
Delicuescencia
Volatilidad
 - Oxígeno y gases atmosféricos
8. **Cambios en los estados de las fases:**
 - Superficie específica
 - Distribución de tamaño
 - Floculación
 - Sedimentación
 - Cremado
 - Volumen de sedimentación
 - Grado de floculación
 - Crecimiento cristalino
 - Polimorfismo
9. **Interacción con otros componentes:**
 - Complejación
 - Asociación molecular
 - Solvatación

3.4 Control de Calidad de Radiofármacos

El control de los radiofármacos debe realizarse teniendo en cuenta que, además de reunir las condiciones farmacéuticas comunes a todos los medicamentos inyectables, deberán también cumplir normas respecto a otras condiciones (condiciones radiofarmacéuticas) que le son propias y específicas (1).

3.4.1 Controles de las Condiciones Radiofarmacéuticas

La estabilidad química de los compuestos marcados es otro de los problemas necesarios de analizar en cada caso. Ella está ligada no solamente a los problemas de pureza química, condición que constituye una característica común a todos los fármacos, dentro de cuyo dominio deben respetarse las normas establecidas en las farmacopeas, sino porque afecta a otro de los parámetros específicos de los radiofármacos, como es la pureza radioquímica, en cuyo dominio también se deben cumplir normas, algunas de las cuales están fijadas en las farmacopeas avanzadas (1)

3.4.1.1 Pureza Radioquímica

La pureza radioquímica de un radiofármaco es la proporción de la radiactividad total en la forma química deseada (7).

Muchos son los factores que influyen en la pureza radioquímica de un radiofármaco. Por un lado, algunas veces, los métodos de preparación y purificación de un radiofármaco no permiten llegar al 100% de pureza. Por otro lado, su estabilidad es por lo general muy dependiente del medio en que se encuentra, de la concentración de actividad, de las condiciones y del tiempo de almacenamiento, para no citar más que algunos de los factores más importantes. Como del compuesto marcado original aparecen varias impurezas radioquímicas (1).

Es, por lo tanto, de fundamental importancia conocer, tanto los factores que hacen a la estabilidad del compuesto, como los métodos para determinar la pureza radioquímica (1).

3.4.1.2 Estabilidad de los Radiofármacos

Es bien conocido el hecho de que todo compuesto químico puede ser alterado con el tiempo, debido a la influencia de factores tales como la temperatura, el pH, la luz la presencia de impurezas, la acción de microorganismos, etc (1).

Naturalmente los radiofármacos son también sensibles a esos factores; sin embargo, su estabilidad suele verse disminuida, además, debido a la acción de las radiaciones emitidas por ellos mismos (1).

Los mecanismos que intervienen en el fenómeno de la autorradiólisis son varios (1).

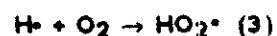
Por un lado, si una misma molécula contiene dos o más átomos radiactivos, al desintegrarse uno de ellos, los efectos del proceso hacen que la molécula original se fragmente, dando origen a nuevos compuestos también radiactivos. Por fortuna, en la práctica, este proceso es relativamente poco importante, pues salvo en el caso de macromoléculas marcadas y de compuestos que contienen radionucleidos de período corto, la probabilidad de que dos o más átomos radiactivos se encuentren en la misma molécula es muy pequeña (1).

Otro mecanismo que, en cambio, tiene mucha mayor importancia, especialmente en los preparados de muy alta actividad específica, es la radiólisis, debida a la acción directa de la radiación emitida por uno de los componentes radiactivos sobre otras moléculas marcadas (1).

En este caso, los recursos utilizables para minimizar el fenómeno se basan fundamentalmente en disminuir la probabilidad de que la radiación que emite el átomo radiactivo de una molécula llegue a actuar sobre otra moléculas marcada. Ello puede ser logrado 'alejando' entre sí las moléculas marcadas, ya sea, diluyendo el preparado con moléculas estables del mismo compuesto (con el inconveniente de la disminución de la actividad específica), o bien, diluyéndolo en un medio apropiado mediante un compuesto inactivo distinto compatible con el preparado, con sus usos posteriores y estable a la acción de las radiaciones (1).

Este último recurso no siempre puede utilizarse y requiere un cuidadoso estudio previo para garantizar la conveniencia de su empleo (1).

El mecanismo por el cual se produce la mayor parte de la autorradiólisis de un preparado es la acción sobre las moléculas del medio (1). Los antioxidantes son frecuentemente usados para prevenir la catálisis radiactiva, oxidación temprana de los radiofármacos inducida por aire; los viales conteniendo la mezcla de ligando $8n+2$ -quelato, tienen que ser envasado al vacío o con nitrógeno, para prevenir reacciones del oxígeno con radicales primarios que resultan de la radiólisis del agua; un número de radicales libres producidos del agua, ejemplo el radical libre HO_2^* , y otros, son altamente oxidantes, y así de esta manera algunas trazas de oxígeno potencializarán la inducción de oxidaciones por la radiación (3).



Si uno de estos radicales reacciona con las moléculas marcadas del medio, producirá una alteración de la misma con la formación de un nuevo compuesto radiactivos y con la consiguiente disminución de la pureza radioquímica del preparado (1).

Para limitar el daño producido por los efectos secundarios que se acaban de mencionar, se suelen adoptar algunas precauciones que son efectivas en la mayoría de los casos. Conviene aclarar, sin embargo, que para algunos compuestos pueden existir contraindicaciones que hacen necesario un estudio previo de las condiciones óptimas de almacenamiento (1)

A pesar de haber puntualizado la influencia de la autorradiólisis en la pureza radioquímica de un radiofármaco, no hay que descuidar todos los otros factores que pueden influir

en la descomposición del preparado radiactivo. Habrá que prestar especial atención a la cuidadosa limpieza del material con el cual está en contacto el compuesto y también convendrá, cuando ello sea posible, mantener las soluciones en condiciones de esterilidad. La proliferación de microorganismos en las soluciones puede alterar en forma notable la pureza radioquímica del compuesto, es especial cuando éste se encuentra en muy bajas concentraciones. En el caso de compuestos sensibles a la luz habrá que almacenarlos en frascos oscuros o simplemente en la oscuridad (1).

3.5 Cromatografía en Capa Delgada

La cromatografía en capa delgada instantánea (CCDI) y papel son los métodos analíticos más frecuentemente usados para la determinación de la pureza radioquímica. Cantidades en microlitros de los radiofármacos son aplicados a un soporte sólido (una tira de papel cromatográfico o una lámina de CCDI) en un punto cercano a la orilla inferior, llamado origen. El papel filtro de celulosa de grado cromatográfico (tal como papel cromatográfico Whatman, Whatman, Inc., Clifton, NJ 07014) y microfibras de vidrio impregnado con sílica gel o ácido silícico (Gelman Instrument Co., Ann Arbor, MI 48106) son el soporte en la cromatografía en papel y en la CCDI, respectivamente (8).

La cromatografía es realizada por la colocación de la parte inferior del soporte conteniendo el origen dentro de solventes apropiados en una cámara cromatográfica tal que el punto de origen no esté inmerso en el solvente. Una atmósfera saturada del solvente es mantenida por el revestimiento de la cámara con un papel adsorbente saturado con el solvente. El solvente se mueve a lo largo del soporte por adsorción y acción capilar resolviendo los componentes de un radiofármaco. Estos son los radiofármacos puros o especie radioquímica deseada unida al tecnecio y sus impurezas radioquímicas, normalmente pertechnetato libre (TcO_4^-): Tc-99m libre, como TcO_4^- , que no ha sido reducido por el $Sn(II)$ y/o está presente por la reoxidación del tecnecio reducido; y, tecnecio reducido hidrolizado (R-Tc): incluido el coloide insoluble de tecnecio-99m estaño y dióxido de tecnecio. Estas diferentes especies radioquímicas distribuidos ellos

mismos a lo largo del adsorbente (papel, sílica gel, o ácido silícico), dependiendo de su distribución entre la fase móvil y estacionaria (8).

Las fuerzas electrostáticas (adsorción) de la fase estacionaria retardan varias especies radioquímicas, mientras que la fase móvil los mueve a lo largo. Este efecto más el hecho de que las especies radioquímicas tienen diferente solubilidad en la fase móvil causa que las especies se muevan a diferente velocidad. La polaridad de los solventes afecta la solubilidad de las especies radioquímicas en un radiofármaco. Los solventes son escogidos por su habilidad de separar los componentes de un radiofármaco sobre una fase estacionaria en particular (8).

Después que el frente del solvente S_f se mueve a una distancia deseada, la tira es removida de la cámara cromatográfica para secarla. La tira es entonces dividida horizontalmente en segmentos iguales, y la radiactividad de cada segmento es medida en un contador apropiado. La distribución de su radiactividad puede ser ploteada como un histograma. Alternativamente, la tira puede ser analizada sobre un radiocromatógrafo, el cual registrará la radiactividad a lo largo de la extensión de la tira. El porcentaje de impureza radioquímica es calculada de la proporción de radiactividad asociada con la impureza comparada con la radiactividad total de la tira (8).

La distancia recorrida por cada especie radioquímica es representada por un valor R_f (frente relativo). El R_f es una posición relativa de una especie radioquímica individual que se mueve en relación a la distancia en que se mueve el S_f . Estas distancias son medidas desde el origen al centro de la parte más concentrada de una mancha y del origen del S_f , respectivamente:

$$R_f = \frac{\text{distancia desde el origen al centro de la mancha}}{\text{distancia desde el origen al } S_f} \quad (8)$$

Los valores R_f son determinados con especies radioquímicas conocidas. Pueden variar bajo diferentes condiciones experimentales, pero puede ser mantenido constante por medio de condiciones controladas cuidadosamente (8).

La cromatografía en papel puede ser tanto del tipo ascendente, en el cual la fase móvil se mueve hacia arriba, o como del tipo descendente, en el cual la fase

movil se mueve hacia abajo. El papel para cromatogramas (usualmente es de 20 - 30 cm de largo) se desarrolla lentamente y puede tomar varias horas. La CCDI (20 cm de largo) es desarrollada de manera ascendente y requiere solamente de 10 - 20 min. para desarrollarla (8).

4. JUSTIFICACION

Una de las aplicaciones del estudio del núcleo del átomo, es la utilización de la radiación que éste emite, para su uso en el tratamiento y/o diagnóstico de diversas enfermedades. Para lo cual se aprovecha la marcación de moléculas orgánicas e inorgánicas con diferentes radionucleidos; que al ser preparados en una forma farmacéutica definida puedan ser administrados a los pacientes.

En la actualidad, en nuestro país son utilizados radiofármacos en varias instituciones hospitalarias, haciendo uso de diferentes radiofármacos marcados con ^{99m}Tc , como uno de los radionucleidos más utilizados.

Teniendo en cuenta de que una forma farmacéutica no se comporta de manera idéntica a otra aunque estas tengan igual formulación, debido a diferentes factores como materias primas, condiciones de producción, equipo de trabajo etc. es necesario controlar la calidad de los diferentes radiofármacos que son distribuidos; y, como cualquier compuesto químico, también los radiofármacos con su respectivo principio activo puede variar por interactuar de alguna manera con el medio en que se encuentre; es importante conocer la estabilidad, en este caso de radiofármacos marcados con ^{99m}Tc , para asegurar su eficiencia desde el momento en que se mezcla el radionucleido con el utilizado de la molécula a marcar, en el diagnóstico al cual esté asignado y conocer así en que tiempo se contará con su eficacia, para no obtener resultados erróneos y no administrar a los pacientes dosis radiactivas innecesarias. Limitándose este estudio al aspecto fisicoquímico de la estabilidad, evaluando la interacción que podrían tener en los recipientes y en diferentes condiciones de protección al ser reconstituídos previos a su administración por medio de pruebas no aceleradas.

5. OBJETIVOS

5.1 General

- 5.1.1 Evaluar la estabilidad de cuatro radiofármacos mediante la determinación de su pureza radioquímica después de marcados con ^{99m}Tc en condiciones no aceleradas, producidos en el Laboratorio de Radiofarmacia de la Dirección General de Energía Nuclear.

5.2 Específicos

- 5.2.1 Determinar si hay interacción del radiofármaco reconstituido con el vial (vidrio tipo I) y/o jeringa (polipropileno), y si es afectado también por la luz.
- 5.2.2 Aplicar la técnica de radiocromatografía en capa delgada para la determinación del tiempo en que el radiofármaco posee un porcentaje de pureza radioquímica útil para diagnóstico.

6. HIPOTESIS

Hasta seis horas de marcados los radiofármacos con ^{99m}Tc se mantiene su pureza radioquímica en un rango del 90 - 110%, pudiéndose utilizar en el diagnóstico centellográfico

La luz natural indirecta y el uso de recipientes de polipropileno interactúan con el radiofármaco marcado disminuyendo su pureza radioquímica, no así en recipientes de vidrio de borosilicato (tipo I) protegidos de la acción lumínica.

7. MATERIALES Y METODOS

7.1 UNIVERSO DEL TRABAJO

Radiofármacos producidos en el Laboratorio de Radiofarmacia de la Dirección General de Energía Nuclear

7.2 RECURSOS HUMANOS

Autor: Walter Augusto Méndez Figueroa
Asesor: Licda. Diana Freire de Nave

7.3 RECURSOS MATERIALES

Se empleará el equipo técnico nuclear proporcionado por la Dirección General de Energía Nuclear.

7.3.1 Equipo:

- Contador tipo pozo de centelleo sólido con cristal de yoduro de sodio (NaI) activado con tallo (TI) marca Ortec®

Condiciones del contador: Alto Voltaje:	900 V
Ganancia Gruesa:	64
Ganancia Fina:	4
Nivel Inferior:	1.50
Ventana:	0.3

- Calibrador de dosis de centelleo gaseoso Capintec®

7.3.2 Materiales:

- Jeringas de 5 cc. de polipropileno
- Jeringas tipo tuberculina con aguja No. 25
- Viales de vidrio de borosilicato (tipo I)
- Blindajes de plomo
- Tiras de 1 x 12 de microfibras de vidrio impregnadas de sílica gel ITLC-SG marca Gelman®
- Cámaras cromatográficas
- Tijeras
- Lápiz
- Regla
- Tubos de polipropileno

- Algodón
- Papel absorbente
- Pinzas
- Guantes

7.3.3 Reactivos:

- Generador de ^{99}Mo - $^{99\text{m}}\text{Tc}$
- Solución de cloruro de sodio 0.85%
- Metanol al 85%
- Acetona grado reactivo
- Radiofármacos liofilizados:

Tc-99m MAA	Tecnecio Tc-99m macro agregados de albúmina
Tc-99m DMSA	Tecnecio Tc-99m ácido dimercaptosuccínico
Tc-99m MDP	Tecnecio Tc-99m metilendifosfonato
Tc-99m DISIDA	Tecnecio Tc-99m ácido diisopropiliminodiacético

7.3.4 Procedimiento:

- 7.3.4.1 Elución de los Generadores ^{99}Mo - $^{99\text{m}}\text{Tc}$ y medición de la actividad para obtener de 3 a 1 mCi/mL
- 7.3.4.2 Marcación: marcar cada uno de los radiofármacos con un mL del eluido, agitar suavemente.
- 7.3.4.3 Luego de 10 minutos del proceso de marcación proceder a hacer la distribución de la siguiente manera:
- a) 0.5 mL a cada vial de borosilicato dejando uno protegido de la acción lumínica y otro no
 - b) 0.5 mL a cada jeringa de polipropileno dejando uno protegido de la acción lumínica y otro no
- 7.3.4.4 Iniciar el control de la pureza radioquímica después de 10 minutos de la marcación; luego cada hora hasta un lapso de siete horas.

Utilizar hojas de microfibras de vidrio impregnadas con sílica gel ITLC-SG como fase estacionaria de 1 x 12 cm.; metanol al 85%, solución de cloruro de sodio al 0.85% y/o acetona como fase móvil de acuerdo al siguiente esquema:

ABREVIATURA DEL RADIOFARMACO	SISTEMA DE SOLVENTE(S)	R_f		
		0	0.7	1
MAA	Metanol al 85%	MAA-Tc ^a		TcO ₄ ^{-b}
DISIDA	Metanol al 85%	R-Tc ^c	DISIDA-Tc	TcO ₄ ⁻
MDP	NaCl al 0.85%	R-Tc		MDP-Tc y TcO ₄ ⁻
	Acetona	MDP-Tcy R-Tc		TcO ₄ ⁻
DMSA	NaCl al 0.85%	R-Tc		DMSA-Tc y TcO ₄ ⁻
	Acetona	DMSA-Tcy R-Tc		TcO ₄ ⁻

^a Tc-Unido: Especie química deseada

^b TcO₄⁻: Tc-99m libre, como pertechnetato, que no pudo ser reducido por el Sn(II) y/o está presente por la reoxidación del tecnecio reducido

^c R-Tc: Tecnecio reducido hidrolizado, incluye el coloidal insoluble de estaño tecnecio-99m y el dióxido de tecnecio

7.3.4.4.1 Colocar en una o en cada una de las dos cámaras cromatográfica, según sea el caso; una cantidad suficiente de solvente de acuerdo al radiofármaco de interés; y dejar que la cámara se sature.

7.3.4.4.2 Colocar 6µL del radiofármaco en la línea de origen, a un centímetro del borde inferior, marcada con lápiz grueso en las dos tiras.

7.3.4.4.3 Inmediatamente colocar la parte inferior de la tira en el solvente apropiado, sin que los puntos de la muestra queden inmersos en el solvente, y permitir que el solvente migre hasta a una altura aproximada de un centímetro del borde superior de la tira de 12 cm. Las

tiras son inmediatamente colocadas en el solvente con los puntos aun húmedos a fin de reducir la cantidad de radiofármacos oxidado que pudiera producir pertecnectato libre.

7.3.4.4.4 Remover las tiras de la cámara cromatográfica y marcar el frente del solvente, permitiendo que se seque rápidamente.

7.3.4.4.5 Cortar las tiras en secciones de 1 cm. y contar en un contador tipo pozo de centelleo sólido cada una de éstas por 10 segundos.

7.3.4.4.6 Cálculo de:

$$\% \text{ Marcado} = \frac{\text{radiactividad en } R_f \text{ para el radiofármaco}}{\text{radiactividad total de la tira}} \times 100$$

7.4 DISEÑO EXPERIMENTAL

Los datos obtenidos se analizarán por medio de un Diseño Factorial y Regresión Lineal.

7.4.1 Diseño Factorial

7.4.1.1. Aplicar el Diseño Factorial a los cuatro radiofármacos a investigar de forma individual, para determinar en que condición existe menor interacción; teniendo en cuenta los siguientes factores:

a) Luz: radiofármaco protegido de la acción lumínica y sin protección.

b) Recipiente: Vial, jeringa.

c) Tiempo: Lecturas del porcentaje de unión del ^{99m}Tc a la molécula activa por medio de cromatografía a las 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 y 7 horas de marcado.

Con lo cual se obtiene un diseño factorial de 2 x 2 x 8 para luz, recipiente y tiempo, respectivamente.

Para determinar cual o cuales tratamientos son diferentes en cada radiofármaco se aplica la prueba post-ANDEVA de Fisher LSD.

- 7.4.1.2 La unidad de medida a utilizar es el porcentaje de unión de la molécula activa al ^{99m}Tc , para el mejor manejo de datos transformar, previamente a los cálculos, el porcentaje de marcación a arcoseno de la siguiente manera $\theta = \sin^{-1} \sqrt{\frac{\%}{100}}$.

Realizar las pruebas por duplicado.

7.4.2 Regresión Lineal

- 7.4.2.1 Del análisis del Diseño Factorial, seleccionar la combinación que presente menor interacción o sea un alto porcentaje de marcación al final del proceso

- 7.4.2.2 Para predecir el tiempo útil de los radiofármacos calcular la Ecuación de Regresión Lineal y su respectivo Coeficiente de Correlación, con los datos del porcentaje de marcación sin transformar a arcoseno, modificando matemáticamente los valores de los ejes para obtener una mejor linealidad de los datos si fuera necesario.

- 7.4.2.3 Por medio de un Análisis de Varianza evaluar la Ecuación de Regresión Lineal para determinar si describe adecuadamente la relación entre las dos variables (porcentaje de marcación (Y) contra tiempo (X)) y si puede utilizarse convenientemente con fines de predicción, así también proceder a evaluar el Coeficiente de Correlación por medio de una prueba de t de Student para conocer si el valor de t es de magnitud suficiente como para indicar que las dos variables de interés están correlacionadas.

8. RESULTADOS

A continuación se dan los resultados de cuatro radiofármacos, Acido Diisopropiliminodiacético (DISIDA), Acido Dimercaptosuccínico (DMSA), Metilendifosfonato (MDP) y Macro Agregados de Albúmina (MAA); moléculas que fueron estudiadas en pruebas no aceleradas para la evaluación de su estabilidad en las condiciones establecidas marcadas con ^{99m}Tc , elemento radiactivo que usado conjuntamente con las anteriores moléculas se utilizan en diversos diagnósticos y que a su vez ayudó a la identificación de estas moléculas en las tiras cromatográficas.

Se analizaron tres factores con sus respectivos niveles, recipiente: vial, jeringa; protección: sin luz, con luz; tiempo: $t_0, t_1, t_2, \dots, t_7$; los resultados están expresados en su unidad de medida, porcentaje de marcación, sin embargo el análisis estadístico del diseño factorial y prueba post ANDEVA de Fisher LSD se realizó utilizando la transformación a arcoseno de los porcentajes de marcación.

En la siguiente tabla se presentan los valores de p obtenidos del análisis de varianza (ANDEVA) para el diseño factorial, los que indican donde se encontró diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$), correspondientes a cada radiofármaco con sus respectivos factores y niveles estudiados.

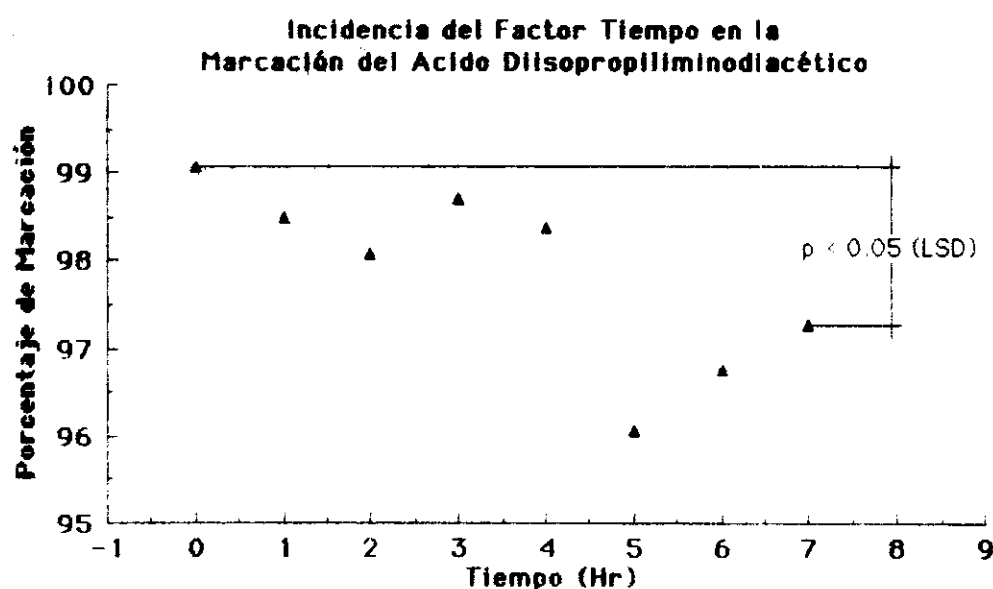
Tabla No. 1: Valores de p para cada radiofármaco, con un $\alpha = 0.05$

FACTOR (nivel)	RADIOFARMACOS			
	DISIDA	DMSA	MDP	MAA
RECIPIENTE (A) (vial, jeringa)	0.6472	0.1632	0.0331	0.0001
PROTECCION (B) (sin luz, con luz)	0.0464	0.0024	0.0016	0.0001
AB	0.4314	0.3796	0.1136	0.2146
TIEMPO (C) (t_0 a t_7)	0.0269	0.0019	0.0472	0.0005
AC	0.1800	0.0345	0.4951	0.0001
BC	0.2796	0.0001	0.4122	0.0007
ABC	0.4884	0.0448	0.7052	0.0016

8.1 ACIDO DIISOPROPILIMINODIACETICO (DISIDA)

Cuando se analizó el factor protección se determinó que existe diferencia ($p=0.0462$) entre sus dos niveles sin luz y con luz, obteniéndose un mejor porcentaje de marcación en el nivel sin luz con un 98.38% contra un 97.47% cuando fue expuesto a la luz (Tabla No. 3, Anexo No. 3).

Durante las siete horas de prueba, en este radiofármaco se encontró diferencias de marcación, como lo muestra la Gráfica No. 1 donde se observa la significancia entre el tiempo inicial y el tiempo final.

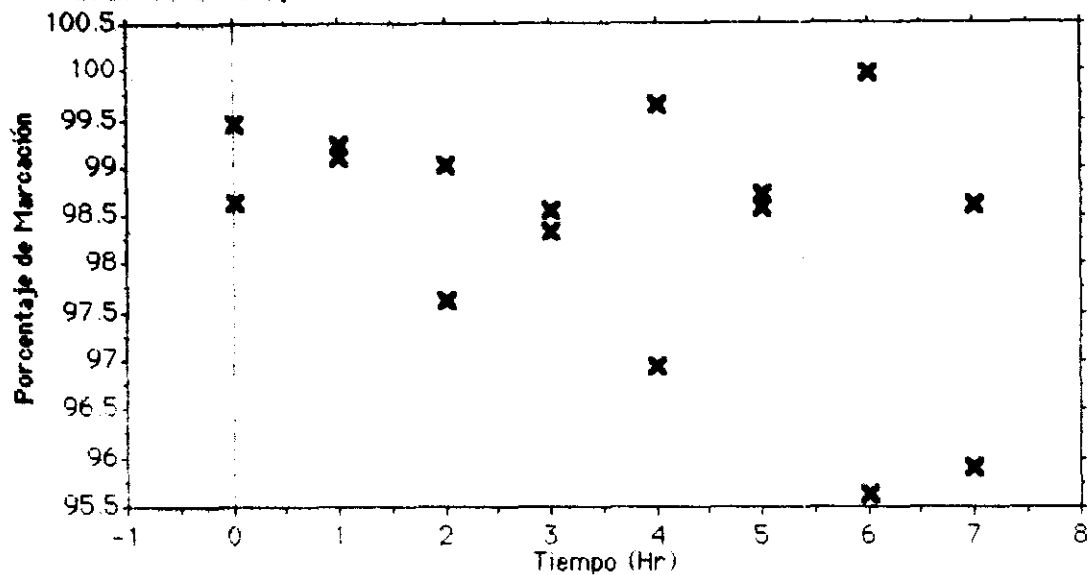


Gráfica No. 1

En cuanto a los demás factores o combinaciones de ellos no existe diferencias estadísticamente significativas (Tabla No. 1)

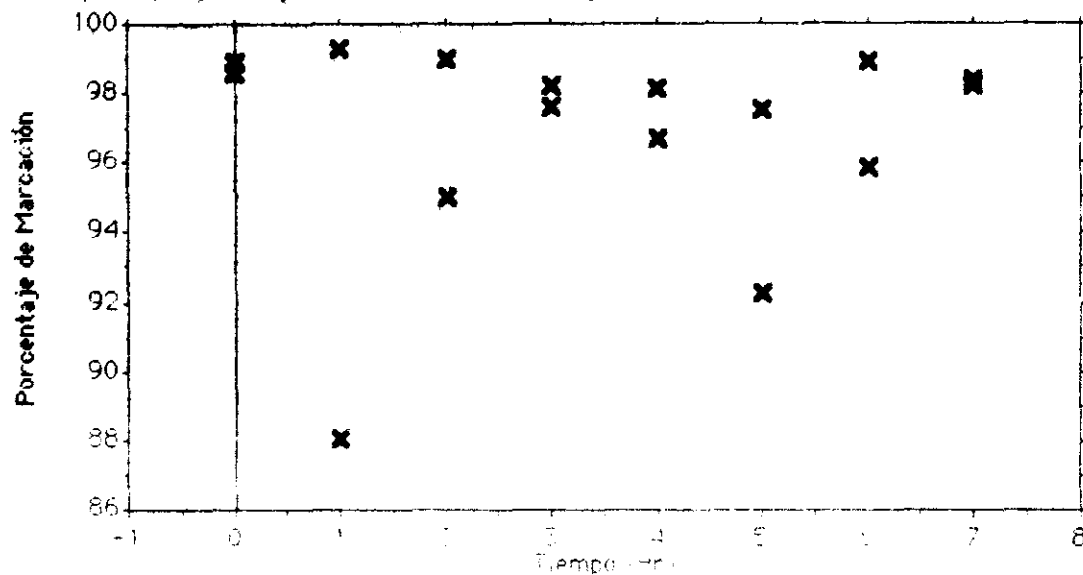
En las combinaciones de los tres factores con sus respectivos niveles no fue posible determinar un tiempo de 'vida' para la combinación de vial-sin luz y con luz, sin embargo ambos presentaron porcentajes de marcación promedio de 98.61% y 97.39%, respectivamente (Tabla No. 3 y 2; Gráfica No. 2 y 3)

Gráfica de Dispersión de Marcación, DISIDA en Condición: Vial-Sin Luz



Gráfica No. 2

Gráfica de Dispersión de Marcación, DISIDA en Condición: Vial-Con Luz

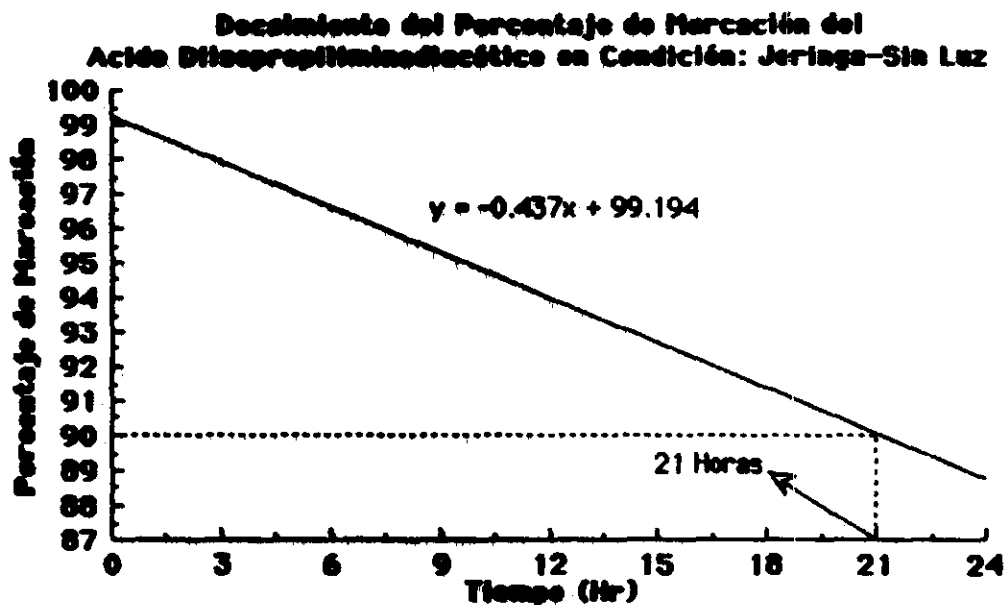


Gráfica No. 3

Tabla No. 2: Ecuaciones y valores p para las condiciones respectivas, con un $\alpha = 0.05$

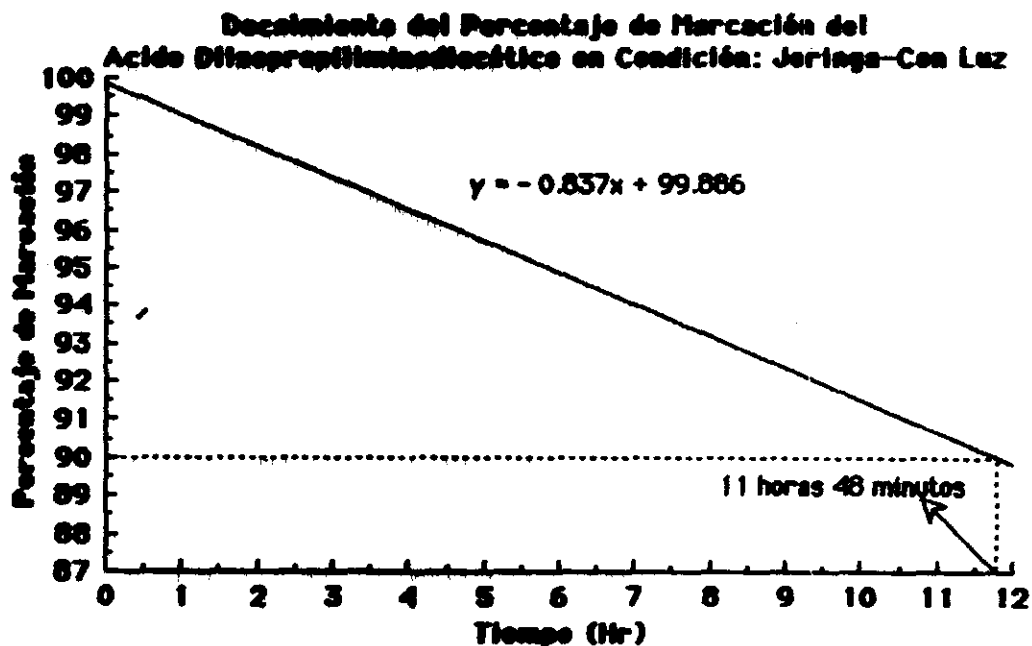
ECUACION	CONDICION	VALOR p para ANDEVA	r	VALOR p t de Student
$y = -0.22x + 99.152$	Vial-Sin Luz	0.1083	0.417	0.0540
$y = -0.437x + 99.194$	Jeringa-Sin Luz	0.0428	0.512	0.0213
$y = 0.104x + 96.57$	Vial-Con Luz	0.7613	0.083	0.3800
$y = -0.637x + 99.666$	Jeringa-Con Luz	0.0033	0.666	0.0017

Para las otras dos combinaciones (Tabla No. 2) se tiene que para la combinación jeringa-sin luz se obtuvo un periodo de "vida" de 21 horas (Gráfica No. 4).



Gráfica No. 4

Y para la combinación jeringa-con luz (Tabla No. 2) se ha obtenido una duración de 11 horas 48 minutos, tiempo que se determinó para que el radiofármaco decaiga al 90% de marcación (Gráfica No. 5)



Gráfica No. 5

Tabla No. 3

ACIDO BISPROPILHIDROACETICO (BISIDA)
 Porcentajes de Marcación ± Desviación Estándar

Incidencia Recipiente-Protección

RECIPIENTE	PROTECCION		Totales
	Sin Luz	Con Luz	
Vial	98.61 ± 0.25	97.39 ± 0.32	98.05 ± 0.43
Jeringa	98.12 ± 0.51	97.95 ± 0.67	97.85 ± 0.58
Totales	98.39 ± 0.38	97.47 ± 0.58	97.95 ± 0.50

Incidencia Recipiente-Tiempo

RECIPIENTE	TIEMPO								Totales
	t=0	t=1	t=2	t=3	t=4	t=5	t=6	t=7	
Vial	98.93 ± 0.04	97.62 ± 1.74	97.91 ± 0.34	98.22 ± 0.02	98.10 ± 0.32	97.21 ± 0.61	98.21 ± 0.84	97.91 ± 0.16	98.05 ± 0.43
Jeringa	99.17 ± 0.02	99.17 ± 0.03	98.21 ± 0.60	99.11 ± 0.01	98.62 ± 1.09	94.68 ± 0.28	94.86 ± 0.25	96.51 ± 0.31	97.85 ± 0.58
Totales	99.06 ± 0.03	98.50 ± 0.87	98.07 ± 0.41	98.70 ± 0.06	98.37 ± 0.61	96.04 ± 0.50	96.74 ± 0.72	97.25 ± 0.25	97.95 ± 0.50

Incidencia Protección-Tiempo

PROTECCION	TIEMPO								Totales
	t=0	t=1	t=2	t=3	t=4	t=5	t=6	t=7	
Sin Luz	99.05 ± 0.04	99.15 ± 0.03	97.71 ± 0.48	98.80 ± 0.03	99.46 ± 0.48	97.46 ± 0.32	97.51 ± 0.94	96.85 ± 0.17	98.38 ± 0.38
Con Luz	99.07 ± 0.03	97.66 ± 1.76	98.69 ± 0.43	98.60 ± 0.09	96.70 ± 0.16	94.33 ± 0.43	95.87 ± 0.60	97.64 ± 0.38	97.47 ± 0.58
Totales	99.06 ± 0.03	98.50 ± 0.87	98.07 ± 0.41	98.70 ± 0.06	98.37 ± 0.61	96.04 ± 0.50	96.74 ± 0.72	97.25 ± 0.25	97.95 ± 0.50

Incidencia Recipiente-Protección-Tiempo

RECIPIENTE	SIN LUZ								Sub Totales
	t=0	t=1	t=2	t=3	t=4	t=5	t=6	t=7	
Vial	99.10 ± 0.10	99.18 ± 3.5E-3	98.40 ± 0.13	98.46 ± 4.1E-3	98.63 ± 0.67	98.66 ± 1.7E-3	98.71 ± 1.86	97.44 ± 0.37	98.61 ± 0.25
Jeringa	98.99 ± 0.03	99.12 ± 0.07	98.90 ± 1.04	99.10 ± 0.01	99.91 ± 0.01	95.89 ± 0.19	95.94 ± 0.18	96.19 ± 0.01	98.12 ± 0.51
Totales	99.05 ± 0.04	99.15 ± 0.03	97.71 ± 0.48	98.80 ± 0.03	99.46 ± 0.48	97.46 ± 0.32	97.51 ± 0.94	96.85 ± 0.17	98.38 ± 0.38

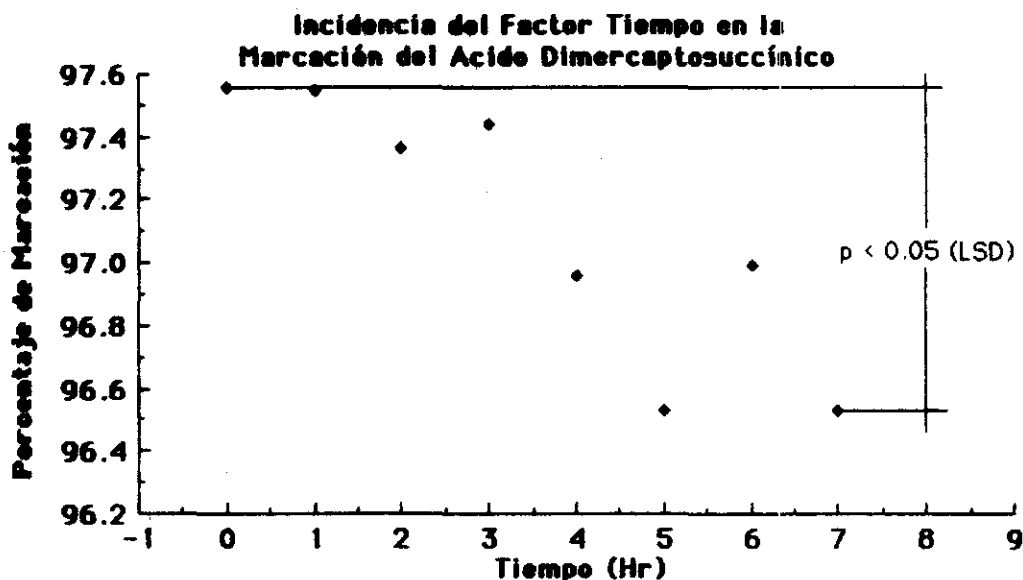
continuación Incidencia Recipiente-Protección-Tiempo

RECIPIENTE	CON LUZ								Sub Totales	Totales
	t=0	t=1	t=2	t=3	t=4	t=5	t=6	t=7		
Vial	98.78 ± 0.01	95.28 ± 3.55	97.37 ± 0.75	97.96 ± 0.02	97.49 ± 0.11	95.26 ± 0.77	97.63 ± 0.49	98.34 ± 2.0E-3	97.39 ± 0.52	98.05 ± 0.43
Jeringa	99.32 ± 1.0E-3	99.23 ± 4.1E-3	99.17 ± 0.03	99.12 ± 0.01	95.82 ± 0.15	93.31 ± 0.33	93.65 ± 0.30	96.82 ± 0.88	97.59 ± 0.67	97.85 ± 0.58
Totales	99.07 ± 0.03	97.66 ± 1.76	98.39 ± 0.43	98.60 ± 0.09	96.70 ± 0.16	94.33 ± 0.43	95.87 ± 0.60	97.64 ± 0.38	97.47 ± 0.58	97.95 ± 0.50

8.2 ACIDO DIMERCAPTOSUCCINICO (DMSA)

En el análisis de este radiofármaco se obtuvo la siguiente información acerca de su comportamiento con las condiciones establecidas de recipiente, protección y tiempo (Anexo No. 4).

Los cambios durante las siete horas en que fueron determinados los porcentajes de marcación para analizar la estabilidad de este radiofármaco, se observó que el ácido dimercaptosuccínico disminuyó su marcación, como lo muestra la Gráfica No. 6, durante este periodo de análisis ($p=0.0019$).



Gráfica No. 6

Si se analiza solamente el efecto de la protección resulta que este radiofármaco presentó una mejor marcación cuando se encontraba protegido de la acción lumínica en el cual se calculó un 97.36% de marcación contra un 96.89% de marcación cuando este fue expuesto a la luz ($p=0.0024$) (Tabla No. 1 y 6).

Al combinar el efecto del tiempo con el anterior factor (protección: sin luz, con luz) se obtuvo diferencias significativas de marcación ($p=0.0001$), en donde el ácido dimercaptosuccínico presentó en general una mejor marcación al transcurrir el tiempo cuando se le mantuvo protegido de la acción lumínica (Tabla No. 1 y 6).

Analizando otro factor como el recipiente (vial, jeringa) en función del tiempo se produjo diferencia en la marcación de acuerdo al recipiente en donde se encontraba

($p=0.0345$), obteniéndose un 97.23% para el vial y un 97.02% cuando se encontraba en jeringa (Tabla No. 1 y 6).

Al combinarse los tres factores (protección, recipiente, tiempo) se produce diferencia ($p=0.0448$) entre las posibles combinaciones; donde se obtuvo que los porcentajes de marcación entre vial y jeringa-sin luz contra jeringa-con luz son los que producen tal significancia de las seis posibles combinaciones de los niveles de los tres factores anteriormente mencionados, la Tabla No. 4 muestra tales combinaciones, donde los niveles del tiempo aunque no se indican quedan implícitos. (Tabla No. 6).

Tabla No. 4: Comparaciones de Condiciones con Valor de Fisher LSD

COMBINACION DE CONDICIONES	DIFERENCIA ABSOLUTA DE MEDIAS COMPARADAS CON Fisher LSD
Vial Sin Luz - Jeringa Sin Luz	0.132 < LSD (0.998)
Vial Sin Luz - Vial Con Luz	0.590 < LSD (0.998)
Vial Sin Luz - Jeringa Con Luz	1.151 > LSD (0.998)*
Jeringa Sin Luz - Vial Con Luz	0.458 < LSD (0.998)
Jeringa Sin Luz - Jeringa Con Luz	1.029 > LSD (0.998)*
Vial Con Luz - Jeringa Con Luz	0.571 < LSD (0.998)

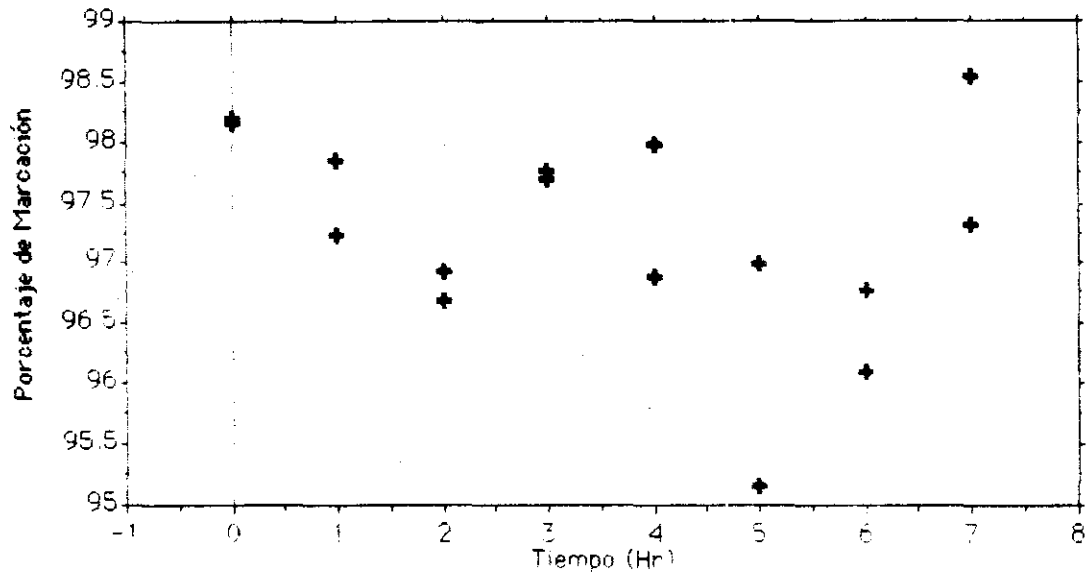
* $p < 0.05$

La determinación del tiempo de 'vida' del ácido dimercaptosuccínico para las condiciones de jeringa-sin luz, vial y jeringa-con luz durante las siete horas de análisis no fue posible, por no encontrarse relación lineal entre la variables porcentaje de marcación y tiempo (Tabla No. 5), sin embargo se determinó que mantienen su promedio de marcación en 97.32%, 97.06% y 96.71%, respectivamente (Tabla No. 6 y 5) sin que se sepa que comportamiento posean (Gráfica No. 7, 8 y 9).

Tabla No. 5: Ecuaciones y Valores de p para las condiciones respectivas, con un $\alpha=0.05$

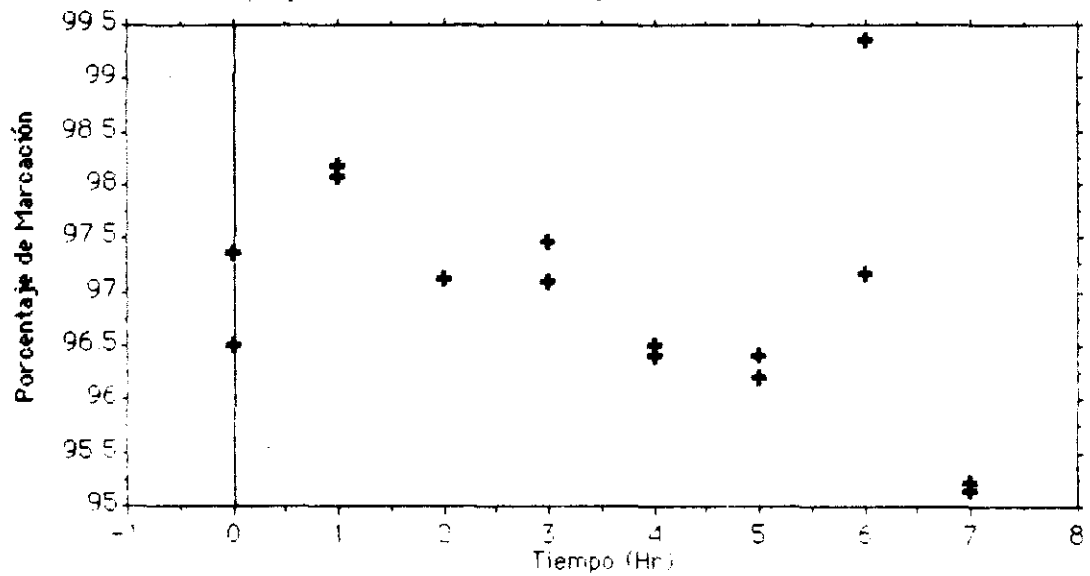
ECUACION	CONDICION	VALOR p para ANDEVA	r	VALOR p t de Student
$y = -0.228x + 98.375$	Vial-Sin Luz	0.0014	0.727	0.0007
$y = -0.116x + 97.782$	Jeringa-Sin Luz	0.2345	0.315	0.1174
$y = -0.176x + 97.746$	Vial-Con Luz	0.1325	0.393	0.0661
$y = -0.144x + 97.323$	Jeringa-Con Luz	0.0685	0.466	0.0344

Gráfica de Dispersión de Marcación, DMSA en Condición: Jeringa-Sin Luz



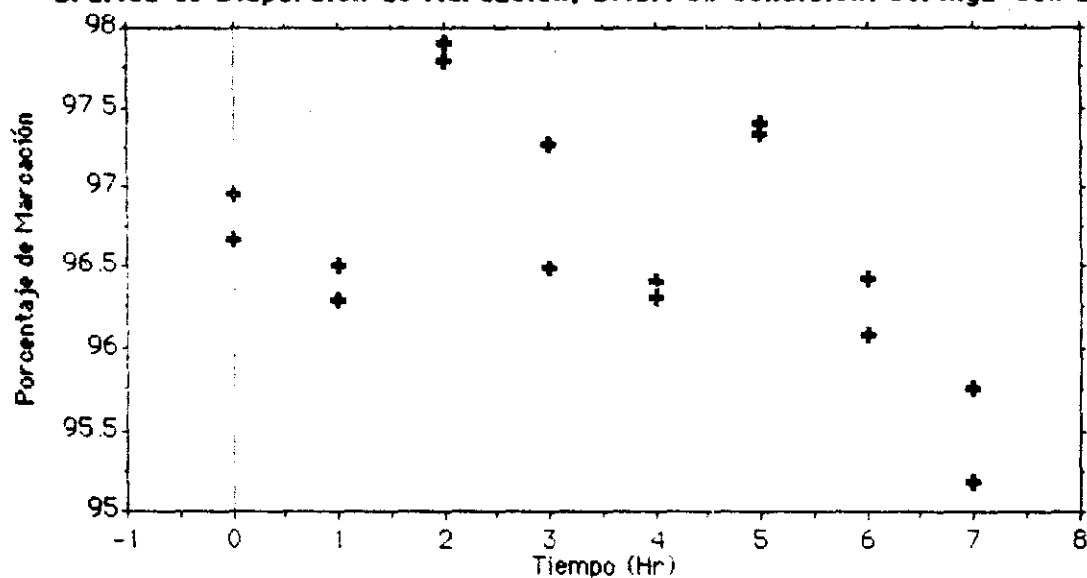
Gráfica No. 7

Gráfica de Dispersión de Marcación, DMSA en Condición: Vial-Con Luz



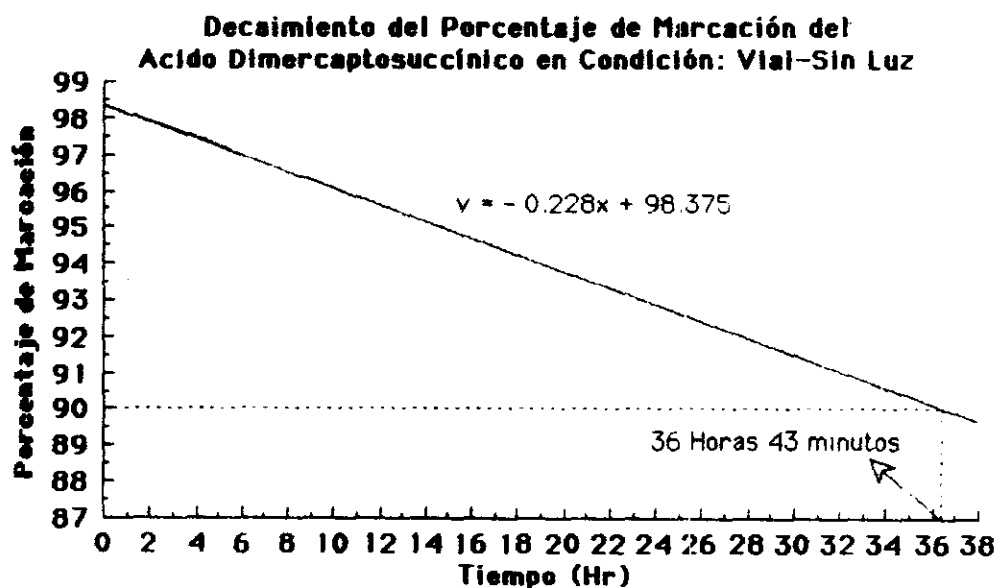
Gráfica No. 8

Gráfica de Dispersión de Marcación, DMSA en Condición: Jeringa-Con Luz



Gráfica No. 9

En la condición vial-sin luz sí fue posible determinar el tiempo en que el radiofármaco decae a un 90% de marcación siendo este tiempo de 36 horas 43 minutos, en la que se mantuvo una relación lineal y buena correlación entre el porcentaje de marcación y el tiempo en las condiciones dadas (Tabla No. 5, Gráfica No. 10).



Gráfica No. 10

Tabla No 6

ACIDO DIMERCAPTOSUCCINICO (DMSA)
 Porcentajes de Marcación ± Desviación Estándar

Incidencia Recipiente-Protección

RECIPIENTE	PROTECCION		Totales
	Sin Luz	Con Luz	
Vial	97.40 ± 0.05	97.06 ± 0.12	97.23 ± 0.08
Jeringa	97.32 ± 0.07	96.71 ± 0.04	97.02 ± 0.06
Totales	97.36 ± 0.06	96.89 ± 0.08	97.13 ± 0.07

Incidencia Recipiente-Tiempo

RECIPIENTE	TIEMPO							Totales	
	t=0	t=1	t=2	t=3	t=4	t=5	t=6		t=7
Vial	97.58 ± 0.06	98.04 ± 3.0E-3	97.37 ± 0.01	97.56 ± 0.01	96.98 ± 0.04	96.28 ± 3.7E-3	97.56 ± 0.21	96.21 ± 0.12	97.23 ± 0.08
Jeringa	97.54 ± 0.06	97.00 ± 0.05	97.35 ± 0.04	97.33 ± 0.03	96.93 ± 0.05	96.78 ± 0.08	96.35 ± 0.01	96.64 ± 0.20	97.02 ± 0.06
Totales	97.56 ± 0.05	97.55 ± 0.05	97.36 ± 0.02	97.44 ± 0.02	96.96 ± 0.04	96.53 ± 0.04	96.99 ± 0.15	96.53 ± 0.15	97.13 ± 0.07

Incidencia Protección-Tiempo

PROTECCION	TIEMPO							Totales	
	t=0	t=1	t=2	t=3	t=4	t=5	t=6		t=7
Sin Luz	96.15 ± 1E-4	97.31 ± 0.01	97.22 ± 0.01	97.14 ± 1.6E-3	97.14 ± 0.01	96.28 ± 3.7E-3	96.21 ± 0.12	96.21 ± 0.12	97.23 ± 0.08
Con Luz	96.67 ± 0.01	97.36 ± 0.12	97.40 ± 0.02	97.09 ± 0.01	96.13 ± 3.7E-4	96.66 ± 0.03	97.47 ± 0.01	96.73 ± 4.0E-3	96.89 ± 0.08
Totales	96.46 ± 0.05	97.35 ± 0.05	97.36 ± 0.01	97.14 ± 0.01	96.69 ± 0.06	96.53 ± 0.04	96.99 ± 0.15	96.53 ± 0.15	97.13 ± 0.07

Incidencia Recipiente-Protección-Tiempo

RECIPIENTE	SIN LUZ							Sub Totales	Totales
	t=0	t=1	t=2	t=3	t=4	t=5	t=6		
Vial	98.14 ± 7.9E-5	97.96 ± 0.01	97.61 ± 0.01	97.07 ± 3.2E-3	97.14 ± 0.01	96.28 ± 3.7E-3	96.21 ± 0.12	96.21 ± 0.12	97.23 ± 0.08
Jeringa	96.17 ± 0.2E-5	97.55 ± 0.02	96.80 ± 2.7E-3	97.73 ± 0.20	97.40 ± 0.06	96.15 ± 6.1E-4	96.64 ± 0.01	96.73 ± 4.0E-3	97.02 ± 0.06
Totales	96.15 ± 7.8E-5	97.81 ± 0.01	97.22 ± 0.01	97.42 ± 0.1E-3	97.27 ± 0.03	96.23 ± 3.7E-4	96.45 ± 0.01	96.47 ± 0.01	97.13 ± 0.07

continuación Incidencia Recipiente-Protección-Tiempo

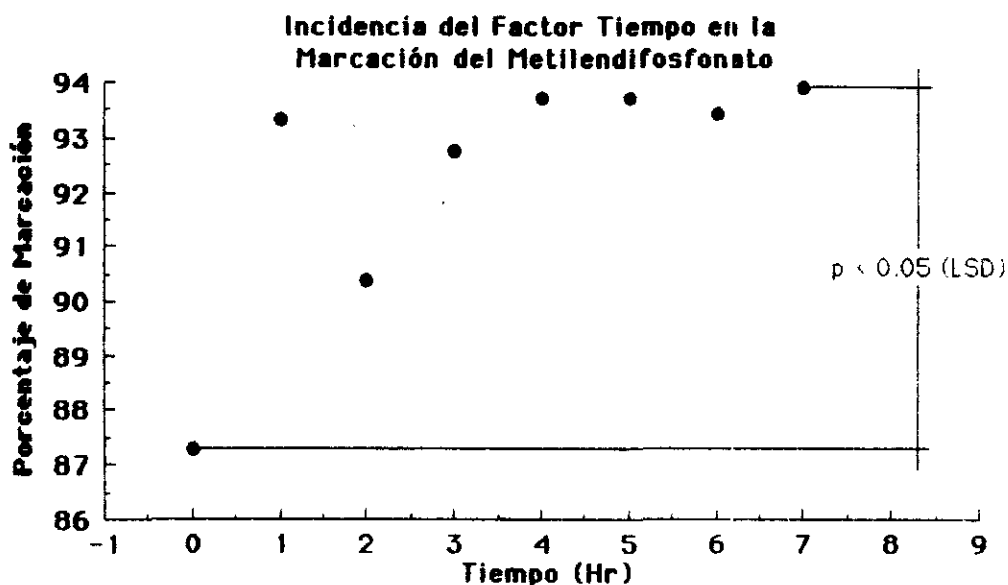
RECIPIENTE	CON LUZ							Sub Totales	Totales	
	t=0	t=1	t=2	t=3	t=4	t=5	t=6			t=7
Vial	96.95 ± 0.03	96.12 ± 7.4E-4	97.11 ± 6.1E-6	97.28 ± 7.0E-5	96.44 ± 3.0E-3	96.30 ± 1.5E-3	96.45 ± 0.40	95.16 ± 1.2E-4	97.06 ± 0.12	97.23 ± 0.08
Jeringa	96.82 ± 3.1E-3	96.40 ± 1.7E-3	97.05 ± 0.8E-4	96.89 ± 0.03	96.36 ± 3.0E-4	97.37 ± 2.2E-4	96.26 ± 4.1E-3	95.47 ± 9.5E-3	96.71 ± 0.04	97.02 ± 0.06
Totales	96.86 ± 0.01	97.33 ± 0.10	97.49 ± 0.02	97.09 ± 0.02	96.40 ± 3.7E-4	96.66 ± 1.0E-3	97.47 ± 0.30	95.33 ± 4.8E-3	96.89 ± 0.08	97.13 ± 0.07

8.3 METILENDIFOSFONATO (MDP)

Se encontró en el análisis de este radiofármaco diferencias significativas en tres factores, las cuales son recipiente, protección y tiempo, no presentándose variaciones significativas cuando estos se combinan (Tabla No.1 y 8, Anexo No. 5)

En el factor recipiente se determinó un porcentaje de marcación de 93.49% en vial contra un 91.30% en jeringa ($p=0.0331$).

En cuanto a la protección, en la condición en que fue protegido de la acción lumínica se obtuvo un 94.04% de marcación y un 90.65% cuando fue expuesto a la luz ($p=0.0016$). Y el factor tiempo indicó la existencia de cambios significativos en la marcación al transcurrir las siete horas de experimentación ($p=0.0016$) (Gráfica No. 11).

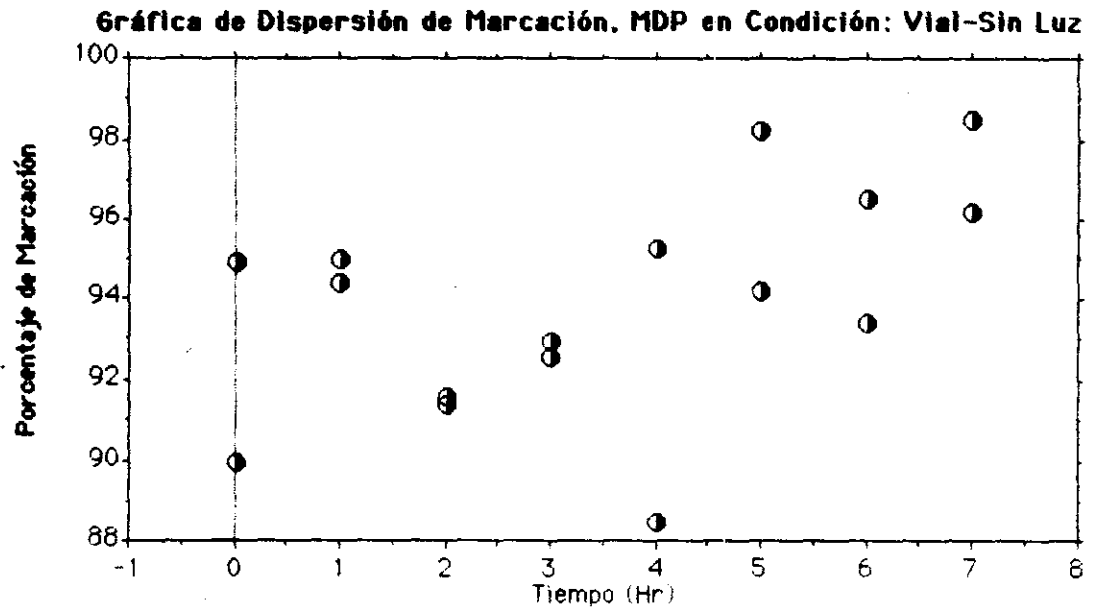


Gráfica No. 11

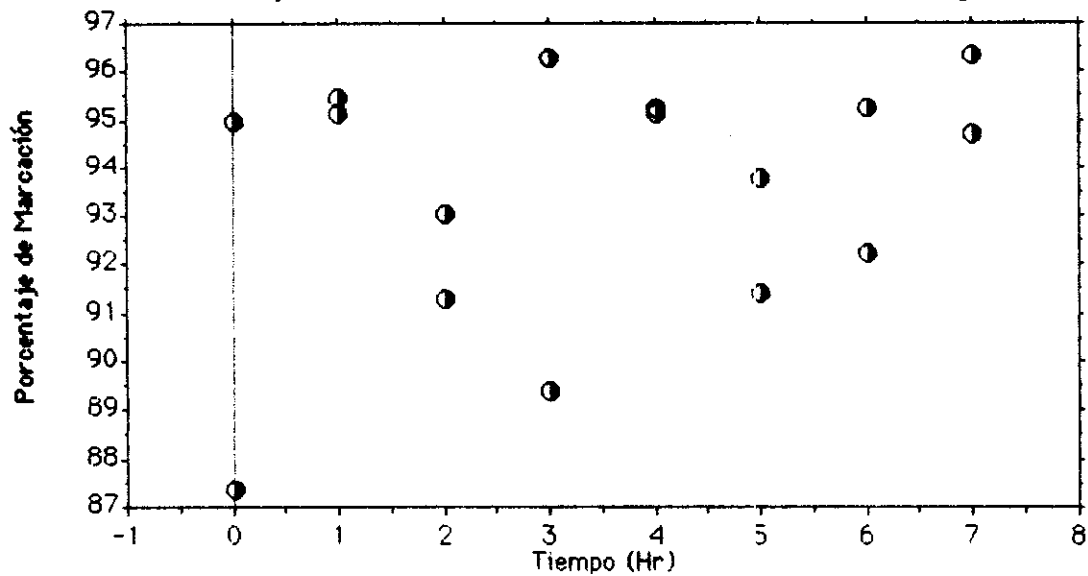
No fue posible con los datos obtenidos elaborar un modelo de regresión lineal (Tabla No. 7), sin embargo los porcentajes para las condiciones estuvieron arriba del 90% de marcación a excepción del estudiado en jeringa-con luz (Tabla No. 8; Gráfica No. 12, 13, 14 y 15).

Tabla No. 7: Ecuaciones y Valores de p para las condiciones respectivas, con un $\alpha = 0.05$

ECUACION	CONDICION	VALOR p para ANDEVA	r	VALOR p t de Student
$y = 0.584x + 91.937$	Vial-Sin Luz	0.0507	0.496	0.0254
$y = 0.313x + 92.478$	Jeringa-Sin Luz	0.2821	0.286	0.1414
$y = 0.396x + 90.99$	Vial-Con Luz	0.2722	0.292	0.1363
$y = 1.737x + 81.498$	Jeringa-Con Luz	0.1115	0.413	0.0559

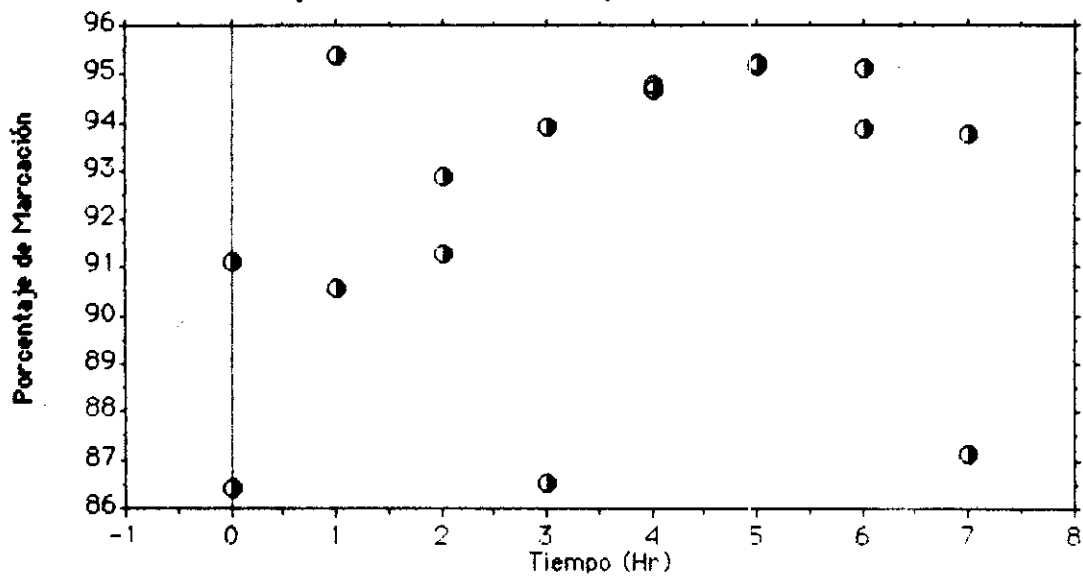


Gráfica de Dispersión de Marcación, MDP en Condición: Jeringa-Sin Luz



Gráfica No. 13

Gráfica de Dispersión de Marcación, MDP en Condición: Vial-Con Luz



Gráfica No. 14

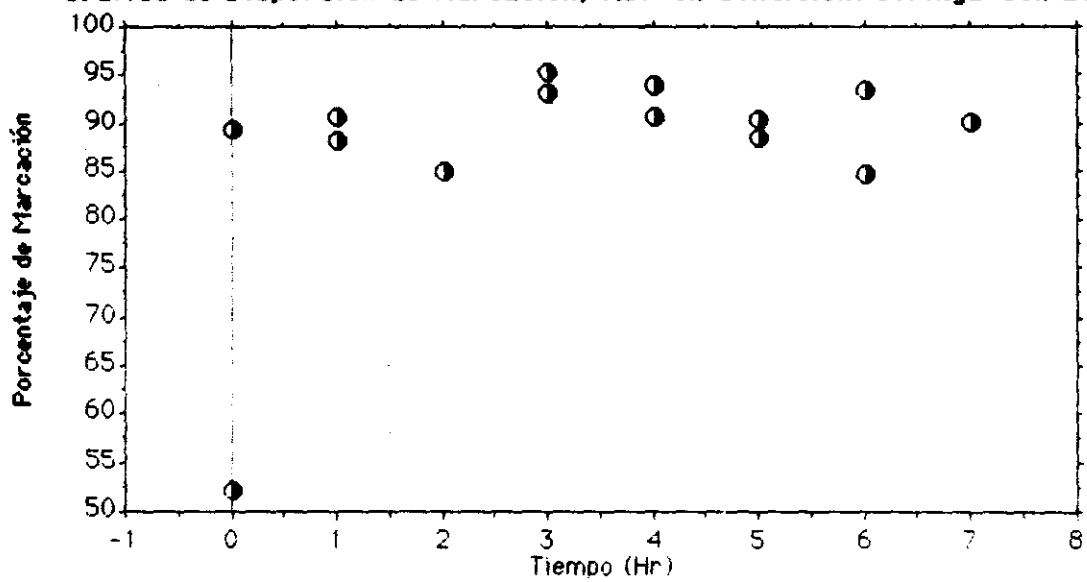
Gráfica de Dispersión de Marcación, MDP en Condición: Jeringa-Con Luz**Gráfica No. 15**

Tabla No. 6

METILENODIFOSFONATO (MDF)
 Porcentajes de Marcación ± Desviación Estándar

Incidencia Recipiente-Protección

RECIPIENTE	PROTECCIÓN		Totales*
	Sin Luz	Con Luz	
Vial	94.30 ± 0.38	92.64 ± 0.33	93.49 ± 0.38
Jeringa	93.77 ± 0.25	88.45 ± 1.51	91.30 ± 1.08
Totales	94.04 ± 0.31	90.65 ± 1.03	92.43 ± 0.76

Incidencia Recipiente-Tiempo

RECIPIENTE	TIEMPO							Totales*	
	t=0	t=1	t=2	t=3	t=4	t=5	t=6		t=7
Vial	90.84 ± 0.39	93.97 ± 0.19	91.82 ± 0.02	91.69 ± 0.32	93.54 ± 0.36	95.88 ± 0.24	94.82 ± 0.11	94.60 ± 1.05	92.79 ± 0.78
Jeringa	83.32 ± 5.45	92.65 ± 0.45	88.49 ± 0.46	93.79 ± 0.37	93.85 ± 0.18	91.12 ± 0.16	91.82 ± 0.31	91.15 ± 0.19	91.76 ± 1.09
Totales	87.32 ± 2.88	93.32 ± 0.29	90.38 ± 0.28	92.77 ± 0.34	93.70 ± 0.23	93.71 ± 0.45	93.40 ± 0.41	93.88 ± 0.63	92.27 ± 0.75

Incidencia Protección-Tiempo

PROTECCION	TIEMPO							Totales*	
	t=0	t=1	t=2	t=3	t=4	t=5	t=6		t=7
Sin Luz	92.11 ± 0.48	95.02 ± 9.7E-3	91.86 ± 0.02	93.00 ± 0.32	93.76 ± 0.40	94.75 ± 0.49	94.48 ± 0.18	96.58 ± 0.21	94.04 ± 0.31
Con Luz	81.60 ± 4.57	91.40 ± 0.33	88.79 ± 0.44	92.54 ± 0.48	93.61 ± 0.14	92.59 ± 0.42	92.22 ± 0.64	90.49 ± 0.22	90.65 ± 0.63
Totales	87.32 ± 2.88	93.32 ± 0.29	90.38 ± 0.28	92.77 ± 0.34	93.70 ± 0.23	93.71 ± 0.45	93.40 ± 0.41	93.89 ± 0.65	92.43 ± 0.76

Incidencia Recipiente-Protección-Tiempo

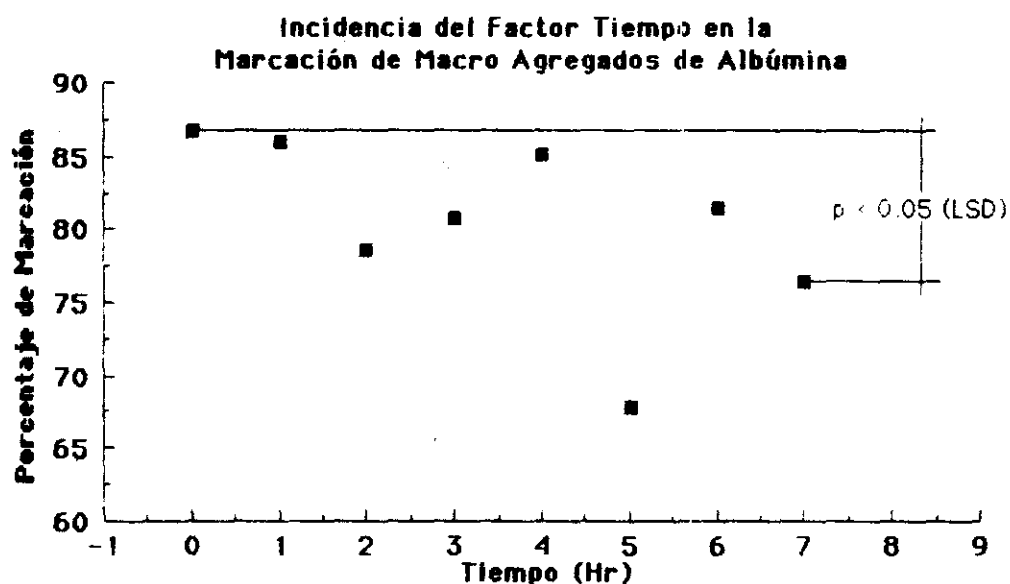
RECIPIENTE	SIN LUZ							Sub Totales	
	t=0	t=1	t=2	t=3	t=4	t=5	t=6		t=7
Vial	92.63 ± 0.45	94.72 ± 8.3E-3	91.51 ± 4.4E-4	92.77 ± 2.9E-3	92.20 ± 0.81	96.51 ± 0.61	95.11 ± 0.26	97.48 ± 0.27	94.30 ± 0.38
Jeringa	91.57 ± 0.94	95.31 ± 2.2E-3	92.21 ± 0.05	93.24 ± 0.95	95.12 ± 3.4E-4	92.65 ± 0.10	93.85 ± 0.18	95.55 ± 0.06	93.77 ± 0.25
Totales	92.11 ± 0.48	95.02 ± 9.7E-3	91.86 ± 0.02	93.00 ± 0.32	93.76 ± 0.40	94.75 ± 0.49	94.49 ± 0.18	96.58 ± 0.21	94.04 ± 0.31

continuación Incidencia Recipiente-Protección-Tiempo

RECIPIENTE	CON LUZ							Sub Totales	Totales	
	t=0	t=1	t=2	t=3	t=4	t=5	t=6			t=7
Vial	88.88 ± 0.28	93.18 ± 0.46	92.12 ± 0.04	90.54 ± 0.80	94.77 ± 3.4E-4	95.21 ± 1.2E-4	94.53 ± 0.04	90.71 ± 0.65	92.64 ± 0.33	91.49 ± 0.38
Jeringa	72.97 ± 9.07	89.49 ± 0.07	84.96 ± 2.6E-4	94.32 ± 0.12	92.36 ± 0.18	89.46 ± 0.06	89.53 ± 1.02	90.27 ± 1.5E-6	88.45 ± 1.51	91.30 ± 1.08
Totales	81.60 ± 4.57	91.40 ± 0.33	88.79 ± 0.44	92.54 ± 0.48	93.61 ± 0.14	92.59 ± 0.42	92.22 ± 0.64	90.49 ± 0.22	90.65 ± 1.03	92.43 ± 0.76

8.4 MACRO AGREGADOS DE ALBUMINA (MAA)

Para este radiofármaco se obtuvieron diferencias muy significativas y diversas interacciones; de las que se tiene, el porcentaje de marcación para las dos condiciones del factor protección: sin luz 76.22% y 84.79% para la condición con luz ($p=0.0001$). En lo que respecta al recipiente se obtuvo un 93.75% para la marcación en vial contra un 62.67% para la marcación de jeringa ($p=0.0001$). Así mismo el factor tiempo reveló cambios ($p=0.0005$) en el porcentaje de marcación durante el período de experimentación (Tabla No. 1, Gráfica No. 16, Anexo No. 6).



Gráfica No. 16

La interacción recipiente-tiempo reveló diferencia de marcación ($p=0.0001$), en donde se obtuvo un 93.75% de marcación en vial contra un 62.67% de marcación en jeringa. Los porcentajes de marcación para la interacción protección-tiempo que se obtuvieron fue de 76.22% sin luz y 84.79% con luz ($p=0.0007$) (Tabla No. 1 y 11)

En la Tabla No. 9 se muestran la combinación de los tres factores con sus respectivos niveles ($p=0.0016$), aunque no se indica en la tabla estas condiciones están en función del tiempo, en donde la diferencia significativa está dada por cinco de las seis posibles combinaciones. (Tabla No. 11).

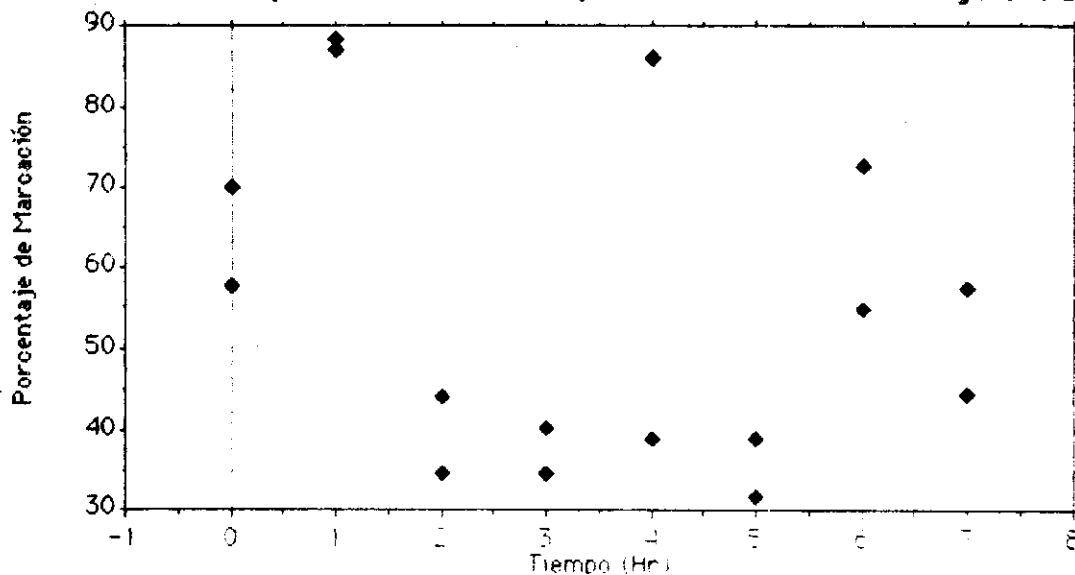
Tabla No. 9: Comparaciones de Condiciones con Valor de Fisher LSD

COMBINACION DE CONDICIONES	DIFERENCIA ABSOLUTA DE MEDIAS COMPARADAS CON Fisher LSD
Vial Sin Luz - Jeringa Sin Luz	24.893 > LSD (5.471)*
Vial Sin Luz - Vial Con Luz	4.531 < LSD (5.471)
Vial Sin Luz - Jeringa Con Luz	16.949 > LSD (5.471)*
Jeringa Sin Luz - Vial Con Luz	29.424 > LSD (5.471)*
Jeringa Sin Luz - Jeringa Con Luz	7.944 > LSD (5.471)*
Vial Con Luz - Jeringa Con Luz	21.480 > LSD (5.471)*

* $p < 0.05$

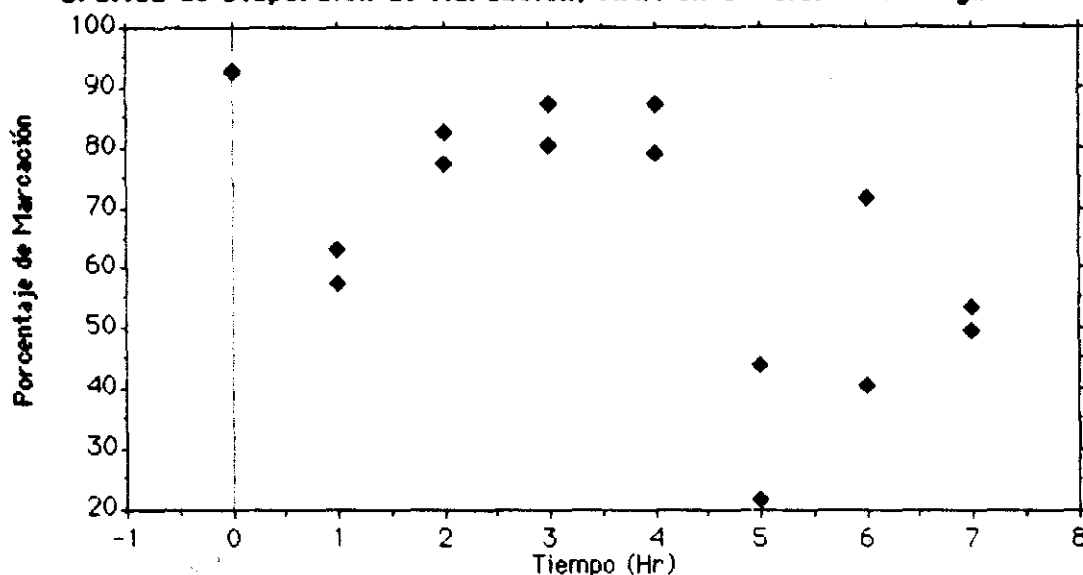
Para este radiofármaco no se obtuvo un modelo de regresión lineal del decaimiento de marcación, para la combinación de jeringa-sin luz ($p=0.2994$), para la combinación jeringa-con luz ($p=0.0137$) la mayoría de los porcentajes de marcación se encuentran por debajo del límite mínimo (90%) (Tabla No. 10 y 11; Gráfica No. 17 y 18)

Gráfica de Dispersión de Marcación, MAA en Condición: Jeringa-Sin Luz



Gráfica No. 17

Gráfica de Dispersión de Marcación, MAA en Condición: Jeringa-Con Luz



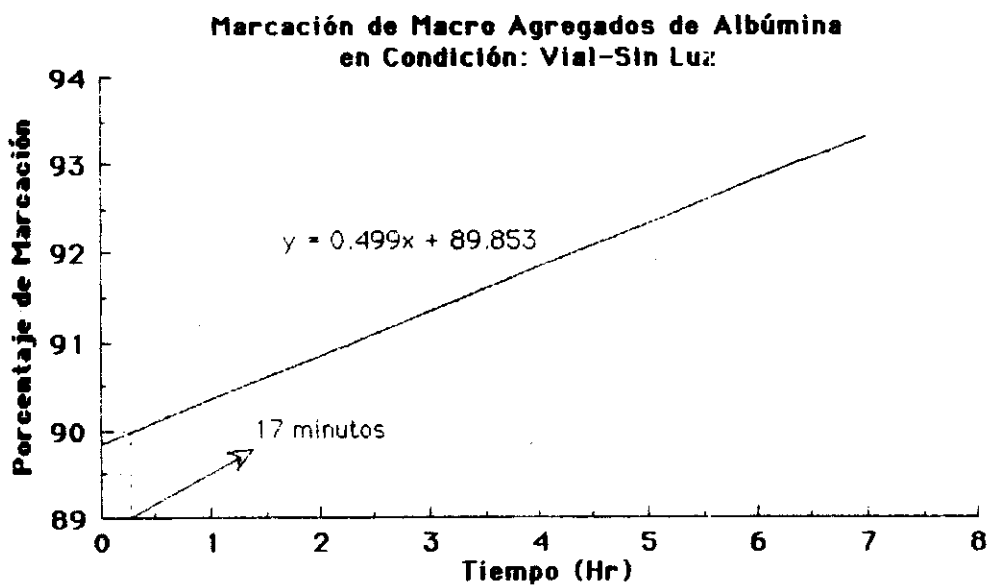
Gráfica No. 18

Mientras la interacción vial-con luz para las siete horas después de marcado aunque se tiene un promedio de 95.53% de marcación no se obtuvo una relación lineal entre el tiempo y el porcentaje de marcación (Tabla No. 10; Gráfica No. 20) y por último la interacción vial-sin luz para las siete horas se tiene un porcentaje de marcación promedio de 91.70% en donde sí se obtuvo una relación lineal entre el tiempo y el porcentaje de marcación (Tabla No. 10).

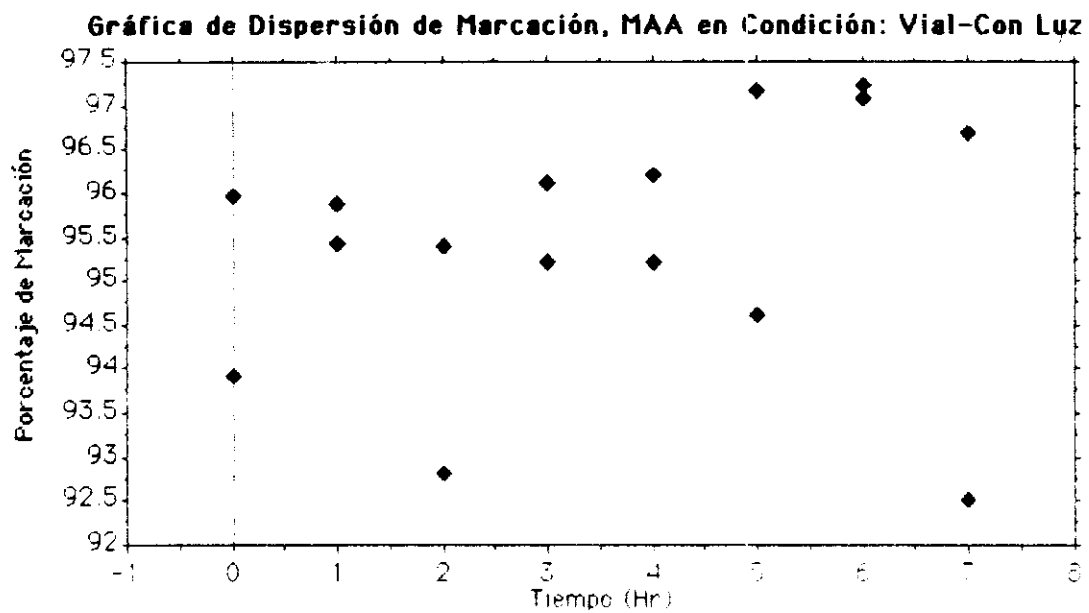
Tabla No. 10: Ecuaciones y Valores de p para las condiciones respectivas, con un $\alpha = 0.05$

ECUACION	CONDICION	VALOR p para ANDEVA	r	VALOR p t de Student
$y = 0.489x + 89.853$	Vial-Sin Luz	0.0158	0.592	0.0079
$y = -2.336x + 63.258$	Jeringa-Sin Luz	0.2994	0.277	0.1495
$y = 0.126x + 95.629$	Vial-Con Luz	0.4382	0.209	0.2186
$y = -5.358x + 86.35$	Jeringa-Con Luz	0.0137	0.601	0.0069

No fue posible determinar el tiempo del decaimiento de marcación, debido a que se observó en las siete horas de estudio un incremento en su porcentaje de marcación (Gráfica No. 19).



Gráfica No. 19



Gráfica No. 20

Table No. 11

MACRO AGREGADOS DE ALBUMINA (MAA)
 Porcentajes de Merceción ± Desviación Estándar

Incidencia Recipiente-Protección

RECIPIENTE	PROTECCION		Totales
	Sin Luz	Con Luz	
Vial	91.70 ± 0.13	95.53 ± 0.12	93.75 ± 0.28
Jeringa	55.66 ± 4.54	69.23 ± 5.51	62.67 ± 5.35
Totales	76.22 ± 7.00	84.79 ± 6.27	80.69 ± 6.82

Incidencia Recipiente-Tiempo

RECIPIENTE	TIEMPO								Totales
	t=0	t=1	t=2	t=3	t=4	t=5	t=6	t=7	
Vial	91.97 ± 0.46	91.24 ± 0.14	92.32 ± 0.24	94.02 ± 0.20	93.38 ± 0.39	93.63 ± 0.52	95.81 ± 0.19	94.28 ± 0.17	93.75 ± 0.28
Jeringa	80.38 ± 4.76	75.01 ± 3.26	60.53 ± 6.25	62.18 ± 8.31	74.40 ± 6.15	33.78 ± 1.10	60.22 ± 2.39	51.43 ± 0.31	62.67 ± 5.35
Totales	86.71 ± 3.08	86.04 ± 3.68	76.67 ± 7.19	80.72 ± 8.43	85.17 ± 4.86	67.85 ± 1.91	81.52 ± 7.41	76.46 ± 7.98	80.69 ± 6.82

Incidencia Protección-Tiempo

PROTECCION	TIEMPO								Totales
	t=0	t=1	t=2	t=3	t=4	t=5	t=6	t=7	
Sin Luz	77.61 ± 3.28	90.03 ± 0.29	67.55 ± 10.82	68.25 ± 12.62	78.94 ± 7.85	66.05 ± 12.66	81.62 ± 5.82	75.76 ± 9.04	76.22 ± 7.00
Con Luz	93.72 ± 0.12	81.50 ± 7.22	67.98 ± 1.73	90.65 ± 1.53	90.46 ± 1.70	69.61 ± 19.17	81.43 ± 11.33	77.14 ± 9.49	84.79 ± 6.27
Totales	86.71 ± 3.08	86.04 ± 3.68	76.67 ± 7.19	80.72 ± 8.43	85.17 ± 4.86	67.85 ± 1.91	81.52 ± 7.41	76.46 ± 7.98	80.69 ± 6.82

Incidencia Recipiente-Protección-Tiempo

RECIPIENTE	SIN LUZ								Sub Totales
	t=0	t=1	t=2	t=3	t=4	t=5	t=6	t=7	
Vial	88.76 ± 0.02	92.63 ± 9.7E-5	90.23 ± 7.3E-3	92.11 ± 0.02	90.56 ± 0.05	90.76 ± 0.21	94.23 ± 0.03	93.66 ± 0.02	91.70 ± 0.13
Jeringa	63.95 ± 0.79	67.09 ± 2.4E-5	39.20 ± 0.48	37.44 ± 0.16	64.20 ± 12.71	35.26 ± 0.28	63.99 ± 1.69	51.03 ± 0.84	55.66 ± 4.54
Totales	77.61 ± 3.26	90.03 ± 0.29	67.55 ± 10.82	68.25 ± 12.62	78.94 ± 7.85	66.05 ± 12.66	81.62 ± 5.82	75.76 ± 9.04	76.22 ± 7.00

continuación Incidencia Recipiente-Protección-Tiempo

RECIPIENTE	CON LUZ								Sub Totales	Totales
	t=0	t=1	t=2	t=3	t=4	t=5	t=6	t=7		
Vial	94.67 ± 0.19	95.66 ± 6.0E-3	94.18 ± 0.15	95.69 ± 0.02	95.73 ± 0.03	95.99 ± 0.21	97.15 ± 1.1E-3	94.81 ± 0.45	95.53 ± 0.12	93.75 ± 0.28
Jeringa	92.69 ± 1.7E-3	60.52 ± 0.16	79.94 ± 0.19	83.95 ± 0.47	83.40 ± 0.62	32.31 ± 2.89	56.38 ± 4.85	51.82 ± 0.08	69.23 ± 5.51	62.67 ± 5.35
Totales	93.72 ± 0.12	81.50 ± 7.22	67.98 ± 1.73	90.65 ± 1.53	90.46 ± 1.70	69.61 ± 19.17	81.43 ± 11.33	77.14 ± 9.49	84.79 ± 6.27	80.69 ± 6.82

9. DISCUSION DE RESULTADOS

En la Tabla No. 1 se puede observar que en los cuatro radiofármacos estudiados existe dos factores comunes en los cuales se encuentra diferencias significativas. estos son protección y tiempo.

Para el factor protección, se tiene que para los radiofármacos Acido Diisopropiliminodiacético (DISIDA), Acido Dimercaptosuccínico (DMSA) y Metilendifosfonato (MDP) los porcentajes de mayor marcación están dados para la condición en la cual se encuentran protegidos de la acción lumínica (Tabla No. 3, 5 y 6) lo cual indica en este caso el efecto notorio de la acción lumínica sobre los radiofármacos, y del tecnecio que de por sí es fotosensible (9). En cuanto a los Macro Agregados de Albúmina (MAA) en donde se obtuvo una respuesta contraria a los tres anteriores, sin embargo se tiene un porcentaje promedio por abajo del límite (90%)(Tabla No. 11) lo que se debe a que en este cálculo se incluyen los valores de porcentaje de marcación de jeringa los cuales hacen que el resultados final disminuya considerablemente; es posible que debido a que los MAA para su marcación se utilizan de forma desnaturalizada y por consiguiente insolubles, el efecto lumínico ayude de alguna manera a la marcación de dicho radiofármaco.

Los valores de $p < 0.05$ en el factor tiempo (Tabla No. 1) muestran que los cambios en el porcentaje de marcación han sido significativos a través de este período de experimentación, ya sea para decrecer o aumentar su porcentaje de marcación como se verá más adelante.

Estos radiofármacos se pueden dividir en dos grupos: el Primero DISIDA y DMSA a los que fue posible determinar, en algunas condiciones, el tiempo en que decaen a un 90% de marcación, y, el Segundo Grupo en donde se encuentran los radiofármacos MDP y MAA en los cuales en algunas condiciones fue posible ajustar una ecuación lineal, pero en el tiempo de experimentación dichos compuestos incrementan su porcentaje de marcación.

Tomando en cuenta los tres factores estudiados conjuntamente, se tiene para el Primer Grupo en donde el ácido diisopropiliminodiacético (DISIDA) (Tabla No. 1) no presentó interacción significativa al combinarse estos factores, sin embargo las dos condiciones que guardan linealidad y correlación entre el porcentaje de marcación y el

tiempo son: jeringa-sin luz y jeringa-con luz (Gráfica No. 4 y 5). Las otras dos condiciones al parecer no afectadas por los parámetros establecidos y no guardando una relación lineal mantienen un buen porcentaje de marcación (Tabla No. 2 y 3; Gráfica No. 2 y 3), por lo tanto se tendría que evaluar otros tiempos para observar su comportamiento de decaimiento. Con las condiciones experimentales se hace notar que el DiSIDA al mantenerse en jeringa decrece más su porcentaje de marcación y con mayor rapidez cuando a esto se adiciona la exposición de la acción lumínica (Gráfica No. 4 y 5) lo que da indicios de que este radiofármaco interactúa posiblemente de alguna manera con el polipropileno de la jeringa y es acelerado por la acción lumínica.

El segundo miembro de este Primer Grupo corresponde al ácido dimercaptosuccínico (DMSA) en donde los tres factores experimentales combinados evidencian interacción como lo indica la Tabla No. 1 y lo demuestra la comparación de condiciones en la Tabla No. 4, lo cual se debe a que la marcación promedio obtenidas en la condición jeringa-con luz, es significativamente menor a las dos sin luz (Tabla No. 6); solamente se ha podido dilucidar el comportamiento de este radiofármaco en condición vial-sin luz (Tabla No. 5, Gráfica No. 10). Las demás condiciones al igual que el anterior radiofármaco aunque mantienen un buen promedio de marcación no fue posible determinar el tiempo en que disminuye su marcación a un 90%. (Tabla No. 5, Gráfica No. 7, 8 y 9).

Para estos dos radiofármacos es importante hacer mención de que el decrecimiento en el porcentaje de marcación puede estar influido desde la interacción a las paredes de los dos tipos de materiales utilizados, a la fotosensibilidad de por sí del tecnecio y/o del estaño (9), hasta efectos más complicados o en combinación de autoradiólisis y/o formación de radicales libres en los que podría estar involucrado el agua que se utiliza como vehículo en la preparación de los radiofármacos.

Hay que tomar en cuenta también en el caso del ácido diisopropiliminodiacético, que su estabilidad parece ser inversamente proporcional al tamaño de los sustituyentes en posición orto (10); y, en cuanto al ácido dimercaptosuccínico, que es un compuesto que se oxida fácilmente (10).

Continuando con el Segundo Grupo en donde se clasificó al MDP y MAA; se tiene para el primero, que el factor recipiente y protección en sus niveles vial y sin luz respectivamente es donde ha presentado mejor marcación, sin embargo analizando

los tres factores conjuntamente no existe interacción significativa (Tabla No. 1). Con este radiofármaco como se observa en la Tabla No. 7 incrementa su marcación y a la vez es favorecido por la condición vial-sin luz (Tabla No. 8).

Según la Tabla No. 7 ninguna de las cuatro condiciones da una linealidad en su comportamiento (Gráfica No. 12, 13, 14 y 15) sin embargo esta linealidad aparece desde el tiempo dos, únicamente para la condición vial-sin luz, en donde se tiene un valor $p=0.0134$ para ANDEVA y un valor $p=0.01149$ para la prueba de correlación (t de Student), en la cual se incrementa el porcentaje de marcación a partir de las dos horas después de marcado según la ecuación $y=1.151x + 88.937$, $r=0.688$; para las demás condiciones no se encontró esta linealidad ($p>0.05$) pero mantienen un buen porcentaje de marcación a excepción de las marcaciones en condiciones de jeringa-con luz (Tabla No. 8).

En los macro agregados de albúmina (MAA), aunque existen dos condiciones, en donde se involucra como recipiente jeringa, los cuales decrecen su marcación, han quedado descartados debido a que este tipo de recipiente independiente de la acción lumínica, el porcentaje de marcación está muy por debajo del valor mínimo de marcación (90%)(Tabla No. 11, Gráfica No. 17 y 18), lo que también contribuye a que en la Gráfica No. 16 se observe un decrecimiento, aunque existan porcentajes de marcación en las otras dos condiciones que están muy por arriba del valor mínimo (Gráfica No. 19 y 20). Aun no guardando un comportamiento lineal la condición vial-con luz mantiene el mejor de los porcentajes promedio de marcación en el tiempo de experimentación, aunque esta marcación con la condición vial-sin luz, no es estadísticamente significativa (Tabla No. 9).

En el caso de la condición vial-sin luz en donde se ha obtenido un comportamiento lineal (Tabla No. 10) ha sido para incrementar su porcentaje de marcación, observándose según la Gráfica No. 19 que alcanza el 90% de marcación después de 17 minutos del tiempo inicial.

Lo anterior indica que estos dos radiofármacos mantienen una cinética de marcación lenta contraria al Primer Grupo en que la marcación se da en un buen porcentaje desde el inicio.

Para el metilendifosfonato, el aumento del porcentaje de marcación se puede deber a la formación de polímeros en el que cada átomo de tecnecio se une a dos ligantes y cada metilendifosfonato coordinado enlaza a dos tecnecio, por lo tanto, el tecnecio queda rodeado de 6 átomos de oxígeno y lo más probable es que el oligómero tenga 4-6 centros de tecnecio (IV) (10), entonces al transcurrir el tiempo y por la captación creciente de tecnecio por parte de la formación del polímero es que se obtenga mayor cuentas por segundo y por consiguiente un mayor porcentaje de marcación al transcurrir el tiempo.

En el caso de los MAA es posible a que su desnaturalización sea causa de este comportamiento, siendo evidente que el material de polipropileno no le favorece (Tabla No. 11). Por la desnaturalización sufrida durante la preparación el contenido helicoidal decrece y la molécula se despliega de modo que las partes internas llegan a ser accesibles, cerca de la mitad de los 101 iones carboxilato y la accesibilidad que varia con el pH, 17 uniones S-S para reducir u oxidar y de otras uniones no disulfuro pero que en general este despliegue expone las regiones hidrofóbicas de la molécula convirtiéndose en insoluble en el medio acuoso (11), entonces el ^{99m}Tc disuelto marcará primeramente las partes más accesibles, posiblemente las superficiales, alcanzando un porcentaje alto al inicio, para luego llegar a los sitios más inaccesibles venciendo los impedimentos producidos por la pérdida de la conformación nativa de la albumina, con lo cual la marcación de este radiofármaco se incrementa lentamente

10. CONCLUSIONES

1. Se garantiza que los radiofármacos DISIDA, DMSA, MDP y MAA mantienen en las condiciones establecidas un porcentaje de marcación arriba del 90% a excepción del MDP en condición jeringa-con luz y los MAA cuando se mantienen en recipiente de polipropileno (jeringa), en los cuales la marcación se da por abajo del 90%, porcentaje inadecuado para su aplicación en centellografía.

2. Aunque no en todas las condiciones dadas se encontró una relación lineal entre las variables involucradas de tiempo y porcentaje de marcación para la determinación del tiempo de 'vida' se estableció dos grupos en base a su comportamiento o tendencia de marcación.

Primer Grupo: DISIDA y DMSA, radiofármacos que desde el inicio tienen un porcentaje de marcación arriba del 90% y que después decae su marcación.

Segundo Grupo: MDP y MAA, radiofármacos que alcanzan un porcentaje de marcación cercano o superior al 90% al inicio, para luego incrementarlo lentamente.

3. El tiempo, en las condiciones en donde los radiofármacos mantienen un porcentaje de marcación al menos del 90%, es mayor a un período de semidesintegración del ^{99m}Tc con lo que se garantiza que la molécula estará apta para la marcación del o de los órganos de interés en el diagnóstico centellográfico emitiendo radiación gamma (γ) con una energía de 142 KeV, que será suficiente para atravesar el tejido y ser captado por una gammacámara.

4. -La formación de polímeros por parte del MDP en la que en su polimerización capta a dos $^{99m}\text{Tc}(10)$ - y que se da en forma lenta, puede ser la causa de que este radiofármaco aumente su porcentaje de marcación al transcurrir el tiempo.

5. Los MAA interactúan de alguna manera con el material de polipropileno que hacen que la marcación sea insuficiente teniendo porcentajes de marcación abajo del 90%.

De manera contraria cuando este se encuentra en recipiente de vidrio tipo I (borosilicato) en el cual se mejora la marcación del radiofármaco, teniéndose en este

caso que el porcentaje de marcación se incrementa en el tiempo, lo cual se debe a que la desnaturalización causada durante la preparación del radiofármaco, en donde -la forma helicoidal se pierde y el despliegue expone las regiones hidrofóbicas(11)- con lo cual el ^{99m}Tc disuelto marcará primeramente las partes más accesibles, ya que este despliegue también -expone los iones carboxilato y uniones S-S(11)-, para luego ir marcando los sitios de mayor innaccesibilidad y posiblemente críticos ya que de éstos puede depender que el porcentaje de marcación sea aceptable para diagnósticos.

6. Para el DISIDA y DMSA aun no guardando en todas las condiciones una relación lineal de decaimiento del porcentaje de marcación, dichas moléculas mantienen en un tiempo mayor de 6 horas un porcentaje adecuado para ser usadas en centellografía.

7. Aunque las moléculas en algunos casos mantengan una marcación mayor o igual al 90% por un tiempo mucho mayor de 6 horas, no se recomienda su uso después de éste tiempo debido a la emisión de radiación ionizante beta (β^-) por el decaimiento de ^{99}Tc a ^{99}Ru estable.

11. RECOMENDACIONES

1. Utilizar otro tipo de cromatografía ya sea líquida o de gas de manera que la identificación se realice por la molécula en sí y no dependa de la radiación emitida por el radionúclido, y así poder conocer a totalidad el comportamiento del radiofármaco.

2. Aunque en la práctica clínica no es de interés tiempos mucho mayores al primer período de semidesintegración del ^{99m}Tc , pero para tener un conocimiento del comportamiento de la molécula y que pueda servir para otros estudios, evaluar otros tiempos para que al igual que en el inciso anterior se pueda conocer el comportamiento del radiofármaco y establecer el orden en que la molécula va decayendo.

3. Estudiar otros factores que puedan afectar la estabilidad de los radiofármacos e identificar plenamente la interacción que puedan ocurrir.

4. Evaluar la estabilidad *in vivo*, que en otras palabras es el inicio de estudios sobre farmacocinética de radiofármacos.

12. REFERENCIAS

1. Helman J. Farmacotécnica Teórica y Práctica. México D.F.: CECSA, Vols. 8, vol. 7, 1982. 2624 p. (p. 2175-2184, 2189-2191, 2192, 2194-2199).
2. Genaro AR. et. al. Remington Farmacia. 17a. ed. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana, S. A., Vols. 2, vol. 1, 1987. 2723 p. (p. 615-616, 620-621).
3. Tubis M, Wolf W. Radiopharmacy. Los Angeles California, United States of America: John Wiley & Sons, Inc., 1976. XVI+911 p. (p. 51, 219-220, 265)
4. International Atomic Energy Agency. Preparation of kits for ^{99m}Tc radiopharmaceuticals. Viena, Austria: International Atomic Energy Agency, Doc.Tec. No. 649, 1992. 93p. (p. 8)
5. Ponce D'León LF. Estabilidad de Medicamentos. Colombia: Universidad Nacional de Colombia, Doc. Tec. 1991. 24p. (p. 3-5, 7, 9)
6. Jimenez F. Un Enfoque de Sistemas. Colombia: Universidad Nacional de Colombia, Doc. Tec. 1991. 32p. (p.22)
7. Eckelman WC, Levenson SM. Quality Control in Nuclear Medicine. St. Louis, Missouri, USA: CV Mosby, 1977. (p.197-209)
8. Robbins PJ. Chromatography of Technetium-99m Radiopharmaceuticals: a practical guide. New York: The Society of Nuclear Medicine, Inc., 1984. VII+35p. (p.1-4)
9. Liverant JG. de, Marmolejo C. Reacciones fotoquímicas durante la reducción de ion $^{99m}\text{TcO}_4^-$ con ion estano. Rev. Esp. Med. Nuclear. 1991;10:7-9
10. Murphy CA. de. El tecnecio en la medicina nuclear. México, D.F: Sociedad Mexicana de Medicina Nuclear. 1989. 397 p. (p. 133, 134, 240, 241, 265, 268)

11. Putnam FW. The plasma proteins: structure, function, genetic control. 2nd. ed. London: Academic Press. Vols. 3, vol. 1, 1975. XVI+481p. (p. 141, 143, 152, 153)
12. Mortimer CE. Química. 5a. ed. México: Grupo Editorial Iberoamérica, 1983. 768 p. (p. 661-662)
13. Doménech FM et. al. Medicina Nuclear: aplicaciones diagnósticas de los isótopos radiactivos. Barcelona: Editorial Científico-Médica, 1980. 364 p. (p. 6)

13. ANEXOS

13.1 Anexo No. 1

Partículas y ondas

Partículas elementales. Electrones, protones y neutrones constituyen los bloques básicos que forman los átomos, estables y radiactivos. El electrón es la más pequeña de estas tres partículas. Su masa, m_e , es 9.1091×10^{-28} g. Para simplificar, la masa del electrón, m_e , se usa como unidad de masa. La masa del protón es $1.836 m_e$ y la del neutrón $1.838 m_e$. También para simplificar se asigna al electrón una carga de -1 . La carga del protón es de $+1$ y la del neutrón es cero. Aunque la masa y carga de cada una de estas partículas se conoce con tal grado de exactitud su tamaño sólo se conoce aproximadamente. Es del orden de 10^{-13} cm. El tamaño aplicado a objetos tan pequeños no tiene el significado acostumbrado debido a incertidumbre inherentes introducidos por la misma naturaleza de la medición para determinar el tamaño y por la variabilidad del tamaño según la velocidad (2).

El neutrino es una partícula muy extraña. Su existencia fue sugerida por Pauli en 1934 y confirmada por experimentos en 1957. Tiene una carga cero y se cree que su masa en reposo también es cero, y sin embargo desempeña un papel muy importante en la desintegración beta. Las partículas de masa igual o menor que la del electrón se llaman leptones. Los leptones son: electrón, positrón y neutrino. Las partículas que se encuentran dentro del núcleo son los nucleones: protón y neutrón. Los mesones son las partículas de masa mayor que la de un leptón, pero menor que la de un nucleón. Los hiperones tienen una masa mayor que los nucleones (2).

Partículas comunes en la naturaleza (2)

Partícula	Símbolo	Carga	Masa ^a
Negatrón (beta negativa)	$e^-(\beta^-)$	-1	1
Positrón (beta positiva)	$e^+(\beta^+)$	+1	1
Protón	p	+1	1836
Neutrón	n	0	1838
Alfa	α	+2	7346
Neutrino	ν	0	0
Rayo gamma ^b (un fotón)	γ	0	0

^a La masa se expresa en masas electrónicas

^b Aunque los rayos gamma son una radiación electromagnética posee propiedades de partículas

Radiación de núcleos radiactivos

Tres tipos de radiaciones son los emitidos con más frecuencia por núcleos radiactivos. Son las radiaciones alfa, beta y gamma (2).

Las partículas alfa, que constituyen la radiación alfa, son partículas compuestas que consisten en dos protones y dos neutrones, por lo que son idénticas al núcleo de helio: un átomo de helio menos dos electrones. A medida que una partícula alfa pierde energía su velocidad disminuye. Luego atrae electrones a su envoltura K y se convierte en un átomo de helio común. Los límites de las partículas alfa en el aire son de unos 5 cm, y menos de 100 μ en los tejidos (2).

La radiación beta es de dos tipos porque hay dos clases de electrones: el electrón negativo o negatrón, y el electrón positivo o positrón, idéntico al negatrón en todo menos en su carga de +1 en vez de -1. El positrón se llama también antipartícula del electrón. Cuando estos electrones son emitidos por núcleos radiactivos se llaman partículas beta. Las dos partículas beta⁻ y beta⁺ son iguales a e⁻ y e⁺, respectivamente, excepto por su origen. Las partículas beta pueden tener límite de más de 10 pies (unos 3 metros) en el aire y hasta 1 mm. en los tejidos (2).

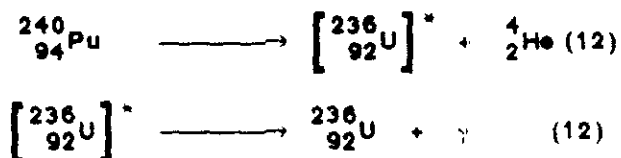
La radiación gamma es básicamente diferente de los tipos alfa y beta. Es electromagnética y las otras son partículas. Los rayos gamma se irradian como fotones o cuantos de energía a una velocidad, c, de 3.0×10^{10} cm/seg. La radiación gamma difiere de los rayos X, rayos ultravioleta, luz visible, etc., (2) por su muy corta longitud de onda, su emisión es originada por los cambios de energía dentro del núcleo. Su emisión sola, no produce cambios en el número de masa o en el número atómico del núcleo. A veces, se produce núclidos en estados excitados por reacciones nucleares y regresan a sus estados fundamentales por la emisión del exceso de energía en forma de radiación γ (12):



Los rayos γ emitidos por un núcleo específico tienen un valor de energía o conjunto de valores de energía definido debido a que corresponden a transiciones entre niveles discretos de energía del núcleo (12).

Así, un espectro de emisión de una radiación γ es análoga al espectro de líneas que resulta de las transiciones de electrones entre los niveles de energía en un átomo excitado (12).

La radiación gamma acompaña frecuentemente todos los otros tipos de desintegración radiactiva. El siguiente proceso de desintegración α es un ejemplo:



Los rayos gamma son los más penetrantes de todos los tipos de radiación emitidos por radioisótopos (a excepción de los neutrinos) y pueden atravesar fácilmente más de 30 cm del tejido o varias pulgadas de plomo (2).

Nucleidos e Isótopos

Los isótopos son especies de nucleidos con el mismo número de protones pero no de neutrones, es decir que son del mismo elemento químico y por lo mismo tienen las mismas propiedades químicas pero difieren por su masa y también pueden diferir por su estabilidad. Ciertos números de masa pueden representar núcleos estables y otros pueden representar núcleos radiactivos. Un nucleido es cualquiera de las especies conocidas, más de 1400, de átomos caracterizados por el número de protones y de neutrones de su núcleo. Los nucleidos que tienen la misma masa se llaman isóbaros. Los nucleidos que poseen el mismo número de neutrones se llaman isótonos (2).

Cinética de la Desintegración

La velocidad de desintegración es el tiempo durante el cual los átomos sufren desintegración radiactiva, y se expresa por $-dN/dt$, donde $-dN$ es el cambio del número de átomos, N , y dt es el intervalo de tiempo, t . El signo negativo indica simplemente que el número de átomos disminuye con el tiempo.

La velocidad de desintegración ($-dN/dt$) es proporcional al número de átomos, N , presentes en cualquier momento, t . Por lo tanto:

$$-dN/dt = \lambda N$$

donde λ es una constante de proporcionalidad llamada generalmente constante de desintegración. La desintegración de átomos radiactivos es entonces una reacción de primer orden. La integración de la ecuación anterior nos da esta útil relación:

$$\ln(N_t/N_0) = -\lambda t$$

donde N_0 es el número de átomos presentes en tiempo cero y N_t es el número de átomos presentes en el tiempo t . Esta relación se usa a veces más cómodamente en la forma exponencial:

$$N_t = N_0 e^{-\lambda t} \quad (2)$$

La velocidad de desintegración, $-dN/dt$, se llama a veces actividad y se representa por el símbolo A . Como la actividad A es proporcional al número de átomos N , también pueden expresarse las siguientes relaciones útiles:

$$A = \lambda N$$

$$\ln(A_t/A_0) = -\lambda t \quad \text{o} \quad A_t = A_0 e^{-\lambda t}$$

o

$$\ln A_t = \ln A_0 - \lambda t \quad (2)$$

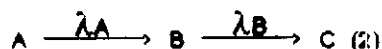
La actividad absoluta se expresa generalmente en desintegraciones por segundo (d/s o dps) o en desintegraciones por minuto (d/m o dpm). La actividad observada, que es menor que la actividad absoluta por un factor igual a la eficiencia del sistema de conteo se expresa en cuenta por segundo (c/s o cps) o en cuentas por minuto (c/m o cpm) (2).

El periodo de semidesintegración es definido como el intervalo de tiempo durante el cual la mitad del número originales de átomos de una muestra se ha desintegrado. El periodo de semidesintegración está relacionado con la constante de desintegración según:

$$t_{1/2} = \frac{\ln(2)}{\lambda} = \frac{0.693}{\lambda} \quad (3)$$

$$\text{La vida media} = \frac{1}{\lambda} \quad (3)$$

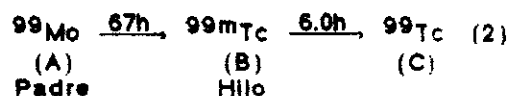
La desintegración consecutiva, secuencial o seriada se produce cuando un nucleido padre A se desintegra produciendo un hijo radiactivo B , que a su vez se desintegra en C :



Si al principio hay sólo átomos de A el número átomos presentes en el tiempo t está dado por (1):

$$N_B = \frac{\lambda_A}{\lambda_B - \lambda_A} N_{A0} (e^{-\lambda_A t} - e^{-\lambda_B t}) \quad (2)$$

Tienen especial interés en la medicina nuclear las combinaciones donde A (Padre) tiene una vida media relativamente larga y B(Hijo) una vida media corta, como por ejemplo:



Después de un tiempo igual a muchas vidas medias del hijo, se logra lo que se llama un estado de equilibrio secular. En ese momento el crecimiento interno del hijo llega al máximo. Este proceso se utiliza en los generadores de radionucleidos como fuente de radionucleidos de vida corta (2).

Unidades de Radiactividad

Un gramo de radio se eligió como unidad de radiactividad, llamada Curie. Ha sido muy difícil medir la velocidad de desintegración absoluta por segundo (dps) de un curie de radio, aunque el promedio de muchas mediciones usando diversos métodos es aproximadamente 3.7×10^{10} dps. Aunque originalmente definido en términos de radio, el Curie se usa hoy como estándar para la velocidad de desintegración de cualquier radioisótopo. 1 Curie de Carbono 14 significa que esa cantidad de este último es necesario para dar 3.7×10^{10} átomos desintegrados/seg (2).

$$1 \text{ millicurie (mCi)} = 10^{-3} \text{ curie}$$

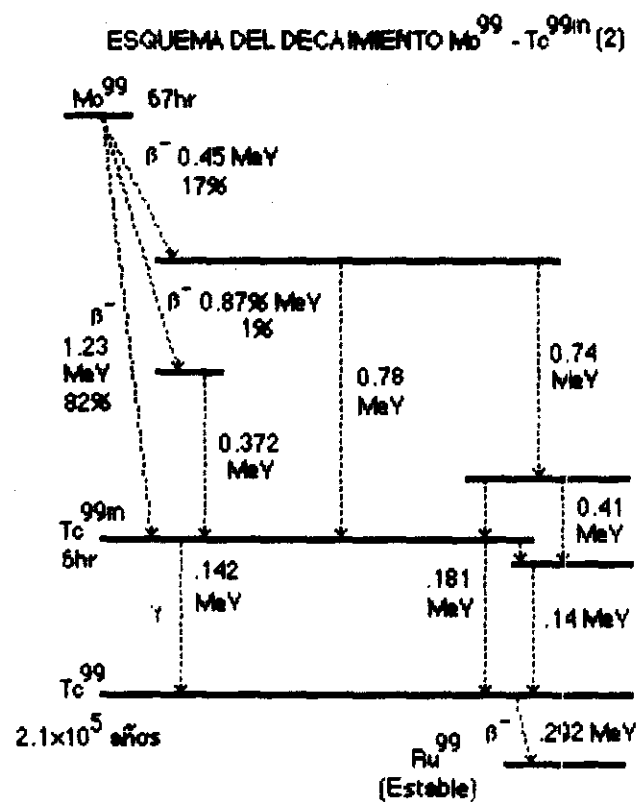
$$1 \text{ microcurie } (\mu\text{Ci}) = 10^{-6} \text{ curie}$$

$$1 \text{ Ci} = 3.7 \times 10^{10} \text{ dps (desintegraciones por segundo)}(2)$$

$$1 \text{ Bq (Becquerel)} = 1 \text{ dps}(13)$$

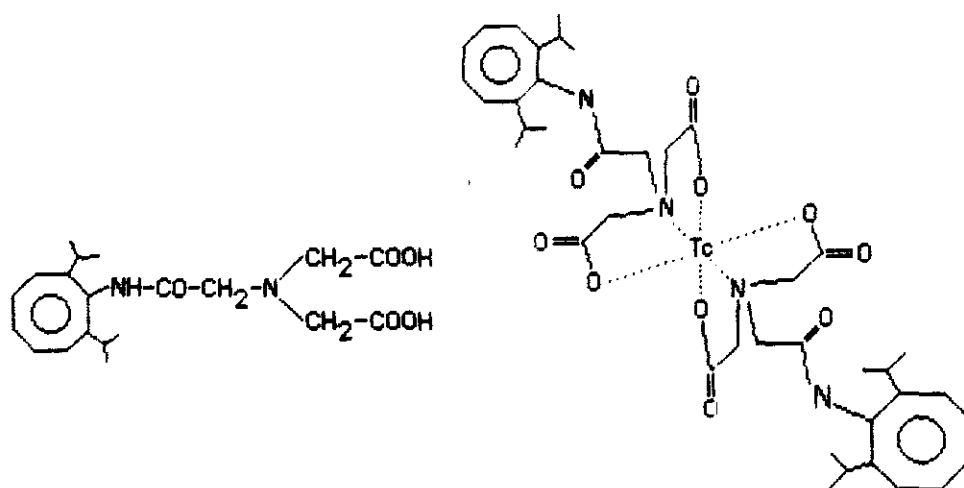
$$37 \text{ GBq} = 1 \text{ Ci}(13)$$

13.2 Anexo No. 2



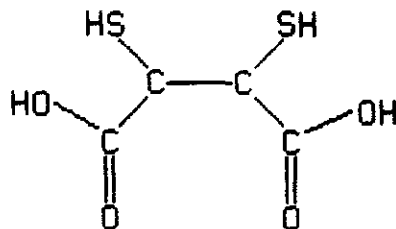
13.3 Anexo No. 3

Estructura del Acido Dilsopropiliminodiacético (DISIDA)(10)



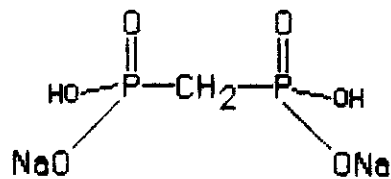
13.4 Anexo No. 4

Estructura del Acido Dimercaptosuccínico (DMSA)(10)



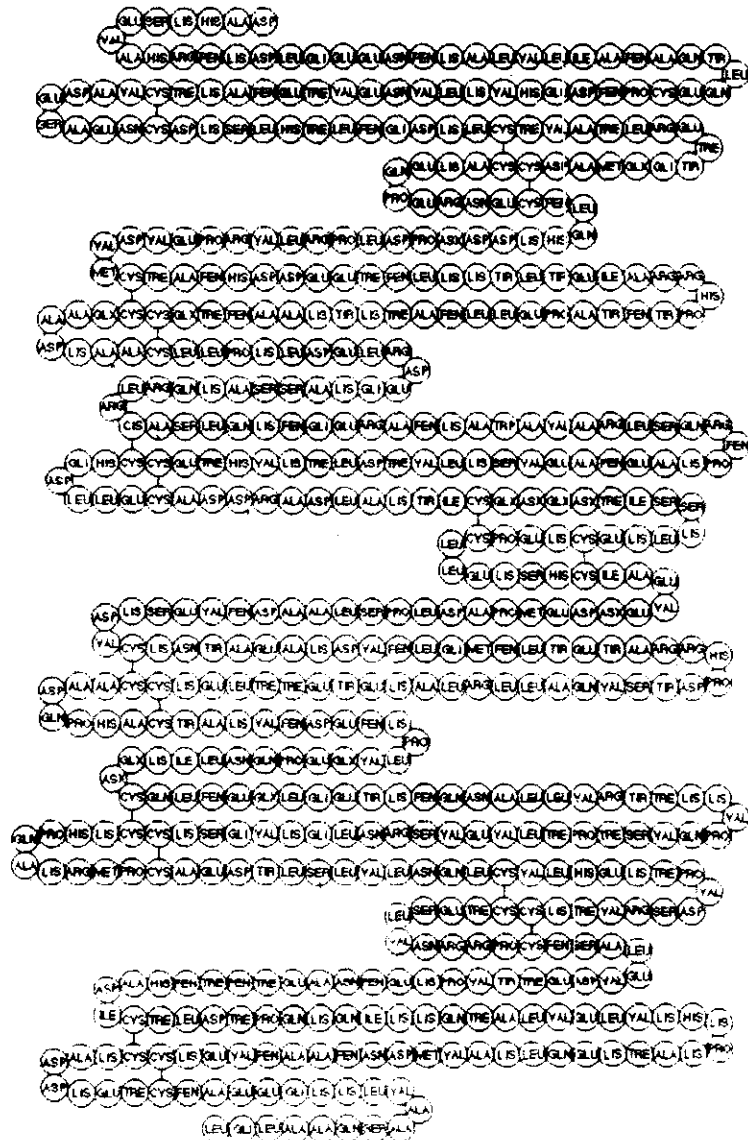
13.5 Anexo No. 5

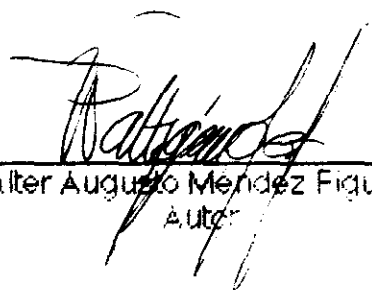
Estructura del Metilendifosfonato (MDP)(10)



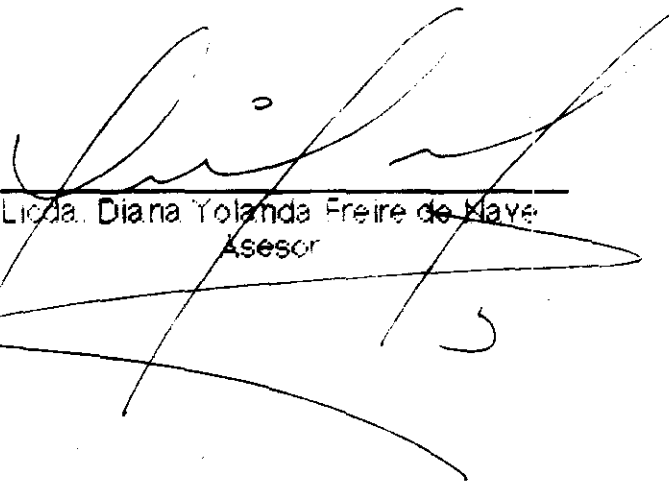
13.6 Anexo No. 6

Secuencia de aminoácidos de la albúmina humana desplegada, en un modelo que muestra los alineamientos propuestos de la uniones cistina (CYS). De los 5 residuos Asx , 3 fueron asignados como Asn y 2 como Asp; de los 8 residuos Glx , 4 fueron asignados como Gln y Glu. Cisteína (CIS)(11)

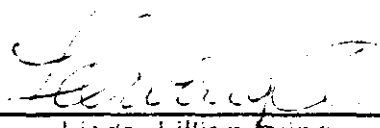




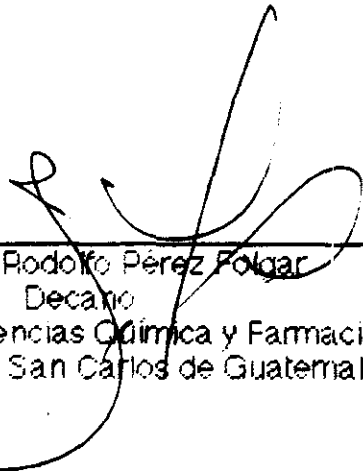
Walter Augusto Méndez Figueroa
Autor



Licda. Diana Yolanda Freire de Maye
Asesor



Licda. Lillian Irving
Directora
Escuela de Química Farmacéutica



Lic. Jorge Rodolfo Pérez Folgar
Decano
Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia
Universidad de San Carlos de Guatemala

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Biblioteca Central