

Centenario del descubrimiento de la radiactividad

Radiofarmacia y radioinmunoanálisis*Judith Lezama-Carrasco****Introducción**

A raíz del descubrimiento de la radiactividad, el hombre de ciencia ha trabajado afanosamente en el desarrollo de sus diferentes aplicaciones, habiéndose alcanzado importantes logros en el campo de la medicina. Esto puede parecer paradójico, considerando el temor generalizado que se le tiene a este controvertido fenómeno, del que lo más que se conoce por la gente común son los efectos devastadores causados hace 51 años por la bomba atómica.

Lo que quizá pocos conocen es que la radiactividad, en cantidades pequeñas y perfectamente controladas, sirve tanto para el diagnóstico temprano de enfermedades como para su tratamiento. Uno de los ejemplos más conocidos lo tenemos en la corrección del funcionamiento de la glándula tiroidea utilizando yodo radiactivo.

La medicina nuclear es la disciplina dedicada a este tipo de aplicaciones de la radiactividad, en las que destaca en forma importante el área de diagnóstico, tema sobre el cual enfocaremos nuestra atención. De manera simplificada, se puede decir que para el diagnóstico se realizan dos tipos de estudios: *in vivo* e *in vitro*.

- Los estudios *in vivo* consisten en administrar al paciente, generalmente por vía intravenosa, una pequeña cantidad de una sustancia radiactiva, conocida como radiofármaco, y seguir su trayectoria por medio de un equipo externo de detección de la radiación.
- En los estudios *in vitro* se toma una muestra de sangre, aunque podría ser otro fluido del cuerpo, como la orina, y se analiza por medio de la técnica conocida en forma general como radioinmunoanálisis o RIA.

La radiofarmacia y el radioinmunoanálisis son actividades desarrolladas por químicos con entrena-

miento especializado en el manejo de sustancias radiactivas. El nivel de estas actividades va desde la investigación y desarrollo de nuevos radiofármacos o técnicas de RIA, hasta la práctica rutinaria y el control de calidad. Para conocer un poco de estas especialidades se describen a continuación algunos de sus aspectos más relevantes.

Radiofarmacia-radiofármacos

La radiofarmacia consiste en la preparación, almacenamiento, dosificación y control de calidad de los radiofármacos. Se denomina radiofármaco a toda sustancia que, por su forma farmacéutica, cantidad y calidad de radiación emitida puede ser usada en el diagnóstico y tratamiento de las enfermedades de los seres humanos, cualesquiera que sea la vía de administración empleada.

Las sustancias radiactivas empleadas como radiofármacos contienen en su estructura un radionúclido y su forma química define su comportamiento en el organismo.

Los radionúclidos utilizados en los radiofármacos deben reunir determinadas características. Su vida media física y biológica debe ser corta, o relativamente corta, para que pueda detectarse en el organismo sin ocasionar una irradiación excesiva. Solamente los fotones gamma son susceptibles de ser detectados en la superficie del cuerpo; las partículas beta, electrones de conversión, rayos X y fotones de muy baja energía son absorbidos dentro de los tejidos y, por lo tanto, contribuyen a la dosis de irradiación sin proporcionar información.

Otras características importantes son sus propiedades fisicoquímicas, las cuales deben ser adecuadas para poder preparar el radiofármaco en la forma farmacéutica requerida, y estar disponible en el sitio de su aplicación.

En la tabla 1 se muestran los radionúclidos más utilizados, entre los que destaca el tecnecio-99m (isómero nuclear del tecnecio-99), ya que con él se realiza hoy alrededor del 80% de los estudios *in vivo* de medicina nuclear. La razón de ello es que, además de sus excelentes propiedades nucleares; posee características fisicoquímicas idóneas para formar un gran número de compuestos. El tecnecio es un metal de transición que formalmente no existe en la natu-

* Hasta 1990, Gerente de Producción de Materiales Radiactivos en el Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares. Actualmente, en el Departamento de Química Inorgánica y Nuclear, División de Estudios de Posgrado, Facultad de Química de la UNAM, Ciudad Universitaria, 04510 México, D.F.

Tabla 1. Radionúclidos de uso común en radiofarmacia.

Radionúclido	Vida media	Tipo de emisión y energía (keV)
Tecnecio-99m (^{99m}Tc)	6 horas	T.I. gamma (140)
Talio-201 (^{201}Tl)	73 horas	C.E. gamma (167)
Galio-67 (^{67}Ga)	78 horas	C.E. gamma (184)
Yodo-131 (^{131}I)	8 días	Beta $^-$ gamma (364)
Yodo-123 (^{123}I)	13.2 horas	C.E. gamma (159)
Flúor-18 (^{18}F)	1.84 horas	Beta $^+$ gamma (511)

T.I. Transición isomérica; C.E. Captura electrónica.

raleza; ocupa el lugar número 43 de la tabla periódica y pertenece al grupo VIIA entre el manganeso y el renio. Puede formar compuestos con valencia de 3-, 1-, 1+ \rightarrow 7+ y con números de coordinación de 4 \rightarrow 10. Como ejemplo del tipo de complejos de coordinación utilizados como radiofármacos tenemos algunos derivados del ácido iminodiacético (IDA): $\text{H-N}-(\text{CH}_2-\text{COOH})_2$ (figura 1).

A este tipo de complejos se les denomina bifuncionales, porque la porción del IDA actúa como el agente quelante del tecnecio y la porción bioquímica de la molécula, semejante a la lidocaína, hace que siga la misma ruta metabólica de la bilirrubina, coincidiendo con ella en atravesar la membrana de los hepatocitos del hígado. Como consecuencia, estos complejos de tecnecio son útiles para el estudio de la función hepatoiliar.

En la tabla 2 se muestran los radiofármacos de tecnecio-99m empleados con frecuencia en la medicina nuclear, así como los órganos del cuerpo humano estudiados con ellos.

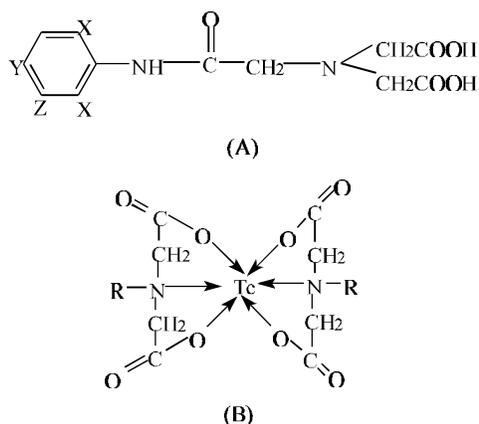


Figura 1. (A) Derivados del IDA; (B) complejo de coordinación.

Generador de tecnecio-99m

Otro factor determinante en la amplia utilización del tecnecio-99m es la facilidad de su suministro a la radiofarmacia de los centros de medicina nuclear en forma de generadores. Si consideramos que la vida media del ^{99m}Tc es de sólo 6 horas, podemos darnos cuenta que resulta difícil, si no imposible, suministrarlo desde el sitio de su producción, ya que normalmente un reactor nuclear dedicado a la producción de isótopos radiactivos se encuentra instalado lejos de los hospitales.

El ^{99m}Tc se produce, entre otras formas, como resultado de la desintegración radiactiva de otro radionúclido de vida media más larga, el molibdeno-99, cuya vida media es de 66.2 horas. Conforme se va desintegrando el ^{99}Mo se va formando ^{99m}Tc pero éste, a su vez, también se desintegra, de tal manera que se alcanza el equilibrio cuando la actividad de ambas especies se iguala. Este equilibrio se alcanza aproximadamente en 72 horas, y si el sistema no se altera, al transcurrir el tiempo parecería que la vida media del ^{99m}Tc es igual a la del ^{99}Mo .

El generador de tecnecio se construye basándose en el equilibrio radiactivo descrito. En la figura 2 se muestra que el generador consiste en una columna cromatográfica de alúmina (A) en la cual se adsorbe firmemente el molibdeno en forma de molibdato de sodio ($\text{Na}_2^{99}\text{MoO}_4$). Al desintegrarse, el ^{99}Mo se transforma en ^{99m}Tc , quedando éste como pertecneciato de sodio ($\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$). El ion pertecneciato, a diferencia del molibdato, queda débilmente unido a la alúmina, por lo que es fácilmente arrastrado por una corriente de solución de cloruro de sodio (0.9%) que proviene del frasco (B) y se recoge en el frasco (C). El flujo de la disolución se logra por la diferencia de presión entre los dos frascos, ya que al (B) se le ha hecho vacío previamente. La elución del tecnecio se efectúa cada vez que éste se necesita, pero en la práctica se hace cada 24 horas, durante 8 a 15 días, que es la vida útil del generador.

Preparación de radiofármacos de ^{99m}Tc

Una vez que se cuenta con el generador de tecnecio en la radiofarmacia, el primer paso para la preparación de los radiofármacos es eluir el generador. La solución de pertecneciato de sodio que se obtiene constituye en sí el radiofármaco más sencillo y como tal se utiliza en algunos estudios (ver tabla 2).

La mayor parte de los radiofármacos de tecnecio son complejos de coordinación que se forman con tecnecio en estado de oxidación inferior a 7+, que es

Tabla 2. Algunos radiofármacos de ^{99m}Tc utilizados en medicina nuclear.

Tipo de radiofármaco	Compuesto	Órgano o función que se estudia
Eluato del generador de tecnecio-99m	Pertecneciato de sodio	Glándula tiroides. Cerebro. Estómago. Intestino.
Coloides	Azufre-Tc Antimonio-Tc	Hígado. Bazo. Sistema linfático.
Suspensiones de partículas	Macroagregados de albúmina-Tc Microesferas-Tc	Perfusión pulmonar. Sistema circulatorio.
Quelatos	DTPA-Tc Gluconato-Tc DMSA-Tc	Cerebro. Riñones. Función renal
Complejos de fósforo	Fosfonatos-Tc Pirofosfato-Tc	Sistema óseo Corazón
Células	Glóbulos rojos-Tc Leucocitos-Tc	Sistema circulatorio, volumen sanguíneo Procesos infecciosos
Quelatos bifuncionales	Derivados del ácido iminodiacético	Sistema hepatobiliar (vesícula, vías biliares)
Complejos varios	MAG3-Tc HMPAO-Tc MIBI-Tc	Función renal Perfusión cerebral Miocardio

como se encuentra al eluirse del generador. Por lo tanto, es necesario reducir el pertecneciato con un agente reductor, que generalmente es el ion estano en forma de cloruro, fluoruro o citrato, y a continuación se hace reaccionar con el ligante.

Dado que el tecnecio se desintegra rápidamente una vez extraído del generador, la forma práctica de preparación de los radiofármacos consiste en tener todos los reactivos listos en una formulación que contiene el reductor, ligante y aditivos necesarios. Esta formulación se prepara en la radiofarmacia pero

también se consigue comercialmente como un liofilizado, en un solo frasco al que se le conoce como *kit* para marcar con tecnecio o "núcleo-equipo", que es como se le denomina en México. El procedimiento de preparación se simplifica, ya que sólo es necesario agregar la solución de ^{99m}TcO₄⁻ al frasco, quedando formado el radiofármaco en unos segundos.

Control de calidad

En este punto es necesario mencionar que tanto el generador de tecnecio como los núcleo-equipos, aún cuando estrictamente hablando no son radiofármacos sino los precursores para la preparación de éstos, reúnen los requisitos indicados por las farmacopeas para productos farmacéuticos inyectables, por lo que el radiofármaco preparado a partir de ellos está listo para ser administrado a los pacientes previa dosificación. Sin embargo, en la radiofarmacia se realiza el control de calidad del producto terminado que consiste principalmente en medir la pureza radioquímica para verificar que el compuesto está debidamente marcado con el tecnecio, verificar la dosis a administrar, la esterilidad y apirogenicidad.

Radioinmunoanálisis

El RIA es una técnica de análisis muy ingeniosa que combina la sensibilidad con la que pueden medirse las radiaciones nucleares, con la especificidad de las reacciones inmunológicas entre un antígeno y un

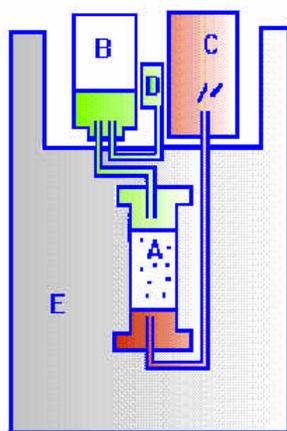


Figura 2. Generador de tecnecio-99m. (A) Columna de alúmina con ⁹⁹Mo/^{99m}Tc; (B) frasco con solución de NaCl; (C) frasco receptor del ^{99m}Tc; (D) filtro para paso de aire, (E) blindaje de plomo.

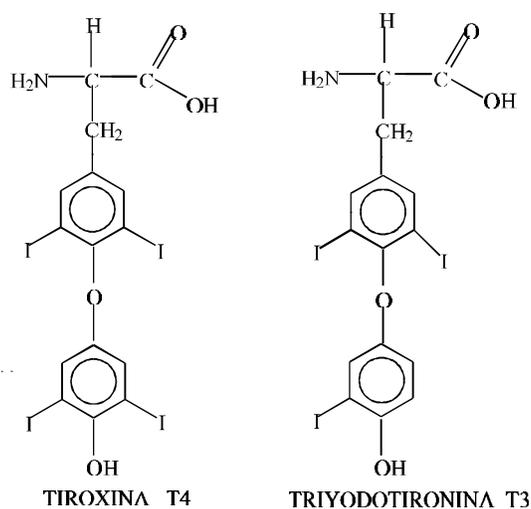


Figura 3.

anticuerpo.⁽¹⁾ Es tal la importancia que tiene esta técnica en la medicina, que a los investigadores que la pusieron en práctica por primera vez les fue otorgado el premio Nobel.

Por medio del RIA se pueden cuantificar sustancias presentes en el organismo en concentraciones sumamente pequeñas (10^{-9} - 10^{-12} M). Dichas sustancias pueden ser hormonas, enzimas, esteroides, péptidos, vitaminas, medicamentos y drogas, pero lo más interesante es que dicha medición se logra aun cuando se encuentren presentes otras sustancias casi idénticas, sin que éstas interfieran en la medición. A manera de ejemplo, considérense las hormonas tiroideas T3 (triyodotironina) y T4 (tetrayodotironina ó tiroxina) de la figura 3.

Observamos que la única diferencia entre una molécula y la otra es un átomo de yodo; sin embargo, es práctica común en la actualidad cuantificarlas por RIA en una muestra de plasma de una persona que presente síntomas de funcionamiento anormal de la glándula tiroideas. Dicha medición se logra aún cuando ambas hormonas se encuentren en el torrente sanguíneo.

Algunos ejemplos de sustancias que se determi-

(1) Un antígeno (Ag) es una sustancia de peso molecular elevado, por ejemplo una proteína, que es capaz de inducir la producción de un anticuerpo al que se une en forma específica. Por otra parte, un anticuerpo (Ab) es usualmente una proteína que se produce como respuesta inmunológica a la presencia de un antígeno y forma con él un complejo específico. Esta especificidad es semejante al funcionamiento de una cerradura, en la que la llave sólo reconoce una combinación.

nan rutinariamente por esta metodología son: insulina, calcitonina, angiotensina, gastrina, ácido fólico, T3, T4, TSH, virus B de hepatitis, antígeno carcinoembrionario, alfafetoproteína, aldosterona, hormona del crecimiento, prolactina, progesterona, estradiol, cortisol, algunos medicamentos como la digoxina, la gentamicina y muchas más.

El método de RIA se basa en la formación del complejo antígeno-anticuerpo y utiliza el principio de la técnica de dilución isotópica y la ley de acción de masas. Si a una cantidad dada de un antígeno (Ag) se le agrega una pequeña cantidad del mismo pero marcado con un radionúclido (Ag^*) y ambos se hacen reaccionar con su anticuerpo (Ab) estando este último en concentración *limitada*, Ag y Ag^* competirán por unirsele:



Si la concentración de Ab en relación con Ag^* es suficientemente pequeña y se va incrementando la cantidad de Ag, la oportunidad de Ag^* para unirse a Ab será cada vez menor; es decir, la fracción unida $Ag^*\text{-}Ab$ tendrá cada vez menos radiactividad. Esta reacción de competencia la observamos gráficamente en la figura 4, en la que se presenta la curva que se obtiene al efectuar la reacción con concentraciones cada vez mayores de antígeno, manteniendo constante tanto la cantidad de antígeno marcado como la de anticuerpo.

La fracción unida (*U*) se separa por algún método químico apropiado, como puede ser la precipitación con polietilenglicol o con un segundo anticuerpo, o bien por decantación, cuando el primer anticuerpo está unido al tubo de ensayo o a pequeñas esferas. Una vez separada, se mide su contenido de radiactividad y se grafica el valor de U/L contra concentración de Ag siendo *L* la radiactividad de la fracción libre cuyo valor se obtiene al restar la de la fracción unida de la total agregada al tubo de ensayo.

La curva de la figura 4 en forma idealizada representa la curva estándar o curva patrón que se obtiene cuando se hace el RIA con cantidades conocidas de antígeno en forma de fuentes patrón o calibradores. En muchos ensayos se construye la curva con los valores de U/U_0 , en vez de U/L siendo U_0 la radiactividad de la fracción unida del calibrador de concentración cero. De la curva se lee el contenido de antígeno en muestras con concentra-

ción desconocida, las cuales se procesan en forma idéntica a como se hace con los calibradores.

Como se puede observar, se ha utilizado el término antígeno para describir el analito o sustancia que se va a cuantificar. Sin embargo, es conveniente aclarar que muchas de ellas, de bajo peso molecular, no son antígenos, como es el caso de las hormonas tiroideas antes mencionadas. La forma de obtener anticuerpos que reconozcan a este tipo de sustancias es unirlos químicamente a un compuesto de peso molecular elevado (seroalbúmina, por ejemplo), y con el hapteno resultante, inducir la producción de anticuerpos de la manera convencional en alguna especie animal, como puede ser conejo, borrego, etcétera.

El radionúclido utilizado para marcar el antígeno debe reunir ciertas características que son, en términos generales, un tanto opuestas a las que se requieren para los estudios *in vivo*. Recordemos que, en este caso, el estudio se efectúa en el laboratorio con una muestra de sangre del paciente. Por lo tanto, se requiere que el radionúclido tenga una vida media un poco mayor para tener el antígeno marcado por un tiempo largo, de preferencia unos meses. El radionúclido debe emitir partículas beta o radiación gamma de muy baja energía para evitar exposición a la radiación a las personas que realizan el ensayo. En este caso, el que se utiliza con mayor frecuencia es el yodo-125, emisor γ (35 keV), cuya vida media es de 59.6 días y, en menor escala, el tritio, emisor β^- (18 keV) con 12.4 años de vida media.

En resumen, para realizar el RIA se requieren cuatro componentes:

1. El anticuerpo
2. Los calibradores con 5-6 concentraciones diferentes, siendo el primero de valor cero.
3. El antígeno marcado.
4. Un sistema de separación de la fracción unida.

Los componentes se ofrecen comercialmente en forma de estuches, *kit* o juego de reactivos.

Los estudios de RIA pueden hacerse midiendo manualmente la cantidad de cada reactivo e irlos agregando de acuerdo con el protocolo establecido para cada analito. Pero cuando se trata de un gran número de muestras, se usan equipos automatizados que permiten su procesamiento con poca intervención del operador, lo que reduce el error experimental que puede afectar la precisión de la medición.

Es conveniente señalar que, aun cuando existen variantes a la técnica descrita, el principio es el

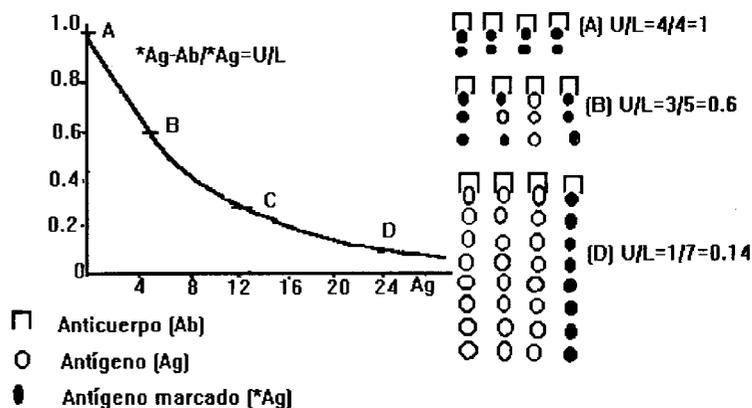


Figura 4.

mismo, y que a pesar de que han surgido otros tipos de marcadores, el radioinmunoanálisis ofrece la ventaja de su gran sensibilidad.

Bibliografía

- Arteaga de Murphy, C., *El tecnecio en la medicina Nuclear. Monografía*, Sociedad Mexicana de Medicina Nuclear, Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Zubirán, 1989.
- Howard, P.L. and Trainer, T.D., *Radionuclides in Clinical Chemistry*, Little Brown and Company, Boston, 1980.
- Lezama, J. y Espejel, B., Los radionúclidos: su producción y uso, *Ciencia y Desarrollo*, 47, 122-132, 1982.
- Lezama, J., Garza, E., Delgado, B. y Tendilla, J., Generador de tecnecio-99m fabricado en México, en *Memorias del Seminario de Ingeniería Nuclear en América Latina*, Academia Mexicana de Ingeniería y Sección Latinoamericana de la American Nuclear Society, 457-461, 1986.
- Libertun, C., *Radioinmunoanálisis*, Libreros López Editores, Argentina, 1980.
- Moss, A.J., Dalrymple, G.V. and Boyd, C.M., *Radioimmunoassay*, The C.V. Mosby Co., Saint Louis Mo., 1976.
- Saha Gopal, B., *Fundamentals of Nuclear Pharmacy*, 3rd. Edition, Springer-Verlag, 1992.
- Yallow, R.S., Berson, S.A., Assay of plasma insulin in human subjects by immunological methods, *Nature*, 184, 1948-1949, 1959. ■