

EXERCÍCIO VIRTUAL:

Controle de qualidade dos radiofármacos: Radiocromatografia

Fundamento teórico:

Os radiofármacos de tecnécio (^{99m}Tc) tornaram-se, nos últimos 35 anos, importantes ferramentas para o diagnóstico de várias doenças ou disfunções de órgãos e sistemas que compõem o corpo humano. Atualmente, mais de 30 destes compostos vêm sendo utilizados na Medicina Nuclear, correspondendo a 80% dos exames da rotina clínica. O elevado índice de utilização de tais compostos é resultado das propriedades físicas e químicas ideais do radioisótopo, tais como: meia-vida física de 6 horas; desintegração por emissão de radiação gama pura, com fótons de 140 keV; praticidade da obtenção do radioisótopo a partir de um sistema gerador de Molibdênio/ tecnécio ($^{99}\text{Mo}/^{99m}\text{Tc}$); possibilidade do metal atingir vários estados de oxidação, dando origem a diferentes radiofármacos, a partir da simples reconstituição de conjuntos de reativos liofilizados (“kits”). Também, o baixo índice de reações adversas desses agentes, quando comparado com outros agentes, favorecem sua ampla utilização.

No entanto, as reações de complexação do radioisótopo pelo fármaco podem não ser tão eficientes, em consequência da qualidade do eluato, dos componentes dos “kits” ou dos procedimentos utilizados para as marcações. Nestes casos, a ineficiência nos processos pode dar origem a impurezas radioquímicas: o próprio pertecnetato ($^{99m}\text{TcO}_4^-$), decorrente da sua não-redução; o óxido de de tecnécio (TcO_2), também denominado de tecnécio hidrolisado e reduzido (TcHR), decorrente da redução e não-complexação do metal; além de outras espécies reduzidas e complexadas com arranjos diferentes do desejado.

Devido aos possíveis problemas que podem ocorrer durante a preparação dos radiofármacos com ^{99m}Tc , é importante que o próprio usuário seja capaz de certificar a qualidade do eluato do gerador e do produto marcado.

A principal técnica para garantir a qualidade final dos radiofármacos é a cromatografia ascendente, em que uma amostra do produto é aplicada sobre um suporte (fase estacionária) e arrastada por um solvente (fase móvel).

Objetivos:

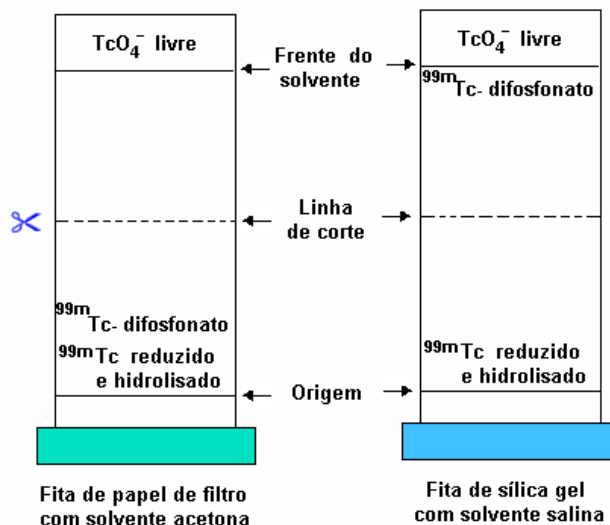
Determinação da pureza radioquímica do radiofármaco SESTAMIBI - ^{99m}Tc (2 metoxi- isobutil-isonitrina) através de técnica cromatográfica em camada fina.

Técnica:

A química difícil do ^{99m}Tc ressalta a importância de conferir o produto quanto à pureza radioquímica, que é definida como a percentagem do total da radioatividade que se encontra na forma radioquímica desejada. Por exemplo, se 5% da atividade do ^{99m}Tc permanece livre na forma de pertecnetato de sódio, podemos dizer que a pureza radioquímica é de 95%, assumindo que não há outras impurezas. Cada radiofármaco tem uma pureza radioquímica específica, em torno de 90%.

A radiocromatografia é realizada da mesma forma que a cromatografia convencional, colocando uma pequena amostra do material a ser testado numa extremidade da fita. O solvente é selecionado de acordo com o radioquímico e com o contaminante em potencial, ou seja, um solvente no qual se conheçam os padrões de migração. No exame *in vivo*, a impureza radioquímica contribui para a atividade de fundo ou outra localização indesejada e redução da qualidade da imagem cintilográfica.

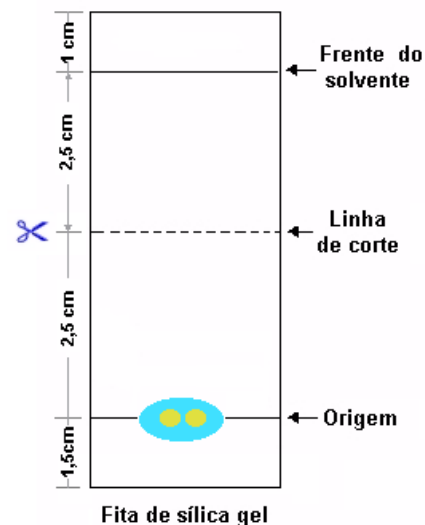
Para radiofármacos difosfonados marcados com ^{99m}Tc , **por exemplo**, faz-se o teste para pesquisar : presença de pertecnetato livre e ^{99m}Tc reduzido e hidrolisado insolúvel. Por exemplo: na cromatografia de camada fina, utilizando-se o acetona como solvente, o pertecnetato migra na frente com o solvente, mas o ^{99m}Tc -difosfonato e o ^{99m}Tc reduzido e hidrolisado permanecem na origem. Para pesquisa seletiva de ^{99m}Tc reduzido e hidrolisado, usa-se preferencialmente fita de sílica gel com salina como solvente. Neste sistema tanto o pertecnetato quanto o ^{99m}Tc -difosfonato migram com a frente do solvente, enquanto que o ^{99m}Tc reduzido e hidrolisado permanecem na origem. A combinação destes dois procedimentos permite a avaliação individualizada de cada um dos três componentes.



O mercado disponibiliza diversos sistemas elaborados para ler as fitas de cromatografia; os *scanners* de cromatografia, por exemplo, fornecem a distribuição detalhada da radiação na fita. Na prática o modo mais simples de avaliar a fita é cortá-la em dois ou mais pedaços e verificar a radiação separadamente em cada fragmento.

Procedimento e relatório da prática:

1. Marque em duas fitas de sílica gel o local de origem, de corte e da frente do solvente segundo a imagem;
2. Enxugue as fitas a uma temperatura de 70°C por meia-hora, armazene-as em um dessecador e apenas retire-as imediatamente antes do uso;
3. Usando uma seringa de 1ml com calibre de 22-26, aplique uma gota de salina a 1,5cm da base de cada fita; evite a secagem;
4. Acrescente uma gota de pertecnetato ($^{99m}\text{TcO}_4^-$) numa fita, e uma gota do radiofármaco SESTAMIBI- ^{99m}Tc na outra fita, sobre o local em que foi aplicada a gota de salina; coloque as fita no dessecador e deixe a amostra secar normalmente;
5. Preencha um cuba TLC com acetato de etila e metanol (8:2) o suficiente para proporcionar uma profundidade de 3-4mm. Feche a cuba e deixe estabilizar por 5 minutos;
6. Insira as fitas na cuba e espere até o solvente atingir a marca superior (Frente);
7. Corte as fitas de sílica gel em 10 partes (numa distância de 1cm do local de origem) e, com um cintilador de poço, registre a atividade do ^{99m}Tc em cada um dos pedaços; utilize para isto a seguinte animação (<http://thor.sead.ufrgs.br/objetos/cintilografia/flash/exercicio.html>)
8. Faça um gráfico da atividade medida em cada pedaço das fitas em função da **relação de frente** (R_f) na corrida cromatográfica - parâmetro característico da cromatografia;



9. Calcule a pureza de marcação do radiofármaco **a partir da fita contendo ^{99m}Tc - MIBI**, através da seguinte relação:

Pureza do SESTAMIBI- ^{99m}Tc = 100% X (cpm da parte superior da fita)/ (cpm de ambas as partes)