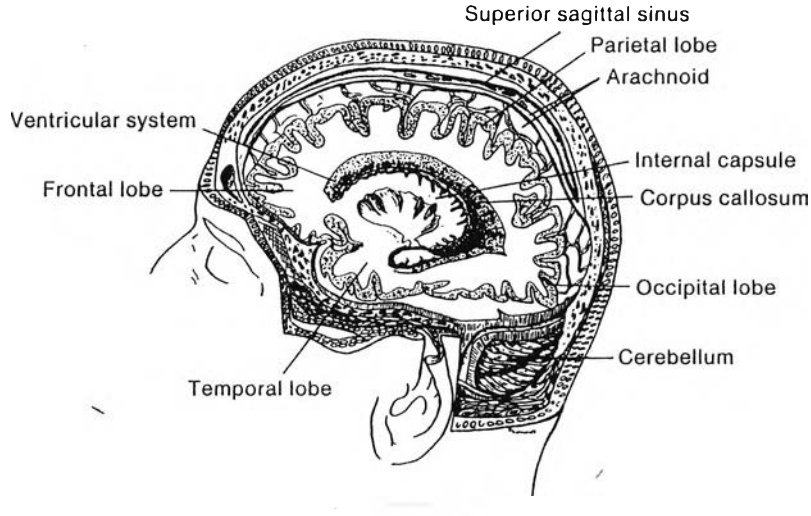
บทที่ 2

ทฤษฎี

2.1 สมอง

กายวิภาคศาสตร์และสรีระวิทยาของสมอง

การทำงานของร่างกายจะถูกควบคุมโดย ระบบประสาทและระบบต่อมไร้ท่อ (endocrine system) ระบบประสาทจะควบคุมร่างกายส่วนที่มีความไวต่อการกระตุ้น รวมทั้งการยืดหดตัวของกล้ามเนื้อ การมองเห็นสิ่งต่าง ๆและอัตราการขับถ่ายของต่อมไร้ท่อ ระบบประสาทเปรียบเสมือนคอมพิวเตอร์ของร่างกาย จะรับข่าวสารมากมายจากสิ่งแวดล้อมทั้งภายในและภายนอกแล้วประมวลข้อมูลที่ได้ส่งผลให้เกิดการตอบสนองของร่างกาย โดยทั่วไประบบประสาทเป็นส่วนรับความรู้สึกและส่วนขับเคลื่อน cerebral cortex เป็นส่วนที่รวบรวมการทำงานของร่างกายส่วนที่สูงกว่า (ส่วนใหญ่จะอยู่ในซีกสมอง) รวมเรียกว่า ระบบประสาทส่วนกลาง (Central nervous system,CNS)



รูปที่ 2.1 ส่วนต่าง ๆของสมอง

สมองประกอบด้วย ซีกสมองส่วนที่เท่ากัน 2 ส่วน แต่ละซีกแบ่งออกเป็น 4 ลอน คือ frontal,parietal,temporal และ occipital

หน่วยทำงานมูลฐานของระบบประสาทส่วนกลางคือ หน่วยประสาท(neuron) เซลล์ประสาทจะส่งผลหรือรับผลจากส่วนที่เป็นเส้นใยประสาท (nerve fibers) เซลล์ประสาทใน cerebral cortex มีอยู่ประมาณ 10 พันล้านเซลล์ กระจายการทำงานไปยังส่วนต่าง ๆ โดยมีกระบวนการการจัดการอย่างดีเป็นตัวควบคุม การทำลายบริเวณเหล่านี้จะมีผลต่อการระบุตำแหน่งที่เกิดความผิดปกติทางประสาท

2.1.1 <u>หน้าที่ของสมอง</u>

ส่วนหลังของ frontal lobe ซึ่งเรียกว่า prefrontal cortex จะรับคำสั่งจากระบบขับเคลื่อน (motor system) จากส่วนที่เรียกว่า motor cortex ซึ่งจะควบคุมการเคลื่อนไหวทางด้านจิตใจของกล้ามเนื้อกระดูก (ด้านขวาของ motor cortex ควบคุมการเคลื่อนไหวของร่างกายซีกซ้าย และด้านซ้ายควบคุมการเคลื่อนไหวของร่างกายซีกขวา)

parietal lobe จะรับข้อความจากส่วนรับความรู้สึกของร่างกาย เป็นสมองส่วนที่สามารถแยกแยะความแตกต่างในเรื่องน้ำหนัก เนื้อสาร และตำแหน่งได้

temporal lobe รับผิดชอบต่อการเรียนรู้ วิเคราะห์เสียง และจดจำภาษา

occipital lobe ทั้งหมดเกี่ยวข้องกับการมองเห็น

ที่ส่วนฐานของซีรีบรัม (cerebrum) ซึ่งตั้งอยู่ตรงกลางต่อกับกระดูกของฐานของกระโหลกคือ basal ganglia กับ ธาลามัส (thalamus) และไฮโปธาลามัส (hypothalamus)

ตัวสมองที่ประกอบด้วย pons และ medulla oblongata จะทำหน้าที่เชื่อมส่วนสมองและไขสันหลัง เป็นศูนย์รวมเส้นประสาทในสมองเกือบทั้งหมด ด้านล่างส่วนหลังของส่วนนี้จะเป็นcerebellumซึ่งอยู่ใน posterior fossa ของกระโหลกศีรษะ รับผิดชอบต่อการจัดการประสานงานการเคลื่อนไหวของร่างกาย

สมองทั้งหมดและไขสันหลังจะถูกหุ้มห่อด้วยเยื่อหุ้มสมอง โดยมี cerebrospinal fluid ไหลเวียนอยู่อย่างสม่ำเสมอ ประกอบด้วยโพรงสมองขนาดใหญ่ เป็นช่องปิดของเลือดที่ขับออกจากสมองส่วนนี้มีความสำคัญต่อการศึกษาเกี่ยวกับสารไอโซโทปรังสี เพราะสามารถมองเห็นได้เมื่อ scan ดู เนื่องจากมีขนาดใหญ่ และมีปริมาณเลือดสูง ส่วนนี้ยึดติดอยู่กับกระโหลกศีรษะจึงเป็นเหมือนตัวกำหนดขอบเขตและในขณะเดียวกันก็ช่วยป้องกันส่วนเล็ก ๆ ภายในสมองให้พ้นจากอันตรายอีกด้วย(16)

2.1.2 ลักษณะอาการของโรคเกี่ยวกับสมอง

โรคเกี่ยวกับสมองอาจจะแพร่กระจายหรืออยู่รวมกันเป็นจุด ๆเหมือนกับอวัยวะอื่นส่วนใหญ่ การรวมกันมีคุณค่าอย่างมากในการบอกตำแหน่งด้วยสารรังสี โดยเปรียบเทียบความเข้มข้นหรือการคงอยู่ของสารแกะรอยรังสีในบริเวณหนึ่งสัมพันธ์กับบริเวณใกล้เคียง ตรงข้ามกับระบบของอวัยวะอื่น ๆโรคสมองแบบเฉพาะที่จะมีมากและสำคัญกว่าโรคแบบแพร่กระจาย ด้วยเหตุนี้การถ่ายภาพสมองจึงนำมาใช้กันอย่างแพร่หลาย

โรคเฉพาะที่ของสมอง(ระบบประสาทส่วนกลาง)ที่พบมากที่สุด

I Vascular(ระบบเส้นเลือด) :

1. Infarction (การอักเสบ)
   - Thrombosis (การเกิดลิ่มเลือด)
   - Embolus
2. Hemorrhage (การตกเลือด)
3. Arteriovenous malformation (เส้นเลือดขอด)
4. Aneurysm

II Neoplasm(เนื้องอก) :

1. Primary (ระยะเริ่มแรก) :

   Gliomas (เนื้องอกที่โครงร่างประสาท) :
   - Glioblastoma multiforme
   - Astrocytoma
   - Medulloblastoma
   - Oligodendroglioma
   - Ependymona
   - Intracranial extracerebral tumors
   - Meningioma (ที่เยื่อหุ้มสมอง)
   - Acoustic neurinoma
   - Pituitary adenoma
   - Cramiopharyngioma

2. Metastatic (ระยะแพร่กระจาย) :

   Most common primary:

018605

- Lung (ปอด)
- Breast (หน้าอก)
- colon
- Malignant melanoma (เนื้องอกร้าย)

III Traumatic (บาดแผลในสมอง) :

1. Menigeal hemorrhage (เลือดคั่งที่เยื่อหุ้มสมอง)
   - Extradural hematoma (เลือดคั่งที่นอกเยื่อดูรา)
   - Subdural hematoma (เลือดคั่งที่ใต้เยื่อดูรา)
   - Subarachnoid hemorrhage (การตกเลือดที่ใต้เยื่อดูรา)
2. Intracerebral hematoma (เลือดคั่งภายในสมอง)
3. Contusion

IV Inflammatory (การอักเสบภายในกระโหลกศีรษะ) :

1. Focal cerebritis
2. Brain abscess (สมองอักเสบ)
3. Meningitis (เยื่อหุ้มสมองอักเสบ)
4. Subdural empyema
5. Granuloma

V Congenital defects:

- Hydrocephalus (น้ำท่วมสมอง)
- Porencephalic Cysts
- Arachnoid Cysts

แพทย์ทางเวชศาสตร์นิวเคลียร์จะต้องมีความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับลักษณะทางคลินิคของโรคเฉพาะที่ของสมอง เพราะมีความเกี่ยวข้องกับอาการของคนไข้ อาการและข้อมูลที่ได้จากการตรวจสอบอื่น ๆ จะเป็นสิ่งช่วยชี้นำให้ตีความทางเวชศาสตร์นิวเคลียร์ได้ถูกต้องยิ่งขึ้น

ถ้าไม่คำนึงถึงสาเหตุการเกิดโรค (etiology) อาการของโรคในเนื้อเยื่อสมองส่วนมากจะทำให้เกิดการฉีกขาดของ BBB ในเนื้อเยื่อส่วนอื่น ๆของร่างกาย เส้นเลือดฝอยจะมีการแลกเปลี่ยนสารต่าง ๆอย่างอิสระ ขึ้นกับขนาดของโมเลกุลที่แน่นอน (ประมาณ 20,000 ชนิด) โดย กระบวนการแพร่แบบ simple diffusion ผ่านรูพรุน และ pinocytosis (active engulfment by vesicles in the wall) แต่ BBB จะจำกัดการแลกเปลี่ยนของสารระหว่างเลือดและสมอง และแทนที่สารเหล่านั้นโดยกลไก

การส่งผ่านสารตัวกลางที่ซับซ้อนและเฉพาะเจาะจงมากที่เรียกว่า กลไกการส่งผ่านแบบ carrier-mediated-transport

BBB ทำหน้าที่รักษาสภาพการทำหน้าที่ที่สำคัญของสิ่งแวดล้อมภายในสมองให้คงที่ แม้เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของไอออนของพลาสมา และป้องกันสารพิษที่จะเข้าสู่ brain parenchyma ถ้า BBB ถูกทำลาย ตัวถูกละลายในพลาสมาจะเข้าไปสะสมในสมองส่วนที่มีความเข้มข้นอย่างน้อยที่สุดสูงเท่ากับในเนื้อเยื่อของเซลล์สมอง

การฉีกขาดที่ตำแหน่งใด ๆของ BBB จะเป็นข้อมูลพื้นฐานในการบอกลักษณะอาการทางกายวิภาคศาสตร์ของโรคเมื่อถ่ายภาพสมองด้วยสารรังสี

จากข้อเท็จจริงนี้ทำให้เกิดข้อจำกัดที่สำคัญ 3 ประการ คือ

1. เพราะว่ากระบวนการสะสมพื้นฐานคือ simple diffusion ความเข้มข้นของสารรังสีที่มีผลต่ออัตราส่วนของอวัยวะเป้าหมาย/อวัยวะนอกเป้าหมายจึงไม่สูงเท่าที่ต้องการ ถึงแม้ว่าจะสามารถจัดเกรเดียนท์ระหว่าง รอยโรคต่อเนื้อเยื่อสมองให้ดีได้ก็ตาม แต่เนื่องจากในกระโหลกศีรษะที่ล้อมรอบสมองอยู่ มีปริมาณของสารรังสีอยู่มากมาย ทำให้เป็นอุปสรรคต่อการวิเคราะห์หารอยโรค

2. กระบวนการสะสมไม่ได้เฉพาะเจาะจงเพียงแต่สารเภสัชรังสีที่ใช้เท่านั้น

3. กระบวนการสะสมไม่ได้เฉพาะเจาะจงเพียงโรคที่อยู่ในข้อสงสัยเท่านั้น (17)

2.1.3 <u>การใช้สารเภสัชรังสีเพื่อตรวจหาความผิดปกติของสมองในทางคลีนิค</u>

การถ่ายภาพสมองทางเวชศาสตร์นิวเคลียร์ (nuclear medicine brain imaging, NMBI)เป็นกระบวนการกลั่นกรอง เพื่อตรวจหากายวิภาคศาสตร์ของสมอง ซึ่งจะสะท้อนให้เห็นการผันแปรความสามารถในการแพร่ผ่านไปยังส่วนต่าง ๆของ BBB (static image) หรือการเปลี่ยนแปลงการกระจายตัวของการแพร่ของเส้นเลือด (dynamic imaging)

<u>การถ่ายภาพสมองจะบ่งบอกถึง</u>

1. คนไข้ที่เป็นเนื้องอกในระยะเริ่มต้นทั้งชนิดที่ไม่เป็นอันตรายและเนื้องอกร้าย

2. การแพร่กระจายในสมอง

3. คนไข้ที่เป็นโรคเกี่ยวกับเส้นเลือดในสมอง

4. บาดแผลที่เกิดขึ้นภายในกระโหลกศีรษะ เนื่องจากการบาดเจ็บ เช่น เลือดคั่งที่ใต้เยื่อดูรา เลือดคั่งภายในสมอง

5. ตำแหน่งที่เกิดการอักเสบภายในกระโหลกศีรษะ

6. ตำแหน่งที่มีเส้นเลือดขอด

7. คนไข้ที่เป็นโรคทางสมองต่าง ๆ เช่นเยื่อหุ้มสมองอักเสบ,สมองอักเสบ

8. การพิจารณาคำจำกัดความทางกฎหมายของคำว่า "การตายทางสมอง"

ข้อมูลจากสารเภสัชรังสี

การศึกษาทาง NMBI สามารถใช้กับสารเภสัชรังสีที่มีคุณสมบัติทางกายภาพเหมาะสม ไม่รวมถึง BBB ที่ปกติ

มีสารไอโซโทปรังสีมากมายหลายชนิดที่นำมาใช้ในการทำ NMBI แต่สารเภสัชรังสีของเทคนีเชียม-99เอ็มก็ยังเป็นสารที่ใช้กันอย่างแพร่หลาย เพราะสามารถใช้ได้ในปริมาณมาก ๆ โดยที่ปริมาณรังสีที่ได้รับยังคงเป็นที่ยอมรับ เพื่อให้ได้อัตราการนับสูงพอที่จะทำการศึกษาการไหลเวียนของเลือดในสมองทางไดนามิคส์ และให้ได้ภาพที่มีคุณภาพดีในช่วงเวลาที่สั้นพอสมควร สารเภสัชรังสีของเทคนีเชียม-99เอ็มเหล่านี้มีคุณสมบัติคล้ายกัน คือ มีการสะสมในบริเวณที่มีเนื้องอกสูงกว่าบริเวณเนื้อเยื่อสมองที่ปกติ(อัตราส่วนเนื้องอก/สมอง) ที่เวลาหนึ่ง ๆ หลังการฉีด

Tc-99m เปอร์เทคนีเตท

^{99m}Tc-โซเดียมเปอร์เทคนีเตท ($Na^{99m}TcO_4$) ได้รับเลือกให้เป็นสารที่ใช้ทำ NMBI มานานแล้วได้จาก generator ในราคาที่ไม่แพงมากนัก

ข้อเสียของ Tc-99m เปอร์เทคนีเตทคือ อัตราการขจัดออกจากเลือดค่อนข้างช้า ต้องใช้เวลาในการรอนานหลายชั่วโมงหลังการฉีด จึงจะทำการถ่ายภาพได้ เพื่อให้ได้อัตราส่วนของเนื้องอก/สมอง ดีเท่าที่ต้องการ

Tc-99m DTPA และ Tc-99m Gluceptate

การขจัดออกจากเลือดของสารเหล่านี้ ทำได้เร็วกว่า โซเดียมเปอร์เทคนีเตท และให้อัตราส่วน tumor/blood และ tumor/normal brain สูงกว่า ในระยะเวลาที่สั้นกว่าหลังการฉีด(1ชั่วโมงขณะที่โซเดียมเปอร์เทคนีเชียมใช้เวลา 3-4 ชั่วโมง) มีหลักฐานทางการแพทย์บ่งชี้ว่า สารเหล่านี้สามารถถ่ายภาพได้เร็วกว่า และตรวจพบเนื้องอกได้มากกว่าเล็กน้อย โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ^{99m}Tc-gluceptate ปัจจุบันใช้เป็นสารในการศึกษา NMBI แต่ไม่ว่าจะเป็น ^{99m}Tc-DTPA หรือ ^{99m}Tc-gluceptate จะสะสมในเนื้อเยื่อโครอยด์ (เนื้อเยื่อเส้นเลือดฝอยของตา,ต่อมน้ำลาย หรือ ไทรอยด์) การกระจายตัวจะไม่เปลี่ยนแปลง แม้จะมีดีบุกอยู่ (เช่นไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงในการถ่ายภาพกระดูกด้วยสารเภสัชรังสีของเทคนีเชียม-99เอ็ม ที่มีไอออนของดีบุกอยู่สูง)

Iodinated (I-123) amphetamines

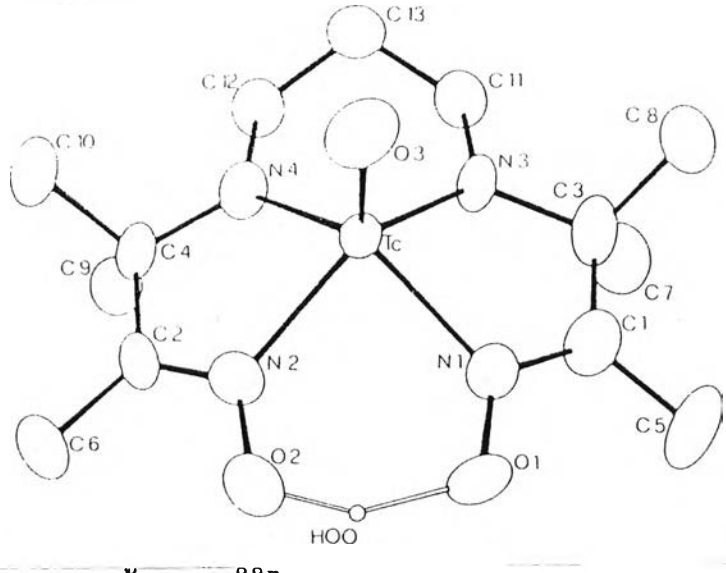
เป็นสารที่พัฒนาขึ้นเพื่อใช้เป็นสารถ่ายภาพสมองที่ทำให้ได้ข้อมูลเพื่อวินิจฉัยตัวแปรทางกายภาพเช่น การไหลเวียนของเลือดในสมอง Iodinated amphetamines (เช่น ^{123}I-N-isopropyl-p-iodoamphetamine)เป็นสารประกอบที่ละลายในไขมันได้ดีมาก สามารถผ่านเข้าสมองได้อย่างอิสระ และมีอัตราการสกัดออกสูง เมื่อผ่านเข้าไปในสมองจะบอกตำแหน่งของเซลล์ภายในได้โดยการไปจับกับรีเซพเตอร์ของเอมีน

F-18,C-11,labelled Deoxy-D-glucose (DDG)

ไม่ว่าจะเป็น F-18 หรือ C-11 สามารถใช้ติดฉลากกับอนุมูลของกลูโคส deoxy-D-glucose(DDG)ได้เกิดเป็นสารเภสัชรังสีที่มีอายุสั้นที่ให้โพสิตรอนมีประโยชน์ใช้ถ่ายภาพสมองด้วยเครื่องถ่ายภาพคอมพิวเตอร์แบบโพสิตรอนอิมิชชัน (PET) อนุมูลที่ติดฉลากสารไอโซโทปจะถูกส่งจากเลือดไปยังสมองโดยระบบการพาในอัตราเดียวกับกลูโคส ภายในเซลล์สมอง DDG จะเกิดปฏิกิริยา phosphorylation โดยเอ็นไซม์ hexokinases แต่ DDG ไม่สามารถเข้าสู่กระบวนการ glycolysis เหมือนเช่นกลูโคส จึงกลายเป็นสารที่เกิดการเปลี่ยนแปลงแล้วถูกขังไว้ภายในเซลล์สมอง การถ่ายภาพด้วย PETโดยใช้ DDG จึงให้ข้อมูลการใช้ประโยชน์ของกลูโคส และการเปลี่ยนแปลงสารอาหารภายในสมอง (18)

2.1.4 การใช้ ^{99m}Tc-HMPAO ในการวินิจฉัยความผิดปกติของสมอง

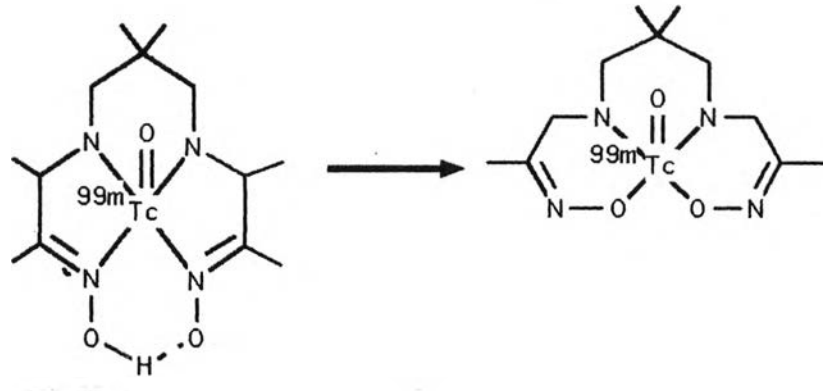
หลังจากค้นพบ HMPAO โดยบริษัท Amersham International ในปี 1985 แล้ว (19) มีการทดลองนำสารนี้มาติดฉลากกับ Tc-99m เพื่อศึกษาผลของการแทนที่ที่มีต่อความสามารถในการละลายในไขมัน (lipophilicity) ความสามารถในการแพร่ผ่าน BBB (premeability) และเสถียรภาพของสารประกอบเชิงซ้อน (stability) จากการวิเคราะห์โครงสร้างผลึกด้วย X-raydiffraction พบว่า Tc(V) ในสารประกอบเชิงซ้อน ^{99m}Tc-HMPAO จะโคออร์ดิเนตกับออกซิเจน 1 อะตอมที่ตำแหน่งยอดของปิรามิดฐานสี่เหลี่ยมและไนโตรเจนในแนวระนาบ 4 อะตอม ปิดวงด้วยพันธะไฮโดรเจนของหมู่ oxime ทำให้เกิดเป็นวงแหวน มีคุณสมบัติละลายได้ในไขมัน (lipophilic) (20)



รูปที่ 2.2 โครงสร้างของ ^{99m}Tc-HMPAO จาก X-ray diffraction

จากการศึกษาคุณสมบัติทางเคมีใน in vitro พบว่าสารประกอบเชิงซ้อนนี้ไม่เสถียรในสารละลายน้ำ(aqueous media) สามารถเปลี่ยนไปเป็นสารประกอบเชิงซ้อนชนิดใหม่ที่ละลายในน้ำ (hydrophilic) ได้อย่างรวดเร็ว ทำให้เสียสภาพการเป็น lipophilic จึงไม่สามารถแพร่ผ่าน BBB ได้ (21)

กลไกการดักจับภายในสมองเชื่อกันว่าเกิดจากการเปลี่ยนแปลงของสารประกอบเชิงซ้อน lipophilic ไปเป็นสารที่ละลายน้ำได้ (hydrophilic) โดยการแตกพันธะไฮโดรเจน แล้วจัดเรียงตัวใหม่เป็นวงแหวน 6 เหลี่ยมที่เสถียร (22)



^{99m}Tc-HMPAO secondary complex

รูปที่ 2.3 สารประกอบเชิงซ้อนออกโซของTc(V)ที่เป็นกลาง,ละลายได้ในไขมัน (primary complex) และสารประกอบเชิงซ้อนที่ละลายน้ำได้(secondary complex) ของ ^{99m}Tc-HMPAO ที่เกิดขึ้นจากการเปลี่ยนแปลงภายในเซลล์ และใน aqueous media

การนำสารนี้มาใช้มีข้อจำกัดมากมาย คือ ความบริสุทธิ์ทางเคมีรังสีของสารติดฉลากต้องมากกว่า 85 % หลังจากติดฉลากแล้วต้องใช้ภายใน 1/2 ชั่วโมง สารละลาย Tc-99m ที่ใช้ ต้องelute จาก generatorใหม่ ๆ (ภายใน 2 ชั่วโมง) ต่อมามีการศึกษาวิจัยเพื่อปรับปรุงเสถียรภาพของสารติดฉลากนี้โดยเตรียมในตัวกลางอัลกอฮอล์(ethanolic media) พบว่าเสถียรภาพของสารประกอบเชิงซ้อนนี้ใน ethanolic media ดีกว่าใน aqueous media มากคือ ความบริสุทธิ์ทางเคมีรังสียังคงมากกว่า 90 % หลังการติดฉลาก 90 นาที (23) แต่เนื่องจากสารละลายเปอร์เทคนีเตทที่ใช้อยู่ในปัจจุบัน ส่วนใหญ่ได้จาก

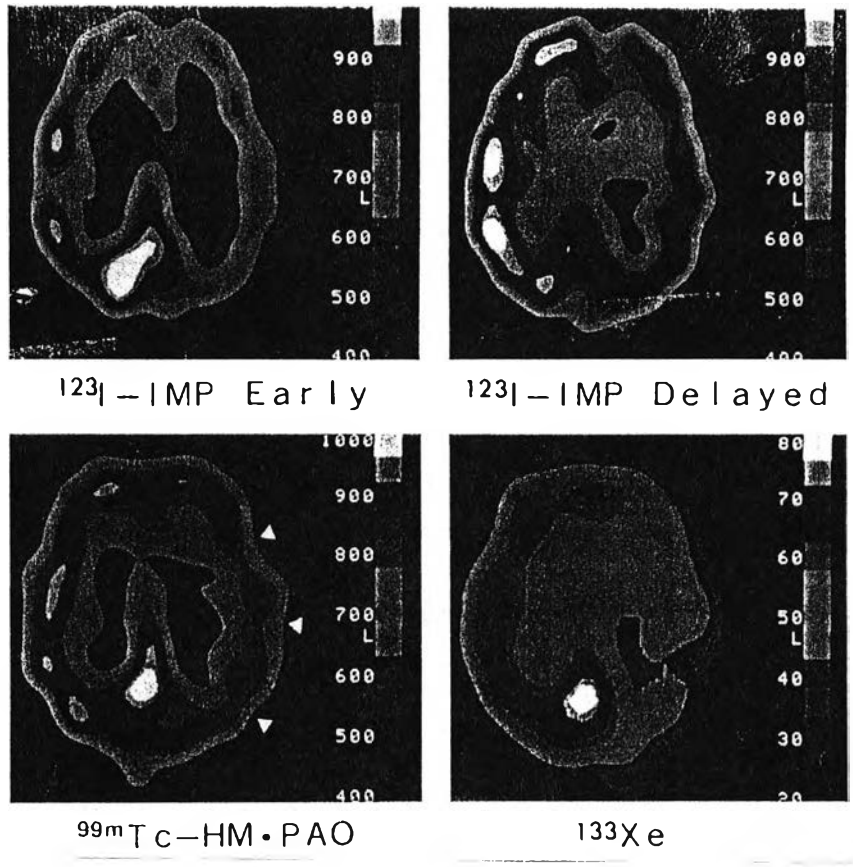
^{99}Mo-^{99m}Tc generator ซึ่ง elute ด้วย 0.9% NaCl การที่จะเตรียมสารประกอบเชิงซ้อน ^{99m}Tc-HMPAO ใน ethanolic media สารทุกอย่างต้องอยู่ในตัวกลาง ethanolic รวมทั้ง Tc-99m ด้วย จึงไม่สะดวกที่จะนำมาใช้ในงานประจำ

เมื่อผลการศึกษาทาง in vitro เป็นที่น่าพอใจแล้ว จึงนำมาศึกษาในทาง in vivo ต่อ โดยขั้นแรกนำมาศึกษาการกระจายตัวของสารในสมองและอวัยวะต่าง ๆของสัตว์ทดลอง ส่วนใหญ่ทดลองในหนู(Sprague-dawley rat) พบว่าสารนี้สามารถแพร่ผ่านสะสมและคงอยู่ในสมองได้ดี โดยสารประกอบเชิงซ้อนของ d,l-HMPAO มีการสะสมในสมองได้สูงที่สุด สารผสมของทั้งสองไอโซเมอร์มีการสะสมได้ดีกว่า meso-HMPAO ดังนั้นการศึกษาต่อไปจึงมุ่งไปยัง d,l-HMPAO มากกว่ารูปอื่น ๆ นอกจากทำการศึกษาการกระจายตัวของสารแล้ว ยังได้ทำศึกษาความเป็นพิษ (toxicity) ของสารนี้ เพื่อความแน่ใจที่จะนำไปใช้ในทางการแพทย์ต่อไป พบว่าในการศึกษาแบบหลายซ้ำในหนูและในกระต่ายทั้งในเพศผู้และเพศเมีย ที่ได้รับการฉีด^{99m}Tc-HMPAO อย่างต่อเนื่อง14 ครั้งต่อวัน dose ทั้งหมดที่ได้รับสูงสุดเท่ากับการฉีดสาร 14,000 vial ให้กับคนที่มีน้ำหนัก 70 kg ไม่พบว่ามีผลต่อน้ำหนักที่ได้รับหรือต่อตา ค่าการตรวจวัดทางเคมีของเลือดอยู่ในระดับปกติ การตรวจวิเคราะห์ปัสสาวะทั้งในหนูและกระต่ายไม่พบว่ามีผลกระทบมากนัก เมื่อตรวจซากของหนูและกระต่ายไม่พบความผิดปกติของลักษณะสมองและต่อมพิจูอิตารี (24)

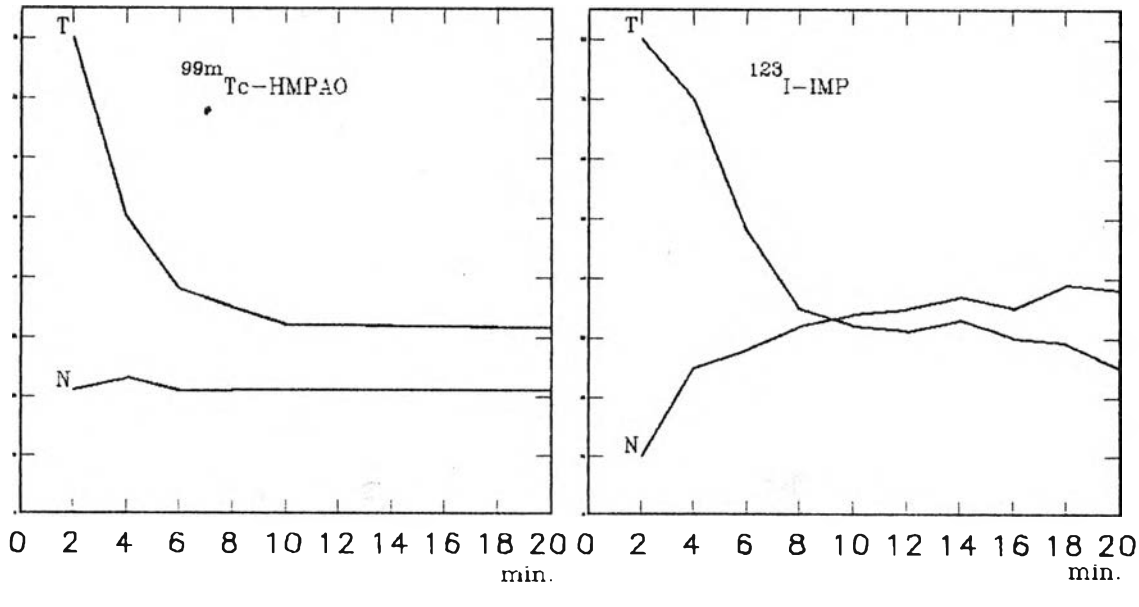
สรุปผลการศึกษาทั้งแบบเฉียบพลันและแบบหลายซ้ำ ไม่พบความสัมพันธ์ของ treatment ในปริมาณสารที่ฉีดเข้าไปในการศึกษานี้

หลังจากที่ยืนยันผลแล้วว่า สารนี้ไม่มีพิษต่อร่างกาย จึงได้นำมาทดลองศึกษากับคน โดยขั้นแรกนำมาศึกษากับอาสาสมัครที่ไม่มีความผิดปกติเกี่ยวกับสมอง พบว่าสารนี้สามารถแพร่ผ่านสะสมและคงอยู่ในสมองได้นานพอที่จะถ่ายภาพด้วย SPECT ภาพที่ได้มีคุณภาพดีเมื่อเปรียบเทียบกับภาพถ่ายสมองที่ได้จากสารถ่ายภาพสมองอื่น ๆ เช่น ^{123}I-IMP, ^{201}Tl-DDC, ^{133}Xe ฯลฯ ดังภาพที่ 2.4 (25)

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

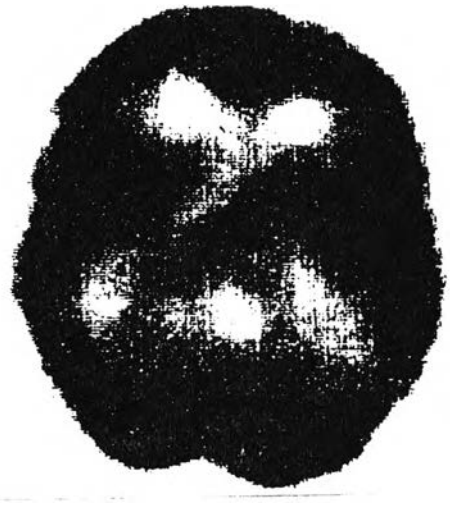


รูปที่ 2.4 ภาพการถ่ายภาพสมองด้วย ^{99m}Tc-d,l-HMPAO กับสารถ่ายภาพสมองอื่น ๆ พบว่า ^{99m}Tc-HMPAO มีการสะสมในสมองได้ภายใน 2 นาที หลังการฉีด มีการสะสมสูงสุดที่เวลา 10 นาทีหลังการฉีด และคงที่อยู่เช่นนั้นไปอีกนานหลายชั่วโมงต่อมา ต่างจาก ^{123}I-IMP ที่การสะสมจะค่อย ๆ ลดลงตามเวลาที่ผ่านไป (26)



รูปที่ 2.5 แสดงการสะสมของ ^{99m}Tc-HMPAO และ ^{123}I-IMP ในสมองส่วนที่เป็นเนื้องอกและสมองส่วนที่เป็นปกติ

พบว่ามีการสะสมของ ^{99m}Tc-HMPAO ในสมองส่วนที่เป็น grey matter มากกว่า white matter อย่างเห็นได้ชัด (25)



รูปที่ 2.6 แสดง การสะสมของ ^{99m}Tc-HMPAO ในสมอง

ผลการกระจายตัวของ ^{99m}Tc-d,l-HMPAO ในส่วนต่าง ๆของร่างกาย ดังตารางที่ 2 (4)

ตารางที่ 2.1 แสดงการกระจายตัวของ ^{99m}Tc-d,l-HMPAO ในสมองและอวัยวะต่าง ๆของคน (% ของ total dose ที่ได้รับ) (4)

อวัยวะ	เวลาหลังการฉีด(นาที)			
	20	45	60	150
สมอง	6.1	6.2	6.1	5.5
ปอด	14.5	13.8	13.3	11.2
ตับ	23.7	22.4	21.3	17.5
ลำไส้	22.4	23.2	24.1	26.3
กระเพาะปัสสาวะ	6.7	8.9	10.4	19.4

หลังจากศึกษาการกระจายตัวของสารนี้ในส่วนต่าง ๆของร่างกาย แล้วทำการตรวจวัด absorbed radiation dose ของสารนี้ที่อวัยวะต่าง ๆ

พบว่า absorbed radiation dose ที่อวัยวะต่างๆ ที่สำคัญ เช่น สมอง ตับ ไต ไม่สูงมากนัก ไม่เป็นอันตรายต่ออวัยวะนั้นๆ

ตารางที่ 2.2 แสดง absorbed radiation dose ของอวัยวะต่าง ๆ (4)

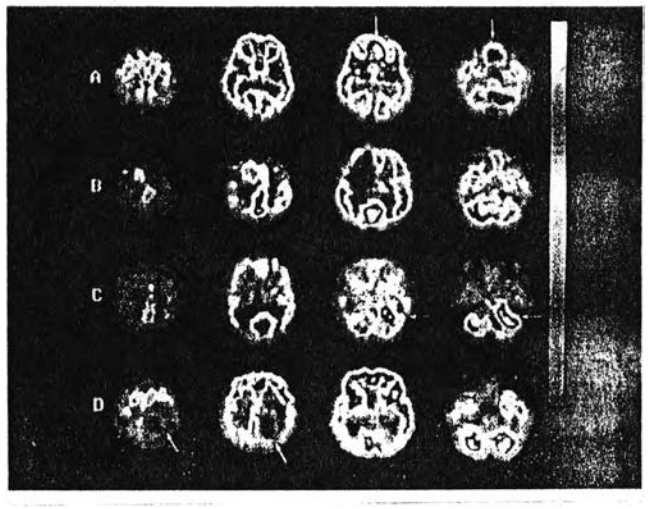
อวัยวะเป้าหมาย	Absorbed radiation dose (mGy/500 mBq)
ผนังถุงน้ำดี	34.7
ไต	27.3
ไทรอยด์	18.5
ผนังลำไส้ใหญ่ตอนบน	13.7
ตับ	8.9
ผนังลำไส้เล็ก	7.8
ผนังลำไส้ใหญ่ตอนล่าง	5.9
ผนังกระเพาะปัสสาวะ	5.4
สมอง	3.8
รังไข่	3.2
อัณฑะ	0.6
ร่างกายทั้งหมด	2.1

จากการศึกษาทาง in vitro พบว่า glutathione (GSH)ซึ่งเป็นสารที่มีอยู่ในร่างกายทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสารจาก lipophilic เป็นสาร hydrophilic ได้เร็วยิ่งขึ้น (27)

เนื่องจากคุณภาพของภาพถ่ายสมองที่ถ่ายด้วย ^{99m}Tc-HMPAO โดย SPECT สามารถนำมาใช้ในการวิเคราะห์สมุฏฐานของโรคทางสมองได้ดีสารนี้จึงได้รับเลือกให้นำมาใช้ถ่ายภาพสมองในงานประจำ มีการนำสารนี้มาใช้ในการวินิจฉัยมะเร็งในสมองและความผิดปกติอื่น ๆเกี่ยวกับสมอง อย่างมากมาย(โดยการถ่ายภาพ rCBF)เช่น

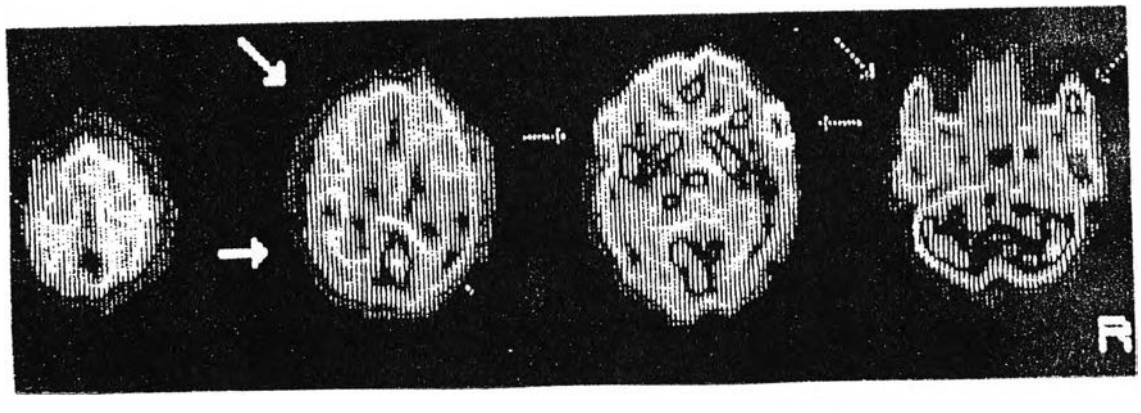
โรคเยื่อหุ้มสมองอักเสบ

ภาพถ่ายที่ได้จาก ^{99m}Tc-HMPAO พบว่ามีการสะสมสารแกะรอยสูงและค่อนข้าง homogenous โดยปกติแล้วส่วนของ cerebellum ของสมองมีการสะสมของสารแกะรอยสูงที่สุดอยู่แล้ว tumours ที่บริเวณนี้จึงเห็นเป็นส่วนที่มีการสะสมสูงอย่างชัดเจน (28)



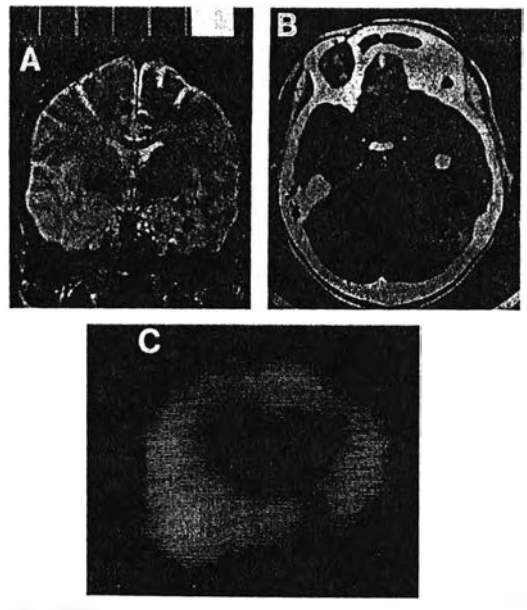
รูปที่ 2.7 ภาพถ่ายสมองด้วย ^{99m}Tc-HMPAO ในคนไข้ที่เป็นโรคเยื่อหุ้มสมองอักเสบ

migraine จากภาพถ่ายสมองพบว่าบริเวณที่เกิดอาการจะมีการแพร่ได้น้อยกว่าปกติ (29)ดังรูปที่ 2.8



รูปที่ 2.8 ภาพถ่ายสมองด้วย ^{99m}Tc-HMPAO ในคนไข้ที่เป็นโรค migraine

Epilepsy (โรคลมชัก)ภาพถ่ายสมองพบว่ามี localization ของการแพร่ ผิดปกติใน mesial,lateral หรือ anterior temporal cortex (30)

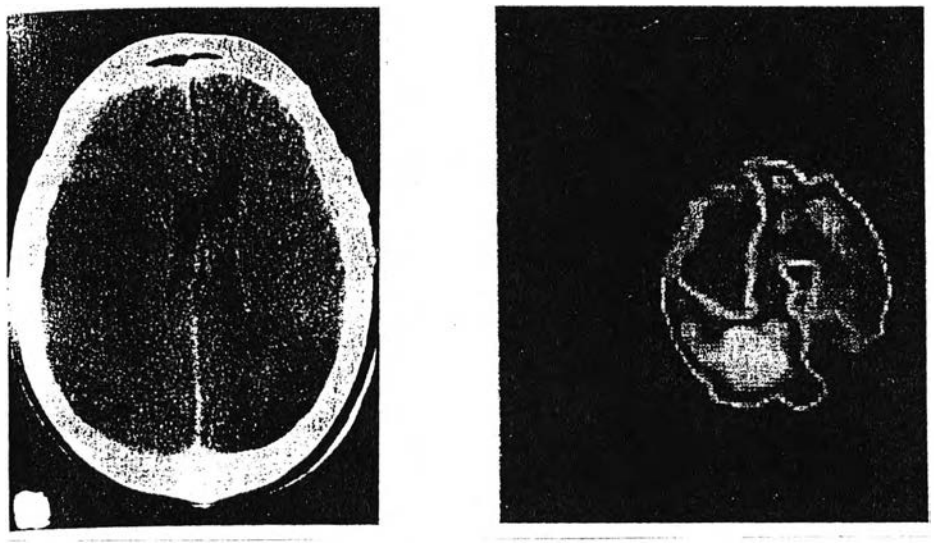


รูปที่ 2.9 ภาพถ่ายภาพด้วย ^{99m}Tc-HMPAO ในคนไข้ที่เป็นโรค epilepsy

Dementia (สมองพิการ)

อาจเป็นระยะเริ่มแรกที่สมองสั่งงานผิดปกติหรืออาจเป็นระยะที่สองที่จะนำไปสู่อาการทางสมองอื่น ๆเช่น syphilis,anteriosclerosis,tumours,hydrocephalus, multiple sclerosis,virusencephalitis ฯลฯ

อัตราการเกิดโรคจะเพิ่มขึ้นตามอายุที่มากขึ้นการแพร่ผ่านของเลือดในสมองจะลดลงตามลำดับ ทำให้คนชรามีอาการหลงลืม ไม่สามารถจดจำเหตุการณ์ หรือชื่อคนได้แม่นยำเหมือนเดิม (28)



รูปที่ 2.10 ภาพถ่ายสมองด้วย ^{99m}Tc-HMPAO ในคนไข้ที่เป็นโรค dementia

ตัวอย่างเหล่านี้เป็นการนำ ^{99m}Tc-HMPAO มาใช้ประโยชน์ในการหาอาการและสาเหตุของโรคทางสมองต่าง ๆ

ปัจจุบันมีการพัฒนาเพื่อขยายประโยชน์การนำสารนี้มาใช้ โดยนำไปติดฉลากกับสารอื่น ๆ เช่น นำมาติดฉลากกับเม็ดเลือดขาว เพื่อตรวจหาการติดเชื้อภายในสมอง(31) หรือ นำมาติดฉลากกับแผ่นเลือด (platlet)เพื่อตรวจหาอาการลิ่มเลือด (thrombosis) ในสมอง เป็นต้น (32)

มีการศึกษาทางการแพทย์ เพื่อขยายประโยชน์ในการนำสารนี้ไปใช้ในการวินิจฉัยอาการผิดปกติอื่น ๆของสมองอย่างไม่หยุดยั้งพบว่าสารนี้มีประโยชน์อย่างมากมาย จึงถูกนำมาใช้กันอย่างแพร่หลายผลที่ได้เป็นที่น่าพอใจ สามารถวิเคราะห์หาสาเหตุความผิดปกติเกี่ยวกับสมองได้ถูกต้องและแม่นยำกว่าเดิม

แต่เนื่องจากลิแกนด์ของสารนี้สังเคราะห์ได้ยาก ราคาต้นทุนในการผลิตจึงสูงเป็นผลให้สารประกอบสำเร็จรูปของลิแกนด์นี้ ในปัจจุบันมีราคาค่อนข้างแพง จึงเป็นข้อจำกัดอีกประการหนึ่งในการนำมาใช้

2.2 สารเภสัชรังสี

2.2.1 พื้นฐานการเลือกสารเภสัชรังสีเพื่อใช้ในทางคลินิค

การพิจารณาสารเภสัชรังสีที่จะนำมาใช้ในทางคลินิค ต้องคำนึงถึงปัจจัยต่าง ๆ มากมาย คุณลักษณะเบื้องต้นที่จะนำมาใช้ประกอบการพิจารณาคือ คุณสมบัติทางนิวเคลียร์ และพฤติกรรมทางชีวภาพ

2.2.1.1 คุณสมบัติทางนิวเคลียร์

คุณสมบัติทางนิวเคลียร์ที่ต้องการคือ พลังงานโฟตอนหลัก พลังงานโฟตอนเป็นปัจจัยสำคัญในการนำสารเภสัชรังสีมาใช้ประโยชน์ทางคลินิค พลังงานโฟตอนหลักจะเป็นตัวตัดสินลักษณะเฉพาะของการตรวจวัด ตามอุดมคติพลังงานของแกมมาโฟตอนที่ต้องการจะประมาณ 150 keV ที่พลังงานในช่วงนี้จะทำให้เกิดการ deposit ในผลึกของ standard scintillation crystal ที่มีในระบบการถ่ายภาพส่วนใหญ่ได้เกือบจะสมบูรณ์

พลังงานโฟตอนที่มากกว่า 150 keV ก็สามารถนำมาใช้ถ่ายภาพได้ แต่ sensitivity ในการตรวจวัดของ gamma scintillation camera จะลดต่ำลง เนื่องจากพลังงานโฟตอนสูงขึ้นจึงจำเป็นต้องใช้ collimator ที่มีผนังหนาขึ้น ทำให้จำนวนโฟตอนที่จะตรวจวัดได้มีจำนวนน้อยลง ในทางตรงกันข้ามโฟตอนที่มีพลังงานต่ำมากไป จะถูกหน่วงเหนี่ยวโดยเนื้อเยื่อของร่างกาย ทำให้ไม่สามารถตรวจวัดได้จากภายนอก

สารรังสีที่นำมาใช้ถ่ายภาพควรมีพลังงานเดียว (monoenergetic energy) และไม่ควรเกิดแกมมาโฟตอนที่มีพลังงานมากกว่า 1 ค่าเกิดขึ้นในระหว่างการสลายตัว ผลิตผลที่เกิดจากการสลายตัวควรจะเสถียร

นอกจากพลังงานของแกมมาโฟตอนแล้ว ควรมีปริมาณของพลังงานโฟตอนหลักที่เกิดขึ้นในระหว่างการสลายตัวสูงพอ สารรังสีที่ให้โฟตอนมากกว่า สามารถใช้ความแรงรังสีได้น้อยกว่า โดยที่คุณภาพของภาพที่ได้ยังคงดีเหมือนเดิม

การศึกษาทางเวชศาสตร์นิวเคลียร์บางอย่างจะไม่ใช้เครื่องถ่ายภาพ จึงอาจใช้สารรังสีที่ให้พลังงานโฟตอนที่สูงกว่า 150 keV ได้ ปฏิบัติการมากมายที่วัดความแรงรังสีในตัวอย่างเลือดหรือเนื้อเยื่อ จะใช้หัววัดแบบ well-type ด้วยระบบการวัดที่ดี สามารถตรวจวัดพลังงานโฟตอนที่ต่ำถึง 25 keV และสูงถึงหลาย MeV ได้อย่างเพียงพอ

2.2.1.2 ปัจจัยที่มีผลต่อพฤติกรรมทางชีวภาพ

ปัจจัยที่มีอิทธิพลสำคัญต่อการกระจายตัว (รวมทั้งการขจัดออกจากเลือดและเนื้อเยื่ออื่น ๆ) คือ สถานะทางกายภาพและเคมี (physiochemical condition) ของสารเภสัชรังสี เช่นสารที่ละลายในเลือดจะต้องไม่จับกับโปรตีน มีน้ำหนักโมเลกุลน้อยกว่า 5000 และถูกขับออกได้ทางไตโดยการกรองผ่าน glomerular filtration

ในทางตรงกันข้ามอนุภาคที่ฉีดเข้าทางเส้นเลือดจะถูกขับออกโดย reticulo endothelial system (ไต ม้าม ไขกระดูก)หรือปอด ขึ้นอยู่กับขนาดของอนุภาค ส่วนก๊าซรังสี เช่น Xe-133 หรือ Kr-81m จะมีพฤติกรรมเหมือนอากาศ ใช้ประเมินการทำงานของปอด

2.2.2 กลไกการเข้าไปอยู่ภายในเซลล์ (Mechanism of localization) การสะสมของสารเภสัชรังสี แบ่งตามกลไกการเข้าไปในเนื้อเยื่อได้ดังนี้

2.2.2.1 Active transport

เป็นกระบวนการเปลี่ยนแปลงระดับเซลล์ที่เกิดขึ้นในอวัยวะหรือเนื้อเยื่อที่อยู่เหนือระดับพลาสมา เช่น ต่อมไทรอยด์

2.2.2.2 Simple diffusion

เป็นกระบวนการการเคลื่อนที่ของสารจากบริเวณที่มีความเข้มข้นสูงไปสู่บริเวณที่มีความเข้มข้นต่ำกว่า การแพร่ของสารจากพลาสมาเข้าสู่สมองจะถูกควบคุมโดยกลไกที่ซับซ้อนทางสรีระและกายวิภาคที่เรียกว่า "Blood Brain Barrier (BBB)" ซึ่งมีข้อจำกัด คือ มีความเฉพาะเจาะจงต่อการแลกเปลี่ยนอย่างอิสระของสารระหว่างเลือดและสมอง สารอาหารจำเป็นที่ผ่านเข้า BBB ได้เป็นสารที่ละลายได้ในไขมัน สารที่ละลายน้ำ (รวมทั้งสารเภสัชรังสีจำนวนมาก) จึงไม่สามารถผ่านเข้าสมองที่ปกติได้ สภาพการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ เช่น เนื้องอก(neoplama) การอักเสบ(infarction) และการบวมของ"ช่องว่าง(space)" ใน BBB ทำให้สารเภสัชรังสีแพร่ผ่านเข้าไปในเนื้อเยื่อได้ ระดับของสารเภสัชรังสีที่มีอยู่ต่ำในเลือด (เนื่องจากการขับออกอย่างรวดเร็วของสารเภสัชรังสีที่ละลายน้ำโดยไต) เมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณรังสีที่คงที่อยู่ในรอยโรค จะทำให้เห็นเนื้อเยื่อของเป้าหมายเป็นบริเวณที่มีการสะสมของสารเภสัชรังสีได้อย่างชัดเจน

2.2.2.3 Capillary blockage

การฉีดสารเข้าทางเส้นเลือดอนุภาคที่มีขนาดใหญ่กว่าเม็ดเลือดแดง จะเข้าไปอยู่ใน capillary bed อันแรกที่พบ อนุภาคของสารเภสัชรังสีที่มีขนาดใกล้เคียงกัน เมื่อถูกฉีดเข้าทางเส้นเลือด ก็จะเข้าไปอยู่ใน capillary bed ของปอด ทำให้เห็นการสูบฉีดเลือดของปอด อนุภาคที่อุดตันในเส้นเลือดฝอยของเส้นเลือดที่มีอยู่ในอวัยวะใด ๆจะเป็นสัดส่วนกับปริมาณเลือดที่ได้รับ ดังนั้นการขาดเลือดของเนื้อเยื่อปอด จะแสดงให้เห็นลักษณะของการเกิดโรคปอดเรื้อรัง หรือ pulmonary embolism ทำให้ได้รับเลือดน้อย อนุภาคของสารเภสัชรังสีที่แพร่เข้าไปยังเนื้อเยื่อปอดจึงมีน้อยกว่าปกติ การถ่ายภาพด้วย scintillation camera จะเห็นเป็นบริเวณที่ไม่มีสารเภสัชรังสี ถึงแม้ว่าสารเหล่านี้จะไม่สามารถบอกถึง microemboli ได้ แต่ก็ไม่แสดงให้เห็นว่ามีการเสียงของคนไข้อันเนื่องมาจากการอุดตันของเส้นเลือด ซึ่งมีเพียงไม่กี่เปอร์เซนต์ของเส้นเลือดฝอยที่มีอยู่ทั้งหมด และจะรวมกันเป็นสารทางชีวภาพที่กำจัดออกจากร่างกายได้

2.2.2.4 Phagocytosis

Phagocytosis เป็นกระบวนการจดจำและขับอนุภาคแปลกปลอมขนาดเล็กภายในเลือดของเซลล์ในระบบ reticuloendothelial (RE) [มวลของ RE เซลล์ที่มีขนาดใหญ่ที่สุดอยู่ในตับ (ประมาณ 85 %) ที่เหลืออยู่ในม้าม (ประมาณ 10 %) และในไขกระดูก (ประมาณ 5 %)] เมื่อสารรังสีที่มีขนาดเล็กกว่าเซลล์เม็ดเลือดแดงถูกฉีดเข้าทางเส้นเลือดมันจะถูกจัดว่าเป็นสารแปลกปลอม และถูกขับออกจากเลือดอย่างรวดเร็วโดย RE เซลล์ เพราะว่า RE เซลล์กระจัดกระจายอยู่ทั่วไปในตับและม้าม การสะสมของอนุภาคคอลลอยด์รังสี (เช่น ^{99m}Tc-sulfur colloid) ก็จะผ่านเข้าไปในเซลล์เหล่านี้ เมื่อถ่ายภาพแบบ scintillation จะทำให้สังเกตเห็นขนาด รูปร่างและตำแหน่งของอวัยวะได้

2.2.2.5 Cell sequestration

เป็นกระบวนการจดจำและขจัดเซลล์เม็ดเลือดแดงที่ถูกทำลายและเซลล์ที่หมดอายุการทำงานออกจากร่างกายของม้าม การศึกษาการ sequestration ของม้ามทำได้โดยดูดเอาเซลล์เม็ดเลือดแดงมาติดฉลากกับสารรังสีเซลล์เม็ดเลือดแดงบางส่วนจะถูกทำลาย เมื่อฉีดกลับเข้าไปในร่างกายเซลล์เม็ดเลือดแดงที่ถูกทำลายจะเข้าไปอยู่ในม้าม ทำให้ถ่ายภาพม้ามได้โดยไม่เกิดการขัดขวาง อันเนื่องมาจากสารรังสีในตับ ซึ่งจะเกิดได้ในกรณีที่ทำการศึกษาโดยใช้คอลลอยด์รังสี

2.2.2.6 Compartmental localization

เมื่อฉีดสารเภสัชรังสีเข้าไปในร่างกายที่เป็นปกติโดยตรง สารรังสีจะคงที่อยู่ที่ตำแหน่งนั้นนานพอที่จะทำการถ่ายภาพเช่นสารเภสัชรังสีที่ไม่แพร่เมื่อฉีดเข้าไปในช่องไขสันหลัง (cerebralspinal fluid,CSF)โดยตรง จะช่วยวินิจฉัยไคเนติคของ CSF ในคนไข้ที่เป็นเนื้อเยื่อสมองฝ่อ หรือในคนไข้ที่สงสัยว่าจะเป็น CSF rhinorrhea

ประโยชน์อื่น ๆของการสะสมแบบนี้ คือ ใช้ศึกษาการทำหน้าที่ของระบบทางเดินอาหาร (gastrointestinal system,GI) โดยดูการเคลื่อนที่ของสารเภสัชรังสีที่ไม่ละลายน้ำที่รับประทานเข้าไปผ่านท่อทางเดินอาหาร ศึกษาการทำงานของปอด รวมทั้งการใช้ก๊าซรังสีที่มีความเฉื่อยทางกายภาพ โดยการสูดเข้าไป

2.2.2.7 Antigen-antibody complexation

เป็นเทคนิคใหม่เพื่อหาตำแหน่งของเนื้องอกการติดฉลากสารรังสี (ปกติจะใช้ I-131)กับ antibody ต่าง ๆและ antigen ของเนื้องอกนั้นๆ ได้รับการตรวจสอบและยืนยันแล้วว่ามีศักยภาพในการตรวจหาเนื้องอกได้ดี โดยเฉพาะเมื่อติดฉลากสารรังสีกับ antibody ชนิดที่มีความเฉพาะเจาะจงมาก ๆ คือ monoclonal antibody (MoAb)(18)

2.2.3 สารเภสัชรังสีเทคนีเชียม-99 เอ็ม (^{99m}Tc Radiopharmaceuticals)

สารเภสัชรังสีของเทคนีเชียม เป็นสารที่ใช้ถ่ายภาพเพื่อวินิจฉัยอาการของโรคในด้านเวชศาสตร์นิวเคลียร์เพื่อให้เห็นเนื้อเยื่อ โครงสร้างทางกายวิภาค และความผิดปกติเกี่ยวกับการเปลี่ยนแปลงภายในร่างกาย (metabolic disordor) ไอโซโทปของเทคนีเชียมที่มีประโยชน์ในทางเวชศาสตร์นิวเคลียร์ คือ เทคนีเชียม-99 เอ็ม

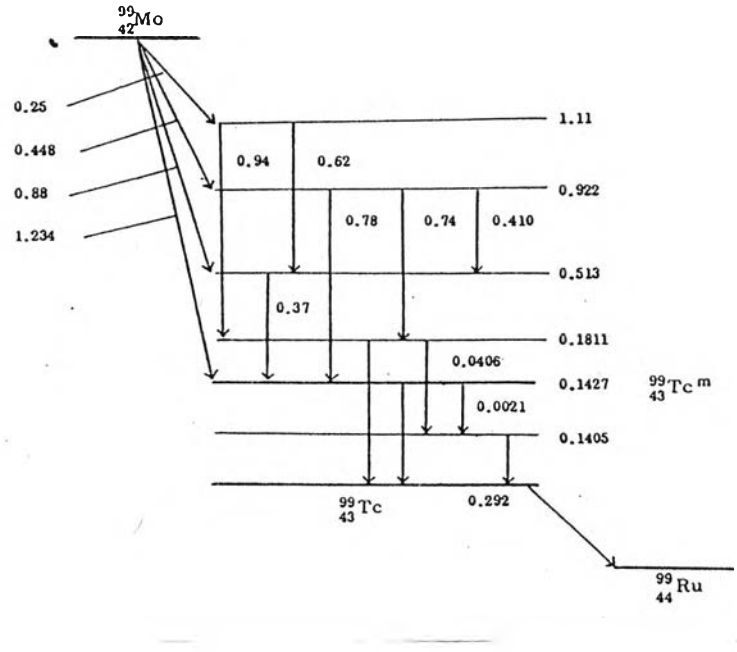
^{99m}Tc มีครึ่งชีวิตสั้น ($T_{1/2}$ = 6.02 hr)ให้ Single-photon emission ที่มีพลังงาน 140.6 keV หลังจากฉีดสารเภสัชรังสีเทคนีเชียม-99เอ็ม เข้าทางเส้นเลือด สารจะเข้าไปยังอวัยวะเป้าหมายที่เฉพาะเจาะจง แล้วทำการถ่ายภาพโดยใช้กล้องถ่ายภาพแบบที่ใช้ผลึกโซเดียมไอโอไดด์ (NaI crystal camera)

เทคนีเชียมมีออกซิเดชันเสตทหลายค่าจึงสามารถเกิดสารประกอบเชิงซ้อนโคออร์ดิเนชันกับลิแกนด์ที่เป็นทั้งสารอนินทรีย์และสารอินทรีย์ได้อย่างมากมาย สารประกอบของเทคนีเชียมที่มีเสถียรภาพมากทางเทอร์โมไดนามิคส์ จะประกอบด้วยออกซิเจนที่จับยึดไว้กับเทคนีเชียม (เช่น TcO_4, TcO_2, $2H_2O$, TcOL เป็นต้น)

ตารางที่ 2.3 ออกซิเดชันเสตทของ Tc-99m และ core ของ Tc ที่พบในสารแกะรอยรังสีของเทคนีเชียม-99 เอ็ม

ออกซิเดชันสเตท	คอร์
+ VII	TcO^-_4 (สารตั้งต้น)
+ V	TcO^{3+}; trans-TcO_2^+; TcN^{2+}
+ IV	$TcO(OH)^+$; $Tc(OH)_2^{2+}$
+ III	Tc^{3+}
+ I	Tc^+

และเพราะว่าเทคนีเชียมสามารถสร้างเป็นสารประกอบเชิงซ้อนของเทคนีเชียม-99 เอ็ม ที่เสถียรได้ จึงถูกนำมาใช้ในด้านเวชศาสตร์นิวเคลียร์อย่างมากมาย ปัจจุบันนี้ เทคนีเชียม-99เอ็ม ผลิตขึ้นง่าย ๆและสะดวกใช้ในโรงพยาบาลและหน่วยงานทางด้านเวชศาสตร์นิวเคลียร์โดยปฏิกิริยา β-decay ของโมลิบดีนัม-99 (^{99}Mo)



รูปที่ 2.11 แผนผังการสลายตัวแบบ β-decay ของโมลิบดีนัม-99 (^{99}Mo)

โมลิบเดตไอออน ($^{99}MoO_4^{2-}$) จะถูกดูดซับอยู่ในอะลูมินาคอลัมน์ที่หุ้มไว้ด้วยตะกั่วในคอนเทนเนอร์ที่สามารถเคลื่อนย้ายได้ที่เรียกว่า "generators" สารละลายเปอร์เทคนีเตทที่ชะจาก generator จะถูกฉีดเข้าไปในขวดที่ปิดสนิทของสารผสมที่ประกอบด้วยตัวรีดิวซ์ (reducing agent โดยปกติจะเป็น $SnCl_2$) สารประกอบเชิงซ้อนของลิแกนด์และบางทีอาจมี antioxidant หรือ stabilizer อยู่ด้วย สารที่ใช้รีดอกซ์จะรีดิวซ์เทคนีเชียมจากออกซิเดชันสเตท 7 [Tc(VII)]ไปเป็นออกซิเดชันที่ต่ำกว่า (เช่น Tc(V), Tc(IV),Tc(III)หรือ Tc(I)ขึ้นอยู่กับ reducing agent) หลังจากนั้นจะเกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างเทคนีเชียมกับลิแกนด์ สารประกอบเชิงซ้อนเทคนีเชียมมีสตอยชิโอเมตรี (stoichiometries) ต่าง ๆกัน ขึ้นกับออกซิเดชันสเตทนั้นๆ สำหรับ Tc(V) และ Tc(IV) เชื่อว่ามีสตอยชิโอเมตรีเป็นแบบเทคนีเชียม-ออกโซคอร์ (เช่น $TcOL_n$,TcO_2L_n,$TcO(OH)L_n$, $Tc_2O_2L_n$เป็นต้น) ในขณะที่สารประกอบเชิงซ้อนของ Tc(III) และ Tc(I) ลิแกนด์จะสร้างพันธะโคออร์ดิเนตอยู่กับเทคนีเชียมเท่านั้น (เช่น TcL_n,Tc_2L_n เป็นต้น)

เพราะว่า เทคนีเชียมสามารถเกิดสารประกอบเชิงซ้อนได้มากมายหลายชนิด จึงเป็นเรื่องธรรมดาอย่างยิ่งสำหรับ reaction mixture หนึ่ง ๆที่ลิแกนด์ตัวหนึ่งจะสามารถเกิดสารประกอบเชิงซ้อนที่แตกต่างกันได้มากกว่า 1 ชนิด การเกิดสารประกอบมากกว่า 1 ชนิด (polynuclear)ของเทคนีเชียม ปกติจะจำกัดให้น้อยที่สุด โดยควบคุมความเข้มข้นของเทคนีเชียมให้น้อยที่สุดเท่าที่จะทำได้

การเตรียมแบบ carrier-free มี Tc-99เป็น carrier ในตอนเริ่มต้นจะมี

เพียง Tc-99m เท่านั้นที่เกิดขึ้นในการเตรียมแต่ละครั้งความเข้มข้นของ Tc-99m จะแตกต่างกันตั้งแต่ 10^{-7} ถึง 10^{-5} โมลาร์ การเกิดสารประกอบโพลีนิวเคลียร์ (เช่น ไดเมอร์ ไตรเมอร์เป็นต้น) จะไม่ค่อยเกิดขึ้นที่ความเข้มข้นของโลหะต่ำขนาดนี้ และเพื่อจะป้องกันไม่ให้เกิดสารประกอบเชิงซ้อนของเทคนีเชียมที่มากกว่าหนึ่งออกซิเดชันเสตท จึงต้องพยายามควบคุมความแรงของตัวรีดิวซ์ และสภาวะในการเกิดปฏิกิริยา

หลังจากเตรียมสารเภสัชรังสีเทคนีเชียม-99เอ็มแล้ว ทิ้งเวลาไว้ระยะหนึ่ง จึงทำการฉีดสารผสมที่ได้เข้าคนไข้เพื่อทำการวินิจฉัย ทิ้งเวลาไว้ให้นานพอ แล้วจึงทำการถ่ายภาพที่อวัยวะเป้าหมายนั้น ๆเช่น ถ้าจะทำการถ่ายภาพกระดูกจะต้องทิ้งเวลาไว้นานประมาณ 3 ชั่วโมง เพื่อให้ความแรงรังสีของ Tc-99m ถูกกำจัดออกจากเลือดและเนื้อเยื่ออ่อนได้หมด และมีการสะสมที่อวัยวะเป้าหมายได้ดี ภาพที่ได้จากการตรวจวัดรังสีแกมมาด้วยกล้อง NaI บางครั้งจะให้ภาพที่ไม่ชัดเจนเนื่องจาก resolution ค่อนข้างต่ำ จึงจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องพยายามให้เห็นความแตกต่างระหว่างอวัยวะเป้าหมายกับเนื้อเยื่อที่เป็นแบลคกราวน์ให้มากที่สุด

สารเภสัชรังสีเทคนีเชียม แบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือ

<u>ประเภทที่ 1</u> technetium-tagged radiopharmaceuticals หมายถึงสารเภสัชรังสีที่ติดฉลากกับเทคนีเชียม ประกอบด้วย โมเลกุลที่ติดฉลากกับเทคนีเชียม การกระจายตัวขึ้นอยู่กับชนิดของลิแกนด์ที่ติดอยู่กับเทคนีเชียมนั้น ซึ่งหมายความว่า โมเลกุลดั้งเดิม (native molecules) ที่ไม่ติดฉลากกับเทคนีเชียม จะมีการกระจายตัวภายในร่างกายเหมือนกับสารที่ติดฉลากกับเทคนีเชียมทุกประการ

สารประเภทนี้โดยทั่วไปจะมีน้ำหนักโมเลกุลสูงเช่น โปรตีน อนุภาคขนาดใหญ่ คอลลอยด์ และ เซลล์ สารประกอบติดฉลากเทคนีเชียมประเภทนี้ ได้แก่ ^{99m}Tc-sulfur colloids ใช้ถ่ายภาพ reticuloendothelial system ของตับ ม้าม ไขกระดูก macroaggregated albumin (^{99m}Tc-MAA)ใช้ศึกษาการแพร่ของปอด สารติดฉลากไอโซโทปกับเม็ดเลือดแดง (^{99m}Tc-RBC) ใช้ถ่ายภาพ blood pool(แอ่งเลือด) และ ^{99m}Tc ติดฉลากกับแอนติบอดี ได้รับการพัฒนาเพื่อถ่ายภาพเซลล์เนื้องอกของ soft tissue ต่าง ๆ เหล่านี้เป็นสารเภสัชรังสีชนิดต่างๆที่ติดฉลากกับเทคนีเชียม

<u>ประเภทที่ 2</u> เรียกว่า technetium-essential class

ประกอบด้วยสารประกอบเชิงซ้อนแบบโคออร์ดิเนชันขนาดเล็กระหว่างเทคนีเชียมกับลิแกนด์ การกระจายตัวของสารเภสัชรังสีของเทคนีเชียมประเภทนี้จะถูกควบคุม โดยคุณสมบัติทางกายภาพของสารประกอบเชิงซ้อนของเทคนีเชียม การกระจายตัวในร่างกายของสารเภสัชรังสีเหล่านี้จะเปลี่ยนไปตามโครงร่างของสารประกอบเชิงซ้อนเทคนีเชียมนั้น ๆ

เป็นไปตามออกซิเดชันเสตทของเทคนีเชียม หมู่แทนที่ (functional groups) ของลิแกนด์ และรูปแบบของคอร์ของเทคนีเชียม (technitium core configuration เช่น mono meric และ polynuclear)

สารประเภทนี้ได้แก่ สารประกอบเชิงซ้อนของเทคนีเชียม ที่ใช้ถ่ายภาพเนื้อเยื่อ เช่น ไต ตับ หัวใจ และ กระดูก

ความสัมพันธ์ระหว่างคุณสมบัติทางกายภาพของสารประกอบเชิงซ้อนเหล่านี้กับกลไก การกระจายตัวของมันยังไม่เป็นที่เข้าใจกันมากนัก เนื่องจากขาดความรู้เกี่ยวกับโครงสร้าง ทางเคมีของสารประกอบเชิงซ้อนของเทคนีเชียมและการทำสารประกอบเชิงซ้อนเทคนีเชียม ให้มีความบริสุทธิ์ทางเคมีก่อนที่จะทำการศึกษาการกระจายตัว

เมื่อไม่นานมานี้ สามารถแยกสารผสมของสารประกอบเชิงซ้อนเทคนีเชียมออก จากกันได้โดย HPLC สารประกอบเชิงซ้อนเทคนีเชียมบริสุทธิ์ที่แยกออกมาได้ ผลการตรวจ วัดขั้นแรกแสดงว่า มีการสะสมที่เนื้อเยื่อสัมพันธ์กับคุณสมบัติทางกายภาพของสารประกอบ เชิงซ้อนเทคนีเชียมเพียงชนิดเดียว

ความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างกับความแรงรังสีเหล่านี้จะเป็นตัวบ่งชี้กระบวนการ สะสมทางกายภาพของสารประกอบเชิงซ้อนของเทคนีเชียม ทำให้เกิดความเข้าใจการ กระจายตัวของสารเหล่านี้ได้ดียิ่งขึ้นช่วยให้ทราบข้อมูลพื้นฐาน เพื่อออกแบบสารถ่ายภาพ ด้วยเทคนีเชียมตัวใหม่ ๆ ที่มีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น

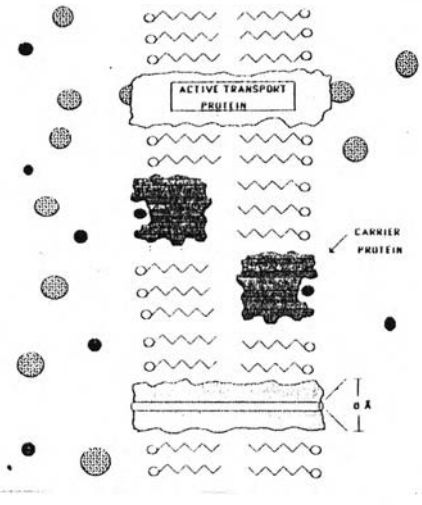
เพื่อที่จะให้เข้าใจว่า ทำไมเนื้อเยื่อของร่างกายบางส่วนจึงเฉพาะเจาะจง ต่อ สารประกอบเชิงซ้อนเทคนีเชียมใน technetium-essential class อย่างแรกจะ ต้องเข้าใจก่อนว่า สารเหล่านั้นเข้าไปยังเซลล์เนื้อเยื่อเป้าหมายได้อย่างไร

เนื่องจากสารเภสัชรังสีของเทคนีเชียมจะถูกฉีดเข้าทางเส้นเลือด ดังนั้นสารนี้จึง เข้าไปกระจายตัวอยู่ใน blood pool ทันที สารประกอบเชิงซ้อนเทคนีเชียมซึ่งตามหลัก จะละลายน้ำได้ ก็จะแพร่ผ่านและไหลเวียนไปอย่างอิสระเข้าไปใน blood plasma matrix ดังนั้นก็จะไปถึงเนื้อเยื่อเป้าหมายได้ในลักษณะเดียวกับสารอาหารภายในร่างกาย และยาที่ใช้ในทางรักษาอื่น ๆ (เช่น ทางเส้นเลือดฝอย)

ผนังของเส้นเลือดฝอยประกอบด้วยชั้นบาง ๆของเยื่อบุชั้นใน (endothelial) ซึ่ง จะแยกการไหลของ blood plasma และ ของไหลระหว่างเซลล์ ที่จะไปหล่อเลี้ยง เซลล์ของเนื้อเยื่อเป้าหมาย ระหว่างเซลล์ของเยื่อบุภายในผนังของเส้นเลือดฝอยจะมี ช่องว่างเล็ก ๆเหมือนกับเป็นรูพรุนที่มีความกว้าง 80-90 °A ช่องว่างเล็ก ๆเหล่านี้จะเป็น ทางผ่านของสารอาหาร และโมเลกุลของยาที่มีขนาดเล็กและละลายน้ำได้แต่โมเลกุลที่มี ขนาดใหญ่ อย่างเช่น plasma protein ไม่สามารถผ่านเข้าไปได้ (ยกเว้นในสมอง) สารประกอบเชิงซ้อนเทคนีเชียมจะสามารถแพร่ผ่านเข้าไปในช่องว่างระหว่างเซลล์โดยผ่าน

รูพรุนเหล่านี้ โดยถูกผลักดันเนื่องจากความเข้มข้นขององค์ประกอบของสารที่ผ่านเข้าไปในเซลล์ของผนังเส้นเลือดฝอย สารประกอบเชิงซ้อนเทคนีเชียมจึงสามารถกระจายไปตามส่วนที่สำคัญของร่างกายได้อย่างรวดเร็ว

ในบางกรณีสารประกอบเชิงซ้อนเทคนีเชียมสามารถเปลี่ยนกลับไปยึดจับกับ plasma protein ได้ แต่เพราะโปรตีนที่ยึดติดกับสารประกอบเชิงซ้อนเทคนีเชียมไม่สามารถแพร่ผ่านรูพรุนจึงยังคงอยู่ในแอ่งเลือด (blood reservoir) ขณะที่ความเข้มข้นของสารประกอบเชิงซ้อนเทคนีเชียมอิสระในเลือดลดลงไม่ว่าจะโดยการสะสมอยู่ในเนื้อเยื่อเป้าหมายหรือการกำจัดออกจากร่างกาย สารประกอบเชิงซ้อนเทคนีเชียมจะค่อย ๆ หลุดออกจากโปรตีนเพื่อปรับสมดุลใหม่ สารประกอบเชิงซ้อนเทคนีเชียมก็เหมือนกับสารอื่น ๆ ที่ยึดจับกับโปรตีน จะถูกกำจัดออกจากเลือดได้ช้ากว่าสารประกอบที่ไม่ได้จับกับโปรตีน ขณะเดียวกัน สารที่ไปถึง fluid ระหว่างเซลล์ของเนื้อเยื่อเป้าหมาย ก็จะไหลเวียนไปรอบ ๆ เมมเบรนของเซลล์เนื้อเยื่อเป้าหมายเพื่อจะเข้าไปสะสม เซลล์เมมเบรนประกอบด้วยชั้นไขมัน 2 ชั้นที่ติดอยู่กับโปรตีนหลายชนิด



รูปที่ 2.12 เซลล์เมมเบรนของเนื้อเยื่อ

ผนังเซลล์มีช่องว่างขนาดเล็ก (เส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 8 Å) โมเลกุลขนาดเล็ก เช่น น้ำ (เส้นผ่าศูนย์กลาง 3.0 Å) และไฮเดรตคลอไรด์ไอออน (เส้นผ่าศูนย์กลาง 3.8 Å) สามารถผ่านได้โมเลกุลที่ไม่ละลายน้ำจะผ่านเข้าชั้นของไขมันได้โดยตรง โดยกระบวนการ passive diffusion สารที่ไม่ละลายน้ำขนาดปานกลางจะผ่านเข้าเซลล์เมมเบรนได้

i17152616

โดยกระบวนการ active transport enzyne systems หรือโดยวิธี carrier protein ก็ได้ การขนส่งโดย carrier protein จะทำได้ในกรณีที่มีการแพร่จากความเข้มข้นสูงไปยังที่ ๆมีความเข้มข้นต่ำกว่าเท่านั้น ในขณะที่กระบวนการ active transport สามารถจะเคลื่อนย้ายโมเลกุลได้โดยไม่ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของประกอบ

สารจะผ่านเข้าเซลล์เมมเบรนได้โดยกระบวนการใดกระบวนการหนึ่งในสี่นี้

(1) แพร่ผ่านรูพรุนเล็ก ๆ

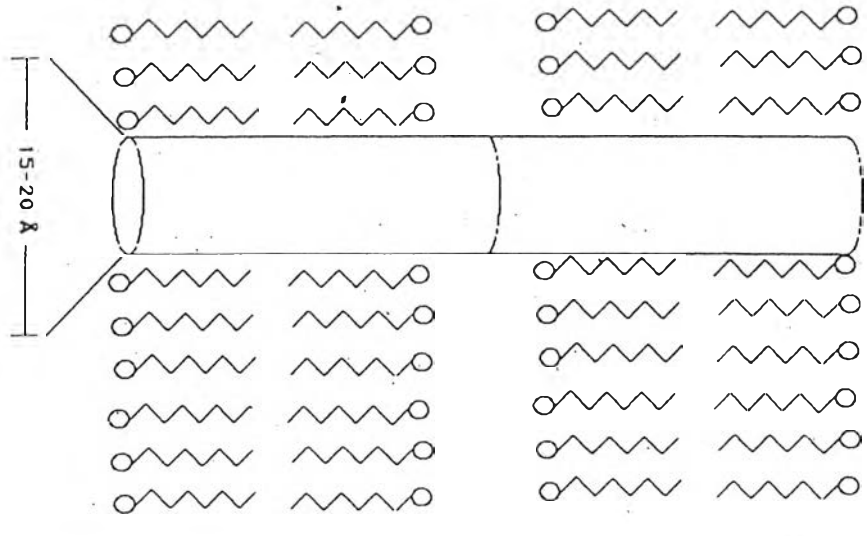
(2) passive diffusion ผ่านชั้นของไขมัน

(3) mediated transport โดย carrier proteins

(4) active transport ที่เกี่ยวข้องกับระบบของเอนไซม์

เนื่องจากสารประกอบเชิงซ้อนเทคนีเชียมมีเส้นผ่าศูนย์กลางมากกว่า 8 °A การขนส่งจึงเกิดขึ้นได้โดยกระบวนการใดกระบวนการหนึ่งในสามกระบวนการหลัง

เมื่อสารประกอบเชิงซ้อนเทคนีเชียมมาถึงช่องว่างระหว่างเซลล์ของเนื้อเยื่อเป้าหมายแล้วจะสะสมอยู่ใน organelle หรือ องค์ประกอบอื่น ๆ ภายในเซลล์ และเพราะว่าเนื้อเยื่อประกอบด้วยชั้นของเซลล์จึงอาจสงสัยว่า สารจะไปช่วยกำหนดและบ่งบอกตำแหน่งของเซลล์ที่อยู่ลึกในเนื้อเยื่อได้อย่างไร ทางหนึ่งก็โดยการแพร่ของสารเข้าไปในของไหลระหว่างเซลล์ หรืออีกทางหนึ่ง สำหรับสารที่ผ่านจากเซลล์หนึ่ง ไปยังอีกเซลล์หนึ่งโดย gap junction



รูปที่ 2.13 gap junction

gap junction เป็นรูซึ่งเปรียบเสมือนทางผ่านที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 15-20 $^{\circ}A$ เชื่อมต่อเซลล์ที่อยู่ติดกัน ช่องเหล่านี้จะยอมให้ไอออนของสารอนินทรีย์ เมตาบอไลต์ น้ำตาล และกรดอะมิโนผ่านจากภายในเซลล์หนึ่งเข้าไปอยู่ภายในเซลล์อีกเซลล์หนึ่งที่อยู่ติดกันโปรตีน โพลีซัคคาไรด์และนิวคลีอิกแอซิดมีขนาดใหญ่เกินกว่าที่จะผ่านช่องเหล่านี้ได้ gap junction มีความสำคัญในการจัดส่งสารอาหารไปยังเซลล์ที่อยู่ห่างจากเส้นเลือดฝอย เช่น เซลล์ในกระดูก ความสามารถในการแพร่ผ่านของ gap junction จะถูกควบคุมโดยความเข้มข้นของ Ca^{2+} ภายในเซลล์เมื่อระดับ Ca^{2+} ต่ำกว่า 10^{-7} โมลาร์ gap junction จะเปิดเต็มที่และเมื่อความเข้มข้นของ Ca^{2+} มีมากกว่า 5×10^{-5} โมลาร์ ช่องนี้ก็จะปิดลง

การกระจายและการสะสมของสารใด ๆในเนื้อเยื่อของร่างกายเป็นฟังก์ชันกับคุณสมบัติทางกายภาพของสารนั้น ในกรณีของสารประกอบเชิงซ้อนเทคนีเชียมก็เช่นเดียวกับสารประกอบขนาดเล็กชนิดอื่น ๆมากมาย การกระจายตัวจะพิจารณาจากชนิดของสารนั้น ๆ คือ

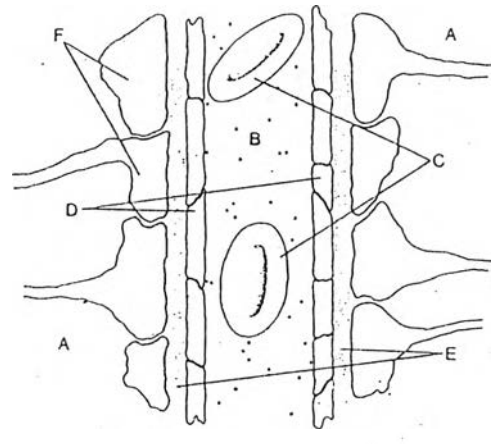
(1) lipid solubility
(2) hydrated volume
(3) ionic charge
(4) protein binding
และ (5) target site affinity

<u>การถ่ายภาพสมอง</u> (Brain imaging)

^{99m}Tc เปอร์เทคนีเตท ใช้เป็นสารในการถ่ายภาพสมอง ซึ่งมีข้อจำกัดในการตรวจหาการอักเสบ เนื้องอก และ รอยโรคของเส้นเลือด ที่ทำให้เกิดความเสียหายขึ้นกับการทำหน้าที่ของ BBB ซึ่งโดยปกติจะไม่ยอมให้ $^{99m}TcO_4^-$ ไอออนที่ละลายน้ำสูงมากผ่านเข้าไปได้

เส้นเลือดฝอยภายในสมองมีขนาดแตกต่างจากเส้นเลือดฝอยของอวัยวะอื่น ๆ ของร่างกาย ทำให้เกิดส่วนที่เรียกว่า blood-brain barrier

(A) brain tissue
(B) bloodstream
(C) blood cells
(D) capillary wall endothelial cells (tightly joined)
(E) basement membrane
(F) glial feet (fatty sheath) extending from astrocyte cells.



รูปที่ 2.14 blood brain barrier (BBB)

ในปี 1946 Krogh พบว่า BBB เป็นตัวแยกพลาสมาออกจาก fluid ภายในเซลล์สมอง (extracellular fluid,ECF) และมีลักษณะทางชีวภาพคล้ายกับเมมเบรนของเซลล์ (33) Oldendorf (34) และ Crone (35)ทำการตรวจสอบและสนับสนุนทฤษฎีนี้ ในปัจจุบันเป็นที่ยอมรับกันแล้วว่า BBB จะยอมให้สารผ่านเข้าออกได้อย่างเฉพาะเจาะจง คล้ายกับพลาสมาเมมเบรนของเซลล์เม็ดเลือดแดง โดยพื้นฐานทางสรีระวิทยา BBB เป็นข้อต่อที่เหนียวแน่นต่อเนื่องระหว่างเซลล์เยื่อบุภายในที่อยู่ติดกันในเส้นเลือดฝอยของสมองจนไม่มี "รูพรุน" ระหว่างเซลล์ หน่วยมูลฐานของเมมเบรนและไขมันจะถูกหุ้มห่อเป็นชั้นบาง ๆ (เรียกว่า glial foot) ด้วยเซลล์ประสาทที่อยู่ติดกัน ซึ่งจะทำหน้าที่เป็นตัวแยกสารใด ๆ ที่แพร่มาจาก fluid ภายในเซลล์สมองสารทั้งหมดจะไหลเวียนไปตามเซลล์เมมเบรนของเซลล์เส้นเลือดฝอยและเนื้อเยื่อไขมันที่เรียงตัวกันของ glial foot เพื่อผ่านเข้าไปใน BBB

สารที่จะช่วยบอก fluid ภายในเซลล์สมองจำเป็นจะต้องผ่านเข้า luminal เมมเบรนของเซลล์เยื่อบุภายใน(endothelial) ไซโตพลาสซึม (cytoplasm) และเซลล์เมมเบรนชั้นนอกได้(36)

2.2.4 การควบคุมคุณภาพสารเภสัชรังสี (Radiopharmaceutical quality control)

การควบคุมคุณภาพสารเภสัชรังสี เป็นระบบของการทดสอบ วิเคราะห์และสังเกต เพื่อให้ได้ผลที่จะยืนยันเกี่ยวกับรูปพรรณ คุณภาพ และความเป็นหนึ่งเดียวของผลิตภัณฑ์ ซึ่งจะแสดงให้เห็นถึงเทคโนโลยีที่นำมาใช้ในการกำหนดสูตร (formulation) เพื่อให้ได้รูปแบบของยาที่จะนำมาใช้ให้ปลอดภัยสะอาดและมีประสิทธิผลที่สุด การควบคุมคุณภาพของสารเภสัชรังสีจะทำการทดสอบในด้านความบริสุทธิ์ทางชีวภาพ และลักษณะของสารเภสัชรังสี

2.2.4.1 การทดสอบความบริสุทธิ์ทางชีวภาพของสารเภสัชรังสี (Biological purity)

สารเภสัชรังสีที่ใช้ฉีดเข้าทางเส้นเลือดเหมือนกับยาฉีดทั่ว ๆไป จะต้องทำการทดสอบเกี่ยวกับความปลอดเชื้อ (sterility) และความปราศจากสารที่ทำให้เกิดไข้ (apyrogenicity) ตามข้อกำหนดของคณะกรรมการอาหารและยา (Food and drug administration)(FDA) การทดสอบจะทำโดยผู้ผลิต บางครั้งเจ้าหน้าที่ทางเวชศาสตร์นิวเคลียร์จำเป็นต้องทำการทดสอบพารามิเตอร์ทั้งสองนี้ในผลิตภัณฑ์บางตัวที่เตรียมขึ้นใช้เป็นยาทางนิวเคลียร์

การปลอดเชื้อ (Sterility)

คำว่า "ปลอดเชื้อ" จะบ่งบอกถึงการปราศจากเชื้อโรคทุกชนิด

วิธีทำให้ปลอดเชื้อ

1. Autoclaving

กระบวนการนี้จะทำการอบไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 °C ความดัน 18 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15-20 นาที วัตถุเช่น เครื่องแก้ว เครื่องมือ และสารละลายบางอย่างที่ทนได้ในสภาวะนี้จะทำการปลอดเชื้อด้วยอบไอน้ำวัตถุที่จะเสียสภาพที่อุณหภูมิสูงต้องใช้วิธีอื่น

2. Filter membrane

สำหรับสารละลายที่ไว (labile) ต่อความร้อนจะทำปลอดเชื้อโดยการกรองผ่านตัวกรองเมมเบรน ซึ่งจะกรองสิ่งมีชีวิตเล็ก ๆ ที่มีขนาดใหญ่กว่าเส้นผ่าศูนย์กลางของช่องกรอง ตัวกรองเมมเบรนประกอบด้วยเซลลูโลสเอสเทอร์ ขนาดของช่องกรองมีหลายขนาดตามต้องการ ขนาดที่เหมาะสมในการทำปลอดเชื้อสารละลายคือ 0.22 ไมครอน วิธีนี้ทำได้ง่าย ราคาไม่แพง ใช้กับสารละลายและสารอื่น ๆได้อย่างมากมาย

3. การฉายรังสีแกมมาที่ความแรงรังสีสูง ๆ

4. การรับก๊าซเอทีลีนออกไซด์

ทั้งสองวิธีนี้สามารถนำไปใช้ได้ดีกับวัตถุที่ไม่ใช่ของเหลวที่ไวต่อความร้อน เช่น กระบอกฉีดยาพลาสติก และหลอดให้เลือดหรือน้ำเกลือ

การทดสอบความปลอดเชื้อ

1. การเพาะเชื้อ

ตามมาตรฐานยาของอเมริกา(USP XXI) การทดสอบความปลอดเชื้อทำได้โดยการเพาะเชื้อ โดยเก็บเชื้อไว้ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา แล้วตรวจสอบการเจริญเติบโตของเชื้อราในตัวกลางของ fluid thioglycolate media(FTM) ที่ระยะเวลาต่าง ๆ ใช้ตรวจหาแบคทีเรียได้ทั้งชนิดที่ใช้และไม่ใช้อากาศในการเจริญเติบโต ขึ้นอยู่กับกระบวนการหีบห่อครั้งสุดท้ายและวิธีการเตรียมว่าจะทำการสังเกตที่เวลาใดจึงจะเหมาะสม (3 ถึง 14 วัน) การมีเชื้อเกิดขึ้นจะแสดงผลเป็นบวก วิธีนี้ค่อนข้างช้า ต้องใช้เครื่องมือเฉพาะในการเพาะเชื้อ และเจ้าหน้าที่ที่มีความชำนาญ เพื่อทำการตรวจสอบได้อย่างถูกต้อง

2. Automated radiometric assay

โดยการเก็บตัวกลางเพาะเชื้อที่มี ^{14}C-glucose ซึ่งจะมีแบคทีเรียที่ใช้ในการหมักที่ได้จากการผลิตสารติดฉลาก $^{14}CO_2$ สามารถตรวจสอบได้โดยกระบวนการ automated radiometric assay system วิธีนี้สามารถตัดสินการปลอดเชื้อได้ภายใน 24 ชั่วโมง

การทดสอบการปลอดเชื้อโดยวิธี radiometric assay มีข้อเสียบางประการจึงยังไม่นำมาใช้อย่างเป็นทางการแทนเทคนิคการเพาะเชื้อ และมีความผิดพลาดให้ผลเป็นลบได้ เนื่องจากแบคทีเรียบางชนิดไม่ให้ CO_2

การปราศจากสารที่ทำให้เกิดไข้ (Pyrogenicity)

ไพโรเจนเป็นสารที่ทนต่อความร้อนกรองไม่ได้ละลายน้ำได้ ทำให้เป็นไข้หนาวสั่น ปวดตามข้อ ปวดศีรษะ และมีอาการอื่น ๆตามมาหลังจากฉีดเข้าทางเส้นเลือด ปฏิกิริยาจะเกิดขึ้นกับคนไข้ระหว่าง 30 นาที และ 2 ชั่วโมง หลังจากฉีดสารที่มีไพโรเจนเข้าไป ไม่มีอันตรายร้ายแรง โดยปกติจะหมดฤทธิ์ภายใน 1 วัน ไพโรเจนเป็นผลิตผลของผนังเซลล์แบคทีเรียชนิด gram-negative ที่เรียกว่า "เอ็นโดทอกซิน (endotoxin) "

การทำให้ปราศจากสารไพโรเจนอาจทำได้โดยการล้างอุปกรณ์ที่จะใช้ด้วยน้ำสะอาดหลาย ๆครั้ง แล้วนำมาทำแห้งที่ความร้อนสูงมาก ๆ (250 °F) ไม่ต่ำกว่า 30 นาที

การทดสอบการปราศจากสารไพโรเจน

1. การทดสอบโดยใช้กระต่าย

โดยฉีดสารที่ต้องการทดสอบเข้าไปในเส้นเลือดในใบหูของกระต่ายที่อยู่ในวัยเจริญพันธุ์ที่มีสุขภาพแข็งแรง 3 ตัว แล้วทำการวัดอุณหภูมิของกระต่ายที่เวลา 1,2 และ 3 ชั่วโมง หลังการฉีด ถ้าไม่ปรากฏว่ามีกระต่ายตัวใดที่อุณหภูมิเพิ่มขึ้นมากกว่าหรือเท่ากับ 0.6 °C และผลรวมของอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นของกระต่ายทั้งสามตัวไม่เกิน 1.4 °C แสดงว่าตัวอย่างที่ทดสอบไม่มีสารไพโรเจน ถ้าผลไม่เป็นไปดังกล่าว จะต้องทำการทดสอบซ้ำ โดยใช้กระต่ายอีก 5 ตัว แล้วรวมผลที่ได้จากกระต่ายทั้งแปดตัวนั้น ถ้ามีกระต่ายไม่เกิน 3 ใน 8 ที่อุณหภูมิเพิ่มขึ้นมากกว่าหรือเท่ากับ 0.6 °C และผลรวมของอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นของกระต่ายทั้งแปดตัวไม่เกิน 3.7 °C ก็ถือว่าสารนั้นผ่านการทดสอบตามมาตรฐาน USP ว่าเป็นสารที่ปราศจากไพโรเจน

2. การทดสอบโดยใช้ LAL

เมื่อเร็ว ๆนี้ USP XXI ได้กำหนดวิธีการทดสอบแบบใหม่โดยใช้ Limulus amebocyte lysate (LAL) มาใช้แทนวิธีเก่าเพื่อใช้ทดสอบการปราศจากสารไพโรเจน

LAL เป็นสารละลาย amebocyte จากเลือดของแมงดาทะเล (horseshoe crab) Limulus polyphemus จะเกิดเป็นวุ้นเมื่อมีสารไพโรเจนอยู่ ความไวของการทดสอบแบบ LAL กับสารไพโรเจนแสดงให้เห็นว่ามีความถึงสัมพันธ์กับสภาวะทางคลินิค

การทดสอบแบบ LAL สะดวกกว่าการทดสอบด้วยกระต่าย เนื่องจาก

1. สามารถทำได้ใน in-house โดยใช้เครื่องมือและเจ้าหน้าที่น้อยที่สุด

2. ปริมาตรที่ใช้ทดสอบ ทำได้น้อยที่สุดถึง 0.1 ml

3. การทดสอบแบบ LAL ทำได้ภายใน 1 ชั่วโมง

4. การควบคุมผลทั้งทางบวกและทางลบ สามารถทำได้ในการทดสอบแต่ละครั้ง

5. ราคาไม่แพง และสารที่จะทำการทดสอบอาจเก็บไว้ได้นานจนกว่าจะต้องการ

เนื่องจากความไวของการทดสอบแบบ LAL จึงสามารถเจือจางสารที่จะทดสอบได้ถึง 1:50 ส่วน

2.2.4.2 การทดสอบลักษณะของสารเภสัชรังสี

นอกจากควบคุมคุณภาพในเรื่องการปลอดเชื้อและปราศจากสารไพโรเจนแล้ว ยังต้องมีการควบคุมคุณภาพสารเภสัชรังสีในด้านอื่น ๆอีกด้วย คือ ความบริสุทธิ์ทางรังสี (radionuclidic purity),ความบริสุทธิ์ทางเคมีรังสี (radiochemical purity) และความบริสุทธิ์ทางเคมี (chemical purity)

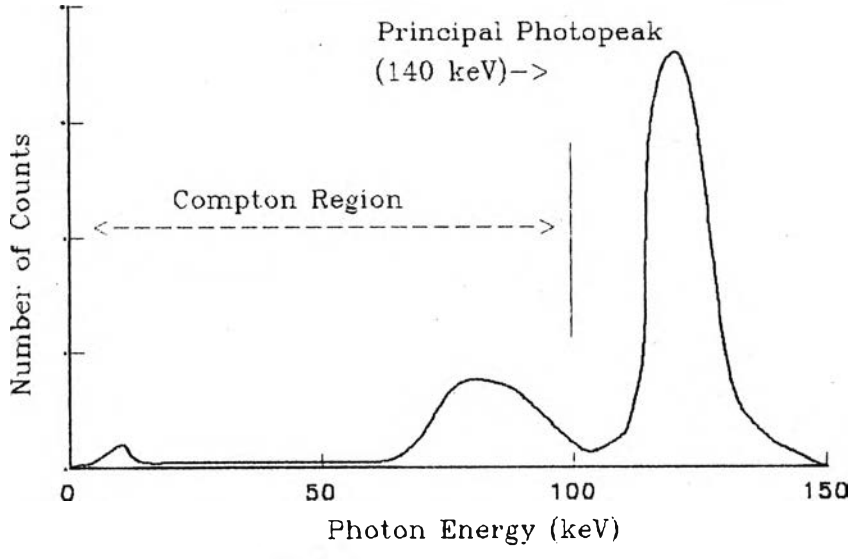
1. <u>ความบริสุทธิ์ทางรังสี</u>

ความบริสุทธิ์ทางรังสีคือ สัดส่วนของความแรงรังสีทั้งหมดที่มีอยู่ในรูปของสารไอโซโทปรังสีที่กล่าวถึง

สารมลทินทางรังสี เป็นสารรังสีอื่นที่ไม่ต้องการ อาจจะเป็นสารไอโซโทปอื่นของสารรังสีที่ต้องการ (จำนวนโปรตอนเท่ากัน,น้ำหนักอะตอมต่างกัน) หรือเป็นสารรังสีรูปอื่นของธาตุอื่น ๆ ตัวอย่างสารมลทินทางรังสี เช่น ไอโอไดด์อิสระ (เช่นI-131 และ I-124) ที่เกิดขึ้นในการผลิต I-123 และ Mo-99 ที่มีอยู่ในโซเดียมเปอร์เทคนีเตท Tc-99m

<u>การทดสอบความบริสุทธิ์ทางรังสี</u>

สารรังสีส่วนใหญ่จะตัดสินความบริสุทธิ์ทางรังสีได้ โดยการวัดค่าครึ่งชีวิตทางกายภาพ หรือลักษณะเฉพาะของสเปคตรัมของรังสีแกมมาที่ปลดปล่อยออกมา



รูปที่ 2.15 แกมมาสเปคตรัมจาก Tc-99m

โดยปกติผลิตภัณฑ์ทางเภสัชรังสี จะต้องทำการยืนยันความบริสุทธิ์ทางรังสี แหล่งของมลทินทางรังสีอาจรวมถึงเทคนิคการแยกที่ไม่ดีพอ อาจเกิดจากการปนเปื้อนในสารเป้าหมาย (target) ที่นำไปอาบรังสีในระหว่างการอาบรังสี

ในการผลิตสารรังสีบางตัวมลทินทางรังสีอาจเกิดขึ้นจากปฏิกิริยาการผลิต โดยปกติมลทินทางรังสีเหล่านี้จะไม่ค่อยมีผลมากนัก เพราะมีค่าครึ่งชีวิตทางกายภาพสั้น (เมื่อเปรียบเทียบกับค่าครึ่งชีวิตของสารรังสีที่ต้องการ) กระบวนการผลิตสารรังสีบางตัวจะมีมลทินทางรังสี

(ที่มีค่าครึ่งชีวิตยาวกว่าสารรังสีหลัก) เกิดขึ้นเสมอ ในกรณีนี้อัตราส่วนความสัมพันธ์ของความแรงรังสี จะแสดงโดยการเพิ่มขึ้นของสารมลทินที่มีครึ่งชีวิตยาวกว่าตามเวลาที่ผ่านไป สารรังสีหลักที่มีครึ่งชีวิตสั้นกว่าจะสลายตัวได้เร็วกว่า เช่น I-123 ปนเปื้อนด้วยไอโซโทปอื่นของไอโอดีน ที่มีค่าครึ่งชีวิตยาวกว่า

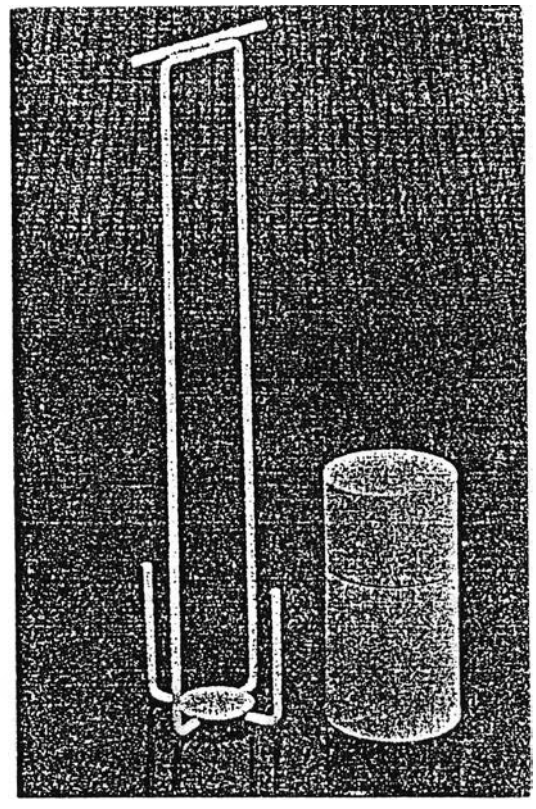
การหาปริมาณ Mo-99 ในสารละลายจาก ^{99}Mo - ^{99m}Tc generator

เพื่อที่จะยืนยันว่ามีปริมาณของ Mo-99 ในสารละลายจาก generator มีไม่มากกว่าระดับสูงสุดที่อนุญาตให้มีได้คือ ไม่เกิน 0.15 uCi ขณะที่ใช้ การชะ ^{99}Mo-^{99m}Tc generator ทุกครั้งจะต้องหาปริมาณ Mo-99

การหาปริมาณ Mo-99 อาจทำได้โดยวิธีการใดวิธีการหนึ่งต่อไปนี้

1. the lead shield method

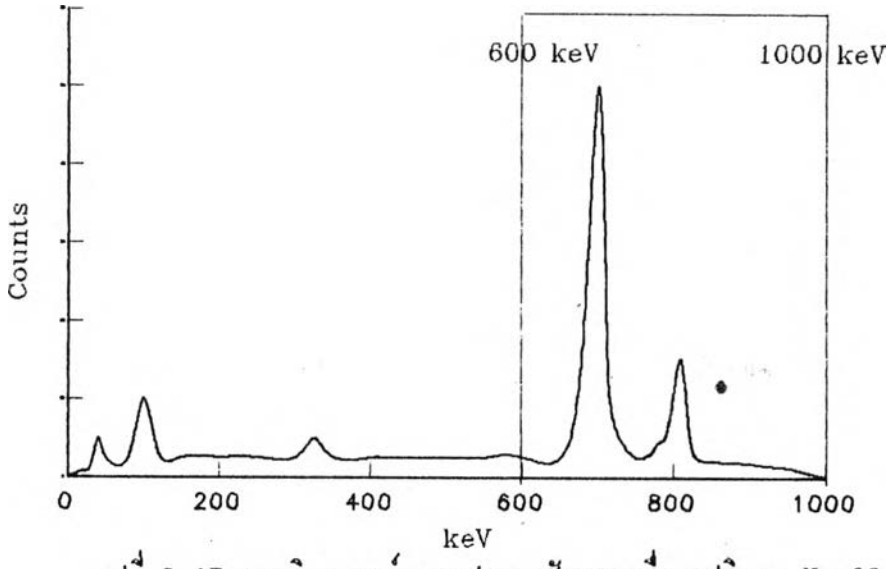
เป็นวิธีที่ใช้มากที่สุดทำได้โดยวางสารละลายไว้ภายในกระปุกตะกั่วที่สร้างขึ้นพิเศษ (รูปที่ 2.16) เพื่อหา Mo-99 กระปุกเหล่านี้จะมีผนังตะกั่วหนาประมาณ 1/4 นิ้วซึ่งจะดูดกลืนพลังงานที่ต่ำกว่าจากการปลดปล่อยของ Tc-99m (140 keV) แต่ยอมให้ประมาณ 1/2 ของโฟตอนจาก Mo-99 ที่มีพลังงานสูงกว่า (740 และ 780 keV) ผ่านออกมา นำไปวัดหาปริมาณ Mo-99 ได้โดยตรงด้วย dose calibrator สำหรับ dose calibrator แบบเก่าจะต้องคูณปริมาณ Mo-99 ที่หาได้ด้วย conversion factor (ปกติจะเท่ากับ 2) เพราะว่าจะวัดความแรงรังสีของ Mo-99 ได้เพียงครึ่งหนึ่งเท่านั้นแต่ dose calibrator รุ่นใหม่ที่วัดแบบอัตโนมัติจะทำการแก้ไขค่านี้ไว้ให้แล้ว



รูปที่ 2.16 การหาปริมาณ Mo-99 โดย lead shield method

2. the alternative Mo-99 assay method

โดยเปรียบเทียบความแรงรังสีของMo-99ที่ไม่ทราบค่ากับสารอ้างอิงมาตรฐาน (ปกติใช้ Cs-137) เครื่องมือที่ใช้วัดรังสีเป็นแบบ well type ที่ต่อกับ gamma ray spectrometer และเครื่องวิเคราะห์ความสูงของสัญญาณที่ตั้งไว้ให้นับสัญญาณในช่วงพลังงาน 600-900 keV (รูปที่ 2.17) จำนวนโฟตอนที่เกิดในช่วงนี้จะถูกพิจารณาว่าเกิดจากสารละลายที่ได้จาก generator ย้าย generator vial ออกจากกำบังตะกั่ว แล้วนำแหล่งกำเนิดรังสีมาตรฐาน Cs-137 (ให้โฟตอนพลังงาน 662 keV) มานับในช่วงเดียวกันนี้ภายใต้สภาวะเดียวกัน ในช่วงพลังงานนี้จำนวนโฟตอนจะถูกปล่อยออกมาเท่ากับความแรงรังสีของ Cs-137 และ Mo-99 โดยมีแฟกเตอร์แตกต่างกันประมาณ 4.25 หาอัตราส่วนของการนับต่อนาทีต่อไมโครคูรี จะคำนวณหาความแรงรังสีของ Mo-99 ได้



รูปที่ 2.17 การวิเคราะห์ความสูงของสัญญาณเพื่อหาปริมาณ Mo-99

การปนเปื้อนสารรังสีอื่น ๆ

บางครั้ง generator ที่เตรียมจาก fission-production Mo-99 จะมี fission-by-product ตัวอื่นปนมาบ้างเล็กน้อย ซึ่งอาจจะ elute ได้จากคอลัมน์ของ generator สารมลทินทางรังสีเหล่านี้ได้แก่ I-131,Zr-99,Te-132,Ru-103,Sb-124, Cs-134 และ Rb-86

ข้อกำหนดสำหรับสารปนเปื้อนเหล่านี้ (USP XXI) มีได้ไม่เกิน 0.5 ไมโครคูรี ในแต่ละมิลลิคูรีของ Tc-99m และไม่เกิน 2.5 ไมโครคูรีต่อสารที่จะฉีด

2. ความบริสุทธิ์ทางเคมีรังสี (Radiochemical purity)

ความบริสุทธิ์ทางเคมีรังสีคือ สัดส่วนของความแรงรังสีทั้งหมดที่อยู่ในรูปเคมีที่ต้องการ เช่นในสารเภสัชรังสีเทคนีเชียม-99เอ็ม Tc-99mในรูปเคมีอื่น ๆจะเป็นสารมลทินทางเคมีรังสี

สารเภสัชรังสี Tc-99m ส่วนใหญ่ จะมีมลทินทางเคมีรังสีหลักอยู่ 2 ชนิด คือ เปอร์เทคนีเดทอิสระ (free $^{99m}TcO_4^-$) และไฮโดรไลซ์รีดิวซ์เทคนีเชียม-99m (Hydro lyzed,Reduced Tc-99m)

มลทินทางเคมีรังสีไม่ได้จำกัดเฉพาะสารเภสัชรังสีของ Tc-99m เท่านั้น I-131 อิสระที่เกิดขึ้นในการติดฉลาก I-131 ก็เป็นมลทินทางเคมีรังสีเช่นเดียวกัน

สารมลทินทางเคมีรังสีไม่เป็นที่ต้องการด้วยเหตุผล 2 ประการคือ

1. การถ่ายภาพโดยมีสารมลทินทางเคมีรังสีอยู่ในเลือดและในอวัยวะที่ไม่ใช่เป้าหมายจะมีผลต่อคุณภาพของภาพถ่ายคือ จะไปลดอัตราส่วนระหว่างอวัยวะเป้าหมาย/อวัยวะนอกเป้าหมายให้มีค่าต่ำลง

2. มลทินทางเคมีรังสีจะไปเพิ่มปริมาณรังสีที่คนไข้จะได้รับ โดยจะไปสะสมอยู่ในอวัยวะหรือเนื้อเยื่อที่แน่นอน

<u>การวิเคราะห์ทางเรดิโอโครมาโตกราฟฟีเพื่อหาความบริสุทธิ์ทางเคมีรังสี</u>

การหาความบริสุทธิ์ทางเคมีรังสีที่ดีที่สุดทำได้โดยเทคนิคการวิเคราะห์ทาง radio chromatography หรือ TLC โดยใช้เทคนิคการแยกด้วยตัวทำละลาย

โดยหยดสารเภสัชรังสีขนาดเล็ก ๆ ลงบน support medium ที่ประมาณ 2 cm. ห่างจากปลายข้างหนึ่ง แล้วนำไปจุ่มลงในภาชนะที่มีตัวทำละลายที่ต้องการอยู่ในปริมาณที่ไม่มากนัก (สูงประมาณ 1 cm.) ขณะที่ตัวทำละลายเคลื่อนที่ไปโดย capillary force ตามแผ่นตัวกลาง องค์ประกอบที่ละลายได้ก็จะเคลื่อนที่ไปกับตัวทำละลาย ขณะที่องค์ประกอบที่ไม่ละลายจะยังคงอยู่ที่จุดที่หยดไว้ โดยปกติจะใช้เวลา 3-5 นาที ตัวทำละลายก็จะขึ้นไปถึงจุดปลายสุดของแผ่นตัวกลาง "solvent front"ขึ้นกับความยาวของแผ่นตัวกลาง และชนิดของตัวทำละลายที่ใช้

เมื่อตัวทำละลายขึ้นไปถึง solvent front นำเอาแผ่นตัวกลางขึ้นจากตัวทำละลายตากให้แห้ง แล้วนำไปตรวจหาและวัดการกระจายของความแรงรังสีที่ติดอยู่ตามแผ่นเรดิโอโครมาโตกราฟฟีด้วยเครื่องมือที่เหมาะสมเช่น radiochromatogram scanner หรือตัดเป็นแผ่นสั้น ๆ แล้ววัดการกระจายของความแรงรังสีโดย GM counter หรือแกมมาสเปคโตรมิเตอร์ที่ใช้หัววัด NaI(Tl) (MCA)

การเลือกชนิดของตัวทำละลายและแผ่นตัวกลางที่ใช้ในการแยกองค์ประกอบต่าง ๆขึ้นกับชนิดของสารเภสัชรังสีที่จะทดสอบ และสารมลทินที่มีอยู่

เทคนิคการวิเคราะห์แบบ radiochromatography จะทำการวัดปริมาณสารมลทินที่มีอยู่ได้โดยตรง

ประสิทธิภาพในการ "ติดฉลาก (labelling)"คำนวณได้ดังนี้

ประสิทธิภาพการติดฉลาก = 100% - (% สารมลทินทางเคมีรังสี)

ในกรณีสารเภสัชรังสีเฉพาะอย่าง ประสิทธิภาพในการติดฉลากคิดโดยทางอ้อมได้ดังนี้

ประสิทธิภาพการติดฉลาก = 100 % - (% free $^{99m}TcO^{-}_{4}$+% HR-^{99m}Tc)

ปัจจัยที่มีผลต่อความบริสุทธิ์ทางเคมีรังสี

ความบริสุทธิ์ทางเคมีรังสีขึ้นอยู่กับ ความสามารถในการทนต่อการสลายตัวของสารประกอบเชิงซ้อนติดฉลากกับสารรังสี ปัจจัยที่รับผิดชอบต่อการเสียสภาพของสารได้แก่ การเปลี่ยน pH สภาพการเก็บที่ไม่ถูกต้อง (โดนแสงสว่างหรือเก็บไว้ที่อุณหภูมิสูง) เทคนิคการเตรียมไม่ดี เวลาที่ผ่านไปและการมีตัวออกซิไดซ์หรือรีดิวซ์อยู่ในระบบ

3. ความบริสุทธิ์ทางเคมี (Chemical purity)

สารมลทินทางเคมีไม่ใช่สารรังสีมีผลต่อการกระจายตัวของสารเภสัชรังสีหรือความเป็นหนึ่งเดียว (uniform) ของผลิตภัณฑ์เช่น อะลูมินัมไอออนจากคอลัมน์ของ generator ที่บางครั้งอาจพบในปริมาณที่มีนัยสำคัญจากสารละลายของเทคนีเชียม-99เอ็ม (alumina breakthrough) ซึ่งมีรายงานว่าทำให้เกิดอนุภาคขนาดใหญ่ของคอลลอยด์ที่ไม่ต้องการของ ^{99m}Tc-sulfur colloid ทำให้เกิดการสะสมที่ปอดแทนที่จะสะสมอยู่ในระบบ RE

การหลุดรั่วของอะลูมินายังแสดงให้เห็นว่ามีผลที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงการกระจายตัวของสารเภสัชรังสีอื่น ๆอีกด้วย การวิเคราะห์อะลูมินัมไอออนในสารละลายจาก generator ทำได้โดยวิธี colorimetric assay วิธีนี้สามารถตรวจหาปริมาณอะลูมินาไอออนที่มากกว่า 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตรได้ (ปริมาณที่กำหนดให้มี Al^{3+} ไอออนได้ในสารละลายจาก generator) ด้วยเทคโนโลยีการเตรียม generator ในปัจจุบันไม่ค่อยพบการหลุดรั่วของอะลูมินามากนัก

2.3 วิธีติดฉลากสารรังสีและเตรียมสารเภสัชรังสี Tc-99m

สารละลาย Tc-99m ที่ได้จาก generator ในรูปของโซเดียมเปอร์เทคนีเตท ($Na^{99m}TcO_4$) นำมาใช้ในปฏิบัติการทางเวชศาสตร์นิวเคลียร์มากมายทั้งการถ่ายภาพสมองไทรอยด์ การถ่ายภาพการไหลเวียนของเลือดในอวัยวะและการติดฉลากเซลล์เม็ดเลือดแดง เป็นต้น $^{99m}TcO_4^-$ นำมาใช้ประโยชน์ในทางคลินิค โดยทำเป็นสารประกอบเชิงซ้อน (หรือการติดฉลากกับสารรังสี) สารประกอบของสารรังสี Tc-99m มีความเฉพาะเจาะจงต่อเนื้อเยื่อต่างกันจึงเกิดเป็นสารเภสัชรังสีที่มีประโยชน์ได้อย่างมากมาย

2.3.1 สารเภสัชรังสีเทคนีเชียม-99เอ็มในรีดิวซ์สเตท

สารเภสัชรังสีเทคนีเชียม-99เอ็ม เป็นการใช้ประโยชน์จากรีดิวซ์เสตท ของ Tc-99m เพื่อติดฉลากโดยเตรียมในรูปของ "สารประกอบสำเร็จรูป (kits)" สามารถหาซื้อได้ในขวดที่ปลอดเชื้อไม่มีสารไพโรเจนที่มีตัวรีดิวซ์,สารประกอบที่จะติดฉลาก และสารที่เติมลงไปเพื่อให้เกิดปฏิกิริยาในการติดฉลากง่ายขึ้น หรือเพื่อเพิ่มเสถียรภาพของสารประกอบเชิงซ้อน Tc-99m ที่เกิดขึ้น

การรีดิวซ์เทคนีเชียมสามารถทำได้หลายกระบวนการดังนี้

1. Sodium borohydride (โซเดียมโบโรไฮไดร์ด)
2. Stannous ions in acidic media (ไอออนของดีบุกในตัวกลางที่เป็นกรด)
3. Electrolysis (การแยกด้วยกระแสไฟฟ้า)
4. Ferrous(II) ไอออนกับ ascorbic acid

ในทางปฏิบัติ การรีดิวซ์โดยใช้ Sn^{2+} ไอออนเป็นวิธีที่ง่าย และให้ผลดี จึงนำมาใช้ในสารประกอบสำเร็จรูป (kit) ของสารติดฉลากเภสัชรังสี Tc-99m มากที่สุด

เนื่องจากเทคนีเชียมไม่มีไอโซโทปที่เสถียรจึงเป็นการยากที่จะตัดสินพฤติกรรมของรีดิวซ์เทคนีเชียมที่เกิดขึ้นในปฏิกิริยาการยึดจับได้อย่างถูกต้อง(ในปริมาณนาโนโมลาร์) ข้อมูลทางเคมีของเทคนีเชียมที่ได้ ได้มาจากธาตุอื่นที่อยู่ในหมู่ธาตุเดียวกัน (Rh,Mn) ซึ่งเป็นที่ยอมรับโดยทั่วไป การรีดิวซ์เทคนีเชียมด้วยสแตนนัสเกิดได้ดังนี้

$$\underset{\text{stannous ion}}{Sn^{2+}} \text{ ----------> } \underset{\text{Stannic ion}}{Sn^{4+}} + 2e^-$$

$$^{99m}TcO_4^- + 8H^+ + 3e^- \text{ <========> } ^{99m}Tc(IV) + 4H_2O$$

เมื่อดุลสองสมการนี้เข้าด้วยกันจะได้สมการของปฏิกิริยาดังนี้

$$2\,^{99m}TcO_4^- + 16H^+ + 3Sn^{2+} \text{ ========> } 2\,^{99m}Tc(IV) + 3Sn^{4+} + 8H_2O$$

สารประกอบที่มีอยู่โดยปกติคือ คีเลท(chelate)และอนุภาคของอัลบูมินบางชนิดจะจับกับเทคนีเชียมในรีดิวซ์สเตทแล้วเกิดเป็นสารประกอบติดฉลากรังสีเชิงซ้อนดังนี้

Reduced Tc-99m	+	Chelating Substance	========> Tc-99m (IV) Radiopharmaceutical

สารเภสัชรังสี Tc-99m บางตัวอาจต้องการช่วงเวลาในการฟักตัวช่วงสั้น ๆ หรือปฏิบัติการที่พิเศษ [เช่น การเขย่า (ultrasonification)หรือการให้ความร้อนในช่วงสั้น ๆ] เพื่อให้แน่ใจว่าการติดฉลากเกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์ สารเภสัชรังสีสำเร็จรูปส่วนใหญ่อาจเตรียมขึ้นที่อุณหภูมิห้องและพร้อมที่จะใช้ได้ภายใน 2-3 นาทีหลังจากเติม $Na^{99m}TcO_4$ ลงไป

เนื่องจากในสารละลายของเทคนีเชียมจาก generator มีอะตอมของ Tc-99m น้อยมาก ($<10^{-9}$ M) ปริมาณ Sn^{2+} ที่ใช้เพื่อให้แน่ใจว่าเกิดการรีดิวซ์ได้สมบูรณ์จึงมีเพียงเล็กน้อย โดยทั่วไปปริมาณของ Sn^{2+} ที่มีอยู่ใน kit ส่วนมากจะมีอัตราส่วนของ Sn^{2+}/Tc-99m มากถึง 10^6 เท่า แต่ปริมาณดีบุกเหล่านี้ก็ยังคงต่ำกว่าระดับที่เป็นพิษอย่างมาก

การรีดิวซ์ Tc-99m เป็นปฏิกิริยาที่ย้อนกลับได้อาจเกิด reoxidation ของรีดิวซ์เทคนีเชียมกลับไปเป็นเปอร์เทคนีเตทขึ้นได้ kit ที่เตรียมขึ้นจึงต้องมีสารคีเลทมากเกินพอเพื่อให้แน่ใจว่าจับกับ Tc(IV)ได้อย่างสมบูรณ์ การเกิดสารประกอบเชิงซ้อนของเทคนีเชียมออกซิเดชันสเตทอื่น ๆก็เกิดขึ้นในทำนองเดียวกัน

2.3.2 <u>การเกิดสารประกอบเชิงซ้อนเทคนีเชียม-99mที่ไม่ต้องการระหว่างการติดฉลากรังสี</u>

การรีดิวซ์และกระบวนการติดฉลาก Tc-99m ดูเหมือนง่าย แต่จริง ๆแล้วไม่เป็นเช่นนั้น มีปัจจัยมากมายที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการติดฉลาก Tc-99m ทำให้เกิดสารประกอบเชิงซ้อนเทคนีเชียม-99เอ็มที่ไม่ต้องการ มลทินปฐมภูมิของ Tc-99m ที่เกิดขึ้นและมีนัยสำคัญมี 2 ชนิด คือเปอร์เทคนีเตทอิสระ และ ไฮโดรไลซ์รีดิวซ์ เทคนีเชียม

<u>เปอร์เทคนีเตทอิสระ</u> (Free Pertechnetate)

ออกซิเจนหรือตัวออกซิไดซ์ จะทำให้เกิด reoxidation ของ Tc-99m ในรีดิวซ์สเตท กลับไปเป็นเปอร์เทคนีเตทอีกครั้ง ด้วยเหตุนี้ น้ำเกลือที่ใช้เป็นตัวชะหรือที่ใช้ในการเตรียมkit จึงควรจะปราศจากตัวออกซิไดซ์ เพื่อป้องกันผลจากการออกซิไดซ์ kit ส่วนใหญ่จึงผลิตในรูปของผลิตภัณฑ์ชนิดผง ช่องว่างของอากาศภายในขวดจะเติมด้วยก๊าซเฉื่อย เช่น ไนโตรเจน แต่บางครั้งอาจมีการผิดพลาดอันเนื่องมาจากการปนเปื้อนของขวดด้วยอากาศภายในในห้อง(และออกซิเจน)ระหว่างการตวงแบ่งจำนวนมาก ทำให้

เกิดการเสียสภาพของสารประกอบติดฉลากรังสีเชิงซ้อนนั้นได้ เพื่อที่จะป้องกันการเสียสภาพของสารเภสัชรังสีจากการถูกออกซิไดซ์บางบริษัท จึงเติม antioxidants เช่น โซเดียมแอสคอร์เบท(Sodium ascorbate) หรือเจนติซิคแอซิค (gentisic acid) ลงไปด้วย

ไฮโดรไลซ์รีดิวซ์ เทคนีเชียม-99เอ็ม (HR-^{99m}Tc)

Tc-99m ในรีดิวซ์สเตท อาจถูกไฮโดรไลซิสในสารละลายน้ำต่อ แล้วเกิดเป็นผลิตภัณฑ์จากการไฮโดรไลซิสที่ไม่ละลายน้ำต่าง ๆขึ้น ทำให้เกิดการปนเปื้อนทางรังสีที่เรียกว่า "Hydrolyzed,reducedTc-99m" (HR-^{99m}Tc)เกิดได้จากหลายสาเหตุ เช่น รีดิวซ์เทคนีเชียม-99เอ็ม จับกับสารคีเลทได้ไม่แน่นพอ ภายใต้สภาวะนี้จะเกิดเป็น TcO_2 ที่ไม่ละลายน้ำเช่นเดียวกับ Sn^{2+} ไอออนซึ่งปกติจะใช้เป็นตัวรีดิวซ์ใน Tc-99m kit จะเกิดไฮโดรไลซิสเป็นคอลลอยด์ของสแตนนัสไฮดรอกไซด์ที่ไม่ละลายน้ำ แย่งจับกับรีดิวซ์เทคนีเชียม-99เอ็มได้

HR-^{99m}Tc ที่เกิดขึ้นไม่เป็นที่ต้องการเนื่องจาก :

1. ผลิตผลของ ^{99m}Tc คีเลทที่ต้องการจะลดลงโดย HR-^{99m}Tc จะแข่งขันกับคีเลทที่มีอยู่แย่งจับกับรีดิวซ์เทคนีเชียม-99เอ็ม

2. คุณภาพของภาพถ่ายจะลดลงอย่างมากเมื่อมีการสะสมของคอลลอยด์มลทินเหล่านี้ในอวัยวะที่อยู่ในระบบ RE [ตับ (liver) ม้าม (spleen) และไขกระดูก (Bone marrow)]

โดยทั่วไปในสารรีดิวซ์เทคนีเชียม-99เอ็ม เราจะพบ Tc-99m อยู่ในรูปเคมีส่วนใหญ่ 3 รูปคือ

1. "Free" ^{99m}Tc-pertechnetate

2. "Hydrolyzed" Tc-99m (รวมทั้ง reduced Tc-99m ผลิตภัณฑ์จากไฮโดรไลซิสและรีดิวซ์เทคนีเชียม-99เอ็มที่จับกับไฮโดรไลซ์ Sn^{2+})

3. Bound Tc-99m chelate

เปอร์เทคนีเตทอิสระและรูปไฮโดรไลซ์ของเทคนีเชียม-99เอ็มในสารเภสัชรังสีที่มีรีดิวซ์เทคนีเชียม-99เอ็ม รวมกันเรียกว่า มลทินทางเคมีรังสี ซึ่งในสภาวะเหมาะสมควรจะจำกัดปริมาณเหล่านี้ให้น้อยที่สุดเท่าที่จะทำได้

ในทางปฏิบัติ การเตรียมสารรังสีเทคนีเชียม-99เอ็ม ที่อยู่ในรูปที่ต้องการ (bound form) จะต้องหาปริมาณมลทินทางเคมีรังสีให้ถูกต้อง ในการควบคุมคุณภาพจึงจำเป็นต้องทำการวิเคราะห์หาความบริสุทธิ์ทางเคมีรังสีโดยวิธีเรดิโอโครมาโตกราฟฟีด้วย