

Curva de calibración para estándares utilizados en tratamientos de cáncer de tiroides

Erick Mora Ramírez, Isaac Mora-Zeledon.

Resumen

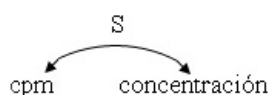
El cálculo de la dosis absorbida en médula para un tratamiento de ^{131}I por cáncer de tiroides, requiere averiguar el tiempo de residencia efectivo (τ_{ef}) de yodo en sangre por medio de la toma de muestras de sangre a los pacientes post administración de una dosis trazadora. La sensibilidad de un contador se obtiene mediante la relación entre una actividad conocida y sus correspondientes cuentas por minuto (cpm). Un límite máximo del 10% en el tiempo muerto del contador de pozo restringe la actividad máxima del estándar a 0,1 μCi , pero el activímetro utilizado detecta como mínimo 10 μCi . El objetivo de este trabajo es mostrar el proceso de obtención de una curva de calibración en cpm vs actividad y mostrar el análisis de las incertidumbres del proceso de medición y del proceso de obtención de la curva de calibración.

Introducción

El Servicio de Medicina Nuclear del Hospital San Juan de Dios (SMNHSJD) realiza estudios dosimétricos con el fin de obtener parámetros de seguridad radiológica en aquellos pacientes con diagnóstico de cáncer bien diferenciado de tiroides que, cumpliendo criterios previamente establecidos, son seleccionados para recibir ablación tiroidea post tratamiento quirúrgico o tratamiento con ^{131}I en casos de recidiva loco-regional o enfermedad metastásica.

El SMNHSJD ha clasificado los procedimientos de dosimetría interna bajo dos denominaciones, una llamada “dosimetría simplificada” en la cual se realiza una captación tiroidea a las 24 horas y un cálculo de retención corporal total a las 48 horas⁽¹⁾, en cuyo caso se administra una dosis trazadora de 1 mCi de ^{131}I . El otro procedimiento se ha denominado “*dosimetría formal*”, en la cual se realizan mediciones de retención corporal total a las 2, 24, 48, 72 y 96 horas luego de la administración de una actividad trazadora de ^{131}I de alrededor de 1 o 2 mCi; en los mismos tiempos se realizan mediciones de muestras de sangre de 1 ml en un contador de pozo.

El cálculo de *dosimetría formal* se puede considerar en dos partes: la toma de datos y muestras, y el análisis de datos y cálculo de dosis absorbida⁽²⁾. Con esta información se lleva a cabo el cálculo de los tiempos de residencia y con éstos la determinación de la dosis absorbida por órganos de riesgo, en nuestro caso la médula ósea, que tiene una limitación máxima de 2 Gy⁽²⁾. Las muestras de sangre obtenidas diariamente se miden en un contador de pozo, que proporciona las cuentas por minuto (cpm) de la muestra. En el posterior análisis de las muestras y cálculo de los tiempos de residencia del yodo en sangre se obtiene un factor (S) que nos permita pasar de cpm a concentración de actividad en sangre. Este factor es básicamente lo que se conoce como la *sensibilidad* o la *eficiencia* del detector.



Factor S

Actualmente, este factor se ha venido obteniendo mediante la preparación por volumen de una muestra de yodo estándar a partir una dilución de actividad inicial conocida. Es decir que, conociendo la actividad por volumen (mCi/mL) de la dilución inicial, se calcula el volumen que se debe extraer para obtener una actividad cercana a 0,1 μCi ; este volumen luego se mezcla con tiosulfato para obtener una muestra final de 1 mL, es decir, con una concentración final de 0,1 $\mu\text{Ci/mL}$. Todos los volúmenes se obtienen usualmente usando jeringas de 1 mL.

Dada la naturaleza del proceso de obtención del estándar (que se realiza en cada dosimetría formal), se considera que es en

este punto donde se introduce la mayor incertidumbre del proceso total en el cálculo de los tiempos de residencia. El objetivo de este trabajo es obtener una curva de calibración que nos permita obtener el factor S de manera constante y reproducible para todas las dosimetrías realizadas, además de mostrar el método a utilizar para el cálculo de las incertidumbres asociadas en todo el proceso, así como las ecuaciones generalizadas a un número arbitrario de medidas.

Materiales y método

Bases teóricas (sensibilidad)

La eficiencia o sensibilidad S de detección de un detector está, en general, dada por⁽³⁾:

$$S = R / \xi ; \text{ Donde } \left\{ \begin{array}{l} R : \text{Cuentas}_{\text{por segundo}} (\text{cps}) \\ \xi \left(\frac{\text{rayos}_{\gamma}}{s} \right) = A(\text{Bq}) \times 1 \left(\frac{\text{dps}}{\text{Bq}} \right) \times \eta \left(\frac{\text{rayos}_{\gamma}}{\text{des}} \right) \end{array} \right.$$

Ecuación 1

Aparte de esta relación, la eficiencia S depende a la vez de cuatro factores, a saber, la eficiencia geométrica (g), la intrínseca (E), un factor de absorción y de dispersión (F), y un factor que toma en cuenta la fracción de las señales que salen del detector y caen en la ventana del analizador de pulsos (f); matemáticamente esto se representa como:

$$S = g \times \varepsilon \times F \times f$$

Ecuación 2

A pesar de ello, se puede simplificar entendiendo la sensibilidad como las cuentas registradas por el detector dividida por los fotones emitidos por la fuente (ver ecuación 3). Esto puede llevarse a cabo manteniendo constantes los parámetros anteriormente especificados. La constancia en la eficiencia geométrica se logra utilizando siempre los mismos tubos para la obtención de las muestras de sangre, que siempre serán de 1 mL, igual al volumen y el tubo utilizado en el estándar. Los otros tres factores se consideran constantes en el tiempo, dado que el contador de pozo y las condiciones externas se mantienen constantes.

El factor ξ en la ecuación 1 que incluye a su vez el factor η (rayos gamma emitidos por cada desintegración) se cubre en su totalidad (todos los fotones) utilizando la actividad inicial de la muestra obtenida de un contador de pozo bien calibrado.

Por lo anterior, podemos dar una definición simplificada de la sensibilidad como:

$$S(\text{cpm} / \text{MBq}) = \text{cpm} / A(\text{MBq})$$

Ecuación 3

Como se muestra en la ecuación 4, tanto la sensibilidad para el estándar como para la muestra de sangre se relacionan con sus respectivas cuentas por minuto y sus actividades de la siguiente forma:

$$\left. \begin{array}{l} S_{\text{est}} = \frac{\text{cpm}_{\text{est}}}{A_{\text{est}}} \\ S_{\text{sangre}} = \frac{\text{cpm}_{\text{sangre}}}{A_{\text{sangre}}} \end{array} \right\}$$

Ecuación 4

Además, considerando una constancia en la sensibilidad geométrica y temporal del contador, es decir, $S_{\text{est}} = S_{\text{sangre}}$, podemos obtener la actividad en sangre como sigue:

$$A_{\text{sangre}} = \frac{\text{cpm}_{\text{sangre}}}{\text{cpm}_{\text{est}}} A_{\text{est}}$$

Ecuación 5

Medida de la actividad y diluciones

Para medir la actividad de la muestra inicial se ha utilizado un activímetro Capintec® modelo CRC-15C. Las sucesivas diluciones se realizaron con una micropipeta Accumax PRO de 100-1000 μCi (para cada medida se cambia el *tip*) y las mediciones de cps de todas las diluciones se han realizado con un contador de pozo Capintec® modelo Captus-3000. Se utilizaron para todas las diluciones tubos Plain Tube de Vacu Lab® modelo VP900013S de 9,0 mL.

Obtención de la curva de calibración

A partir de un estándar inicial de actividad conocida se obtuvieron sucesivas diluciones. Se mide la actividad de la primera muestra de forma que esta sea mucho mayor que la incertidumbre del contador. Las siguientes muestras se obtienen con la micropipeta extrayendo porcentajes del volumen anterior según se explica más adelante, de forma que la actividad de estas se reduce en proporción igual al volumen. Como se menciona al inicio, cada una de las muestras posee una fracción de la muestra inicial de actividad conocida; la primera dilución se obtiene extrayendo 1/10 de la muestra inicial. En consecuencia, se asume que la actividad de ésta será también 1/10 de la actividad de la muestra inicial. Dado que el volumen de la muestra inicial es de 1 mL, al extraer 1/10 de la misma se obtiene una primera dilución con un volumen de 0,1 mL, al que se le agrega 0,9 mL de tiosulfato para obtener un volumen final de 1 mL. La segunda dilución se obtiene extrayendo un décimo de la primera dilución recién preparada; de igual forma se completa con 9/10 de tiosulfato para completar 1 mL. Nótese que en este último caso, la dilución tiene 1/10 de la actividad de la dilución anterior, lo que equivale a 1/100 de la actividad de la muestra inicial. Este proceso se repite hasta completar 9 diluciones. No en todas las muestras se extrae una fracción de 1/10 del volumen anterior. Las fracciones de volumen extraídas así como los volúmenes de dilución que representan y los volúmenes de tiosulfato que completan un 1 mL de cada una se muestran en la tabla A1 del Apéndice; en la misma también se indica qué fracción de actividad de la muestra inicial posee cada dilución.

A partir de la cuarta dilución, cada una se mide cinco veces en un contador de pozo del que se obtiene las cuentas por minuto (cpm). La curva de calibración se construye entonces graficando para cada muestra de cierta actividad, las cuentas por minuto promedio correspondientes. Los puntos graficados cubren en su intervalo las cuentas que se espera obtener, por lo que una curva de mejor ajuste permite interpolar la actividad de cualquier muestra conociendo sólo la lectura de sus cuentas por minuto.

El siguiente apartado muestra el tratamiento formal que se hizo de la incertidumbre en el proceso completo de obtención de la curva de mejor ajuste y de la consecuente incertidumbre asociada a la actividad de una muestra -calculada a partir de su medida en cpm- con la curva de calibración.

Cálculo de incertidumbres

Ningún experimento en el que se mide cierta magnitud es absolutamente preciso, es decir, el resultado de la medida no coincide con el valor real de la magnitud⁽⁴⁾. La diferencia entre el valor real y el valor medido se denomina error de la medida. A pesar de que el error siempre será desconocido, puede estimarse una cota superior para su valor absoluto; esta cota se denomina *incertidumbre* de la medida. Siendo X_{med} el valor medido, X_{real} el valor real y ΔX la incertidumbre, matemáticamente lo anterior se resume como:

$$X_{real} \in [X_{med} - \Delta X, X_{med} + \Delta X]$$

Ecuación 6

Por lo tanto, una medida siempre se debe reportar como:

$$X = X_{med} \pm \Delta X$$

Ecuación 7

La incertidumbre se calcula de forma diferente dependiendo de si el valor de la magnitud se observa directamente en un instrumento de medida (medida directa) o si se obtiene manipulando matemáticamente una o varias medidas directas (medidas indirectas).

Medidas directas

La incertidumbre vinculada a medidas directas se compone de aquellas incertidumbres asociadas a la precisión finita del instrumento θ y a la incertidumbre asociada a factores ambientales y aleatorios Ψ como lo son vibraciones o pequeños cambios de temperatura. La incertidumbre total se obtiene en cuadratura como $\sqrt{\theta^2 + \Psi^2}$.

Las medidas directas realizadas fueron: actividad con un activímetro, volúmenes con una micropipeta y cuentas por minuto con la sonda de captación. Las incertidumbres asociadas al instrumento de medición se presentan en la tabla 1.

Medición de	Instrumento	Incertidumbre θ
Volumen	Micropipeta 100-1000 μL	2,5 μL
Actividad	Activímetro	10 μCi
Cuentas	Contador de pozo	$\sqrt{\text{cpm}}$

Tabla 1. Incertidumbres asociadas al instrumento de medición.

La incertidumbre aleatoria afecta a la medida de las cuentas en el contador de pozo, que en nuestro caso se realizó 5 veces para cada dilución. La incertidumbre aleatoria se obtiene como:

$$\Psi = t_{n-1} \frac{\sigma_{n-1}}{\sqrt{n}}$$

Ecuación 8

Donde t_{n-1} es la función t de student y σ_{n-1} la dispersión de las medidas, la que viene dada por:

$$\sigma_{n-1} = \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (\langle X \rangle - X_i)^2}$$

Ecuación 9

Para 5 medidas $n = 5$, además $t_{n-1} = t_4 = 4,60$. Así, aplicando las ecuaciones 8 y 9 a los datos mostrados en la tabla A2 del Apéndice, se obtienen las incertidumbres que allí se muestran. En la penúltima columna de dicha tabla aparece la incertidumbre absoluta, que es la incertidumbre del promedio, la cual se calcula utilizando la ecuación 14 que aparece en el siguiente apartado.

Medidas indirectas

El valor final a obtener es la actividad A_i que hay en un cierto volumen V_i , es decir, la concentración C_i y viene dada por:

$$C_i = A_i / V_i$$

Ecuación 10

La medida de actividad sólo se realiza para la muestra inicial y es $A_1 = (2450 \pm 10) \mu\text{Ci}$ en un volumen $V_1 = (1,0000 \pm 0,0025) \text{mL}$; las diluciones siguientes se obtienen como una fracción K_i de este volumen, de la siguiente forma:

$$K_i = V_{ex} / V_i$$

Ecuación 11

Donde V_{ex} es el volumen extraído del volumen actual, es decir V_i . Como anteriormente se dijo, todo volumen medido es de 1 mL, que es el total del volumen extraído más el volumen de tiosulfato con el que se completa cumpliendo: $V_i = V_{i-1}$. Los volúmenes anteriores se definen respectivamente como:

$$V_i = V_{ia} + V_{ib}$$

Ecuación 12

La actividad de la dilución subsiguiente es una fracción de la anterior y vendrá dada por la fracción de volúmenes extraídos (como se aprecia en la ecuación 11), es decir:

$$A_i = K_{i-1} A_{i-1}$$

Ecuación 13

Donde K_i se puede obtener de forma recursiva de la dilución extraída anteriormente de la misma forma que se utiliza A_{i-1} .

La incertidumbre de una medida indirecta se obtiene de la siguiente forma:

Si tenemos que $Y = f(X_1, X_2, \dots, X_N)$, entonces su incertidumbre es:

$$\Delta Y = \sqrt{\sum_{i=1}^N \left(\frac{\partial f}{\partial X_i} \Delta X_i \right)^2}$$

Ecuación 14

En nuestro caso, se quiere hallar la incertidumbre de la concentración C_i ; utilizando las ecuaciones 10 y 14 obtenemos que:

$$\Delta C_i = \sqrt{\left(\frac{\partial C_i}{\partial A_i} \Delta A_i \right)^2 + \left(\frac{\partial C_i}{\partial V_i} \Delta V_i \right)^2} = \sqrt{(a_i \Delta A_i)^2 + (b_i \Delta V_i)^2}$$

Ecuación 15

$$\text{Donde } \begin{cases} a_i = 1/V_i \\ b_i = -A_i/V_i^2 \end{cases}$$

Ecuación 16

Nótese que en la ecuación 15 aparecen las incertidumbres asociadas a la actividad A_i y al volumen V_i ; estas se obtienen a su vez aplicando la ecuación 14 a las ecuaciones 12 y 13, y posteriormente a la ecuación 11; haciendo esto, se obtiene entonces que:

$$\Delta V_i = \sqrt{(\Delta V_{ia})^2 + (\Delta V_{ib})^2}$$

Ecuación 17

$$\Delta A_i = \sqrt{(A_{i-1} \Delta K_{i-1})^2 + (K_{i-1} \Delta A_{i-1})^2}$$

Ecuación 18

$$\Delta K_{i-1} = \sqrt{\left(\frac{\Delta V_{i-1}}{V_{i-1}} \right)^2 + \left(\frac{-V_{i-1}}{V_{i-1}^2} \Delta V_{i-1} \right)^2}$$

Ecuación 19

Las incertidumbres asociadas a las medidas indirectas se resumen en la Tabla 2.

Dilución	Concentración			
	Valor ($\mu\text{Ci} / \text{mL}$)	\pm	Incertidumbres	
			Absoluta ($\mu\text{Ci} / \text{mL}$)	Relativa %
4	0,28	\pm	0,016	5,7
5	0,070	\pm	0,0041	5,8
6	0,014	\pm	0,00084	6,0
7	0,0028	\pm	0,00017	6,0
8	0,00056	\pm	0,000038	6,8
	0,00011	\pm	0,0000077	6,9

Tabla 2. Incertidumbres relativas y absolutas de las diferentes diluciones.

Recta de mejor ajuste: regresión lineal

Tomando en cuenta lo discutido anteriormente y el cálculo de incertidumbres mostrado, se obtienen finalmente los puntos y la curva de calibración (fig. 1), donde se muestra el ajuste lineal que permite interpolar los valores de concentración para un cierto número de cuentas.

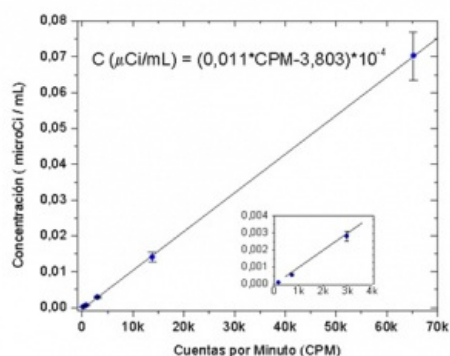


Figura 1 Curva de calibración (concentración vs cpm). En el eje Y debe entenderse $k = 103$.

Como se aprecia en la figura, los datos siguen un comportamiento lineal, por lo que se ha decidido ajustarlos por regresión lineal. Este método permite encontrar la ecuación de la línea recta que mejor se ajusta a los datos, es decir una ecuación del tipo:

$$y = mx + b$$

Ecuación 20

Los requisitos para poder aplicar este método de ajuste son los siguientes:

- La incertidumbre de la variable independiente se considera despreciable.
- Todos los datos de la variable dependiente tienen la misma incertidumbre relativa.

Para el primer requisito, observando en la tabla A2 del Apéndice se puede ver que la incertidumbre relativa en todos los casos es $< 4\%$, por lo que se puede considerar despreciable. Para el segundo requisito, observando la Tabla 2 se puede ver que todas las incertidumbres absolutas son muy parecidas y se ubican alrededor del 6%.

Las ecuaciones que nos permiten obtener tal línea son las siguientes⁽⁴⁾:

$$m = \frac{NS_{xy} - S_x S_y}{NS_{xx} - S_x^2}$$

$$b = \frac{S_{xx} S_y - S_x S_{xy}}{NS_{xx} - S_x^2}$$

Ecuación 21 y 22

En donde debe entenderse:

$$S_x = \sum_{i=1}^N x_i; \quad S_y = \sum_{i=1}^N y_i; \quad S_{xx} = \sum_{i=1}^N x_i^2; \quad S_{xy} = \sum_{i=1}^N x_i y_i$$

Ecuación 23

Incetidumbre de la recta de mejor ajuste

De acuerdo con la ecuación 6, cada parámetro de los que aparecen en la ecuación 20 tiene una incertidumbre asociada, de modo tal que la ecuación de la recta debe presentarse según la ecuación 7 de la siguiente forma:

$$y = (m \pm \Delta m)x + (b \pm \Delta b)$$

Ecuación 24

La obtención de la incertidumbre en la pendiente y en la intersección con el eje Y se aprecia de la siguiente forma:

$$\Delta m = \sqrt{\frac{N}{NS_{xx} - S_x S_x} \frac{\chi^2(b, m)}{N-2}}$$

$$\Delta b = \sqrt{\frac{S_{xx}}{NS_{xx} - S_x S_x} \frac{\chi^2(b, m)}{N-2}}$$

Ecuación 25 y 26

En donde χ^2 (chi cuadrado) que es una medida de la desviación total de los valores y_i respecto a los predichos por el modelo lineal $y = mx + b$, viene dado por:

$$\chi^2(b, m) = \sum_{i=1}^N (y_i - mx_i - b)^2$$

Ecuación 27

Así, con todo lo anterior finalmente se obtiene la línea de mejor ajuste entre los valores de cuentas por minuto y concentración, como sigue:

$$y = \left[\overbrace{(1,081 \pm 0,061)}^m \times 10^{-5} \right] x + \left(\overbrace{-3,80 \pm 1,83}^b \right) \times 10^{-4}$$

Ecuación 28

La incertidumbre asociada a la variable dependiente se obtiene aplicando la ecuación 14 y tomando en cuenta que la incertidumbre de la variable independiente es despreciable, se obtiene de la siguiente manera:

$$\Delta y = \sqrt{\left(\frac{\partial y}{\partial m} \Delta m \right)^2 + \left(\frac{\partial y}{\partial b} \Delta b \right)^2} = \sqrt{(x \Delta m)^2 + (\Delta b)^2};$$

Ecuación 29

Resultados

Para nuestro caso en particular, las ecuaciones a utilizar en el cálculo de la concentración C para un número dado de cuentas por minuto cpm y su incertidumbre asociada ΔC sería:

$$C \left(\frac{\mu Ci}{mL} \right) = \left[(1,081 \pm 0,061) \times 10^{-5} \left(\frac{\mu Ci}{mL \cdot cpm} \right) \right] cpm + (-3,80 \pm 1,83) \times 10^{-4} \left(\frac{\mu Ci}{mL} \right)$$

$$\Delta C = \sqrt{(cpm \cdot 0,061 \times 10^{-5})^2 + (0,00018)^2}$$

Ecuación 30

Conclusiones

Se ha presentado un método para la obtención de una curva de calibración de actividad vs cuentas por minuto. Tales medidas son obtenidas respectivamente de un activímetro y de un contador de pozo. La curva se utiliza en el cálculo de tiempos de residencia en sangre para la dosimetría interna. Se han presentado las ecuaciones generales con que se obtiene la incertidumbre inherente a todo el proceso, de modo que se puedan aplicar a un número arbitrario de puntos o adaptarse fácilmente a variaciones que se puedan realizar en distintos hospitales.

Apéndice

Disolución	Concentración (mCi/mL)	Fracción Volumen Anterior	Fracción Muestra Inicial	Volumen ¹³¹ I (μL)	Volumen Tiosulfato (μL)
Muestra Inicial (0)	2450	-	-	765	235
1	281	1/10	1/10	100	900
2	28,1	1/10	1/100	100	900
3	2,81	1/10	1/1000	100	900
4	0,28	1/10	1/10000	100	900
5	0,070	1/4	1/40000	250	750
6	0,014	1/5	1/200000	200	800
7	0,0028	1/5	1/1000000	200	800
8	0,00056	1/5	1/5000000	200	800
9	0,00011	1/5	1/25000000	200	800

Tabla A1. Resumen de fracciones de actividades y volúmenes extraídos.

Concentración (μCi/mL)*	cps-fondo	\overline{cpm}	σ 4	Ψ	θ	Δcpm	Incertidumbres	
							Absoluta cpm	Relativa %
0,28	250854 251411 249962 251195 252195	251123	815	7,49 7,48 7,50 7,48 7,47	501 501 500 501 502	501 501 500 501 502	224	0,089
0,070	65108 65427 65148 65254 65387	65264	141	2,54 2,54 2,54 2,54 2,54	255 256 255 255 256	255 256 255 255 256	114	0,18
0,014	13529 13756 13931 13939 13865	13804	170	6,74 6,68 6,64 6,64 6,65	116 117 118 118 118	117 117 118 118 118	53	0,38
0,0028	3043 3003 2967 2969 2940	2984	40	3,31 3,33 3,35 3,35 3,36	55 55 54 54 54	55 55 55 55 54	24	0,82
0,00056	712 778 754 751 741	747	24	4,12 3,94 4,01 4,01 4,04	27 28 27 27 27	27 28 28 28 28	12	1,65
0,00011	196 197 193 198 186	194	5	7,86 7,84 7,93 7,82 8,07	14 14 14 14 14	16 16 16 16 16	7	3,70

Tabla A2. Resumen de datos e incertidumbres de las medidas directas.

*Las incertidumbres de estos valores aparecen en la tabla 2.

Referencias

01. Sisson JC, Shulkin BL, Lawson S. Increasing efficacy and safety of treatments of patients with well-differentiated thyroid carcinoma by measuring body retentions of ¹³¹I. J Nucl Med 2003;43:898-903.
02. Hindorf C, et al., EAMN Dosimetry Committee guidelines for bone marrow and whole-body dosimetry. Eur J Nuc Med Mol Imaging 2010;37:1238-50.
03. Cherry SR, Sorenson JA, Phelps ME. Physics in Nuclear Medicine, 3rd ed., Philadelphia, Pa: Saunders/Elsevier Science, 2003.
04. Contreras-González J. Cálculo de incertidumbres y modo de expresar los resultados. Universidad

