

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

REPORMULACION DEL METILEN DIFOSFONATO Y ESTUDIOS DE  
BIODISTRIBUCION-PARA VUEO (SU \*NTELLOGRAFIA USEA

OFORMI .s...w 40is ,  
..

PRESENTADO POR ..-

JOUVENTINA GONZALEZ SANCHEZ

PARA OPTAR AL TITULO DE

MIMIC° BIOLOGO

GUATEMALA, NOV 18 1993

---

SECRETARIO	LIC. JOSE FRANCISCO MONTERROSO SALINAS
VOCAL I	LIC. JORGE RODOLFO PEREZ FOLBAR
VOCAL II	LIC. THELMA ESPERANZA ALVARADO DE BALLARD°
VOCAL III	LIC. MIGUEL ORLANDO GARZA SAGASTUME
VOCAL IV	BR. MARVIN ESTUARDO JIMENEZ BOJORGUEZ
VOCAL V	BR. SERGIO ARTURO ALMENGOR CORZO

---

---

---

## INDICE

	TEMA	PASINA
I.	RESUMEN	I
II.	INTRODUCCION	3
III.	ANTECEDENTES	5
IV.	JUSTIFICACIONES	27
V.	OBJETIVOS	28
VI.	HIPOTEBIS	29
VII.	MATERIALES Y METODOS	30
VIII.	RESULTADOS	36
IX.	<hr/> DISCUSION DE RESULTADOS	39
X.	CONCLUSIONES	42
XI.	RECOMENDACIONES	43
XIII.	REFERENCIAS	44
XIV.	ANEXOS	49

## I. REGIMEN

radii:alarms<sup>o</sup> para mu u.....

oblato de substituir el qua se use actualmente, debido a qua su costo es allevado.

Para is reformulaciOn del matilendifosfonato/pirofosfato se utilizb metilendifosfonato radiofarmaco de electiOn y pirofosfato el coal permit. disminuir los costos y tambián as utilizado al igual qua circa difosfonatos pars obtener imegenes bseas.

En is produccibn del Metilendi ffff onato/Pirolosfato at ensayaron diferentes concentracionws de las sales pars determinar

~~que la variacion en la concentracion de la forma quimica no electa en cuanto al porcentale eke union al pertecnectato de sodio.~~  
observandosw que la variacion en la concentracion de la forma quimica no electa en cuanto al porcentale eke union al pertecnectato de sodio.

Para determinar is distribucidn biollogica del radiofarmaco, se espleb un grupo de 12 ratones machos con un peso qua oscil6 entre 20 a 30 gramma, • los cuales at les inyectb el Metilendliosfonato/Pirolosfato, luego at sacrificaron a los 30, 120, 180 y 240 minutos posteriores a is inyectiOn del radio/inmato, obteniendose muestras de sangre, hueso (femur) y brganos come el hígado, rinOn y sistema gastrointestinal, se les detarminb al peso y luego sae sidle is actividad especifica en un

---

se realiz6 aria reforoulaciOn en la quo so incluya MDP y PIP  
pare diseinuir el caste de produccibn, ya que el PIP as men  
borate que el MDP, &desks de su mayor dIsponibilIdad. Be realiz6  
posterioreente su giodistriteucitin an ratones blancos cooParAndula  
can la del MDP quo sirvita come cia al igual quo el PIP.

fustian es de 216°C. Como metal tiene un color gris plateado.

El Tc tiene ocho estados de oxidación comprendidos entre (VII) y (-1); las valencias VI y VII son las más estables. Los estados inorgánicos más estables son como ion pertechnetato (TcO<sub>4</sub>) con valencia VII y dióxido de tecnecio (TcO<sub>2</sub>) con valencia IV; los restantes estados de oxidación son más inestables y difíciles de obtener, presentándose principalmente en formas de complejos de coordinación (9,10).

#### D. GENERADORES DE MOLIBDENO -99 A TECNECIO -99m

En la década de los cincuenta el grupo de Walter Tucker y Margaret Greene de los Laboratorios Nacionales de Brookhaven en Nueva York, desarrollaron un generador de Tc a partir de Molibdeno -99 (<sup>99</sup>Mo) (generador de <sup>99</sup>Mo - <sup>99m</sup>Tc) y en la reunión anual de la Sociedad Nuclear Americana, en 1950, Tucker informó sobre las características de este generador y la facilidad de obtener <sup>99</sup>Tc a nivel de laboratorios no especializados. Dos años después, en 1960, Pont Richard, del mismo grupo de Brookhaven, fue el primero en sugerir que las características físico-químicas del <sup>99m</sup>Tc podían ser útiles para su aplicación en medicina nuclear.

Un generador de radionucleidos de período corto consta de un radionucleido padre de  $t_{1/2}$  relativamente largo el cual, al desintegrarse promueve la aparición de un radionucleido hijo de  $t_{1/2}$  más corto. El nuevo elemento producido puede separarse por medios físicos y químicos con fines diagnósticos, mientras que el elemento padre permanece en el generador. La elución puede realizarse varias veces al día. Generalmente los generadores conocidos en la práctica como "vacas" son estériles y por ello al eluido que se obtiene puede utilizarse inmediatamente

y ser administrado en forma intravenosa (11).

El generador de  $^{99}\text{Mo}$  -  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  consta de una columna generalmente de  $\text{Al}_2\text{O}_3$  impregnada de  $^{99}\text{Mo}$ . La separación del  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  de su radionucleido padre  $^{99}\text{Mo}$  se realiza por simple elución con solución salina isotónica y estéril, a través de la columna (Anexo No. 1).

Tras la elución, el radionucleido blip se ramose bald la forma quílica de hidropertectato  $^{99\text{m}}\text{TcD}_4$  con valencia VII, pudiendo utilizarse de esta manera, directamente en ciertos casos de exploraciones. La utilización de agentes reductores permite obtener, a partir del eluido estados de valencia intermedios que son más adecuados para unirse a una gran variedad de sustancias.

#### E. CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DEL $^{99\text{m}}\text{Tc}$

1. Periodo, de semidesintegración de 6.04 horas.
2. Decae por transición isomérica. en un 86% más o menos.
3. Energía de radiación gamma de 140 KeV.

Su  $t_{1/2}$  de 6.04 horas y la ausencia de emisión beta permite la administración de cantidades del orden de milicurios (mCi) sin que esto signifique una dosis de radiación excesiva para el paciente. Por decaimiento pasa a  $^{99}\text{Tc}$  que es estable, pero tiene un  $t_{1/2}$  de  $2.12 \times 10^5$  años. Por tanto el  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  es el radionucleido de elección ya que sus fotones gamma de 140 KeV, permiten una adecuada penetración en los tejidos, puede ser detectado con alta eficiencia por gamma cámara que consta de un detector de NMI activado con Talio y facilita la obtención de imágenes centellográficas con una buena resolución, utilizando

colieadorms de Iasi° espesor (6,11).

#### F. MENTES DE EXPLORACION OSEA

En el silo de 1970 Subramanian y McAffe, entre otros d.....norm la earcatiOn de ortofosfatos, tripolifosfatos y cadenas de langitud variable de polifosfatos earcadas con <sup>479m</sup>Tc que passim% afinidad 6sea (12).

A partir del pirofosfato de sodio warted° con <sup>990</sup>Tc se desarrollaron nuevos agentes en los cuales la union P - O - P, hidrolitable enxiskticamente, fue remplazada por P - C - P o bien P - N - P no hidrolixables. Entre los agentes amples t en Is exploracilin lases at pueden mencionare PIP, polifosfatos, MDP, ~~(MDP, HDP, DPW, algunos de las formulas se encuentran en el~~ Anexo No. 2 (1,12).

Deeds la introducciOn del polifosfato marcado can <sup>991111</sup>Tc en 1971 an un constants esfuerzo por encontrar melons\* agentes pare imAganes de hums°, se han estudiado una gran variedad de compuestos fosforados an general, estos agentes pars centellografia &sea pueden clasificarse en cuatro grupos segOn el tipo de unitn que presentan entre los Atomos de f6sforo.

1. P - O - P
2. P - C - P
3. P - N - P
4. P - C - N - C - P

Dentro del grupo de los polifosfatos can union P - O - P, el qua presents mayor concentraciOn en tejido bseo as el PIP, que contiene solamente dos /stomas de 1'6 00000

El segundo grupo canstituido por los difosionatos se



presencia de un átomo de carbono entre los dos de fósforo. La unit., P - C - P es Wm resistant. • la hidrólisis enzimática vivo que es unión P - O - P.

---

El iminodifosfonato (IDP), pertenece al tercer grupo, con unión P - N - P presenta los más altos niveles de concentración en hueso pero también altos contenidos en tejidos blandos, lo que dificulta la obtención de Learn Osea.

Los compuestos pertenecientes al cuarto grupo son análogos de los agentes quelantes como el ácido etilendiaminotetracético (EDTA) y ácido dietilentriamino penta-acético (DTPA). Estos compuestos son químicamente más estables que los restantes compuestos fosforados Negro presentan desventajas respecto a la captación en el tejido óseo (13, 14).

Varios estudios clínicos comparativos se han establecido en relación a los diferentes compuestos fosforados utilizados en la gammagrafía ósea entre los que se puede mencionar, comparación entre el HEDP, MDP y PIP, en esta comparación efectuada se muestra que el HEDP es superior a los otros agentes utilizados, aunque también depende mucho del tipo de patología que se desea estudiar y el fármaco adecuado, además su costo, no disponible comercialmente y síntesis compleja, no permiten su utilización en este tipo de examen (14).

En investigaciones tomando en cuenta análisis cromatográficos, cinéticos y resultados de ionogramas, sugieren que el PIP - <sup>99m</sup>Tc puede ser uno de los radioisótopos para realizar estudios óseos (15).

La importancia mayoritaria de la medicina nuclear al estudio

del aparato locomotor es que las imágenes del sistema musculoesquelético obtenidas, no sólo representan estructuras anatómicas, sino que además indican función y metabolismo. Óseo. ~~En determinados procesos patológicos proporcionan información con~~ mayor precocidad que la obtenida con otras metodologías (16,17).

De los difosfonatos el más utilizado es el  $^{99m}\text{Tc}$ -MDP, la captación de estos compuestos depende del metabolismo óseo, en ciertas patologías este proceso está aumentado. Los niños sanos ~~muestran imágenes en las que aparece concentración de actividad~~ en la zona de crecimiento del hueso, la capacidad osteoblástica del niño está aumentada, esta característica se debe tener en ~~cuenta al momento de efectuar un diagnóstico (18).~~

~~Las aplicaciones clínicas de la gammagrafía ósea son~~ demostración de diversas neoplasias (en especial carcinomas de ~~mama, próstata, pulmón y riñón~~) suelen metastatizar en el hueso, tumores óseos primarios (sarcoma osteogénico, sarcoma de Ewing, hemangiosarcoma); en la osteomielitis aguda, las alteraciones ~~gammagráficas~~ aparecen de veinticuatro a cuarenta y ocho horas después del inicio de la clínica, mientras que las anomalías radiográficas no aparecen hasta los diez a veinticuatro días del inicio de la enfermedad. En la enfermedad de Legg - Calve - ~~Perthes, patología frecuente en niños, la gammagrafía ósea es una~~ técnica muy sensible, es diagnóstica casi al inicio de la clínica ~~y antes de la aparición de los primeros signos radiológicos;~~ seguimiento de neuroblastomas (uno de los tumores más comunes en edad pediátrica) y detección de fracturas, estas presentan una fijación importante del trazador que disminuye progresivamente.

La persistencia de una imagen muy activa orienta hacia la existencia de pseudoartrosis o de sobre infección del foco de fractura. En el caso de la enfermedad de Paget, es (Ail el control por centellografía de setae lesion's para valorar la efectividad terapéutica, en la detección de amiloidosis, fracturas por mitres y osteomalacia (19 - 23 ).

#### 6. MARCACION DEL FARMACO CON $^{99m}\text{Tc}$

Se eluye el generador de  $^{99}\text{Mo} - ^{99m}\text{Tc}$ , (el vault) se recibe ~~en un vial estéril con vial, luego se mide la actividad total~~ del volumen eluido en un calibrador de dosis, retirándose del vial las dosis fraccionadas de actividad adecuada para el estudio (20 a 25 mCi) de  $^{99m}\text{TcO}_4$  para estudios bós en adultos y la dosis ~~se disminuye dependiendo del peso para los niños. Esta alícuota~~ es agregada al vial que contiene MDR o PIP, liofilizado, se mezcla y se da durante 10 minutos para que se lleve a cabo el proceso de marcación (24).

#### ~~H. INFORMACION FARMACOLÓGICA DEL MDP - $^{99m}\text{Tc}$~~

$^{99m}\text{Tc}$  - Medronato

1. Acción sistémica
2. Vía parenteral, inyectable según normas USP
3. Clasificación agente de diagnóstico de osteopatías
4. Indicaciones aceptables

Visualización del esqueleto por radionucleidos, el medronato marcado con  $^{99m}\text{Tc}$  está indicado como agente de visualización del esqueleto para delinear zonas de osteogénesis imperfecta tales como las que se producen en enfermedades metastásicas óseas, ~~en enfermedad de Paget, artritis, osteomielitis y fracturas.~~

5. Eliminación: eliminación renal, el 50% no localizado en el

hasp, se elimina en 24 horns, post administracibn de la dosis.

6. Drogas interferentess compuestos conteniendo hierro, fosfosoda y difosfonatos.

a. Estudio afectadol centellografia esquelitica

b. Efecto en la imagens captacibn 6see disainuida, aumento an la actividad intravascular.

Mecanismo de interacciOns an las drogas que contienen hierro se produce un compuesto con  $^{99m}\text{TC}$ , menos of in al hueso o bien puede formarse complejos intravasculares con el  $^{99m}\text{Tc}$  que no se distribuyenn en el hueso, sino que quedan en el torrents sangulneo.

En el caso de la losfosoda , los Tones fosfato saturan los sitios de union con el hueso resultando una inhibicidon coapetitiva con los fosfonatos del  $^{99}\text{Tc}$ .

Los difosfonatos inducen una deposicion de cristales de hidroxiapatita y fosfato de calcio (25 - 27).

## I. FISILOGIA DEL HUESO

El complicado sistema fisico-quimico que constituye un \*sr vivo requiere proteccibn contra las influencias del aedio ambient. circundante. El esqueleto de los vertebrados brinda una armazOn excelente para sus sosten y no dificulta su desarrolloi est& iormado por pietas duras denominadas huesos que se relacionan entre el.

El tejido lasso (hueso) y el cartilago t ,... Juntas el esqueleto. Al igual qua otros tejidos conectivos, el been contiene sustancias intercolulares abundantes quo rodea a c6lulas muy separadas entre si. Las cAlulas 6seas maduras son los

~~osteocitos, los que se cree que tienen la función de mantener la~~  
matriz ósea, mientras que los que llevan a cabo la resorción ósea  
son los osteoclastos, están presentes de manera característica en  
la superficie de resorción.

Se denomina osteon a cada uno de los sistemas de Havers  
(anexo 3) por consiguiente cada osteon estaría formado por un  
canalículo central rodeado por laminillas que se disponen  
~~concentricamente estos sistemas se van anastomosando y conforman~~  
la estructura macroscópica que se denomina placa ósea o hueso.

El hueso sufre cambios que están mediados por la producción  
y resorción por medio de la actividad de osteoblastos y  
osteoclastos, estos cambios normalmente se dan y se encuentran en  
equilibrio • ~~menos que exista alguna enfermedad.~~

~~Los cinco tipos de células medulares en el tejido óseo son:~~  
~~células osteoprogenitoras, osteoblastos, osteocitos, osteoclastos~~  
y células del tejido sanguíneo. La formación del hueso u  
osteogénesis se lleva a cabo por la mineralización de la matriz  
orgánica o tejido osteoide, la cual está compuesta de 90% de  
colágeno rodeada de mucopolisacáridos; básicamente, la  
~~calcificación consiste en la formación de depósitos extracelulares~~  
de hidroxipatita ( $C_5(PO_4)_3OH$ ), la formación de la matriz ósea  
~~es estimulada por el estrés del sistema óseo, hormonas~~  
reguladoras de calcio (parathormona, calcitonina), Hormona del  
crecimiento/dentado, vitaminas A y D, y el fósforo y calcio (28,29).

#### J. MECANISMO DE ACCIÓN

No se conoce el mecanismo exacto, solo se sabe que la toma y  
retención de los compuestos difosfonato- $^{99m}Tc$  están fuertemente  
influenciados por factores como la actividad metabólica, flujo

sanguineo, Area de superficie, fluidos extracelulares y contenido de calcio (30).

Existen numerosas teorías que explican el mecanismo de captación, sea éste reversible o irreversible, homogéneo o heterogéneo.

Van Lan Sevelde usando cristales de hidroxiapatita y trabajando in vitro describió un posible mecanismo al que el investigador postuló la relación existente entre los grupos fosfato y los iones calcio octacoordinados, de la hidroxiapatita. La afinidad del MDP por los cristales de hidroxiapatita presentes en el hueso pueden ser responsables de su captación en el esqueleto, siendo muy importante en la distribución del mismo en el <sup>99m</sup>Tc sanguíneo. La captación del MDP en el esqueleto se altera en las zonas de osteogénesis, lo que hace posible visualizar las lesiones óseas. Así mismo se considera que los complejos del Tc - Sn - P actúan a través de los grupos fosforos por la interacción con calcio de la hidroxiapatita) también puede haber interacción con proteínas de gran peso molecular. Ha sido bien documentado que los difosfonatos y polifosfatos son absorbidos (quimioabsorción) en la matriz de hidroxiapatita del hueso, en los lugares de torciones y dislocamientos en la superficie (31,32).

Los quelatos de <sup>99m</sup>Tc son químicamente absorbidos sobre los cristales de la hidroxiapatita del hueso nuevamente formado. Por otra parte, los difosfonatos y los pirofosfatos son degradados in vivo por la enzima fosfatasa, por lo que se usan más para imágenes miocárdica y depósitos amiloides en los distintos tejidos.

## K. BIODISTRIBUCION

Una de los hallazgos más interesantes de los últimos años en el campo de la radioquímica farmacéutica ha sido la demostración de que la mayoría de los radiofarmacos del  $^{99m}\text{Tc}$ , en este caso difosfonatos, son mezclas de complejos que pueden tener distinto comportamiento biológico y no compuestos simples homogéneos como se deduce de los resultados obtenidos por los controles de calidad habituales. El número y extensión de estos complejos depende fundamentalmente de la formulación y de las condiciones de preparación del radiofarmaco (33).

~~Al entrar... por... los distintos compartimientos, los~~  
radiolarmacos sufren transformaciones; estas se dividen en dos fases:

1. Involucran procesos oxidativos, hidrolíticos y reductivos.
2. Son generalmente procesos de conjugación que frecuentemente aumentan la solubilidad del radiofármaco y/o su metabolismo.

La biotransformación consiste principalmente en hidroxilaciones en posición para y conjugación, proceso que ocurre en los microsomas hepáticos. El MAP se puede tomar como ejemplo de estudio compartimental, este al ser administrado en el compartimiento sanguíneo interactúa con el calcio iónico que lo transporta y lo transfiere al compartimiento extravascular donde el calcio lo transfiere a la hidroxapatita de la matriz ósea (34).

Son varios los autores que han propuesto que el aclaramiento plasmático de un agente de visualización ósea es una función biexponencial; recientemente se demostró que es una función triexponencial. El primer° de los componentes representa la distribución del agente entre el compartimiento sanguíneo y los

fijandose at hueso.

Zimmer postale) que la correlaci6n entre el accionar enzimitico y la captaci6n del agente por parte del hueso influa en la visualizaci6n. Observ6 que frecuentemente la localization de estos quelatos est& relacionada con la fosfatasa acids y la fosfatasa alcalina. Trabajando j vitrq a incubando el quelato radiactivo, demostr6 que la presencia de enzimas liberan receptores bseos facilitando la interracciOn (35).

#### L. FACTORES QUE DETERMINAN LA BIODISTRIDUCION DE LOS RADIOFARMACOS

La union a proteinas o componentes intracelulares de las células sanguineas, su lipofilia, el tamaRo y carga i6nica, la union a receptores y otras propiedades fisicas y quimicas determinan la biodistribucibn de los radiofarmacos. La estabilidad de los complejos esti% asociada directamente can la union a proteinas. Estudios en rates hen demostrado que los fosfatos se fraccionan en dos componentes. El primero as pensb que deberia ser el di6xido hidratado, el cual no tiene afinidad por el hueso y no es unido a proteinas plasmiticas, por to cual es excretado por filtracibn glomerular. El segundo compuesto es <sup>99ffi</sup>1c (IV) y se lane • las proteinas. Se postuld que Mate es el compuesto que es captado por la matrix bsea.



El principal mecanismo de movimiento de trazadores formados desde la sangre al hueso, es debido por una de las características del hueso que es la de ser reservorio de calcio y fósforo, estas penetran por los poros de la pared capilar intravascular mediante difusión pasiva hacia el espacio extravascular y de este al intracelular, la dilución inicial del compuesto es la determinante de la mayor o menor captación del hueso. También participan otros factores como el grado de depuración de estos agentes desde la sangre y los tejidos blancos. Se debe procurar aumentar la excreción urinaria por hiperhidratación (6).

La distribución biológica de un radiofarmaco es la característica que permite establecer su utilidad para estudios funcionales u obtención de imagen estática. Su estabilidad La ~~Kin puede verse afectada al unirse a proteínas del plasma o~~ preferentemente, debe permanecer como compuesto libre y ..■ proteínas o células al concentrarse en el órgano blanco (35).

#### M. MODELO ANIMAL EXPERIMENTAL PARA BIODISTRIBUCION EN HUESO

Hessler ha definido un modelo animal experimental, como un organismo vivo, que puede sufrir un proceso patológico ya sea adquirido o inducido que en una o en otros aspectos puede ser semejante a un fenómeno ocurrido en humanos. Un simple modelo animal no siempre puede duplicar una enfermedad humana, pero puede poseer una similitud con el proceso de enfermedad.

La fisiopatología del sistema esquelético no solo envuelve una función de soporte estático, sino también efectos dinámicos, por ello los mejores modelos son primates y caballos, aunque también son muy utilizados ratas y ratones, ya que aunque los

primeros son los mejores en procesos metal:611ms, su alto costo, la dificultad que presenta la crianza y la baja disponibilidad, hacen de ellos modelos difíciles de utilizar (36,37).

Las rates y ratones son los animales más utilizados para este tipo de estudios, ya que aunque no presentan un metabolismo similar al humano en el esqueleto, se han efectuado muchos estudios y si llenan los requisitos para utilizarlos como modelos. Las observaciones hechas en animales no siempre pueden trasladarse a humanos, sin embargo pueden obtenerse ciertas ideas generales sobre la captación, almacenamiento y depuración del radiofármaco y se pueden observar los efectos de ciertas intervenciones farmacológicas y físicas

#### N. CONTROL DE CALIDAD DE LOS RADIOFARMACOS

##### 1. Controles físicos

##### a. Características organolépticas

Todo radiofarmaco inyectable debe ser claro limpio y libre de partículas visibles, excepto las suspensiones coloidales.

##### b. Tamaño y número de partículas

Estos son de importancia en preparaciones coloidales.

##### c. pH

Es una forma de expresar la concentración del ión hidrógeno de un medio, y se define como logaritmo del inverso de la concentración de  $H^+$ .

---

$$pH = \text{Log } 1$$

El

Todos los radiofarmacos deben tener una concentración de iones adecuada para asegurar su estabilidad. El pH 7.4 es el ideal

pare la administracion del radiofarmaco, sin embargo no es critico y puede ..... entre los valores de pH de 1.5 a 9.0, por el alto poder regulador de la sangre para los pequenos volúmenes de radiofarmacos que se administran.

#### d. Isotonicidad y Fuerza osmótica.

Isotonicidad es la igualdad entre las presiones osmóticas de una solución con respecto a otra, en el caso de un preparado inyectable se debe considerar la isotonicidad en relación al suero sanguíneo, sin embargo es frecuente que un radiofarmaco no sea isotónico.

La fuerza osmótica es importante en la estabilidad del radiofarmaco debido a que el control de la isotonicidad se hace por determinación de Osmo (38).

## 2. Controles radionucleídicos

### a. Calibración de la actividad

Esta se hace generalmente en una cámara de ionización. La cámara debe estar calibrada con un patrón adecuado, de actividad conocida y con las mismas características geométricas del radiofarmaco. La estabilidad de la cámara se comprueba con un patrón de cobalto-60, cobalto-57 y cesio-137. El nivel de confiabilidad con que se asegura la actividad medida es del 90%.

### b. Pureza radionucleídica

Se define como la proporción de la actividad total en relación a la actividad del radionucleido especificado. Las impurezas radionucleídicas pueden ser resultado del proceso de producción como:

i. Impurezas presentes en el blanco o irradiador.

ii. Reacciones secundarias producidas por el blanco.

iii. Productos originados por desintegración radiactiva o por una purificación ineficiente en el proceso de separación del producto de fisión.

El control de la pureza radionucleídica es importante para asegurar que la biodistribución, es característica del nucleido en cuestión y no influenciada por alguna impureza y para minimizar la radiación absorbida por el paciente (38,39).

### 3. Controles químicos

Pureza química es la fracción de masa total del radiofarmaco<sup>o</sup> presente en una forma química establecida. Para radiofarmacos se puede determinar cualitativamente o cuantitativamente la presencia de productos químicos no radiactivos que no forman parte de su composición. Esta determinación puede hacerse por:

a. Métodos basados en la interacción de la sustancia con la energía radiante.

b. Espectrofotómetro de absorción atómica.

c. Colorimetría.

d. Pureza radioquímica.

e. Análisis por activación.

Teniendo en cuenta la  $t_{1/2}$  del  $^{99m}\text{Tc}$  administrado al compuesto que se va administrar se suelen buscar técnicas lo más simples y rápidas posible. La técnica más usada es la cromatografía en todas sus versiones... cromatografía en papel, capa fina, líquida, etc. (40).

La pureza radioquímica se define como la proporción del radionucleido presente en una forma química dada. En esta pureza influyen tanto la preparación como la purificación del

radiofarmaco y para determinarla es necesario separar los compuestos radiactivos del sistema utilizando métodos como cromatografía, electroforesis y filtración en gel (41).

#### 4. Controles microbiológicos

##### a. Esterilidad

Esterilidad es la ausencia de microorganismos viables siendo una condición fundamental de toda preparación para uso parenteral. Para asegurar la esterilidad de un radiofarmaco es necesario aplicar buenas prácticas de manufactura, que incluyen técnicas asepticas a nivel de producción y fraccionamiento de dosis a administrar. Existen varios métodos de esterilización aplicados según la naturaleza de la sustancia:

- i. Por calor húmedo.
- ii. Por calor seco.
- iii. Por filtración.
- iv. Por irradiación gamma.

Las pruebas de esterilidad se realizan para comprobar la presencia de bacteria y hongos de acuerdo a lo establecido en "Administración de alimentos y drogas" (FDA). Estas pruebas se realizan por incubación de varias alícuotas de radiofarmacos en un medio de tioglicolato a 35 a 37°C durante 7 a 14 días, en un medio de tripticosa soya durante 48 horas a 37°C y en agar Sabouraud durante 14 días a temperatura ambiente. Generalmente los procesos de esterilización de los radiofarmacos hidrosolubles se realizan al final del proceso de fabricación, por filtración de las soluciones por una membrana estéril de 0.22 µm en viales estériles en campana de flujo laminar horizontal (41)

## b. Toxicidad

Este estudio tiene por objeto, excluir la posibilidad de que el radiofármaco resulte tóxico para el paciente. Existen por lo menos tres factores esenciales de toxicidad radiotóxica, toxicidad química de los compuestos radiactivos y toxicidad de los excipientes.

El control se realice en la etapa previa a la liberación del radiofármaco y generalmente se determina la dosis letal media que se define como la dosis expresada en masa, que inyectada a un lote de animales mata al 50% de la población (SW).

## c. Pirógenos

Son endotoxinas producto del metabolismo de los microorganismos Gram negativo, son generalmente solubles y termoestables y conducen a una reacción febril que se manifiesta después de ser inyectado. El método oficial de control de pirógenos se basa en la medida de la respuesta febril en conejos después de haberles administrado la sustancia a probar, sin embargo existe otro método in vitro denominado Test de lisado de amebocitos de *Limulus polyphemus* que se fundamenta en precipitation, coagulation de ciertas proteínas del lisado de amebocitos en presencia de endotoxinas (42).

## b. Toxicidad

Este estudio tiene por objeto excluir la posibilidad de que el radiofármaco resulte tóxico para el paciente. Existen por lo menos tres tipos esenciales de toxicidades: radiotoxicidad, toxicidad química de los compuestos radiactivos y toxicidad de los excipientes.

El control se realiza en etapas previa a la liberación del radiofármaco y generalmente se determina la dosis letal media que se define como la dosis expresada en masa, que inyectada a un lote de animales mata al 50% de la población (38).

## c. Pirógenos

Son endotoxinas producto del metabolismo de los microorganismos Gram negativo, son generalmente solubles y termoestables y conducen a una reacción febril que se manifiesta después de ser inyectado. El método oficial de control de pirógenos se basa en la medida de la respuesta febril en conejos después de haberles administrado la sustancia a probar, sin embargo existe otro método in vitro denominado Test de lisado de amebocitos de *Limulus polyphemus* que se fundamenta en la precipitación, coagulación de ciertas proteínas del lisado de amebocitos en presencia de endotoxinas (42).

### III. JUSTIFICACIONES

En el departamento de Medicina nuclear del Hospital General San Juan de Dios, uno de los estudios realizados, as is centellogralla 6sea, en el treinta y cinco por cient° del total, debido a qua Seta as is tacnica de elecciOn pars la rediocalizaciOn de metastasis en hueso, par su alts sensibilidad el metilen difosfonato -<sup>99m</sup>Tc (MOP -<sup>994/1</sup>TC) as el radiofermato clue presents mayorss ventajas pare la exploration loses ya quo as captado repidamente, aproximadamente 3 horse, par la celula bees en comparaciden a los otros compuestos fosfatados, pasta 4 horse, pero su costa as sumamente oneroso par lo qua se hate necesario buscar una nueva formula clue dismimuya el costa y proporcione resulted°s similares en el estudio de patologies /fleas, raz6n por is cual se pretends reformular un radioftirmato clue contenga una combinaciOn de MDP y PIP (MDP/PIP), obteniendose ~~resulted°s satisfactorios al ensayarlos en un modelo biolOgico.~~



#### IV. OBJETIVOS

obtenga un mayor porcentaje de marcación con el  $^{99m}\text{Tc}$ .

2. Ensayar en un modelo biológico (ratones blancos), la biodistribución y localización en los huesos del radionúclido reforeulado, comparando con un grupo control al que se le administrará  $\text{PIP-}^{99m}\text{Tc}$  para efectuar las comparaciones correspondientes y determinar si la combinación  $\text{MDP/PIP-}^{99m}\text{Tc}$  es equivalente a los resultados obtenidos con el  $\text{MDP-}^{99m}\text{Tc}$ .

## V. HIPOTESIS

- A. No exists diferencia significativa entre el radlofarmsco MOP y el MDP/PIP marcados con  $^{99m}\text{Tc}$  pars centellograf/a bags.
8. El tiempo de mayor captaciAn Osea del MOP - PIP -  $^{99m}\text{Tc}$  as similar al del ADP -  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  que as de 3 horns y superior al del PIP que corresponds • 4 hares post-administraciOn de la dosis.

## VI. MATERIALES V METODOG

### A. UNIVERSO DE TRABAJO:

Radiofórmacos liofilizados metilen difosfonato, pirofosfato y 14 combinacibn MDP/PIP.

### B. RECURSOS HUMANOS

Responsable: Juventina Gonzalez Sanchez.

Asesor: Licda. Diana Freire de Nave.

Personal de apoyo de la DirectiOn General de Energia Nuclear.

### C. RECURSOS INSTITUCIONALES

Se utilize equipo de electrenica nuclear de 14 Direction ..... 1..de Energia Nuclear y Radiofarmacia Contralizada de la DGEN y Radio aaaaa cia Hospitalaria del Departamento de Medicine Nuclear en el Hospital General San Juan de Dios.

### D. EQUIPO V MATERIALES

#### 1. Equipo

	marca	modelo
Balanza analitica	Precise	BOA
Campana de fluJo laminar	Polon	KL-21
Liofilizadora	Labconco	RB
Autoclave	All American	23X
Contador de Pazo con detector de loduro de Sadie	Ortec	777A
Ref rigeradora	General Electric	S'il
Equipo de cromatografia		
Selladora manual		
Horn.,	Lab-line	L-c-Ove
Incubadora	Mettler	

Potenciometro con electrodo de

Sandejas

Contenedores de plomo

Jeringas tipo tuberculina

~~Materials\* de diseccion~~

---

Pipetas graduadas

Filtros Millipore de 0.22 um Sartorius

Algodon

Papel cromatografico

Jaulas para inyeccion

Papel pH

### 3. Reactivos

Generador de  $^{99}\text{Mo}$  -  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  Amersham

Pirofosfato de sodio

Metileno difosfonato

Cloruro estannoso

Acido ascorbico

Acido clorhidrico

Hidroxido de sodio

Acetona

Mmtand

Aqua trldestilada agar-69.n.

Soludbn saline estaril

Medics de cultism, tripticasa soya, tioglicolato, sabouraud.

#### E. PROCEDIMIENTO

Como control., se utilizaron los radiofirmacos MDP y PIP producidos en la radiofarmacia centralizada de Is DOER.

1. Be reformat!, el radiofitrmaco utilizado MDP/PIP.

Se efectuaron pruirbas de pureza radioquImica a diferentes concentrations de las sales con los siguintee rangoe do concentraden pare cads sal:

Pirofosfato de sodio  $5.60 \times 10^{73}$  - 0.011 M

~~Metilen difosfonato 0.021 - 0.031 M~~

Cloruro do estaRo  $5.54 \times 10^3$  -  $9.97 \times 10^3$

y Acido ascorbico comp estabilizante de 20 a 30 mg pare 25 /rascals (42).

2. PreparaciOn de soluciOn de PIP, se utilizaron cantidades pars preparar 25 frescos.

a. Se disolvieron  $25.5$  mg ( $6 \times 10^{-3}$  M) de cloruro estannoso en 0.1 ml de HCl concentrado, se llevb a ebulliciOn en baRo de marls.

b. Se disolvieron 23 mg de Acid° ascorbico en 0.3 ml do ague estSril apiregena y se adicion6 a la soluciOn de cloruro estannoso.

c. Be disolvieron 187.5 mg (0.0160 M) de pirofosfato de sodio en 15 ml de soluden saline al 0.85% manteniendo el burbuJeo de nitrbgeno y agitaciOn constant., adicionando gota a gota muy lentamente la eduction b llevar a Ph 3,0 con HCl 5N, gota a got..

Dozier en reposo 5 minutos manteniendo el burbujeo de nitrógeno.

### 3. Solución de MDP

- a. Se disolvieron 25 mg de ácido ascórbico en 0.1 ml de agua ~~estéril apirrogénica previamente burbujeada con nitrógeno.~~
- b. Se disolvieron 6.05 mg de cloruro estannoso en 0.1 ml de HCl concentrado adicionando 0.05 ml de solución de ácido ascórbico.
- c. Se disolvieron 130 mg de MDP (0.0215M) en 12 ml de solución salina agitando y con burbujeo de nitrógeno, adicionando gota a gota muy lentamente solución de NaOH 5N hasta llegar a un pH de ~~5.7, se adiciona gota a gota la solución del inciso b.~~

### 4. Solución final

- a. Se agregan la solución de MDP 10 ml de la solución de pirofosfato, manteniendo burbujeo de nitrógeno y agitación, hasta llegar a un pH de 6.0 adicionando gota a gota NaOH 5N completar volumen con solución salina nitrogenada en balanceada a 25 ml.
- b. Se filtra la solución en Mtn, Millipore de 0.22 micrometros de porosidad.
- c. Se fracciona con jeringa 1 ml en cada fresco esteril color Mbar.
- d. Se liofilizaron los maestros durante 18 horas.
- e. Se sellaron y etiquetaron los frescos.

### 5. Control de calidad.

#### a. Física.

1. Características organolépticas color, apariencia.

11. Se determina el pH por medio de un potenciómetro con electrodo de calomel.

#### b. Químico y radioquímico

i. Pureza radionucleidicas as determine en forma cuantitativa y cualitativa is presencia de interferencias par media de espectrofotometria gamma (2,38).

ii. Pureza radioquimical Se det..... 6 par cromatografia en cap. fine, el porcentaje de unibn del fermata can el radionucleido utilizando Instant thin layer chromatography (ITLC) camp soporte y comp solvent., solucibn de cloruro de sodio al 0.85% y &cottons. Se espero el tiempo necesario pare que migrara y samara, se corto is tiro en portion.. do 1 cm y luego as tante la actividad en el detector Ortec (38,39).

c. Patrol:al:pH:mit°

Be tomaron al azar tres mantras del lots y se sombraron en media. de cultivo.

1. Caldo tripticasa soya para bacterial aerobias.

ii. Caldo tioglicolato para bacteria. anaerobias.

iii. Agar Sabouraud pars hongos y levaduras.

La siembra se efectub bajo campana de 'Hui° laminar colocando con jeringa esteril 2 6 3 gotas del material en .studio con posterior incubacibn • 37•C durante 48 horas en el primer media, en el segundo a 37•C durante 7 a 14 diets y a temperature ambient. 22 - 25•C durante 14 dies el tercero. Se determine visualmente la pre/untie de crecimiento microbiano el cual se pone de manifiesto par medio de turbidez en el primer() y segundo medio y par la presencia de colonial fOngicas en el tercer media (41).

d. Distribution biolbgica

Be tomaron 36 ratones machos con un peso que oscilaba entre 20 a 30 ors. aproximadamente. S. inyectaron a 12 dm ellos con

~~MDP/PIP-<sup>99m</sup>Tc~~ otros 12 con MDP y al resto con PIP marcados con <sup>99m</sup>Tc.

Los animales experimentales se sacrificaron para obtener los órganos apropiados para el estudio y muestras de sangre y hueso (femur), se determinó y registró el peso de cada órgano. Los animales se sacrificaron después de 30, 120, 180, 240 minutos posteriores a la inyección del radiofármaco en estudio, procediéndose a la medición del porcentaje de radiactividad en un ~~detector de centelleo marca Ortec, en hígado, riñón, tubo~~ gastrointestinal, sangre y hueso.

Se comparó la distribución de los radiofármacos en los órganos a los diferentes tiempos.

#### F. DISEÑO ESTADÍSTICO

Se obtuvo la actividad específica de cada grupo de ratones ~~correspondientes a tres diferentes radiofármacos, se realizó una prueba de análisis de varianza para un diseño factorial de 3 x 4 x 5 con un  $\alpha = 0.05$  para observar si existía diferencia~~ significativa entre radiofármaco, tiempos, órganos y sus combinaciones, se analizaron tres niveles de radiofármacos (MDP, PIP, MDP/PIP), cuatro niveles de tiempo (30 minutos, 2 horas, 3 horas y 4 horas) y cinco niveles de órgano (hueso, sangre, gastrointestinal, riñón e hígado) efectuándose tres repeticiones para cada combinación.

Como existía diferencia estadísticamente significativa, se ~~compararon las medias de radiofármacos, tiempos y órganos, por contrastes lineales no ortogonales, utilizando la prueba estadística de Scheffé con el propósito de encontrar entre que~~ grupos existía diferencia estadísticamente significativa.



## VII. RESULTADOS

### A. Producción y control de calidad del MDP/PIP

Se ensayó la producción del MDP/PIP utilizando concentraciones de  $5.6 \times 10^{-3}$ ,  $8.3 \times 10^{-3}$  y 0.011M de PIP, 0.021, 0.026 y 0.031 M de MDP y de cloruro estannoso  $5.54 \times 10^{-3}$ ,  $7.75 \times 10^{-3}$  M. A estas pruebas piloto se les efectuó control de pureza radioquímica para determinar la cantidad de pertechnetato que se unió a la forma química y con ello descartar la posibilidad de formación de otros compuestos, los resultados fueron similares para la pureza radioquímica.

Luego se llevó a cabo la producción del radiofármaco utilizando cantidades de sales establecidas en el procedimiento, esta formulación fue proporcionada por el Instituto de Asuntos Nucleares de Santa Fe de Bogotá, Colombia. Cuyas concentraciones están dentro de los rangos ensayados.

Se produjo el radiofármaco obteniéndose un liofilizado de color blanco que al reconstituirlo con pertechnetato de sodio produjo una solución limpia cuyo pH fue de 6.0. Al realizar el control radioquímico se obtuvo un porcentaje de marcación de 94% y 96% en acetona y cloruro de sodio respectivamente (tabla \*1).

Se efectuó el control microbiológico y después del tiempo de incubación adecuado en los diferentes medios de cultivo, no se obtuvo crecimiento de microorganismos en ninguno de los medios.

### B. Control de calidad del MDP y PIP

El liofilizado para ambos es de color blanco, al reconstituirlos con pertechnetato la solución es limpia cuyo pH

es de 6.3 para el MDP y para el PIP 5.0. Al realizar el control radioquímico se obtuvieron porcentajes de marcación arriba del 90% en algunos casos (tablas \* 2, 3).

~~Se efectuó el control microbiológico y después del tiempo de incubación adecuado en los diferentes medios de cultivo, no se obtuvo crecimiento de microorganismos.~~

### C. Control de distribución biológica de los radiofarmacos

Después de inyectar los tres grupos de ratones con un radiofarmaco<sup>o</sup> diferente, MDP/PIP, MDP y PIP respectivamente, se sacrificó a los animales obteniéndose los órganos y muestras de sangre y hueso (fémur), se contó la actividad en cada órgano, determinándose el porcentaje de marcación por gramo de órgano; a las cifras obtenidas se les efectuó una transformación a arco-seno y se realizó una prueba de análisis de varianza para un diseño factorial de 3 x 4 x 5 observándose que existió diferencia estadísticamente significativa entre órganos, ( $p = 0.0001$ ) interacción radiofarmaco/órgano ( $p = 0.0097$ ), e interacción tiempo/órgano ( $p = 0.0005$ ) (tabla \* 5)

Al efectuar la comparación de medias de la actividad específica por el método de contrastes lineales no ortogonales utilizando la prueba estadística de Scheffe, se observó que existió diferencia en la marcación de órganos, ya que en los tres radio-farmacos, el hueso es el que presentó comparativamente un mayor porcentaje de marcación en relación a los otros y el hígado es el órgano que menos marcación presenta (gráficas 1, 2 y 3).

Con respecto al aclaramiento sanguíneo<sup>o</sup> se observó que el PIP es el radiofarmaco, que tarda más tiempo en el torrente circulatorio, mientras que el MDP, MDP/PIP tienen un

comportamiento muy similar. A nivel renal se encontraron porcentajes de actividad por gramo de Organ° por debajo del 10% en los tres casos (grafica \* 4).

~~Al graficar los porcentajes de actividad/ gr de Organ° de los tres diferentes radiofármacos a los 30, 120, 180, y 240 minutos se observe, que el MDP/PIP tiene un máximo de captación a nivel de la célula beta a los 180 minutos, de igual forma se comporta el PIP con la diferencia que el porcentaje de actividad gr/de Organ° es inferior, y en el caso del MDP la máxima captación se encontró a los 240 minutos (Grafica 4 y 5).~~

## VIII. DISCUSION DE RESULTADOS

### A. Producción del MDP/PIP

Se eligió la formulación proporcionada por el Instituto de Asuntos Nucleares de Santa Fe de Bogotá, Colombia, debido a que los rangos de concentración de las sales correspondían al rango bajo de cada sal, y que al efectuarse el control de pureza radioquímica se determine que la variación de concentraciones de las sales no afecta en cuanto a la marcación del radiofármaco, y como se trata de disminuir el costo de producción la formulación proporcionada reúne las condiciones para efectuar el ensayo en cuanto a la biodistribución.

~~En cuanto al liofilizado, reúne las características organolépticas para ser utilizado.~~

El pH es el adecuado ya que con alto se logra la estabilidad del radiofármaco y se evita la formación de otros compuestos, como son los ortofosfatos que se forman si el pH es muy ácido.

~~La pureza radioquímica mayor de 90% asegura la unión del tecnecio a la forma química y hace factible el uso del compuesto para el estudio.~~

El control microbiológico negativo, permite la utilización del radiofármaco para llevar a cabo el estudio en animales de experimentación sin provocarles algún tipo de reacción debido a la presencia de microorganismos.

### ~~B. Control de distribución biológica de los radiofármacos~~

Para determinar la distribución biológica de los radiofármacos se tomaron 3 grupos de ratones blancos, cada grupo

de 12 ratones correspondiendo a un radiofarmaco diferente; luego se inyectaron con dosis del radio/bronco en estudio y se lee sacrificb a los 30, 120, 180, 240 minutiae despises de inyectados pars determinar la marcacibn de los 6rganos y muestras de sangre y hueso (femur) a dichos tiempos.

Los tres radiofirmacos segion los resultados obtenidos tienen ~~un porcentaje de captacibn alto en el hueso en comparacion con los otros brganos esto se debe probablesente al alto intercambio que poseen los grupos fosfato de los radiofbrmacos con los lanes calcio octacoordinados de la hidroxiapatita, lo cual facilita la captacibn de los compuestos fosfatados marcados en el hueso.~~

El nuevo radiofarmaco reformulado maestro un porcentaje de captacibn alto a los 180 minutos lo que indica quo puede ser un buen sustituto del MDP el cual presents un porcentaje manor de captacibn en hueso a este tiempo y su porcentaje mils alto es a los 240 minutos y is diferencia no as estadlsticamente ~~significative; con ello se puede lograr roducir los costos de producc10n al utilizar esta combinaci6n, puss se observa que si se utiliza el PIP este tiene un porcentaje de captacibn inferior a los antes mencionados y se puede debar al ataque enzimatico que sufren los enlaces P - O - P dol PIP al ser transportado hacia at hueso.~~

En cuanto at aclaramiento sangulneo se nota que el MDP y MDP/PIP se camportan de forma parecida y testa se debe a que a ~~medic's quo se Man al hueso, el porcentaje de actividad disminuye en samara, lo que indica quo son Onicamente transportados o por lo menos la mayor parte sblo se une • proteínas o a componentes intracelulares de la caul.s sangulneas los males le~~

proporcionan estabilidad a los compuestos los que pueden luego fijarse al hueso. El PIP en cambio se mencionó cast en los mismos porcentajes lo que muestra que este, al encontrarse solo puede ser atacado por enzimas presentes en el torrente ~~circulatorio y que si sufre alguna transformación impide su~~ fijación al hueso y por ende se mantiene mayor porcentaje en sangre.

La excreción para los tres radiofármacos es a través de las vías urinarias.

## IX. CONCLUSIONES

- A. La variación en las concentraciones de las sales, no afecta en cuanto a la unión con el tecnecio.
- B. La intensidad de captación tiempo/Organo con respecto al porcentaje de marcación cambia por el mecanismo de distribución que presentan los difosfonatos.
- C. De acuerdo a los resultados obtenidos el MDP/PIP puede ser un buen sustituto del MDP, debido a que la captación (flee a los 180 minutos es superior en comparación a los otros dos radiofármacos, permitiendo así obtener imágenes\* contológicas • los 180 minutos después de la administración de la dosis y no a los 240 minutos como se encuentra en el manual de procedimientos del Departamento de medicina nuclear del Hospital General San Juan de Dios.

## X. RECOMENDACIONES

- A. Determiner la estabilidad del radii:Marotta MDP/PIP liofilizado y congelado mediante un control de pureza radioguleica mensualeente por lo menos durante un &%o.
- 13. Remitter pruebas en humanos per& observer el tiempo necesario pare pare 'lever a cabo la tome de imagenee dern .
- C. La utilizaciOn de este nuevo radiofarmaco coma alternative mas econbeica pare efectuar centellogramas Oswos.



## XI. REFERENCIAS

1. De Lygny CL, et al. Bone seeking radiopharmaceuticals. Nucl Med Biol 1990;17.161'179.
2. Portillo MC. Comparacibn de dos metodos de produccien de radiofirmacos y evaluacien de su calidad. Guatemala\* Universidad de San Carlos (**tesis** de graduacibn, Facultad de Ciencias Oulmicas y Farmacia) 1987. 111p.
3. Wagner H. Principles of nuclear medicine. Philadelphia. W. B. Bauder.. 1968. 586p (p 13 - 17).
4. Goday N. Fundament°s de radiofarmacia. Chiles cnmisibn -chilena d. Energia Nuclear, Doc. Tec. 1989. 12p- (pl - 5).
5. Gottschalk SA, et AL. Diagnostic nuclear medicine. Baltimore: Williams and Willing', 1976. 320p. (p3B - 42).
6. Domenech FM, et al. Medicine Nuclear, Monografla medica Barcelona 1980. 353p (p 38 - 42).
7. Ganatra R, et AI. Handbook of nuclear medicin practice in developing conuntries. Vista. International Atomic Energy Agency 1991. 764p. (p608 - 615).
8. CaRellas CO. Radiofarmacologla 6sea. Buenos Aires. ComisiOn de Energia Atomica, Doc Tec. 1992. 13p (pl - 10).
9. Remington JP, el AL. Farmacia prbctica. Marino MA, trad. Buenos Aires. Panamericana 1987. VII + 3567 (p657 - 658).
10. Rodriguez V. Ouimica de coordination y radiofbrmacos del <sup>9m</sup>tc Madrid. CIEMAT, Doc. Tec. 1992. 25p (p2 - 13).
11. Tubis M. Control of purity sterility and apyrogenecity of the final product radiophareaceuticals from generator. produced Radionuclides. Vismas International Atomic Energy Agency.

1971. BP. (P1 - 8).
12. Subramanian S, McAffe JS, A new complex of  $^{99m}\text{Tc}$  for skeletal imaging. Radiology 1971;99. 192 - 196.
  13. Hui:: LM, el\_ al. Situ and mechanisms of localization of  $^{99m}\text{Tc}$ -Phosphorus radiophareaceuticals, in acute myocardial infarcts an other tissue. J Clin Invest 1977;60: 725-740.
  14. Arnold JS, gt el. Kinetic studies of a new and superior  $^{99m}\text{Tc}$ -diphosponate bone imageng agent. J Nucl Med 1979; 20,653-654.
  15. Owunwanne A, et Ai. Factors incluencing blood clearance of bone scannig radiopharmaceuticals. A review teaching exhibit presented at the 26 th annual meeting of society of Nuclear Medicine Atlanta 1979; 26 - 29.
  16. Subramanian a, at al. Technetium - 990 Methylene diphosponate a superior agent for skeletal imaging; comparison with other technetium complexes. J Nucl Med 1975; 16,744 - 755.
  17. Weber DA, Keyes J. Kinetics an imaging characteristics of  $^{99m}\text{Tc}$  labeled complexes used for imaging. Radiology 1976; 120:615-621.
  18. Bandoni JA, gj al. Farmacopea Nacional Argentina. 6 ed. Argentina, Imprenta central del Ministerio de Salud POblica y medio ambiente, 1902. 150p (p40-50).
  19. Ramirez I. Radiofermacos en Pediatria. Curso regional sobre avances en radiofarmacia Centro Medico; Barcelona. Doc. Tec. 1992. 16P. (p12 - 15).
  20. Edward B, Silberstein MD. Radiopharmaceutical and clinical comparison of  $^{99m}\text{Tc}$ -hidroxymethylene diphosponate with

- $^{99m}\text{Tc}$ -Bn- hidroxyethylidene diphosphate. Radiology 1980; 136:747-751.
21. Berl ES, fl at. Evaluation of  $^{99m}\text{Tc}$ -polyphosphate bone scanning for neoplastic skeletal disease. J Nucl Med 1972; 13:413-416.
  22. Janssen G, et al. Soft tissue uptake of  $^{99m}\text{Tc}$ - diphosphate and  $^{99m}\text{Tc}$ -pyrophosphate in systemic AA and AL amyloidosis the disease complex, New York, Doc. Tec. 1986. (p621 - 628).
  23. Janssen S, Piers DA. Radionuclide imaging of amyloid infiltration in systemic AA and AL amyloidosis. Radiative isotopes in clinic and research Sartain; International Symposium. Gastein (Austria) 1986. (p209 - 214).
  24. Subramaniam G, McAfee J, Blair RJ. Radiopharmaceuticals for bone and bone - marrow. International symposium on medical radio nuclide imaging, Los Angeles California (USA) 1975 (p25 - 29).
  25. Tubis M, Wolf W. Radiopharmacy. New Yorks Jhon Wiley ad. 1976. 625p (p315 - 320)
  26. Goodman L, Gilman A. The pharmacological Basis of therapeutics. 4 ed. New Yorks Macmillan 1970 1383p.
  27. Mantec CR, Factores farmacologicos que afectan la captacion y distribucion del  $^{99m}\text{Tc}$  a nivel de la anal. 6sea Inform, final de investigacion. DOES. Ministerio de Energia y Minas, Guatemala, Doc. Tec. 1991.
  28. Cormack DH. Histologia de Ham. 9ed. Correa JD, Trad. Mexico. Harla 1989. 892p (p338 - 360).
  29. Tortora SJ, et al. Principios de anatomia y fisiologia. SW. Correa JB Trad. Mexico. Harla 1989. 738p (p112 - 148).

30. Degrossi OJ, Polivari H, Garcia H. Technetium -<sup>941</sup>Tc APD ~~compared with technetium -990 MDP as a bone scannin agent.~~ J Nucl Med 1983; 5261 1133-1139.
31. Burch V, Spina R, Larry A. Technetium - 99m labeled phosphonic acid analog of serina bone up take. J Nucl Med 19861 27.847-849.
32. Silverstein EB, at at. Clinical comparison of 990 -Tc-diphosphonato and pyrophosphate in bone scintigraphy consise communication. J Nucl Med 1978; 19. 161-163.
33. Dunsan 8L, at fl. Preparation and comparison of technetium - 99m-diphomphonate, polyphosphate and pyrophosphate nuclear bone imaging radiopharmaceuticals. Drug Intelligence Clin Pharm 1973; 7, 470 - 474.
34. CaRellas CO. Conceptos de radi aaaaaa eulogise Buenos Aires, Comisibn de Energia Atbmica. Doc. Tec. 1992. 15p (p6 -10).
35. Zimmer AM, Pavel DO. Rapid miniaturized Chromatographic quality control procedures for Tc - 99m radiofarmaceuticals, J Wm/ Med 1977; 1811230-1233.
36. Wester 8. Animal Models of thrombosis an hmmorragic diseaseses Washigton D.C. ■ HEW Publication \* 20 Doc. Tee. 1975. 982p (p76).
37. Research resources reporter US departament or healt, and human services. Washigton Dmpartament of healt and human services Doc. Tec. No. 2 1983. 20p (p15-16).
38. Rodriguez S, at at. Handbook of radioformaceutical Quality control Montevideo. Latinoamerican Association of Nuclear ~~Biology Medicins Societis.~~ (Alasbim) Doc. Tec. 1989. 154p

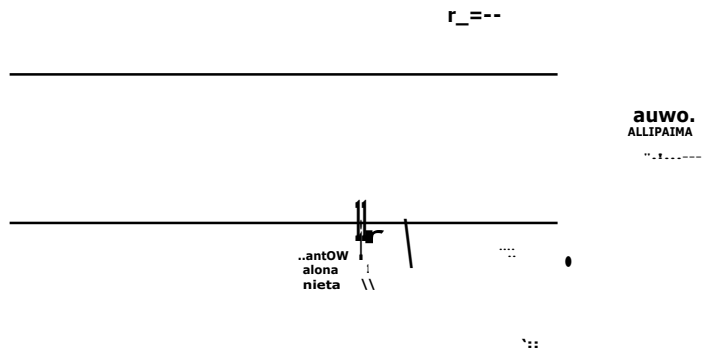
(13-23).

39. Pauwelm E, Feitsma R. Radiochemical quality control of <sup>99m</sup>Tc labeled radioformaceuticals. Eur J Nucl Med 1977) 2s 97-103.
40. ~~Fiera C Control de calidad de radiofarmacom de 990 Tc Hospital Clinico Provincial. Barcelona', CIERAT. Doc. Tec. 1992. 18p (p7 -9).~~
41. ~~Gil RC. DiseRo de radio &&&& cos. Farmacia centralizada. Chile Doc. Tec. 1992. 25p (p7 - 18).~~
42. ~~International Atomic Energy Agency. Preparation of kit for 994 Tc radiopharmaceuticals. Doc. Tot. 1992. 649p (p17 -18).~~

## XI I . ANEXOS

ANEXO 1

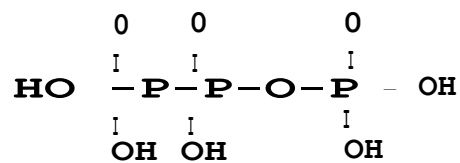
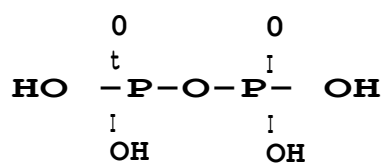
ESQUEMA DE UN GENERADOR DE  $^{99}\text{mTc}$   
(tornado do rrrrr anti& 6)



ANEXO 2

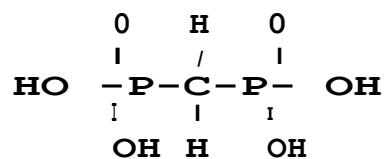
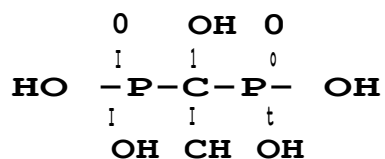
ESTRUCTURA DE COMPUESTOS DE DIFOSFONATO

(tornado de referencia 20, 34)



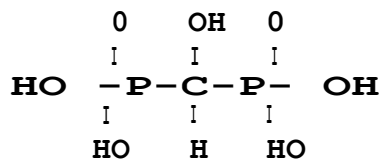
~~PIROFOSFATO~~

~~POLIFOSFATO~~



~~4-HIDROXY 1-METIL DIFOSFONATO~~

~~METIL ENDIFOSFONATO~~



HIDROXIMETILENDIFOSFONATO



ANEXO 3

ESQUEMA DE LA ORGANIZACION HISTOLOGICA DEL HUESO

(tornado de referencia 34)

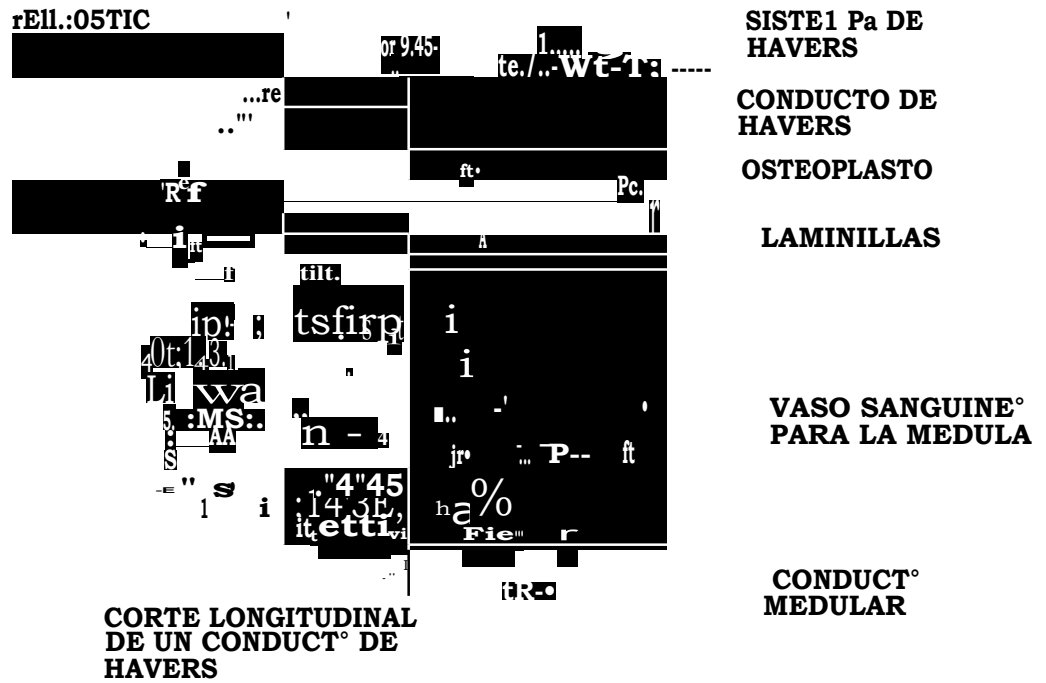


TABLA No. 1

Control de calidad radioquímico del radi AAAAAA co MDP/PIP  
realizado en papel ITLC - silica gel.

Tubo	Solvents acetona (cpm) *	Solvents NaCl al 85X (cpm) *
1	53212	164
2	48549	339
3	16	98
4	16	109
5	9	126
6	12	161
7	8	235
8	9	372
9	1	1900
10	10	6690
11	34	8371
12	13	33914
<b>TOTAL</b>	<b>101889</b>	<b>52479</b>
7. de marcación	99.87%	96.94%

\* cps. a cuentas por minuto.

TABLA No. 2

Control de calidad radiogulmico del radiothreaco ND. realized° en  
papal ITLC - silica gel.

Tubo	Solvent. acetona (cpe) t	Solvent. NaCl al 0.8511 (cpe) Z
1	87178	192
2	90497	436
3	61	230
4	39	594
5	41	372
6	47	419
7	25	569
8	46	553
9	47	1622
10	44	9230
11	37	30476
12	71	104851
<b>TOTAL</b>	<b>178181</b>	<b>149544</b>
<b>X de earcacifin</b>	<b>99.72%</b>	<b>97.75%</b>

i cpm. : Cuentas por sinuto.

TABLA No. 3

Control de calidad radioquímico del radiofarmaco PIP realized° en  
 papal ITLC - silica gel.

Tubo	Solvente acetona (cpm) S	Solvent. PIACI al 0.85% (cpm) i
1	124419	90
2	104647	95
3	603	100
4	190	90
5	216	115
6	368	225
7	190	209S
8	171	10496
9	160	6604
10	524	9553
<hr/>		
TOTAL	232488	37241
% de marcaciOn	98.78%	92.46X

\*coma cuentas por minuto.

TABLA No. 4

Promedio de porcentaje de actividad / g de organo obtenido.

tiempo	Organs,	Radicrfirmaco		
		MDP	PIP	MDP/PIP
	higado	5.36	6.78	3.75
	sangre	14.24	23.60	11.22
	hueso	36.98	32.64	24.37
30 minutes	Ninth	31.26	23.96	22.22
	GIS	11.54	7.90	21.28
	higado	13.85	4.96	3.76
	sangre	9.41	14.63	5.59
	hasp	61.01	41.25	54.99
	rinbn	15.65	18.82	20.91
120 "	GI	8.59	17.28	14.09
	higado	5.12	4.20	3.76
	sangre	3.36	6.10	2.96
180 "	hueso	56.80	51.45	59.29
	rinbn	23.07	47.05	11.95
	GI	8.57	9.96	21.21
	higado	3.30	5.81	5.80
	sangre	2.29	8.74	4.93
	hueso	68.85	45.05	42.38
240 "	riRth	12.81	18.65	17.22
	GI	11.27	18.13	28.27

It GIs tuba gastrointestinal

TAMA No 5

Análisis de varianza para un diseño factorial de 3 x 4 x 5 para radiofármaco-tiempo-órgano.

Fuente	GL	CM	F	P
Radiofármaco (A)	2	6.783	0.112	0.8944
Tiempo (B)	3	18.570	0.306	0.8212
Órgano (C)	4	5102.575	83.999	0.0001!
AB	6	13.510	0.222	0.9689
AC	8	162.609	2.677	0.00971
BC	12	195.554	3.219	0.0005i
ABC	24	41.166	0.678	0.8647
Error	120	60.746		

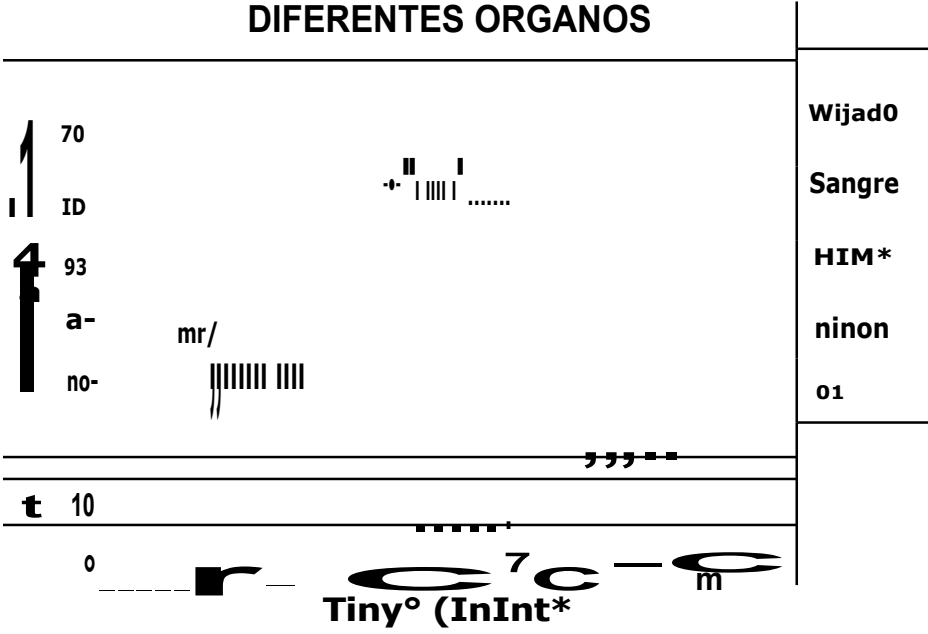
GL: grados de libertad

CM: cuadrado medio

F: estadístico de prueba.

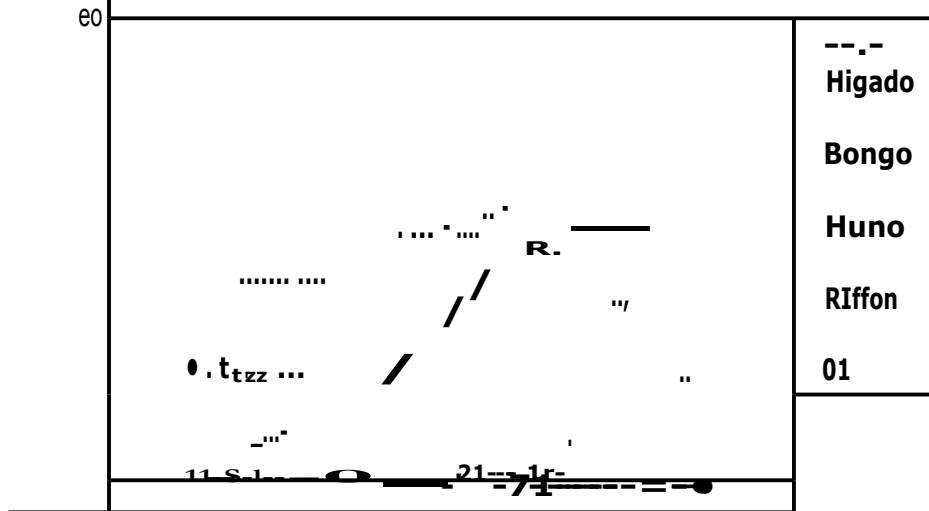
i : probabilidad menor de 0.05

### BIODISTRIBUCION DEL MDP EN LOS DIFERENTES ORGANOS



GRAFICA NO. 3

### BIODISTRIBUCION DEL PIROFOSFATO EN LOS DIFERENTES ORGANOS

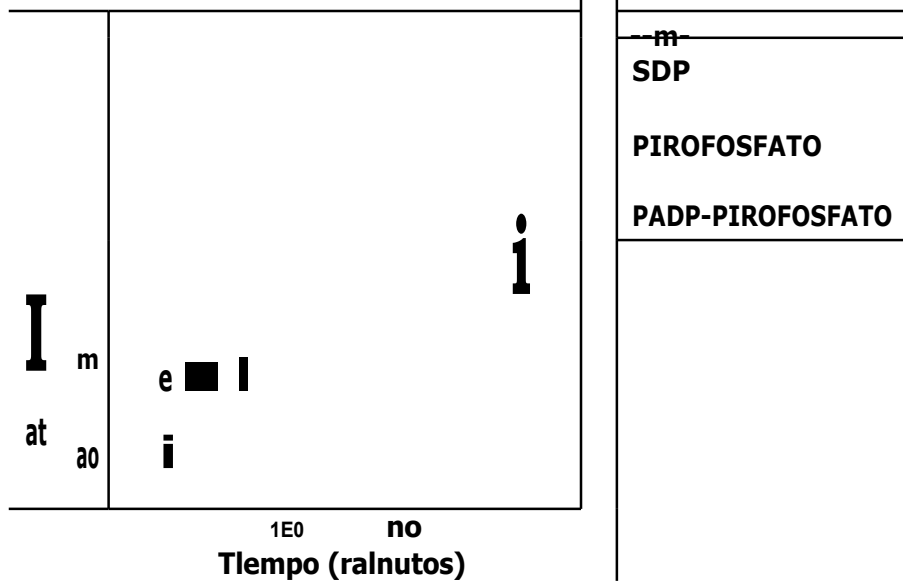


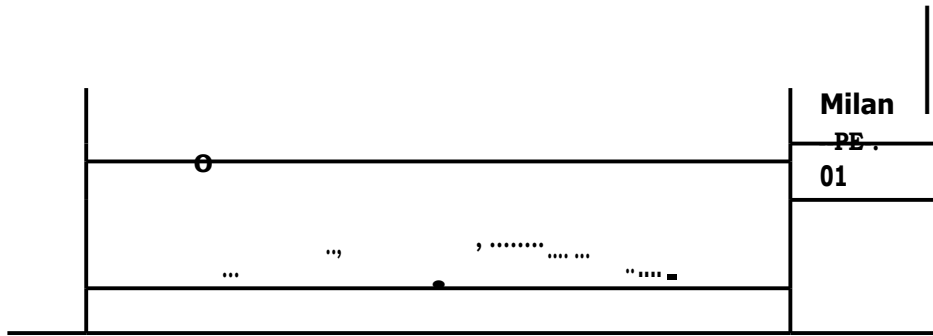
nap° 01010005)



GRAFICA NO. 4

### COMPARACION DE LOS RADIOFARMACOS SEGUN LA MARCACION DE HUESO EN EL TIEMPO





**Radlotirmaoca**

**6<sub>2</sub>**

•

\_\_\_\_\_

**0001** Sprintler **5 Anchez**  
**RESISTA**

**0001** **RESORA**

**07** **IAA**  
**Lic. G** **eve Gmi** **Ian**

**Directi**  
**Escuele de** **mice** **BiolSgice**

**1** **J."**  
**Ueda.** **„,c21 7|19** **e Avila**  
**P** **ano**