

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

PRODUCCION DE DMS MARCADO CON  $^{99m}\text{Tc}$  (V) PARA LA  
RADIOLOCALIZACION DE TUMORES DE CUELLO

Informe final de Tesis

Presentado por

Alba del Carmen Bran Vallejo

Para optar al Titulo de

QUIMICO BILOGO

Guatemala, febrero de 1994

PROYECTO DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
Biblioteca Central

D.L.  
06  
T(1472)

JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE  
CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA  
DE LA  
UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

DECANA	Licda. Clemencia Gálvez de Avila
SECRETARIO	Lic. Jose Francisco Monterroso Salinas
VOCAL I	Lic. Jorge Rodolfo Pérez Folgar
VOCAL II	Licda. Thelma Esperanza Alvarado de Gallardo
VOCAL III	Lid. Miguel Orlando Garza Sagastume
VOCAL IV	Br. Marwin Estuardo Jimenez Bojorquez
VOCAL V	Br. Sergio Arturo Almengor Corzo

DEDICO ESTA TESIS

A DIOS

Fuente de vida y amor

A LA VIRGEN MARIA

Por su ejemplo de sencillez y amor

A MIS PADRES

Ing. Guillermo E. Bran Bran  
Alba L. Vallejo de Bran. Por su amor, comprensión y apoyo incondicional.

A MIS HERMANOS

Guillermo y Sandra

A MI ESPOSO

Ing. Victor Hugo Avilés con todo mi corazón y amor.

A MIS HIJAS

Maria Andrea y Maria Pamela con amor

A MIS ABUELITOS

Miguel Angel, Carmen, Mariano e Inés.

A MIS AMIGOS DE PROMOCION

## AGRADECIMIENTOS

Agradezco a las personas e instituciones que hicieron posible la elaboración de esta tesis, en especial

A mi asesora Licda. Diana Freire de Nave por su apoyo

Al personal del departamento de Radiofarmacia de la Dirección General de Energía Nuclear.

## INDICE

I. Resumen.....	1
II. Introducción.....	3
III. Antecedentes.....	4
IV. Justificaciones.....	16
V. Objetivos.....	17
VI. Hipótesis.....	18
VII. Materiales y Métodos.....	19
VIII. Resultados.....	26
IX. Discusión de Resultados.....	35
X. Conclusiones.....	37
XI. Recomendaciones.....	38
XII. Referencias.....	39
XIII. Anexos.....	42

## I. RESUMEN

El desarrollo alcanzado en el diagnóstico por imágenes por centellografía ha contribuido a facilitar el diagnóstico rápido y seguro de tumores en cualquier región del organismo. Para el efecto es necesaria la producción de fármacos que puedan ser marcados con radionúclidos que permitan obtener imágenes claras.

El presente estudio consistió en evaluar dos formulaciones distintas para preparar un fármaco, ácido dimercaptosuccinico (DMSA), que pueda emplearse en la radiolocalización de tumores de cuello al ser marcado con  $^{99m}\text{Tc}$  (Tecnecio 99 metaestable).

Ambas formulaciones (A y B) incluyen los mismos componentes (solución de  $^{99m}\text{TcO}_4^-$ , agua destilada,  $\text{NaHCO}_3$ , ácido dimercaptosuccinico, y  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ), la formulación B incluye además glucosa.

De cada formulación se realizaron cinco producciones diferentes; a cada una de las formulaciones se les evaluó la pureza radioquímica por medio de cromatografía en capa fina; para el efecto se escogió un frasco al azar de cada producción. Los resultados obtenidos demostraron que no existe diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0.05$ ) en los porcentajes de marcación de las dos formulaciones, y que hay reproducibilidad entre las diferentes producciones. Así mismo se concluye que las producciones se realizaron bajo buenas prácticas de manufactura, ya que se efectuó un control microbiológico, el cual fue negativo en todos los casos; con los estudios de biodistribución realizados en

animales de laboratorio se determinó que la formulación B presenta un porcentaje de captación mayor por la tiroides (órgano de interés), probablemente debido a que la glucosa facilita el transporte del complejo formado a través de la membrana; con esto se concluye que la formulación B es la de elección y por lo tanto se recomienda su uso para el diagnóstico de tumores de cuello. Así mismo se puso de manifiesto que este radiofármaco es captado a nivel óseo por lo que se recomienda hacer estudios al respecto para el posible uso de éste en el diagnóstico de ciertos tumores a este nivel.

Finalmente se determinó que la excreción de ambas formulaciones es a nivel renal.

## II. INTRODUCCION

La medicina nuclear ha sido definida como una especialidad multidisciplinaria dedicada al uso de compuestos radiactivos en diagnóstico y terapia (1).

Los grandes avances de esta disciplina implican mayor necesidad de diseñar radiofármacos cada vez más específicos que permitan realizar exámenes de manera segura y efectiva.

Para formular un nuevo radiofármaco, es necesario revisar criterios y características que deben cumplirse, con el fin de asegurar si aquellos que se están utilizando son satisfactorios o es necesario rediseñarlos para que reúnan las características del radiofármaco ideal para un determinado examen o estudio.

En el presente trabajo de investigación se evaluaron dos formulaciones distintas para la producción del complejo Acido Dimercaptosuccinico marcado con Tecnecio 99 metaestable (DMSA-<sup>99m</sup>Tc V) a pH básico con el objetivo de establecer cuál de ellas es la mejor para el diagnóstico centellográfico de tumores de cuello; así mismo se comparó su biodistribución con respecto al DMSA-<sup>99m</sup>Tc IV a pH ácido usado en centellografia renal y cuyos órganos blanco son riñon y cerebro.



### III. ANTECEDENTES

#### A. Tecnecio 99 metaestable

##### 1. Historia del Tecnecio

Al diseñar Mendelejew la tabla periódica de los elementos químicos, dejó varios lugares vacíos y predijo que los dos espacios por debajo del manganeso, correspondientes a los números 43 y 75 serían ocupados por elementos parecidos a éste y también entre sí (2).

En 1928 se identificó el elemento químico con el número atómico 43, y fue denominado con el nombre de tecnecio. Este nombre viene del griego Technetos o artificial, debido a que fue el primer elemento químico artificial que se produjo.

Uno de los hallazgos más interesantes en el campo de la radioquímica farmacéutica ha sido la demostración de que la mayoría de los radiofármacos de Tecnecio 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 radiofármaco (3).

##### 2. Generadores

Un generador de radioisótopos de período corto consta de un radionúclido padre de período de semidesintegración relativamente largo, el cual al desintegrarse promueve la aparición del radionúclido hijo de período de semidesintegración corto.

El nuevo elemento producido puede separarse por elución y utilizarse con fines diagnósticos, mientras que el elemento padre permanece en el generador. La elución puede generarse varias veces al día. Generalmente los generadores conocidos en la práctica como ordeñadores, son estériles y por ello el eluido que se obtiene puede utilizarse inmediatamente.

El generador de Molibdeno 99 ( $^{99}\text{Mo}$ ) - Tecnecio 99 metaestable ( $^{99\text{m}}\text{Tc}$ ), consta de una columna, generalmente de alúmina ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ) impregnada de  $^{99}\text{Mo}$ . La separación del  $^{99}\text{Mo}$ , se realiza por simple elución con solución salina isotónica y estéril, a través de la columna (4).

La facilidad de obtener el  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  a partir de generadores ha permitido la incorporación de Tecnecio en gran variedad de ligandos generando la producción de muchos radiofármacos con diferentes afinidades hacia los tejidos. Así como la versatilidad del Tecnecio para producir cambios en su estado de oxidación, número de coordinación, geometría y conformación, es una gran ventaja para el diseño y síntesis de diversos radiofármacos, entre ellos el complejo polinuclear  $^{99\text{m}}\text{Tc(V)}\text{-DMS}$ , como un nuevo radiofármaco tumoral, definido así por su empleo en la radiolocalización de procesos tumorales (2,5,6).

### 3. Características Químicas del $^{99\text{m}}\text{Tc}$

Todos los radionúclidos del tecnecio son radiactivos, con periodos de semidesintegración desde 5 segundos ( $^{99\text{m}}\text{Tc}$ ) hasta  $2.6 \times 10^6$  años ( $^{97}\text{Tc}$ ). Toda la aplicación biomédica

del tecnecio se basa en el empleo del isótopo  $^{99m}\text{Tc}$  (5).

Posee estados de oxidación que van desde -1 a +7 siendo los estados inorgánicos más estables el ión pertecneciato ( $\text{TcO}_4^-$ ) con valencia +7 y dióxido de tecnecio ( $\text{TcO}_2$ ) con valencia +4. Los restantes estados de oxidación son más inestables y difíciles de obtener, presentándose principalmente bajo forma de complejos de coordinación (7).

#### 4. Características Físicas del $^{99m}\text{Tc}$

Su periodo de semidesintegración es de 6.04 horas y la ausencia de emisión beta permite la administración de cantidades del orden de mCi (millicurie) sin que esto signifique una dosis de radiación significativa para el paciente. Sus emisiones gamma presentan una adecuada penetración a los tejidos, pueden ser detectados con alta eficiencia con detectores de NaI activados con Talio y facilitan la obtención de imágenes centellográficas con una buena resolución usando colimadores de bajo espesor (8).

Todas estas características, son la razón de que un alto porcentaje de los radiofármacos utilizados actualmente en medicina nuclear, son compuestos marcados con  $^{99m}\text{Tc}$ , ya que sus propiedades son altamente favorables en aplicaciones clínicas tanto para la obtención de imágenes como para estudios dinámicos (9,10).

Como se mencionó con anterioridad, otra gran ventaja que presenta el  $^{99m}\text{Tc}$  es que puede ser obtenido fácilmente a nivel de clínicas de medicina nuclear en forma estéril, libre de pirógenos y sin portador, por elución de generadores de  $^{99m}\text{Mo} - ^{99m}\text{Tc}$  (2,9-12).

## B. Radiofármacos de $^{99m}\text{Tc}$

Cuando se tiene un sistema cerrado como lo es el organismo humano, se presenta el problema de conocer qué sucede dentro de él al inyectar moléculas que serán procesadas dentro de dicho sistema.

Si se pudiera medir o contar las moléculas que salen, se podría tener información para analizar lo que sucede dentro del sistema durante el proceso. Este agente del cual se puede conocer su trayectoria y transformación dentro del sistema se le denomina trazador. Si ha sido marcado con un radionúclido se llama radiotrazador y si se utiliza con fines de diagnóstico o terapia, Radiofármaco (1).

Un radiofármaco está formado por dos componentes, un radionúclido y un fármaco.

El radionúclido a usar se elige de acuerdo a sus características físicas; entre ellas, periodo de semidesintegración, energía de emisión, tipo de emisión; así mismo debe presentar características químicas que le permitan reaccionar con diferentes compuestos, formando complejos utilizables como trazadores.

Las características físicas del radionúclido influyen en la dosis de irradiación tanto del paciente como del operador, es por ello que debe elegirse de acuerdo a su localización en el organismo y su participación en procesos fisiológicos; la posibilidad de ser marcado sin alterar las propiedades biológicas de la molécula y no deben ser tóxicos.

En base a lo anterior, un radiofármaco puede ser definido como toda sustancia química de naturaleza orgánica o inorgánica, que dentro de su estructura contiene átomos radiactivos, los cuales presentan desintegración espontánea con emisión de fotones o partículas nucleares y se utilizan con fines de diagnóstico y terapia al ser administrados a seres humanos (1,3).

Las características principales de un radiofármaco son:

1. Debe presentar las características de todo compuesto inyectable en seres humanos (no tóxico, apirógeno y estéril).
2. Debe ser emisor gamma puro.
3. La actividad específica (act/gr) debe ser alta con el fin de obtener un promedio de conteo alto en pequeño volumen y masa inyectable.
4. Deben ser solubles en agua idealmente y permanecer solubles al mezclarse con fluidos del organismo.
5. Deben ser estables, tanto in vitro como in vivo.
6. La distribución biológica de un radiofármaco es la característica que permite establecer su utilidad para estudios funcionales u obtención de imagen estática. Su estabilidad in vivo puede verse afectada al unirse a proteínas del plasma o células después de ser inyectado. Preferentemente debe permanecer como compuesto libre y unirse a proteínas o células al concentrarse en el órgano blanco.
7. La depuración sanguínea debe ser alta pues está directamente relacionada con la velocidad de concentración

en el órgano blanco que influye en el tiempo necesario para realizar el examen.

8. Debe ser de bajo costo y fácilmente disponible en los centros de medicina nuclear.

1. **ACIDO 2,3 DIMERCAPTOSUCCINICO (DMSA):**

El ácido 2,3- dimercaptosuccinico o ácido 2,3- dimercaptobutanodiólico de peso molecular 182.21 se ha utilizado en medicina nuclear como agente quelante en envenenamiento por metales pesados.

Por ser un buen agente quelante se ha marcado con tecnecio; el complejo se forma rápida y fácilmente añadiendo el pertecneciato a un juego de reactivos compuesto por el ácido dimercaptosuccinico, y un reductor que hace que el tecnecio pase de valencia +4 a valencia +7 ( $Tc^{+4} \rightarrow Tc^{+7}$ ) acelerando la reacción de formación del complejo; generalmente se usa cloruro estanoso dihidratado (5,11,12).

El complejo  $^{99m}Tc$ -DMSA es uno de los radiofármacos más usados para evaluar la función renal por medio de la centellografía, ya que se prepara en condiciones ácidas lo que facilita su excreción a nivel renal; así mismo puede ser empleado en centellografía cerebral (13 - 16).

2. **ACIDO 2,3 - DIMERCAPTOSUCCINICO (DMS):**

La preparación del ácido dimercaptosuccinico marcado con Tecnecio es un claro ejemplo de cómo influyen en el comportamiento biológico del radiofármaco la variación de sus componentes (agente quelante, Estaño II y Tc) y el pH del medio, principalmente (3).

En 1976 se demostró que en la reacción del pertecneiato con el ácido dimercaptosuccinico (DMSA) en presencia de cloruro estanoso, se pueden formar dos complejos diferentes según se modifiquen las condiciones de preparación, especialmente el pH. La estructura de los compuestos formados determina su biodistribución; así el obtenido a pH ácido (1 - 4) muestra acumulación renal y el preparado a pH neutro o alcalino se elimina más rápidamente por la orina. Es interesante que los complejos DMSA/Sn<sup>2+</sup> son interconvertibles entre sí, pero una vez que se añade el tecnecio ya no se modifican al hacer cambios de pH (5,11,17).

Cuando el ácido dimercaptosuccinico es marcado con <sup>99m</sup>Tc a pH alcalino y baja concentración de SnCl<sub>2</sub> se obtiene un radiotrazador pentavalente de tecnecio que es diferente al ya conocido DMSA-<sup>99m</sup>Tc renal (9,18).

Este complejo ha sido muy estudiado en los últimos años y se le ha llamado complejo DMSA al que se prepara en medio ácido y se acumula en el riñon y DMS (sin la "A" que implica acidez) al complejo preparado en medio neutro o alcalino (5).

Actualmente se sabe que el complejo DMSA, tiene el tecnecio como Tc(IV) y que en el preparado en condiciones neutras o alcalinas en presencia de cantidades estrictamente controladas de estaño, el ligante se une al Tc(V)O<sub>4</sub><sup>3-</sup> y que se forma un complejo polinuclear, el Tc(V) -DMS. Este radiofármaco participa en el proceso metabólico de células

en división y en el proceso de maduración de osteocitos. El  $^{99m}\text{Tc(V)}\text{-DMS}$  es designado como un complejo polinuclear pentavalente del tecnecio que ha mostrado en los últimos tiempos una gran aplicación clínica, usándose con éxito en la gammagrafía de cáncer medular de tiroides, tumores de tejido blando y otros tumores de cabeza y cuello (3,5,9,19-23).

Se ha postulado la teoría de que al inyectar el DMS preparado en medio alcalino se diluye en el torrente circulatorio y que se forma el complejo polinuclear que puede penetrar a las células, por medio de unión a las proteínas del citosol y a la mitocondria, teniendo una menor extensión al núcleo y microsomas; así mismo se ha sugerido que puede unirse a los componentes sanguíneos como la glucosa que facilitan su entrada al sitio del tumor, pero que una vez dentro ya no puede difundir al exterior; este hecho es una gran ventaja en gammagrafía porque el tumor queda con más radiactividad que el tejido circundante y se delimita mejor (5).

Muchas posibilidades han sido consideradas en busca de una explicación de la localización de este complejo en tumores malignos; entre ellos se ha sugerido una unión no específica, sin embargo los mecanismos de su unión a células malignas aún están bajo estudio (20).



## D. Métodos de Evaluación de la Garantía de la calidad de los Radiofármacos

### 1. Pureza Radioquímica

La pureza radioquímica de un preparado es el porcentaje de actividad del radionúclido en la forma química establecida en relación a la actividad total presente de dicho radionúclido; constituye un factor determinante de la reproducibilidad de un procedimiento diagnóstico ya que si bien las impurezas radioquímicas rara vez ocasionan reacciones tóxicas, pueden alterar la biodistribución de la preparación radiofarmacéutica (24-26).

Durante el almacenamiento de un radiofármaco, su pureza radioquímica puede verse afectada por el fenómeno de radiólisis. La magnitud de la misma varía con el tipo y energía de la radiación emitida, actividad específica de la preparación y periodo de semidesintegración del radionúclido. También puede ocurrir descomposición química independiente de la radiactividad, siendo función de variables tales como temperatura, luz, pH, oxígeno, solventes, etc (27).

Su determinación puede realizarse por métodos tales como precipitación, extracción por solventes, destilación, electroforesis y cromatografía, siendo los dos últimos los de elección por su versatilidad, facilidad y rapidez de realización.

Los límites de pureza radioquímica no deben ser tratados en términos abstractos, su establecimiento depende del uso específico de la preparación radiofarmacéutica y del

comportamiento biológico de las impurezas, siendo en algunos suficiente un criterio del 90% y en otros no aceptable un nivel menor del 97% (28).

## **2. Controles Biológicos**

### **a. Esterilidad**

La producción de un inyectable debe realizarse tendiendo a evitar la posible contaminación con microorganismos más que destruirlos posteriormente (28,29).

Los métodos más utilizados en el área radiofarmacéutica, son aquellos que emplean métodos físicos tales como calor seco o húmedo y filtración, así como la realización de procedimientos asépticos, a partir de reactivos estériles (29).

El control de esterilidad se realiza con volúmenes de inoculación reducidos en cada medio de cultivo (0.1 - 0.2 ml).

### **b. Apirogenicidad**

La prueba recomendada por la Farmacopea de los Estados Unidos, (USP XXII) para la detección de pirógenos en soluciones parenterales involucra la medición del incremento de la temperatura en conejos después de la inyección intravenosa de la solución estéril que es objeto de estudio. En la actualidad esta prueba puede ser sustituida por la del lisado de amebocito de limulos (LAL), descrita en la Farmacopea de los Estados Unidos (USP XXII) que involucra la detección de endotoxinas bacterianas.

El reactivo de pirógenos de LAL es un lisado de

amebocitos de Limulus polyphemus, un liofilizado de la endotoxina de E. coli y agua estéril libre de endotoxinas (30).

La prueba consiste en una reacción de gelificación en presencia de endotoxina que es iniciada enzimáticamente. Se cree que el mecanismo de la reacción envuelve la precoagulación de una enzima por  $Ca^{+2}$  y la endotoxina.

Hay que tener en cuenta varias sustancias que podrían interferir en la prueba, como serían: soluciones alcohólicas que pueden precipitar el lisado y producir partículas en suspensión; una concentración alta de proteínas que puede formar geles sin endotoxina y los iones  $Ca^{+2}$  que forman geles en presencia de endotoxinas.

### 3. Controles no Rutinarios: Distribución Biológica en animales de experimentación

El estudio de distribución biológica de un nuevo agente de diagnóstico es esencial para el establecimiento de su eficacia y utilidad. Permite investigar el comportamiento del compuesto marcado desde el momento de su administración y obtener datos cuantitativos farmacocinéticos (26).

El objetivo de esta evaluación preclínica es estimar cuál será la utilidad diagnóstica potencial en humanos, a partir de los resultados obtenidos en un modelo animal. Por lo tanto es evidente que la elección del modelo es de gran importancia. Las diferencias entre especies anatómicas y/o funcionales, pueden interferir en las etapas de absorción, distribución, metabolismo, excreción y/o interacción del compuesto marcado con el receptor (26).

La utilidad del estudio de biodistribución en animales de experimentación, no se limita a la etapa de investigación y desarrollo; constituye un control de rutina para centros de producción de juegos de reactivos, contribuye a la determinación de la vida útil de los mismos, ya que muchas veces las técnicas fisicoquímicas convencionales no son capaces de detectar degradación de estos precursores, especialmente en etapas tempranas de descomposición; representa un control de pureza radioquímica si las impurezas poseen una biodistribución diferente a la del radiofármaco.

#### IV. JUSTIFICACIONES

En la actualidad tanto la medicina nuclear como la radiofarmacia, han alcanzado un gran desarrollo, constituyendo ambas especialidades una considerable ayuda para el médico clínico tanto en el desarrollo de nuevos tratamientos contra diversas enfermedades, como también en la realización de estudios fisiológicos que contribuyen al estudio morfológico y funcional de los diferentes órganos del cuerpo; así mismo en la actualidad se ha experimentado un gran desarrollo en el campo diagnóstico por imágenes, por centellografía, contribuyendo a la radiolocalización de tumores en cualquier región del organismo. Para tal efecto es necesario el empleo de fármacos marcados con un radioisótopo que permita obtener imágenes claras, que contribuyan a la rápida detección de procesos malignos.

El principal objetivo de este trabajo de investigación es la producción del complejo  $^{99m}\text{Tc-DMS}$  para su empleo en la localización de tumores de cuello permitiendo su disponibilidad en el Hospital General San Juan de Dios y logrando reducir los costos del mismo para que sea de fácil acceso a la población guatemalteca.

## V. OBJETIVOS

### A. GENERAL

Producir el complejo  $^{99m}\text{Tc(V)}\text{-DMS}$  para su empleo en el diagnóstico y radiolocalización de tumores de cuello.

### B. ESPECIFICOS

1. Elegir la mejor formulación para la producción de DMS y su posterior marcación con  $^{99m}\text{Tc}(\text{V})$ .
2. Elaborar la metodología que garantice su calidad por medio de controles microbiológicos, radioquímicos y distribución biológica en animales.

## VI. HIPOTESIS

- A. Para la producción del complejo  $^{99m}\text{Tc}$  (V)-DMS es mejor la formulación B, que emplea glucosa, con respecto a la formulación A que no incluye dicho componente.
- B. Existe diferencia significativa en cuanto a la biodistribución del  $^{99m}\text{Tc}$ -DMSA, cuya afinidad es mayor hacia el riñón, y el  $^{99m}\text{Tc}$  (V)-DMS, cuya afinidad es mayor hacia el tejido de la tiroides.

## VII. MATERIALES Y METODOS

### A. UNIVERSO DE TRABAJO:

Ratones de laboratorio.

Reactivos para la formulación del radiofármaco.

### B. MEDIOS:

#### 1. RECURSOS HUMANOS

Investigadora: Alba del Carmen Bran Vallejo.

Asesora: Diana Freire de Nave.

Personal profesional y técnico del departamento de Radiofarmacia de la Dirección General de Energía Nuclear (DGEN).

#### 2. RECURSOS INSTITUCIONALES:

Laboratorio de Radiofarmacia de la Dirección General de Energía Nuclear.

#### 3. RECURSOS MATERIALES:

##### a. Equipo:

- Liofilizadora (Lab-Conco).
- Balanza Analítica (Metler AE 100)
- Potenciometro (Fisher).
- Campana de flujo laminar horizontal (Lab-Conco).
- Autoclave (Fisher).
- Refrigeradora (Cetron).
- Computadora (EPSON).
- Contador tipo pozo de centelleo sólido con cristal de yoduro de sodio activado con Talio (Ortek).
- Radiocromatógrafo (Berthold).



- Incubadora (Lab-Conco).
- Balanza para animales de laboratorio (METLER).
- Calibrador de dosis con detector tipo gaseoso (VICTOREEN).
- Plancha agitadora con calefacción (Fisher).

**b. Materiales:**

- Jeringas de 1 y 5 cc.
- Agujas números 21 y 23.
- Filtros Millipore de 0.22  $\mu$ m de diámetro (Sartorius).
- Viales de vidrio de Borosilicato tipo 1 de color ámbar.
- Tapones para liofilizar.
- Etiquetas.
- Frascos tipo Pyrex de 250 ml.
- Tubos de ensayo.
- Selladora.
- Varillas de agitación.
- Vidrios de reloj.
- Beaker de 150 ml.
- Algodón.
- Tijeras.
- Equipo de disección.
- Jaulas para ratones.
- Cubas cromatográficas.
- Papel cromatográfico ITLC impregnado con sílica gel (GELMAN).

**c. Reactivos:**

- Acido dimercaptosuccinico (SIGMA).
- Cloruro estanoso dihidratado (MERCK).
- Bicarbonato de sodio.
- Agua destilada apirógena.
- Solución de cloruro de sodio al 0.85% apirógena.
- Nitrógeno gaseoso.
- Generador de  $^{99}\text{Mo}$  -  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ . (Amersham)
- Caldo tripticasa soya (BBL).
- Caldo tioglicolato (BBL).
- Agar Sabouraud (BBL).
- Butanol
- Glucosa.
- Acetona.

**C. PROCEDIMIENTOS**

**1. Formulaciones del DMS:**

**a.  $^{99\text{m}}\text{Tc(V)}\text{-DMSA}$ : (FORMULA A)**

**i. Materiales:**

Solución de  $^{99\text{m}}\text{TcO}_4^-$  - Agua destilada hervida y desoxigenada con nitrógeno.

**ii. Solución a:**

Disolver 0.84 gr de  $\text{NaHCO}_3$  en 100 ml de agua destilada.

**iii. Solución b:**

Disolver 1.1 mg de DMSA en 20 ml de solución a.

iv. Solución c:

Disolver 2.25 mg de  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  en 1 ml de HCl  
0.1 N y desoxigenar con nitrógeno durante 15 minutos.

v. Marcación:

En un frasco tipo penicilina agregar 2 ml de  
solución b y 0.1 ml de solución de  $^{99\text{m}}\text{TcO}_4^-$ .

Ajustar el pH a 8.5

Burbujear nitrógeno durante 15 minutos.

Agregar 20  $\mu\text{l}$  de solución c. Burbujear nitrógeno  
durante 15 minutos.

Pasar por filtro Millipore de 0.22 $\mu\text{m}$  a un frasco  
estéril.

b.  $^{99\text{m}}\text{Tc(V)}\text{-DMSA}$ : (FORMULA B)

i. Solución a:

Disolver 1.20 mg de  $\text{NaHCO}_3$  en 100 ml de  $\text{H}_2\text{O}$

ii. Solución b:

Disolver 1.36 mg de DMSA en 20 ml de  
solución a y agregar 30 mg de glucosa.

iii. Solución c:

Disolver 0.11 mg de  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  en 1 ml de HCl  
0.1 N y desoxigenar con nitrógeno durante 15 minutos.

iv. Marcación

Agregar 0.1 ml de solución estéril libre de  
pirógenos de  $\text{NaHCO}_3$  al 7% a 2.3 ml de  
 $^{99\text{m}}\text{TcO}_4^-$ .

## 2. Determinación de la calidad de los radiofármacos:

### a. Pureza Radioquímica: (24)

Colocar el solvente en la cámara cromatográfica, hasta llegar a una altura de 1 - 2 cm del fondo del recipiente, tapar y dejar saturar la cámara.

Cortar el soporte en tiras de aproximadamente 1.5 x 12 cm, trazar una línea discontinua con lápiz de grafito a 1.5 cm de uno de los extremos y otra línea a 9.5 cm de la línea que marca el punto de aplicación.

Aplicar la muestra en la línea de origen tratando de no tocar la superficie. El área de la misma debe ser lo menor posible (diámetro máximo de 0.5 cm).

Colocar la tira cromatográfica en la cámara cuidando que el borde inferior quede sumergido en el solvente y que el mismo no toque el punto de aplicación.

Cuando el solvente llegue a la línea que marca el frente, retirar la tira de la cámara y se deja secar.

Medir el cromatograma por el siguiente procedimiento:

- Cortar la tira en secciones de 1 cm comenzando desde 0.5 cm por debajo de la línea de aplicación de la muestra y medir cada uno de los segmentos en un contador de centelleo sólido. Determinar el fondo.

Determinación de la pureza radioquímica:

Ar

% PR = -----

Ar + Axl

% PR = porcentaje de pureza radioquímica

Ar = Actividad neta (considerando el fondo del cromatograma) del radiofármaco.

A<sub>ri</sub> = Actividad neta de la impureza (considerando el fondo del cromatograma).

**b. Distribución Biológica: (25)**

Se realizó en ratones de laboratorio cuyo peso fue de 18 - 25 g; cuyas condiciones de salud eran buenas. Los animales sometidos a cada experimento eran del mismo sexo, cepa y más o menos del mismo peso. Las formulaciones con <sup>99m</sup>Tc (V)-DMS no excedieron 0.1 ml. Cada formulación se inyectó via endovenosa en la vena marginal de la cola de estos animales. Después de 2 horas post-inyección, se sacrificó los animales por tracción cervical y se evaluó el porcentaje de marcación de riñones, hueso fémur, tiroides y cerebro.

**c. Esterilidad (24)**

En una campana de flujo laminar se sembró de 1 a 2 gotas del material en estudio, en caldo tripticasa soya (para microorganismos aerobios), caldo tioglicolato (para microorganismos anaerobios) y en agar Sabouraud (para hongos), y se incubó a 37°C durante 7 días para el primero y segundo medio; en el caso del agar Sabouraud, a temperatura ambiente durante 14 días. Se determinó visualmente la presencia de crecimiento microbiano, el cual se pone de manifiesto por turbidez en los dos primeros medios, y por la presencia de colonias fúngicas en el tercer medio.

### C. DISEÑO EXPERIMENTAL:

Para evaluar cuál de las formulaciones es mejor se llevó a cabo 5 producciones con un límite de error de 2s; de cada una de las producciones se hizo dos repeticiones de cada una de las fórmulas (A y B); a cada una de estas formulaciones se les realizó un control microbiológico y radioquímico, escogiendo un frasco al azar; los resultados fueron recopilados en una hoja de resultados previamente elaborada (Anexo I).

Se realizó el control de marcación de cada formulación para establecer si existe diferencia significativa entre éstas por medio de la prueba de "t de student"; debido a que los resultados obtenidos se expresaron en porcentaje se realizó la transformación a arco seno para minimizar el posible error al trabajar con porcentajes.

Para evaluar la distribución biológica de cada formulación se escogió al azar un frasco de cada producción el cual se inyectó en ratones de laboratorio; se trabajó con dos ratones por cada producción de ambas formulaciones, de modo que el número total de ratones fue de 20. Se sacrificó a los animales y se determinó el porcentaje de actividad en cada uno de los órganos de interés, transformándolo también a arco seno. Para el efecto se llevó a cabo un diseño factorial con bloques 2 x 3, en el cual los factores fueron las formulaciones y los órganos; siendo los bloques cinco diferentes producciones. Debido a que el porcentaje de actividad entre órganos fue diferente, se realizó comparaciones múltiples por la prueba de Fisher.

## VIII. RESULTADOS

Se llevaron a cabo dos formulaciones de DMSA sin glucosa y de DMSA con glucosa (A y B, respectivamente), de las cuales se realizaron cinco producciones que fueron liofilizadas; cada formulación incluye dentro de sus componentes ácido dimercaptosuccinico (DMSA),  $\text{NaHCO}_3$  y agua destilada; la formulación B incluye además glucosa. En base al análisis estadístico realizado (ANDEVA), se comprobó que no hay diferencia estadísticamente significativa entre las producciones por lo que son reproducibles ( $p < 0.05$ ).

Para evaluar la calidad de cada formulación se llevó a cabo el control de calidad respectivo:

Microbiológico sembrando un frasco de cada producción escogido al azar en caldo tripticasa soya (para microorganismos aerobios), caldo tioglicolato (para microorganismos anaerobios) y agar Sabouraud (para hongos); después de 10 días de incubación no se encontró crecimiento en ninguno de los tubos.

La pureza radioquímica de los fármacos producidos se evaluó mediante cromatografía en capa fina utilizando como solventes acetona y N- butanol; la media de los porcentajes de marcación obtenidos para cada formulación con acetona fue de  $96.09\% \pm 1.03$  y  $97.23 \pm 0.45$  para las formulaciones A y B, respectivamente (Tabla 1).

Con estos resultados se observa que no hay diferencia estadísticamente significativa entre ambas formulaciones en cuanto al porcentaje de marcación,  $p < 0.05$  (Gráfica 1). Con el N-butanol, no se obtuvieron resultados de separación.

Para evaluar la distribución biológica se trabajó con tres órganos distintos, tiroides, riñón y hueso; los porcentajes de captación obtenidos se transformaron a arco seno para minimizar el posible error al trabajar con porcentajes (Tabla 2). En la Tabla 3 se resumen los porcentajes de captación obtenidos al realizar las diferentes combinaciones de las formulaciones hechas con respecto a los órganos estudiados.

El análisis estadístico consistió en un análisis de varianza para un diseño factorial 2 x 3 con bloques con el cual se encontró que existe diferencia estadísticamente significativa en el porcentaje de captación de la tiroides (órgano de interés), con respecto a los otros dos órganos estudiados,  $p < 0.05$  (Tabla 4).

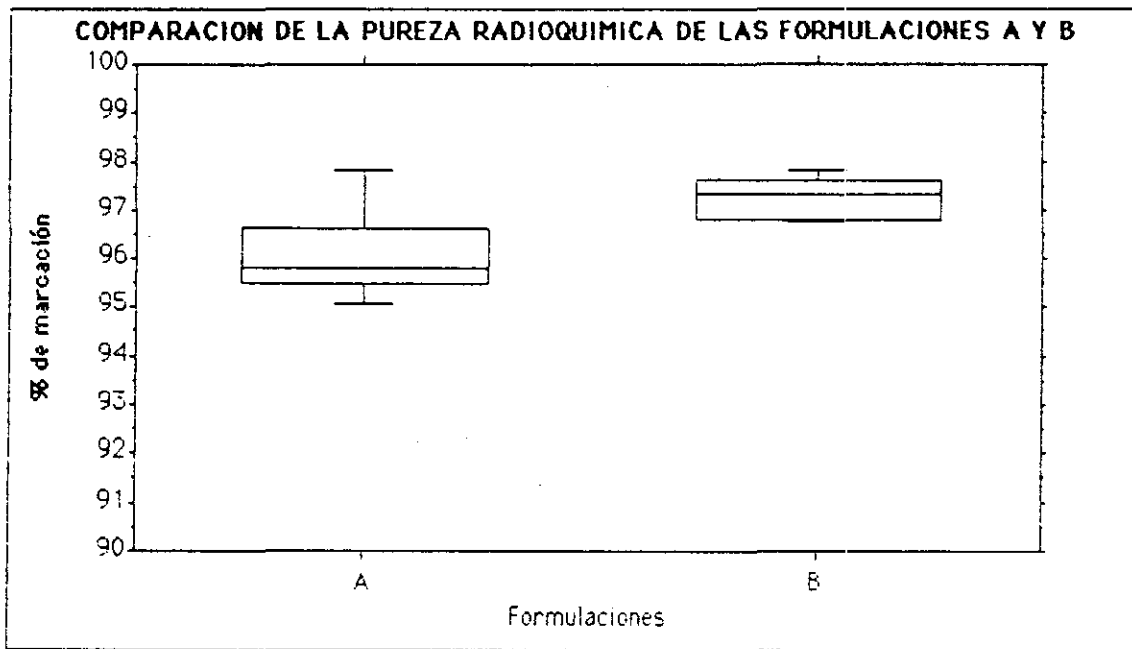
Debido a que se encontró esta diferencia se realizaron comparaciones múltiples por la prueba de Fisher con la cual se demostró que hay diferencia estadísticamente significativa en los porcentajes de marcación de tiroides respecto a hueso y riñón,  $p < 0.05$  (Tabla 5). Así mismo en la gráfica 2 se pone de manifiesto que hay diferencia en los porcentajes de captación de cada órgano dependiendo de la formulación empleada, ya que se llevaron a cabo diferentes interacciones o combinaciones para comparar la capacidad de captación de cada órgano de acuerdo a la formulación empleada con lo que se demostró que es la formulación B la que presenta un mayor porcentaje de captación por la tiroides (Tabla 6).



**TABLA 1**  
**PUREZA RADIOQUIMICA UTILIZANDO ACETONA**  
**DE LAS FORMULACIONES A Y B**

PRODUCCION	FORMULACION A	FORMULACION B
1	97.80	96.77
2	95.10	97.50
3	95.57	96.80
4	96.20	97.80
5	95.80	97.30
PROMEDIO	96.09	97.23
DESV. ST.	1.03	0.45

GRAFICA 1

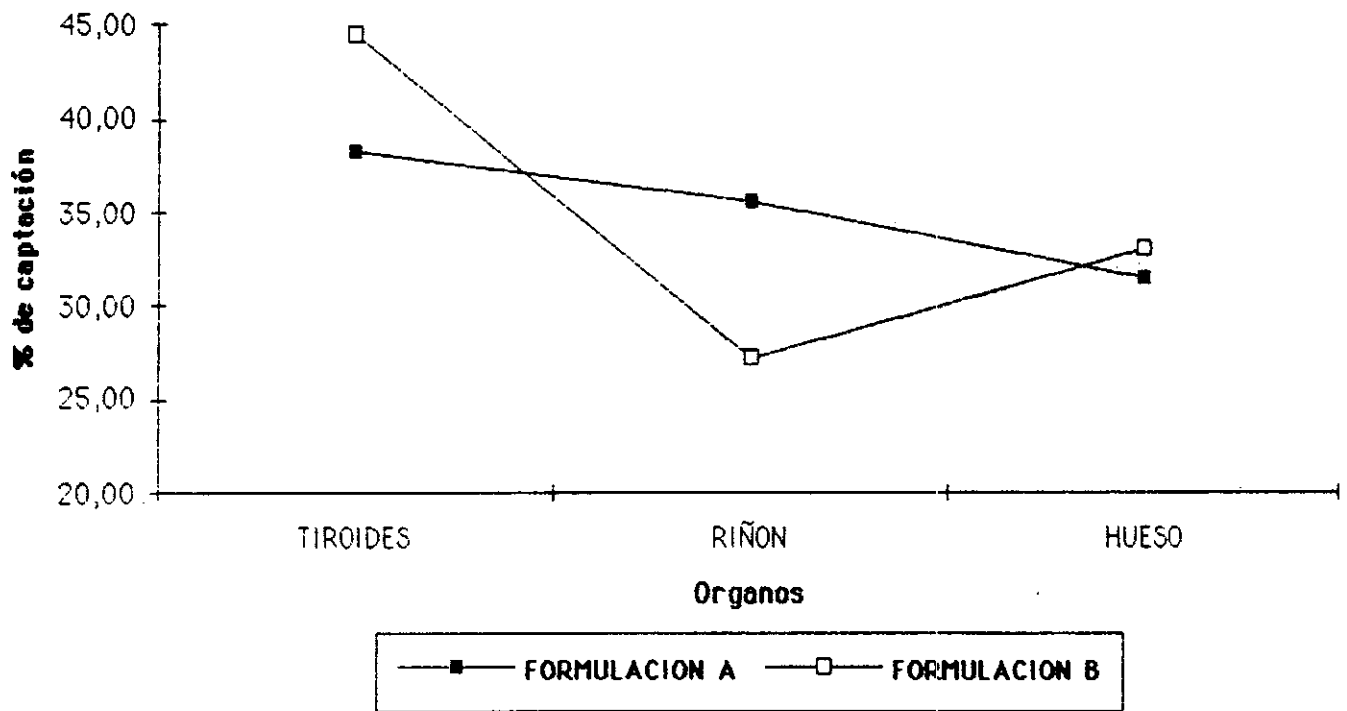


**TABLA 3**  
**PROMEDIO DE LOS PORCENTAJES DE CAPTACION OBTENIDOS**  
**EN LAS DIFERENTES COMBINACIONES ESTUDIADAS**

	<b>TIROIDES</b>	<b>RIÑON</b>	<b>HUESO</b>
<b>FORMULACION A</b>	38.31	35.56	31.52
<b>FORMULACION B</b>	44.45	27.26	33.01

## GRAFICA 2

### DIAGRAMA DE INTERACCION FORMULACION-ORGANOS



**TABLA 4**  
**ANALISIS DE VARIANZA DEL DISEÑO**  
**FACTORIAL 2X3 CON BLOQUES**

<b>FUENTE</b>	<b>SC</b>	<b>GL</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>
<b>Formulaciones (A)</b>	0.74	1	0.74	0.04
<b>Organos (B)</b>	1222.46	2	611.23	29.92*
<b>AXB</b>	542.76	2	271.38	13.28*
<b>Bloques</b>	0.59	4	0.15	0.01
<b>Error</b>	1021.51	50	20.43	
<b>Total</b>	2788.06	59		

\*p<0.05

**TABLA 5**  
**COMPARACIONES MULTIPLES CON LA PRUEBA**  
**DE FISHER (LSD) DE LOS ORGANOS ESTUDIADOS**

ORGANOS	DIFERENCIA	LSD
Tiroides-Riñón	9.98*	2.89
Tiroides-Hueso	9.12*	2.89
Riñón-Hueso	0.86	2.89

\*p<0.05

**TABLA 6**  
**COMPARACIONES MULTIPLES CON LA PRUEBA**  
**DE FISHER (LSD) DE LAS COMBINACIONES ESTUDIADAS**

FORMULA/ORGANO	DIFERENCIA	LSD
A/Tiroides-A/Riñón	2.76	4.09
A/Tiroides-A/Hueso	6.80*	4.09
A/Tiroides-B/Tiroides	6.13*	4.09
A/Tiroides-B/Riñón	11.06*	4.09
A/Tiroides-B/Hueso	5.30*	4.09
A/Riñón-A/Hueso	4.04	4.09
A/Riñón-B/Tiroides	8.89*	4.09
A/Riñón-B/Riñón	8.30*	4.09
A/Riñón-B/Hueso	2.55	4.09
A/Hueso-B/Tiroides	12.93*	4.09
A/Hueso-B/Riñón	4.26*	4.09
A/Hueso-B/Hueso	1.50	4.09
B/Tiroides-B/Riñón	17.19*	4.09
B/Tiroides-B/Hueso	11.44*	4.09
B/Riñón-B/Hueso	5.75*	4.09

\*p<0.05

## IX. DISCUSION DE RESULTADOS

Cada una de las formulaciones propuestas incluyen los mismos componentes variando únicamente en cantidad y además la formulación B incluye glucosa, cuya función probablemente es facilitar el transporte a través de la membrana.

Después del tiempo de incubación recomendado (10 días), no se encontró crecimiento microbiano ni fúngico, con lo que se demuestra que las producciones se llevaron a cabo con buenas prácticas de manufactura.

La pureza radioquímica de cada fórmula fue determinada por medio de cromatografía en capa fina usando acetona como solvente; como puede verse en la Tabla 1 los porcentajes varían muy poco entre sí; así mismo se observa en la gráfica 1 que hay muy poca dispersión entre ambas formulaciones y como lo muestran las cajas de Tukey, en el caso de la formulación B hay menos dispersión de los datos en relación a la formulación A; sin embargo esta diferencia no es estadísticamente significativa. Los resultados mencionados anteriormente son aceptables ya que la literatura reporta que para que un radiofármaco pueda ser usado en centellografía debe tener un porcentaje de marcación igual o mayor al 90%. Con el N- butanol, no hubo corrimiento después de 45 minutos, probablemente porque dicho solvente estaba contaminado o porque se necesita más tiempo para su separación.

Los estudios de biodistribución en ratones realizados



para determinar la efectividad de cada formulación, mostraron que la formulación B, que incluye glucosa, presenta un mayor porcentaje de captación en comparación con la formulación A; según se observa en la Tabla 3 éstos resultados ponen de manifiesto que la presencia de la glucosa facilita el transporte del complejo formado a través de la membrana.

En la gráfica 2 puede verse que la formulación B presenta una mayor captación a nivel tiroideo en relación a la formulación A, por lo que existe una diferencia estadísticamente significativa a este nivel, mientras que a nivel de hueso ambas formulaciones son captadas casi en la misma proporción por lo que no existe diferencia estadísticamente significativa, ( $p < 0.05$ ).

Debe mencionarse que este complejo es excretado a nivel renal a las dos horas post inyección por lo que no es raro encontrar los porcentajes referidos en la Tabla 3.

Con los resultados obtenidos es posible decir que la formulación B, es decir DMSA con glucosa, es la de elección para los fines de este estudio ya que a nivel de Tiroides (órgano de interés), con éste fármaco se logra un mayor porcentaje de captación.

Así mismo los porcentajes de captación obtenidos para ambas formulaciones a nivel de hueso indican que este radiofármaco también podría utilizarse para centellografía ósea para la radiolocalización de ciertos tumores, ya que al existir un porcentaje igual o mayor al 10 % a este nivel las imágenes obtenidas son satisfactorias.

## X. CONCLUSIONES

- A. Las condiciones de preparación y liofilización son reproducibles, ya que no se encontró diferencia estadísticamente significativa entre las producciones de ambas formulaciones.
- B. Las producciones se realizaron bajo buenas prácticas de manufactura, ya que los controles de calidad microbiológico fueron negativos.
- C. El porcentaje de marcación en ambas formulaciones fue el recomendado en la literatura, (mayor del 90%); para que un radiofármaco sea administrado y lograr obtener imágenes satisfactorias en estudios centellográficos.
- D. En los estudios de biodistribución en ratones se encontró que el radiofármaco B presentó mayor captación por la tiroides, órgano de interés, que el radiofármaco A a las dos horas post administración de la dosis; en hueso la captación es semejante en ambas formulaciones y son excretadas a nivel renal en forma similar en el tiempo mencionado.
- E. Para estudios de localización de tumores de cuello el radiofármaco B es el de elección ya que presenta mayor avidez por las células de la tiroides probablemente por la presencia de la glucosa en su formulación la cual facilita el transporte a través de la membrana del tirocito.

## XI. RECOMENDACIONES

- A. Se sugiere el uso de la formulación B marcada con  $^{99m}\text{Tc(V)}$  para la detección centellográfica de tumores de cuello, ya que presentó una mayor captación a nivel de la célula tiroidea.
- B. Se sugiere ampliar el estudio de biodistribución en ratones a diferentes tiempos a fin de determinar cuál es el tiempo de mayor captación tiroidea y menor captación a nivel óseo y renal para obtener mejores imágenes centellográficas al administrar este radiofármaco en humanos.
- C. Debido a que se encontraron porcentajes de captación mayores al 30% a nivel óseo este radiofármaco podría utilizarse para la detección de determinado tipo de tumores óseos, ya que la literatura recomienda el uso de radiofármacos a nivel óseo siempre y cuando la captación a este nivel sea mayor del 10% luego de dos horas de administrado, por lo que se recomienda hacer un estudio al respecto.

## XII. REFERENCIAS

1. ALASBIM. Memorias del Curso regional sobre avances en Radiofarmacia Hospitalaria. Diseño de Radiofarmacos. Madrid España, Doc. Tec. No. 1. 1992. 13 p.
2. Rodriguez V. Quimica de Coordinación y Radiofármacos del  $^{99m}\text{Tc}$ . Memorias del curso regional sobre avances en Radiofarmacia Hospitalaria. España. 1992. 7 p.
3. Piera C. Control de Calidad de Radiofármacos de Tecnecio  $^{99m}$  Memorias del curso regional sobre avances en Radiofarmacia Hospitalaria. Madrid - España, Doc. Tec. No. 2. 1992. 19 p.
4. Kawada T, et al. Hospital Radiopharmacy training program. Am J Hosp Pharm 1975; 32:587-589.
5. Murphy C, et al. El Tecnecio en la Medicina Nuclear. Laboratorio de Radiofarmacia Departamento de Medicina Nuclear y Clínica de Tiroides. México: Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Zubirán. Doc. Tec. 1989. 397 p.
6. Colombetti LG. Performance of  $^{99m}\text{Tc}$  generating systems. p.183-194. (In Rhodes BA. Quality Control in Nuclear Medicine. Saint Louis: The CV Mosty Company, 1977. XII + 508p.
7. Steigman J, et al. Chemistry of Technetium  $^{99m}$ . Sem Nucl Med 1974; 4:269-279.
8. Noto MG, et al. Quimica Descriptiva. Buenos Aires: Latinoamericana, 1971. X + 612p.
9. Jeghers O, et al. Comparison of two  $^{99m}\text{Tc}$  (V)-Dimercaptosuccinic acid preparations. Int J Radiat Appl Instrum. Part A; 1987; 38:13-18.
10. Pliego OH, et al. Equipo para extracción de  $^{99m}\text{TcO}_4\text{Na}$ . Buenos Aires: Comisión Nacional de Energía Atómica, Doc. Tec. No. 45, 1976. 269p.
11. Arguelles MG, et al. Preparación de DMSA- $^{99m}\text{Tc}$  pentavalente por cambio de pH en un Kit liofilizado. Rev Esp Med Nucl Supl I;1992; IX:121-122.
12. Rockman TM, et al. Preparo e Controle de kit liofilizado de DMSA-V- $^{99m}\text{Tc}$  para uso clínico. Rev Esp Med Nucl Supl I; 1992; X:90-91.
13. Imre J. Kinetic Examination of ligand exchange reaction between  $^{99m}\text{Tc}$ -Gluconate and Dimercaptosuccinic acid. J Radional Nucl Chem 1984;5:291-300.

14. Enlander D, et al. Renal Cortical Imaging in 35 patients: Superior Quality with  $^{99m}\text{Tc}$ -DMSA. J Nucl Med 1974;5:743-749.
15. Handmaker H, et al. Clinical Experience with  $^{99m}\text{Tc}$ -DMSA a new renal imaging agent. J Nucl Med 1975;16:28-32.
16. Moretti JL, et al. 2.3 Dimercaptosuccinic acid chelates: Their structure and biological behaviour. Int J Nucl Med Biol 1977;4:56-65.
17. Ikeda I, et al. Chemical and Biological studies on  $^{99m}\text{Tc}$  DMS-II: Effect on Sn(II) on the formation of various Tc-DMS complexes. Int J Appl Rad Isot 1976;27:681-688.
18. Jeghers O, et al. Technetium-99m DMSA uptake by Carcinoma of the Prostate. J Nucl Med 1986;27:1223-1224.
19. Lamki L, Shearer R. Tc-99m-DMSA uptake by Metastatic Carcinoma of the Prostate. J Nucl Med 1986;27:733-734.
20. Ohta H, et al. A new Imaging Agent for Medullary Carcinoma of the Thyroid. J Nucl Med 1984;25:323-325.
21. Ohta H, et al. Imaging of Head and Neck Tumours with Technetium (V)-99m-DMSA. A new Tumor Seeking Agent. Clin Nucl Med 1985;10;855-860.
22. Bernà L, et al. Estudio comparativo de las exploraciones isotópicas en el diagnóstico de recidiva del Carcinoma Medular de Tiroides. Rev Esp Med Nucl Supl I. 1992;IX:22.
23. Olea E, et al. Cintigrafia con DMSA-V y Calcitonina en el seguimineto del Cáncer Medular de Tiroides. Utilidad e indicaciones. Rev Esp Med Nucl Supl I. 1992;IX:22.
24. Horiuchi K, et al. Tc(V)-DMS tumour imaging agent: Tc complexes dissociation equilibria a relevant factor in tumour localization. Technetium in Chemistry and Nuclear Medicine 2. NY. Cortina International-Verona Raven Press. 1980. 155-159.
25. Verdera ES. Control de calidad en radiofarmacia. J Nucl Med 1983;15:183.
26. Loberg Md. Radioisotopes. Int J Appl Radiat 1978;29:67.
27. Mclean Jr, et al. Analytical techniques for the determination of radiochemical purity of radiopharmaceuticals prepared from kits. Canada, Ottawa: Department of National Health and welfare, Doc. Tec. No. 1, 1977, 189 p.
28. Kristensen K. The Quality of radiopharmaceuticals: A review of correct problem XIII International. Annual Miting Society of Nucl Med Denmark. 1975;15:134-136.

29. Hesselewood SR. Quality control procedures for  $Tc^{99m}$ -Complexes. J Nucl Med 1981;20:3-6.
30. Bruch CW. Levels of sterility: Probabilities of survivors vs. biological indicators, developments in industrial microbiology. Bull Parent Drug Assoc. 1976;14(13):105-121.
31. IAEA. Preparation of kits for  $^{99m}Tc$  radiopharmaceuticals. Austria. Santiago de Chile. Doc. Tec. No. 649. 1992. 94p.
32. Comisión Chilena de Energía Nuclear. Manual de Controles Radiofarmacéuticos. Doc. Tec. No. 1. 1981. 182p.

XIII. ANEXOS

ANEXO I  
HOJA DE RESULTADOS

I. DATOS GENERALES

No. de lote: \_\_\_\_\_

No. de repetición: \_\_\_\_\_

Formulación: \_\_\_\_\_

II. PUREZA RADIOQUIMICA

Radifármaco/formulación	% marcación	
	acetona	butanol
DMS- <sup>99m</sup> Tc(V) (Fórmula A)		
DMS- <sup>99m</sup> Tc(V) (Fórmula B)		
DMSA- <sup>99m</sup> Tc		

III. BIODISTRIBUCION

Peso ratón: \_\_\_\_\_

No. de ratón: \_\_\_\_\_

Actividad inyectada: \_\_\_\_\_

Hora de administración: \_\_\_\_\_

Hora de sacrificio: \_\_\_\_\_

Órgano	Peso órgano	Actividad	Actividad gr. órgano	% Actividad gr. órgano
TIROIDES				
RIÑON				
HUESO				
CEREBRO				



IV. CONTROL MICROBIOLOGICO

MEDIO DE CULTIVO	TURBIDEZ										
	DIAS	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
T.S. (37°C)											
TIOGLICOLATO (37°C)											
SABOURAUD (25°C)											

**TABLA 2**  
**RESULTADOS DEL % DE ACTIVIDAD EN LOS ORGANOS ESTUDIADOS**  
**Y SU RESPECTIVA TRANSFORMACION OBTENIDOS CON LA FORMULACION A**


PRODUCCION	TIROIDES		RIÑON		HUESO	
	% actividad	Arcoseno	% actividad	Arcoseno	% actividad	Arcoseno
1a	43.8	41.44	30.59	33.58	25.59	30.38
1b	41.42	40.10	28.28	32.13	30.28	33.39
2a	50.31	45.18	23.91	29.27	25.77	30.51
2b	44.38	41.77	37.19	37.57	18.42	25.42
3a	36.62	37.24	31.50	34.14	31.87	34.37
3b	43.53	41.28	27.29	31.49	29.17	32.69
4a	28.21	32.08	36.52	37.18	35.26	36.43
4b	31.12	33.91	41.44	40.10	27.44	31.59
5a	36.39	37.10	42.97	40.96	20.63	27.01
5b	29.82	33.10	39.89	39.17	30.27	33.38

PROMEDIO		38.31		35.56		31.52
DESV. ST.		4.33		3.99		3.34

**RESULTADOS DEL % DE ACTIVIDAD EN LOS ORGANOS ESTUDIADOS**  
**Y SU RESPECTIVA TRANSFORMACION OBTENIDOS CON LA FORMULACION B**

PRODUCCION	TIROIDES		RIÑON		HUESO	
	% actividad	Arcoseno	% actividad	Arcoseno	% actividad	Arcoseno
1a	46.95	43.25	21.57	27.67	31.47	34.12
1b	49.89	44.94	18.52	25.49	31.58	34.19
2a	33.75	35.52	36.61	37.23	29.64	32.98
2b	32.59	34.81	17.49	24.72	49.62	44.78
3a	51.88	46.07	20.71	27.07	29.46	32.87
3b	48.41	44.08	23.51	29.00	28.07	31.99
4a	60.79	51.23	14.91	22.71	24.29	29.53
4b	57.24	49.16	20.50	26.91	22.25	28.14
5a	51.19	45.68	22.18	28.09	26.63	31.07
5b	58.23	49.74	16.12	23.67	25.66	30.43

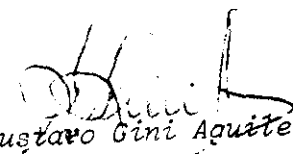
PROMEDIO		44.45		27.26		33.01
DESV. ST.		5.53		4.04		4.58

  
Alba del Carmen Bran Vallejo

TESISTA

  
Lidia Freire de Nave

ASESORA

  
Lic. Gustavo Gini Aquiterra

Director

Escuela de Química Biológica

  
Lidia C. de Ariza

Decano

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
Biblioteca Central