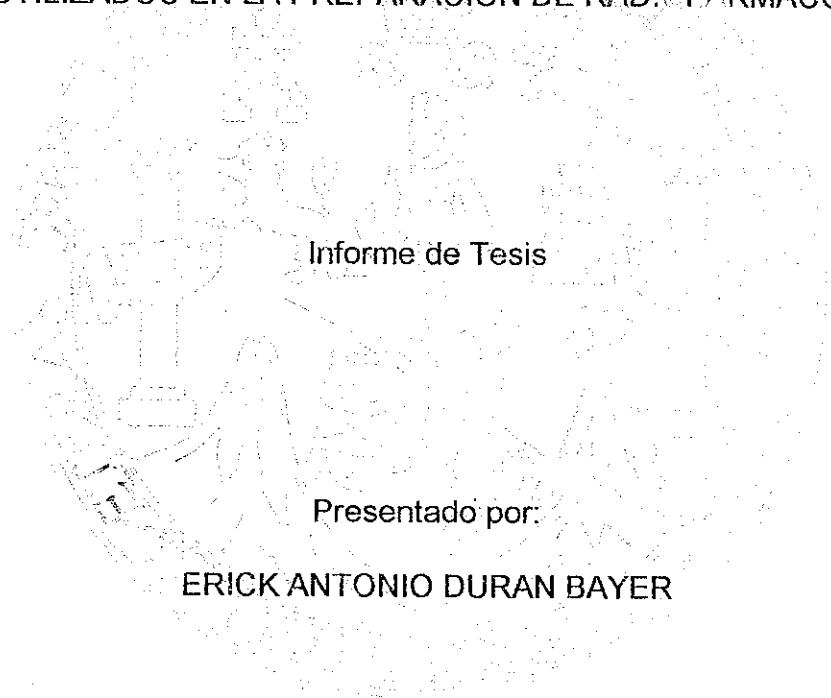


UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA

DETERMINACION DE ESTAÑO DIVALENTE PARA  
EL CONTROL DE CALIDAD DE JUGOS DE REACTIVOS  
UTILIZADOS EN LA PREPARACION DE RADIOFARMACOS



Informe de Tesis

Presentado por:

ERICK ANTONIO DURAN BAYER

Para Optar al Título de  
QUIMICO BIOLOGO

Guatemala, Noviembre de 1997

06  
T(18418)  
C.4

JUNTA DIRECTIVA DE LA  
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA

DECANO	LIC. JORGE RODOLFO PEREZ FOLGAR
SECRETARIO	LIC. OSCAR FEDERICO NAVE HERRERA
VOCAL I	LIC. MIGUEL ANGEL HERRERA GALVEZ
VOCAL II	LIC. GERARDO LEONEL ARROYO CATALAN
VOCAL III	LIC. RODRIGO HERRERA SAN JOSE
VOCAL IV	BR. HERBERT RAUL AREVALO ALVARADO
VOCAL V	BR. MANOLA ANLEU FORTUNY

DEDICO ESTA TESIS

A MIS PADRES

IRMA BAYER  
ELIAS FIALKO

A MIS HERMANOS

CAROLINA  
JORGE MARIO

## AGRADECIMIENTOS

A la Licda. Diana Freire, por su asesoría.

A la Licda. Claudia Quintero , por su colaboración.

A la Dirección General de Energía Nuclear, Departamento de Medicina Nuclear, por el financiamiento otorgado.

Al personal técnico de la Radiofarmacia Centralizada de la Dirección General de Energía Nuclear.

A todas las personas que colaboraron con la realización de éste trabajo.

## INDICE

1. RESUMEN.....	1
2. INTRODUCCION.....	3
3. ANTECEDENTES.....	4
4. JUSTIFICACIONES.....	18
5. OBJETIVOS.....	19
6. HIPOTESIS.....	20
7. MATERIALES Y METODOS.....	21
8. RESULTADOS.....	26
9. DISCUSION DE RESULTADOS.....	28
10. CONCLUSIONES.....	30
11. RECOMENDACIONES.....	31
12. BIBLIOGRAFIA.....	32
13. ANEXOS.....	35

## 1. RESUMEN

Cuando se utiliza tecnecio 99 metaestable ( $^{99m}\text{Tc}$ ) como radionucleido para la marcación de radiofármacos, es necesario agregar estaño divalente en forma de cloruro estanoso dihidratado para asegurar que el  $^{99m}\text{Tc}$  que sale del generador sea reducido de su valencia VII a valencias menores, V, IV ó III para que pueda unirse al radiofármaco.

Ahora bien, el estaño divalente tiene propiedades tóxicas si se administra en exceso, por lo que se necesita de una técnica que permita medir las concentraciones de estaño en los radiofármacos producidos en el Laboratorio de Radiofarmacia Centralizada de la Dirección General de Energía Nuclear.

El objetivo de este trabajo es implementar una metodología espectrofotométrica utilizando fosfomolibdato de sodio que permita realizar la cuantificación de estaño divalente de forma rápida y sensible, para lo que se utilizaron tres radiofármacos diferentes: Macroagregados de albúmina (MAA), ácido dietilentriaminopentácetico (DTPA) y pirofosfato de sodio (PIP).

Al realizar el análisis de varianza de la curva de calibración efectuada, se calculó un valor de F de 176.32, siendo la F tabulada de 4.17. el valor de r dió 0.91, por lo que se deduce que existe buena correlación entre la absorbancia y la concentración de estaño.

En la evaluación estadística, de los resultados obtenidos de cuantificación de estaño en las muestras analizadas de pirofosfato, se obtuvo una concentración de estaño promedio de 5.310 mg/ml, una desviación estándar de  $\pm 0.169$  mg/ml, un coeficiente de variación de

3% y un intervalo de confianza de 5.19 mg/ml a 5.42 mg/ml, un 87.5% de las muestras analizadas están dentro de este intervalo. El valor de t de Student calculada dió 1.16, siendo la t de Student tabulada 2.131.

En las muestras de macroagregados de albúmina analizadas, se obtuvo una concentración promedio de estaño de 0.078 mg/ml, un coeficiente de variación de 5% , una desviación estándar de  $\pm 0.004$  mg/ml y un intervalo de confianza de 0.076 mg/ml a 0.08 mg/ml, el 100% de las muestras analizadas están dentro de este intervalo. El valor de t de Student calculada dió 1.0, siendo la t de Student tabulada de 2.131.

Por último, para las muestra de DTPA analizadas se tuvo una concentración promedio de 0.129 mg/ml, desviación estándar de  $\pm 0.004$  mg/ml, coeficiente de variación de 3% y un intervalo de confianza de 0.127 mg/ml a 0.132 mg/ml, dentro del cual están el 93.75% de las muestras analizadas. El valor de t de Student calculado dió 2.0, siendo la t de Student tabulada de 2.131.

Los datos citados permiten concluir que la metodología espectrofotométrica para la medición de estaño divalente en radiofármacos es precisa y exacta.

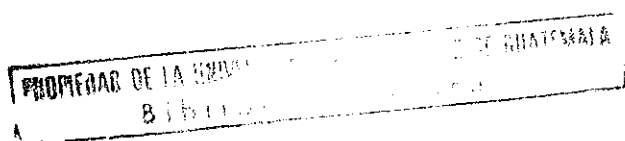
Por lo anterior, esta técnica puede usarse en los diferentes lotes de radiofármacos producidos en el Laboratorio de Radiofarmacia Centralizada de la Dirección General de Energía Nuclear, asegurando que la concentración de Sn(II) es la adecuada para su administración, en pacientes que los necesiten en los diferentes centros de medicina nuclear del país.

## 2. INTRODUCCION.

Cuando se marcan radiofármacos con tecnecio 99 metaestable ( $^{99m}\text{Tc}$ ) como radionucleido, este sale del generador como pernectato de sodio ( $\text{TcO}_4\text{Na}$ ), forma en la que el  $^{99m}\text{Tc}$  presenta una valencia de VII, lo cual no permite que el radionucleido se una a los diferentes compuestos que se encuentran en los juegos de reactivos utilizados para preparar radiofármacos, por lo cual es necesario usar estaño divalente  $-\text{Sn(II)}$ - como agente reductor para reducir su valencia de VII a valencias menores, generalmente V, IV ó III

El  $\text{Sn(II)}$  puede utilizarse en forma de varios compuestos sin embargo, el agente más utilizado es el cloruro estanoso dihidratado ( $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ), sin embargo presenta el inconveniente de su toxicidad al aplicarse en cierta concentración, por lo que su cuantificación es un procedimiento de importancia en el control de calidad para la preparación de radiofármacos.

El objetivo del presente trabajo es implementar una metodología espectrofotométrica con fosfomolibdato que brinde información de la concentración de  $\text{Sn(II)}$  en los juegos de radiofármacos liofilizados producidos en la Radiofarmacia Centralizada de la Dirección General de Energía Nuclear.





### 3. ANTECEDENTES

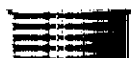
#### 3.1 RADIOFARMACOS DE TECNECIO

El  $^{99m}\text{Tc}$  se ha convertido en el radionucleido más utilizado en medicina nuclear debido a las siguientes ventajas que presenta: es un emisor gamma puro, su energía de 140eV, su corto tiempo de vida medio de 6 horas, baja toxicidad y puede obtenerse fácilmente a través de un generador provisto de una columna de  $^{99}\text{Mo}$  absorbido en alúmina, que permite separar el  $^{99m}\text{Tc}$  generado cuando se hace pasar una solución salina fisiológica a través de la columna (1).

El tecnecio 99 metaestable ( $^{99m}\text{Tc}$ ) se utiliza como trazador radioactivo, que se fija a compuestos químicos con determinadas características farmacológicas que les hacen aptos para fijarse y ser eliminados por determinados órganos. A estos compuestos químicos marcados con un trazador radioactivo se les denomina radiofármacos (1).

#### 3.2 EMPLEO DEL CLORURO ESTANNOSO EN LA PREPARACION DE RADIOFARMACOS.

Cuando el radionucleido usado es el  $^{99m}\text{Tc}$  tiene importancia no sólo la estabilidad de las sustancias reaccionantes que se encuentran en los juegos de reactivos, sino también las del estaño divalente que se agrega, con el fin de asegurar que el pertecneciato de sodio, que es la forma química en que el tecnecio 99 metaestable sale del generador, con valencia VII pueda ser reducido a valencias III, IV o V y así unirse a los



diferentes compuestos que se encuentran en los juegos de reactivos, ya que como tal no lo hace (2).

El estaño puede utilizarse como cloruro, fluoruro, tartrato, citrato, etc., o bien pueden usarse otros agentes reductores como ácido clorhídrico concentrado, sulfato ferroso, etc. Sin embargo el agente más utilizado es el cloruro estannoso anhidro o hidratado ya sea que se utilicen juegos de reactivos con soluciones o liofilizados; presenta sin embargo el inconveniente de su gran inestabilidad aún en medio ácido o liofilizado, transformándose fácilmente en estannico, por ello se aconseja nitrogenar el agua que se utiliza y cerrar los juegos de reactivos en ambiente nitrogenado, evitando al mismo tiempo la reoxidación del  $^{99m}\text{Tc}$  (2).

El agente acomplejante (ligando) está usualmente presente con un exceso 10 a 20 veces molar respecto a la cantidad de estaño para asegurar que todo el estaño en forma de ión  $\text{Sn(II)}$  o  $\text{Sn(IV)}$  se acompleje, en caso contrario, se eleve el pH a neutro, el estaño se hidroliza rápidamente formando hidróxido insoluble. El agente acomplejante secuestra el estaño de la reacción de hidrólisis, pero no le impide entrar en la reacción de oxidación-reducción. El ion estannoso es un fuerte agente reductor, pero es fácilmente oxidado por el oxígeno atmosférico o el agua (3,4).

La cantidad de átomos del  $^{99m}\text{Tc}$  del generador es muy pequeña y por ello se requiere una mínima cantidad de estaño, sin embargo se añade un exceso para asegurar la completa reducción (3).

### 3.3 PROPIEDADES QUIMICAS DEL CLORURO ESTANNOSO

El cloruro estannoso utilizado en radiofarmacia es el dihidratado, este tiene un peso molecular de 225.65g, está constituido por cristales que absorben oxígeno del aire y forman un oxiclорuro insoluble. El cloruro estannoso tiene una densidad de 2.71g/cc, su punto de fusión es de 37 a 38 grados centígrados en menos de su propio peso de agua; con mucha agua forma una sal básica soluble. Es muy soluble en ácido clorhídrico diluido o concentrado, también es soluble en alcohol, acetato de etilo, ácido acético glacial e hidróxido de sodio (5).

En cuanto a su almacenamiento y empaque, tiene que ser almacenado y manejado con mucho cuidado debido a su vulnerabilidad hacia la oxidación e hidrólisis. Tiene que ser almacenado con el envase bien cerrado para evitar la oxidación y además debe estar protegido de la luz directa. El envase debe de almacenarse en un lugar seco y fresco, bien etiquetado. Es dañino si se inhala (6,7).

Si se administra por vía oral, el 90% del estaño es excretado en las heces, otra pequeña cantidad se absorbe y metaboliza en el hígado o se excreta por los riñones. El estaño administrado por vía parenteral es excretado en su mayoría por los riñones, con pequeñas cantidades excretadas en la bilis (7).

### 3.4. TOXICIDAD DEL CLORURO ESTANNOSO

Los compuestos orgánicos de estaño son considerablemente más tóxicos que los inorgánicos. Se ha determinado que la dosis letal de cloruro estannoso en perros es de 36mg/kg (5,6,8,9).

Los principales síntomas de intoxicación por cloruro estannoso son dolor urente en la boca y faringe, vómito, diárrrea acuosa o sanguinolenta, tenesmo, hemólisis, hematuria, anuria, lesión hepática con ictericia, hipotensión, convulsiones, meteorismo, opresión en el corazón. Si la administración es por vía parenteral se dan dolores abdominales, náusea, dolor de garganta, fiebre moderada, escalofríos, mialgias y artralgias y algunos otros muestran anemia moderada, se ha reportado hiperglicemia después de una sola dosis (7,8,10).

En experimentos hechos con ratas se encontró que la alimentación con estaño afectó la concentración de hemoglobina en la sangre, disminuyéndola. También se encontró que el estaño causa alteraciones en los parámetros intestinales, como cambios en las profundidades de las criptas, decremento en la cantidad de vellosidades intestinales por superficie y decremento en el largo de las mismas (5).

La aplicación repetida de soluciones sobre la piel puede causar reacciones eritematosas, papulares y granulomatosas siendo la cantidad que debe penetrar la piel para producir dicha reacción extremadamente pequeña(5).

#### 3.4.1 DATOS DE LABORATORIO

El análisis de orina puede revelar hematuria y proteinuria. El volúmen urinario puede encontrarse disminuido (8).

El nitrógeno no proteico, el nitrógeno de urea y la creatinina se encuentran elevados en presencia de lesión renal (8).

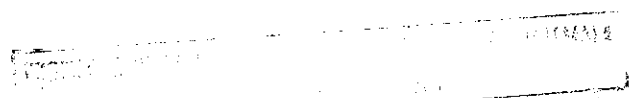
### 3.4.2. TRATAMIENTO.

Como medida de urgencia se debe diluir el veneno inmediatamente con agua o leche y eliminarlo mediante lavado gástrico, a menos que el paciente ya haya vomitado (8).

Las medidas generales incluyen tratamiento de la hipotensión, alivio de la irritación por administración de leche o bebidas a base de almidón, preparadas disolviendo 10 g (una cucharada) de almidón o harina en un litro de agua (9).

Se debe conservar al paciente abrigado y en reposo absoluto y puede administrársele meperidina o morfina en las dosis necesarias para eliminar el dolor (9).

Es probable que el paciente se recupere si los síntomas son ligeros después de las primeras seis horas. En casos de envenenamiento grave, la muerte puede ocurrir hasta una semana después de la ingestión (8).



### 3.5. METODOS ESPECTROFOTOMETRICOS PARA LA DETERMINACION DE ESTAÑO DIVALENTE EN RADIOFARMACOS LIOFILIZADOS.

#### 3.5.1. METODO CON ACIDO FOSFOMOLIBDICO.

Este método tiene como fundamento la reducción del heteropoliácido fosfomolibdico a azul de molibdeno (2).

El artículo de Meiken y Col. sugiere este método para determinar pequeñas cantidades de Sn(II) sobre la base de uno de los artículos originales publicados que tiene una extracción con alcohol n-amílico, sin embargo, este método es totalmente innecesario cuando se determina Sn(II) ya que los alcoholes que extraen el producto azul también extraen el exceso de reactivo (ácido fosfomolibdico, de color amarillo). (2).

#### 3.5.2. METODO CON CACOTELINA.

El método con cacotelina tiene como fundamento la reducción de la cacotelina por el Sn(II). La forma oxidada del reactivo es amarillo y su forma reducida es violeta (2).

Los métodos de determinación de estaño citados presentan el mismo inconveniente, la escasa estabilidad de las soluciones de Sn(II) y de los productos coloreados obtenidos por reducción. Es imprescindible, entonces, para hacer el método útil cuantitativamente estandarizado en el tiempo y medir a tiempo constante tanto la muestra como los patrones (2).



### 3.6 DESCRIPCIÓN DE LOS RADIOFARMACOS EMPLEADOS EN EL ESTUDIO.

#### 3.6.1. MACROAGREGADOS DE ALBUMINA (MAA).

La inyección de  $^{99m}\text{Tc}$  MAA es una solución estéril, libre de pirógenos contenida en un frasco multidosis. Cuando se marca el juego con  $^{99m}\text{Tc}$  debe obtenerse una suspensión apirógena .(10)..

Cada vial de macroagregados de albúmina contiene 2 mg de albúmina humana, 0.1 mg de cloruro estannoso dihidratado y 10 mg de acetato de sodio (11).

##### 3.6.1.1. INDICACIONES.

Se usan para centellografía de perfusión pulmonar como una importante herramienta en el diagnóstico de embolias, tumores y otras afecciones pulmonares (11).

Inyectados por vía intraarterial es posible describir la perfusión en determinados órganos y representarla cuantitativamente (11).

Su efecto consiste en desnaturalizar la albúmina y formar agregados de 10 a 100 micras de diámetro.(11)...

##### 3.6.1.2. DOSIS ADMINISTRADAS AL PACIENTE

Se inyectan 2 a 10 mCi por vía intravenosa o intraarterial. Previo a la administración debe mezclarse la preparación. Las imágenes deben ser obtenidas inmediatamente después de la inyección(11).



### 3.6.1.3. CONTRAINDICACIONES Y EFECTOS INDESEABLES

El compuesto marcado no se debe inyectar a mujeres embarazadas o en período de lactancia (11).

Las únicas contraindicaciones registradas son en pacientes con shunt cardíaco derecho o izquierdo y en pacientes con hipertensión aguda (11).

### 3.6.2. ACIDO DIETILTRIAMINOPENTAACETICO

Los juegos de ácido dietilentriaminopentaacético para marcar con  $^{99m}\text{Tc}$  es un sólido liofilizado estéril y libre de pirógenos contenido en un frasco multidosis. Cuando el juego es marcado con  $^{99m}\text{Tc}$  debe dar una solución estéril y apirógena para su uso en estudios de centellografía cerebral y estudios dinámicos del riñón (función glomerular) (11).

#### 3.6.2.1. INDICACIONES

Se utiliza para la realización de gammagrafía renal secuencial (12).

También se usa para la medida de la tasa de filtrado glomerular tanto global como individualizado y antiguamente se le empleaba para observar la morfología cerebral (12).

#### 3.6.2.2. DOSIS ADMINISTRADAS AL PACIENTE

Para estudios de filtración renal se utilizan de 3 a 5 mCi inyectados por vía intravenosa (12).

EXPROPIADAS DE LA DISEÑO  
BIBLIOTECA



Para gammagrafía cerebral con DTPA se inyectan de 18 a 20 mCi por vía intravenosa. Las imágenes se obtienen después de 30 minutos de la administración de la dosis (12).

### 3.6.2.3. CONTRAINDICACIONES Y EFECTOS SECUNDARIOS.

La solución inyectable de DTPA no debe administrarse a mujeres embarazadas o en período de lactancia (12).

Hasta la fecha no existe evidencia de efectos secundarios (12).

### 3.6.3. PIROFOSFATO DE SODIO (PIP).

Los juegos de pirofosfato de sodio para marcar con  $^{99m}\text{Tc}$  son un sólido liofilizado estéril y libre de pirógenos contenido en un frasco multidosis. Cuando el juego se marca con  $^{99m}\text{Tc}$  debe dar una solución estéril y apirógena (12).

#### 3.6.3.1. INDICACIONES

Para el diagnóstico de trombos y émbolos en venas o arterias así como coágulos a nivel de las mismas. Para evaluación de problemas circulatorios (12).

#### 3.6.3.2. DOSIS ADMINISTRADAS AL PACIENTE

Se inyectan de 15 a 20 mCi de  $^{99m}\text{Tc}$  al paciente con el pirofosfato por vía intravenosa(12).

### 3.6.3.3 CONTRAINDICACIONES Y EFECTOS SECUNDARIOS

Este compuesto no deberá ser administrado a mujeres en período de gestación o lactancia (12).

Hasta la fecha no se conoce ningún efecto secundario (12).

## 3.7. MECANISMOS DE ACCION DE LOS TRES RADIOFARMACOS EMPLEADOS EN EL ESTUDIO

### 3.7.1. MACROAGREGADOS DE ALBUMINA.

Para el estudio de la perfusión regional de sangre a nivel pulmonar puede utilizarse el mecanismo de bloqueo capilar, el cual consiste en la producción de microembolización por la administración de partículas marcadas, de un tamaño mayor que el diámetro de los capilares sanguíneos. Una elección aproximada de la vía de administración de estas partículas radioactivas (con un rango de tamaño de aproximadamente 10 a 100um) permite la visualización de diferentes áreas pulmonares y flujo arterial de las extremidades (13).

Hay que usar materiales biodegradables y no antigénicos, los preparados de elección son los macroagregados de albumina (MAA) y las microesferas de seroalbúmina humana, marcadas con  $^{99m}\text{Tc}$  (13).

La gammafráfia por perfusión se realiza mediante la inyección de partículas de macroagregados de albúmina de 0.2 a 1 mg marcadas con  $^{99m}\text{Tc}$  y son inyectadas endovenosamente. Las partículas se fijan en los capilares y arteriolas pre-capilares, reflejando las diferencias en el flujo sanguíneo pulmonar. Esta oclusión vascular iatrogénica es temporal ya

que las partículas de albúmina son degradadas enzimáticamente, con una vida media de 6 a 8 horas (13).

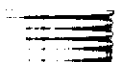
El volúmen inyectado es generalmente menos de 0.5 ml de solución salina, conteniendo de 200,000 a 1,200,000 partículas por paciente. Esta dosis usualmente contiene 2 a 4 mCi (millicuries) de  $^{99m}\text{Tc}$  y la radiación que es absorbida oscila entre 400 y 1000 mRad (milirads) para el pulmón y de 10 a 40 mRad para el resto del cuerpo (13).

El número de arteriolas precapilares que son ocluidas por las partículas inyectadas se estima que son del 0.1 a 1.0% del total. Esto es en promedio, en pacientes que no presentan efectos detectables en la hemodinamia pulmonar. Sin embargo, en un paciente con la vascularidad pulmonar seriamente comprometida o que presente hipertensión pulmonar, un mayor porcentaje de arteriolas pueden ser ocluidas por las partículas de albúmina y por ende comprometer la circulación (13).

Vale la pena resaltar que no existen contraindicaciones absolutas para la realización de la gammagrafía pulmonar por perfusión, pero la presencia de hipertensión pulmonar severa requiere más cuidados en el estudio(13).

### 3.7.2. ACIDO DIETENTRIAMIINOPENTAACETICO (DTPA)

El  $^{99m}\text{Tc}$ -DTPA es filtrado completamente a nivel glomerular, por lo cual una de sus aplicaciones clínicas es la determinación de la función glomerular (14).



### 3.7.3. PIROFOSFATO

El pernectato sódico al marcar eritrocitos en "in vivo" cuando se administran 2 a 5 mg de pirofosfato de estaño, un 30 a 40% del  $\text{sn(II)}$  se localizan en hueso, un 40 a 50% se excreta por vía renal y solamente un 5 a 8% penetra en el eritrocito y permanece unido a la hemoglobina durante un largo período de tiempo. Al administrar el pernectato, este penetra en los eritrocitos por la vía de la difusión de los canales aniónicos y tras la reducción intracelular con el  $\text{Sn(II)}$ , el  $\{\text{Tc=O}\}^{+3}$  se une a la hemoglobina preferentemente en la cadena beta. En el proceso de marcaje al azar, también se marcan algunas pequeñas moléculas que continuamente se van colando de las células marcadas, excretándose por vía renal (15).

La distribución relativa del  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  en los componentes de la célula, es aproximadamente como sigue: un 95% en el hemolizado (19% en la fracción hemo y 76% en la globina) y 5% en la membrana (4.5% en las proteínas y 0.5% en lípidos). El mecanismo exacto de fijación "in vitro" no es del todo bien conocido. Estudios realizados indican lo siguiente: 1) el ion  $\text{Sn(II)}$  penetra en el interior de los eritrocitos y se une fundamentalmente a la hemoglobina. 2) El pernectato difunde libremente hacia fuera y hacia adentro del eritrocito. 3) En el interior del eritrocito el pernectato, reducido por el estaño se une a la hemoglobina. 4) El estaño oxidado  $\text{Sn(IV)}$ , así como el tecnecio reducido, no son transportados a través de la membrana del eritrocito. 5) El  $\text{Sn(II)}$  extracelular reduce prematuramente al pernectato inhibiendo la entrada de tecnecio y causando bajos rendimientos de marcaje. 6) El eritrocito retiene el estaño por largos períodos de tiempo(16,17).

La presencia de glicoproteínas, iones sodio y potasio, ATPasa, ion calcio en la membrana del hematíe producen un transporte del pernectato y del Sn(II) similar al de los iones cloruro y calcio. El Sn(II) estimula a las ATPasas catiónicas, pudiendo, a su vez, ser bombeado fuera del eritrocito por las mismas enzimas(18).

### 3.8. LIOFILIZACION

En la industria farmacéutica y en medicina, lo que se desea conservar, por lo general, contiene mucha agua. A temperatura ambiente son descompuestos rápidamente por procesos enzimáticos que ocurren con cierta velocidad que es particular de cada reacción y dependen de la temperatura (19).

Evidentemente, el frío es útil para conservar sustancias termolábiles. Enfriando el material, sin congelarlo, se extiende su vida útil por un período apreciable, aunque durante este período se va deteriorando lentamente si el período de conservación aumenta notablemente (19).

Hay otra manera de impedir que se deteriore una sustancia, aparte de mantenerla fría, quitarle el agua que contiene. Si la sustancia no es sensible al calor, se hace por los métodos de secamiento corriente, pero si es termolábil, debe conocerse cual es la tempratura máxima que soporta el producto y adecuar el método de secado a esta exigencia (19).

El hecho de que el producto se conserve bien a temperatura ambiente por un período de tiempo muy largo cuando no contiene agua, es el resultado de que las reacciones que lo deterioran no ocurren o lo hacen muy lentamente en ausencia de la misma (19)

Para las sustancias que interesan, solamente la liofilización es capaz de dar el resultado deseado. Esta comienza reduciendo el tiempo de reacción por enfriado, luego lo paraliza congelándolo, luego se sublima el hielo y se deseca el producto sin descongelarlo. Terminado el secado, se ensaya en recipientes herméticos al vacío o bajo nitrógeno exento de oxígeno y agua (19).

#### 4. JUSTIFICACIONES

El Sn(II) en forma de  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , es un componente esencial para la preparación de radiofármacos pues permite reducir el tecnecio (VII) del  $\text{TcO}_4$  a estados de oxidación menores para que el tecnecio puede unirse al radiofármaco.

Sin embargo, el estaño puede provocar efectos secundarios indeseables si se administra en cierta cantidad por lo cual se desea implementar una técnica para su cuantificación espectrofotométrica en los radiofármacos producidos en la Radiofarmacia Centralizada de la Dirección General de Energía Nuclear.

Con el presente trabajo se obtuvo una técnica de cuantificación rápida y sensible de Sn(II) para lograr un mejor control sobre la producción de radiofármacos. Produciendo radiofármacos para los pacientes a los que se les administren en los diferentes centros de medicina nuclear que los soliciten.

## 5. OBJETIVOS

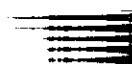
### 5.1. OBJETIVOS GENERALES.

- Implementar una metodología espectrofotométrica que permita una cuantificación de Sn(II) en los radiofármacos producidos en la Radiofarmacia Centralizada de la Dirección General de Energía Nuclear.

### 5.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS.

- Conocer la sensibilidad de la técnica espectrofotométrica con fosfomolibdato para cuantificar Sn(II) mediante la elaboración de una curva con cantidades conocidas de Sn(II).
- Emplear la metodología para cuantificar Sn(II) en tres radiofármacos diferentes.

REGISTRO DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA  
1988





## 6. HIPOTESIS

La metodología espectrofotométrica que usa ácido fosfomolibdico es precisa y exacta para cuantificar estaño divalente en los tres radiofármacos liofilizados empleados.

## 7. MATERIALES Y METODOS

### 7.1. UNIVERSO DE TRABAJO.

Diez y seis muestras de tres lotes de radiofármacos liofilizados producidos en la Radiofarmacia Centralizada de la Dirección General de Energía Nuclear, siendo estos: macroagregados de albúmina, ácido dietilentiainopentaacético, y pirofosfato de sodio.

### 7.2. RECURSOS

#### 7.2.1. Recursos Humanos

Autor: Erick Antonio Durán Bayer.

Asesora: Lic. Diana Freire de Nave.

Colaboradora: Lic. Claudia Quintero.

#### 7.2.2. Recursos Institucionales.

Laboratorio de Radiofarmacia Centralizada de la Dirección General de Energía Nuclear.

#### 7.3.3. Recursos materiales.

##### 7.3.3.1. Equipo.

Espectrofotómetro Spectronic 20.

Balanza Ohaus modelo Gt410.

### 7.3.3.2. Reactivos.

Fosfomolibdato de Sodio marca Merck

Tiocianato de Potasio marca Merck

Cloruro de estaño marca Merck

Acido Clorhídrico marca Merck

Agua destilada

Solución salina

### 7.3.3.3. Materiales

Tubos de ensayo de borosilicato

Cubetas de 10 cm.

Pipetas de 1cc, 5cc y 10 cc.

Probetas de 100 ml

Balones aforados de 100 ml

## 7.4. PROCEDIMIENTO.

### 7.3.1. Preparación de las soluciones.

- Solución de molibdato de 0.1 Mg/ml: pesar 21.46 mg de molibdato de sodio en 100 ml de agua destilada.
- Solución 1.5M de tiocianato de potasio: Pesar 14.5776 g de tiocianato de potasio puro en 100 ml de agua destilada.
- Solución standard de Sn(II) de 1 mg/ml: Pesar 190.1 mg de cloruro estannoso dihidratado en 100 ml de agua destilada.

-Ácido clorhídrico 3M: diluir 128 ml de ácido clorhídrico concentrado en 500 ml de agua destilada.

- Muestra: Disolver el contenido del radiofármaco a analizar con 5 ml de solución salina, y en el caso del pirofosfato, hacer una dilución 1:10 de la solución obtenida

-Solución blanco: Combinar 3.5ml de HCl 3M, 0.5 ml de fosfomolibdato de sodio, 0.5 ml de tiocianato de potasio 1.5M y ajustar a 5 ml con agua destilada.

#### 7.4.2. Procedimiento experimental.

Combinar 3.5 ml de ácido clorhídrico 3M, 0.5 ml de fosfomolibdato de sodio, 0.5 ml de tiocianato de potasio 1.5M, 0.5 ml de la muestra (del radiofármaco reconstituido) ó 5,10,15,20,y 25 ul de la solución estandar de Sn(II) para obtener la curva estándar y ajustar el volúmen a 5 ml con agua destilada.

Agitar hasta obtener una solución color naranja.

Luego de 15 minutos, registrar la extinción a 460 nm, luego de la solución blanco.

## 7.5. DISEÑO ESTADÍSTICO.

### 7.5.1. Estandarización del método.

El método fué estandarizado por medio de la elaboración de 6 curvas con concentraciones conocidas de Sn(II).

### 7.5.2. Regresión lineal

Se cálculo de la ecuación de regresión lineal por métodos de mínimos cuadrados y se evaluó por medio del cálculo del coeficiente de correlación y por un análisis de varianza.

### 7.5.3. Muestreo.

Se trabajó con 16 muestras de cada lote de radiofármacos. La cantidad de muestras analizadas se calcula asumiendo un límite de error igual a un medio( $\frac{1}{2}$ ) de la desviación estándar, por medio de la fórmula siguiente

$$n = NC^2\sigma^2/\Delta^2$$

Donde n es el número de muestras a tomar del lote

NC es el nivel de confianza =  $Z_{1-\alpha/2}$

$\Delta$  = Límite de error en la estimación.

$\sigma^2$  = Varianza

Si,  $\sigma$  = desviación estándar, entonces  $\Delta = \sigma/2$  y  $\Delta^2 = \sigma^2/4$

Por lo tanto, sustituyendo en la ecuación dada,  $n = 4NC^2$  y  $n = 4(1.96)^2 = 16$

#### 7.5.4. Análisis estadístico.

Se calculó el promedio, desviación estándar, coeficiente de variación e intervalo de confianza y se utilizó la distribución de t de Student para probar la hipótesis nula de igualdad en los valores de las concentraciones de Sn(II) medidas y teóricas.

#### 7.5.5. Toma de decisiones.

Como se conocen los límites permitidos de concentraciones de Sn(II) se comparó cada uno de los 16 resultados obtenidos de cada radiofármaco y se clasificó si el lote cumple o no cumple de acuerdo con el criterio del Laboratorio de Radiofarmacia Centralizada de la Dirección General de Energía Nuclear, es decir, se evaluó la calidad del lote en función de la concentración de Sn(II).

## 8. RESULTADOS

Para la estandarización del método se realizaron 6 curvas con concentraciones conocidas de Sn(II), las cuales se muestran en el anexo III y fueron elaboradas a partir de los datos de absorbancia y concentración que aparecen en la tabla II del anexo II, con los que se calculó la ecuación de la curva de regresión lineal, por el método de mínimos cuadrados, la que quedó de la siguiente forma:

$$Y = 0.2072 + 22.84X$$

Al realizar el análisis de varianza, que aparece en la tabla III del anexo II, el valor de F dió 167.32, valor mayor que el de F tabulada, 4.17, y el valor de r que fué de 0.91 por lo que se concluyó que no existe diferencia estadísticamente significativa entre las concentraciones de Sn(II) y la absorbancia, por lo que ambas variables se relacionan linealmente.

Las concentraciones de estaño divalente en las 16 muestras de los tres radiofármacos usados, aparecen en la tabla I del anexo I.

El pirofosfato tiene una concentración promedio de estaño de 5.310 mg/ml siendo su valor teórico de 5.30 mg/ml, una desviación estándar de  $\pm 0.169$ , un coeficiente de variación de 3% y un intervalo de confianza de 5.19 mg/ml a 5.42 mg/ml, un 87.5% de las muestras analizadas muestran una concentración de estaño dentro de este intervalo. El valor de t de Student es de 1.16, siendo el de la t de Student tabulada de 2.131, por lo que no existe diferencia

estadísticamente significativa entre las concentraciones de estaño obtenidas y las teóricas.

De igual manera, las muestras de macroagregados de albúmina analizadas, tienen una concentración promedio de estaño de 0.078mg/ml, siendo su valor teórico 0.080 mg/ml, la desviación estándar es de  $\pm 0.004$ , un coeficiente de variación de 5% y un intervalo de confianza de 0.76 mg/ml a 0.08 mg/ml, el 100% de las muestras analizadas muestran una concentración de estaño dentro de este intervalo. El valor de t de Student calculado es de 1.0 , siendo la t tabulada de 2.131, por lo que no existe diferencia estadísticamente significativa entre las concentraciones de estaño obtenidas y las teóricas.

Por último, para el DTPA tiene una concentración promedio de estaño de 0.129 mg/ml, siendo la concentración teórica de 0.129 mg/ml. La desviación estándar de  $\pm 0.004$ , coeficiente de variación de 3% y un intervalo de confianza de 0.127 mg/ml a 0.132 mg/ml, el 93.75% de muestras analizadas de DTPA están dentro de estos valores. El valor de t de Student calculada es de 2.0 y la t teórica es de 2.131, por lo que no existe diferencia estadísticamente significativa entre las concentraciones de estaño obtenidas y las teóricas.

El método utilizado, en el cual la estabilidad de las soluciones de estaño y sus productos coloreados son más estables que en otras metodologías, es preciso y exacto por lo que se puede utilizar como parte del programa de control de calidad del Laboratorio de Radiofarmacia Centralizada de la Dirección General de Energía Nuclear.



## 9. DISCUSION DE RESULTADOS.

Debido a las limitaciones de reactivos, a la cantidad de radiofármacos disponibles y a que no existen datos previos de análisis de concentraciones de Sn (II) en los radiofármacos en estudio, se asumió un límite de error igual a un medio ( $1/2$ ) de la desviación estándar y se diseñó un muestreo totalmente al azar de un lote de 30 a 50 unidades de cada uno de los tres radiofármacos empleados.

En la elaboración de las seis curvas de calibración efectuadas, las cuales aparecen graficadas en el anexo III, se pudo determinar, por medio de la evaluación estadística de los datos de concentración y absorbancia que aparecen en la tabla II del anexo II, que existe una buena correlación y linealidad entre las dos variables mencionadas debido al coeficiente de correlación y al análisis de varianza, los cuales aparecen en la tabla III del anexo II.

En la cuantificación de estaño divalente en los radiofármacos en estudio, la técnica muestra una precisión y exactitud aceptables, lo que se evidencia por los valores obtenidos del coeficiente de variación y del valor de  $t$  de Student, respectivamente, los cuales aparecen en el anexo IV.

Se puede observar que de los 16 resultados de concentraciones de Sn(II) obtenidos con DTPA, pirofosfato y macroagregados de albúmina en solo el 6.25%, 12.5% y 0% de las muestras salen del intervalo de confianza calculado respectivamente, lo cual representa una buena precisión en el método de análisis empleado.

Los resultados que se salen del intervalo de confianza pueden ser debidos a un error de tipo aleatorio que pudiera producir cierto grado de imprecisión en los resultados. Este error pudiera producirse al hacer las diluciones de los reactivos, en el pipeteo de las muestras o en la lectura de las mismas, o bien en las preparaciones de los radiofármacos.

Los resultados obtenidos se evaluaron con base en los valores de cloruro estanoso pentahidratado obtenido en las hojas maestras de producción de radiofármacos del Laboratorio de Radiofarmacia Centralizada de la Dirección General de Energía Nuclear.

## 11. RECOMENDACIONES

- 11.1 Efectuar un estudio similar con los demás radiofármacos producidos en la Radiofarmacia Centralizada de la Dirección General de Energía Nuclear.
- 11.2 Hacer evaluaciones de todos los lotes de radiofármacos producidos en el Laboratorio de Radiofarmacia Centralizada de acuerdo a un plan de muestreo establecido.
- 11.3 Establecer criterios de aceptación o rechazo de los lotes según los intervalos de confianza obtenidos de los valores de concentraciones de estaño divalente hallados por medio del análisis.

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE GUATEMALA  
SECRETARÍA DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS  
CALLE 13-01, ZONA 13, GUATEMALA

## 12. BIBLIOGRAFIA

1. Torné, D. Quinquer, J. Imágenes en Medicina Nuclear. IDEPSA, España, 1990 196p. (p8-14).
2. Valente, L., Mitta, A. Determinación de Estaño Divalente Para Controlar la calidad de Juegos de Reactivos Utilizados en la Marcación con  $^{99m}\text{Tc}$ . Comisión Nacional de Energía Atómica, Argentina. 22p(4-7)
3. Saha, G. Fundamentals Of Nuclear Medicine Pharmacy. Bedspringer-Verlag. London, 1992. 321p. (P.225-227).
4. Loberg, M. Radioisotopes. Int. J. Appl Radiat. 1978; 29;167
5. Janssen, P. et. al. Effects Of Feeding  $\text{SnCl}_2$  On Diferent Part Of The Gastrointestinal Tract Of The Rat. Toxicol Appl. Pharmacol. 1985; 78(1); 19-28.
6. Merck & Co. The Index Merck. Rahway, USA.:1960. 7ed.. 1545P (P.680).
7. Doull, J. et. al. Cassarrett An Doull Toxicology: The Basic Science Of Poison. 2ed. New York; Mac Millan Publilshin, 1980. 1250p. (P.280).
8. Degisbach, R. Manual De Toxicología Clínica, Prevención, Diagnóstico Y Tratamiento. El Manual Moderno, S.A. De C.V. México, D.F. 586p (P.150-152).
9. Keenan, C. Wood, J. Química General Universitaria. CECOSA, México. 1978 630 P. (P.152).
10. Arena, J. Poisoning. Toxicology: Symptoms And Treatments. 4 ed. New York: Charles C. Thomas Publisher, 1979 560 p. (p.65).
11. Piera, C. Control de Calidad de Radiofármacos de  $^{99m}\text{Tc}$ . Sociedad Española de Medicina Nuclear. Madrid, 1992. 29p. (p.16)
12. Freire, D. et. al. Marcación de Radiofármacos con  $^{99m}\text{Tc}$ . Dirección General de energía Nuclear. Guatemala, 1993. Doc. Tec. 9p (p 3-4).
13. Celestina, M. Centellografía Pulmonar. Dirección General de Energia Nuclear. Guatemala, 1993. (Doc. Tec.).18p (p1,2).
14. Sabramanian, G., Mc Afee J.  $^{99m}\text{Tc}$  Stannous Phylate, a New in Vive Colloid for Imaging the Reticuloendotelial Sistem. J. Nucl. Med. 1973; 14:456.

15. Dewanjee, M, Sharma, S. Labeling of Blood Cells. J. Nucl. Med. 15;703, 1974.
16. Rehani M., Sarma, S. Site of  $^{99m}\text{Tc}$  Binding to the Red Blood Cells; Concise Communication. J. Nucl. Med. 1980;21:67 Comparison of Three Labeling Methods. Eur J. Nucl. ed.
17. Heindendart, G. et. al. Reproducibility of Ejection Fractions Measurements by Gated Equilibrium Blood Pool Scintigraphy. J. Nucl. Med. 1983;8:467-460.
18. Dewanjee, M., This World Congress of Nuclear Medicine and Biology. Paris. September 1982 (Doc. Tec.) 30p (p8,9).
19. Jellinek, M. Principios Básicos De Liofilización. Farmacología Básica Y Teórica. Interamericana, México, 1978. 1275p. (p.1050-1052).
20. Portillo, M. Comparación de Dos Métodos de Producción de Radiofármacos y Evaluación de su Calidad. Guatemala: USAC. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia (Tesis de graduación). 110 p. (p87-93).
21. Ganatra, R. Nofal, M. Handbook Of Nuclear Medicine In Developing Countries. I.A.E.A. Viena, 1992 721 p (p.299-301).
22. Phan, C. Practical Nuclear Pharmacy. 3a. Ed. Ban Yan Press. Hawaii, 1980.
23. Eckelmann, W., Levenson, G. Radiochemical Purity Of  $^{99m}\text{Tc}$  Radiopharmaceuticals. Appl. Radiol. Nuc. Med. 1977;6:15 p.211-214.
24. Samayoa, B. Quintana, J. Manual De Control De Calidad De Alimentos Medicamentos Y Cosméticos. Facultad De Ciencias Químicas Y Farmacia 130 p (90).
25. Merck & Co. Manual Medios De Cultivo. 1990 355p. (p.244,247).
26. Brite, D. Radionucleide Activity In Gall Bladder J. Nucl. Med. 1985; 1408-1411.
27. Rollo, F. Nuclear Medicine Physical And Instrumental Agent. Mosby, St. Louis. 1988 (P.50-65).
28. International Atomic Agency. Medical Radionucleide Imaging. Vol.1. I.A.E.A., Austria, 1981. (Doc. Tec.)
29. Mitta, et. al. Manual de Control de Calidad de Radiofármacos. ALASBIMN. Argentina, 1992. (Doc. Tec.)20p. (p13,16,18,).

- 30 Andrews, G. History of Radiopharmacy. Jhon Wiley and Sons. New York. 815p. (p.35,36).
31. Noto, M. et. al. Química Descriptiva. Buenos Aires: Latinoamericana, 1971. 612 p. (p.64-66).
32. Pliego, O. et. al. Equipo de Extracción de  $^{99m}\text{Tc}$ . Argentina: Comisión Nacional de Energía Atómica, Doc. Tec. No. 460, 1980. 12p. (p.9).
33. Saucedo, T. et. al. Concentración de Tecnecio  $^{99m}$  del eluido del Generador de  $^{99m}\text{Mo}$ - $^{99m}\text{Tc}$ . Buenos Aires: Comisión Nacional de Energía Atómica, Doc. Tec. No. 45, 1976. 269 p. (p.34-37).
34. Colombetti, L. Performance of  $^{99m}\text{Tc}$  Generating Systems. Quality Control in Nuclear Medicine. Saint Louis, The CV Mosty Company, 1977. 508 p. (p. 183-194).
35. Gopal, B. Fundamention of Nuclear Pharmacy. New 40. Gopal, B. Fundamention of Nuclear Pharmacy. New York. Springer-Verlag. 1979. 271p. (p. 33-45).
36. Ketegov, K. et. al. Advences Innorg. Chemistry and radiochemistry. J. Nucl. Med. 1970; 11: 580-585.
37. Taylor, et. al. Comparison of Iodine  $^{131}\text{I}$  And Technetium-99 MAG 3 Renal Imaging in Volunteers. J. Nucl. Med. 1986;27:795-803.
38. Ramo, et. al. Un nuevo Preparado de Macroagregados de albúmina para centellografía Pulmonar. V congreso Argentino de Biología y medicina Nuclear, Buenos Aires. (Doc. Tec.). 1977.
39. Eckelman, W. et. al. Instant  $\text{Tc}^{99m}$ -DTPA. J.Nucl. Med. 1970; 11:761.
40. Krisley, R. et. al. Studies Whit Radiocolloids Semin. J. Nucl. Med. 1972;2:71-85.
41. Arzou, M. et. al. Clinical Comparison  $^{99m}\text{Tc}$ -Labelled Preformed Phylate Colloid and Sulfur Colloid. J. Nucl Med. 1977;18;120
42. Atkins, et. al. Factors Efecting Distribution on  $^{99m}\text{Tc}$ -S Colloid. J. Nucl. Med. 1969;10:319-320.
43. Kotegov, K. Et. Al. Advances in Radiochemistry. J. Nucl. Med. 1984; 980:2.
44. Pavel, D. Et. Al. In Vivo Labelling of Red Blood Cells With  $^{99m}\text{Tc}$ : A New Approach to blood Visualitacion. J. Nucl. Med. 1977: 18:305-308.

45. Thraw, Et. Al. Comparison of cardiac Visualitation With Technetium-99m-Red Blood Cells Laveled in vivo and Whit Technetium-99m Human Serum Albumin. *J. Nucl. Med.* 1978; 19:796-803.
46. Eckelman, R. Distribution Of 99mTc. *J. Nucl. Med.* 1975; 16:284-286.
47. Beck, R. Criters For Evaluating Radioisotope Imaging Systems US.A.,1969. 542p. (p.50)
48. Notto, M. Et. Al. Control de calidad de Los Radiofármacos. *Act. Biol. Clin. Lat.* 1979;12:69.
49. Llo, M. Nuclear Medicine in the Peoples Republic of China. *J. Nucl. Med.* 1979;12:69.
50. Levin, B. Clottable Protein in Limulus. *J. Nucl. Med.* 1968; 19:186.
51. Verdera, E. Control de Calidad en Radiofarmacia. *J. Nucl. Med.* 1983;15:183.
52. Loberg, M. Radioisotopes. *Int. J. Appl. Radiat.* 1978;29:167.
53. Kristensen, K. The Quality of Radiopharmaceuticals. *Anual Muting Society of Nucl. Med. Denmark.* 1975;15:134-136.
54. Bruch, C. Levels of Starelity: Probabilities of Suvivors, Vs. Biological Indicators, Developments in Industrial Microbiology. *Bullet of the Parent Drug Assoc.* 1976;14(13):105-121.
55. Eckelmann, W. Radiochemical Purity of 99mTc Radiopharmaceuticals. *Appl. Radiol. Nucl. Med.* 1977; 6:211-214.
56. Zimmer, A. Rapid Miniaturized Cromatographic Quality Control Produces for Tc-99m Radiopharmaceutical. *J. Nucl. Med.* 1977;18:1230-1233.
57. Lovegrone, F. Quality Control in Nuclear Medicine Procedures. *J. Nucl. Med.* 1974;2:44-45.
58. Servian, J. Report of an International Atomic Energy Agency. *Int. J. of Appl. Rad. and Isot.* 1977;28:653-658..
59. *Manual de Controles Radiofarmacéuticos.* Chile, Comisión Chilena de Energía Nuclear. 1981. 182p. (p.22-49).

### 13. ANEXOS

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE  
Biblioteca



ANEXO I

INFORMACION COMPLEMENTARIA

## CONTROLES DE CALIDAD DE LOS RADIOFARMACOS

Dado que los radiofármacos son administrados al ser humano, es obvio que deben estar sometidos a un estricto control de calidad que asegure su pureza, seguridad y eficacia. Todos los controles aplicados a los fármacos para uso intravenoso son exigidos también a los radiofármacos (20).

### CONTROL ORGANOLEPTICO

La apariencia física de un radiofármaco es muy importante, ya que su alteración refleja cambios que influyen en su comportamiento biológico (7,26).

Las soluciones inyectables no deben presentar partículas visibles observables sobre fondo blanco o negro, a través de un vidrio plomado o indirectamente a través de un espejo (21,22).

### CONTROLES MICROBIOLÓGICOS

Para la evaluación de la esterilidad, se debe seguir un plan de muestreo aleatorio tomando en cuenta el número de unidades del lote.

La toma de muestra es el primer paso importante y esta debe ser representativa del producto bajo examen. La preparación de la muestra depende de sus características físicas y no debe alterarse el número y clase de microorganismos presentes originalmente, para esto es necesario utilizar el solvente adecuado (agua peptonada o buffer de fosfatos pH7.2). Es importante que la muestra reciba una agitación u homogenización adecuada (23,24).

Para la detección de microorganismos anaerobios, inocular la muestra en caldo tioglicolato suspendiendo el material objeto de ensayo en el fondo del medio de cultivo contenido en un tubo de ensayo y superponer a continuación una capa de aproximadamente 1 cm. de altura de parafina líquida estéril e incubando a 32° C por varios días, los germenos anaerobios crecen en la parte inferior del tubo de cultivo. (24,25).

Para la detección de microorganismos aerobios se utiliza medio de tripticasa soya por inoculación en el medio de cultivo de una azada por medio de estrías e incubar a 32° C durante 48 hrs (23,25).

Para la detección de hongos y levaduras se emplea el medio de Saburoud por siembra en la superficie del medio e inocular hasta 5 días a 25° C (23,25).

#### DETERMINACION DEL pH.

Todos los radiofármacos deben tener un apropiado pH para mantener su estabilidad e integridad. El pH debe medirse con un potenciómetro. La medición colorimétrica con papel indicador de pH

puede ser inexacta. Alguna desviación del pH deseado debe ajustarse embargo, grandes diferencias con respecto al pH sanguíneo pueden ser tolerados por los pequeños volúmenes inyectados y a la gran capacidad tampón de la sangre (25,23).

## PUREZA RADIOQUIMICA

La pureza radioquímica es la fracción de radioactividad total unida al radiofármaco en la forma química deseada. Constituye un factor determinante en la reproducibilidad de un procedimiento diagnóstico ya que si las impurezas radioquímicas raramente ocasionan reacciones tóxicas, pueden alterar la biodistribución de la preparación radiofarmacéutica y también dar lugar a una mala calidad de imágenes gammagráficas por su localización en órganos distintos al de interés (20,26,27,28).

Las impurezas radioquímicas surgen de la descomposición por acción del solvente, cambios de temperatura, pH, luz y por radiólisis (efecto de la radiación del propio nucleido) (23)

Su determinación puede realizarse por diversos métodos cromatográficos como la cromatografía en capa fina, cromatografía miniaturizada o por extracción con solventes (22,26).

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 de mayor o igual que el 90% (23).

## ESPECIFICACIONES DE CALIDAD DE LOS TRES RADIOFARMACOS EMPLEADOS EN EL ESTUDIO.

### MACROAGREGADOS DE ALBUMINA.

pH.

Este deberá estar entre 6 y 7 (29)

### PUREZA RADIOQUIMICA

Debe ser mayor del 95% por cromatografía ascendente (29).

### CONTROLES BIOLÓGICOS

Administración intravenosa del radiofármaco en ratas o ratones y estudio de la distribución en 30 minutos post-inyección(29).

El porcentaje de actividad en pulmones debe ser superior al 80% de la dosis inyectada y no más de 5% en el hígado (29)

Se deben realizar pruebas de esterilidad y de endotoxinas bacterianas(29).

### CONTROLES FÍSICOS

La determinación del tamaño y número de partículas se realiza por microscopía óptica; utilizando para ello un ocular micrométrico y una cámara cuenta glóbulos. Debe registrarse el número de partículas por

milímetros, el 90% de las partículas deben tener entre 10 a 100  $\mu\text{m}$  y ninguna debe ser mayor a 120  $\mu\text{m}$  (29).

#### ACIDO DIETILIENTRIAMINOPENTAACETICO.

pH

Debe estar entre el rango de 5.5 a 7.0 (29).

#### PUREZA RADIOQUIMICA

Debe ser mayor del 90%, se determina por cromatografía ascendente (29).

#### CONTROLES BIOLOGICOS

Se deben realizar pruebas de esterilidad y de endotoxinas bacterianas (29).

#### PIROFOSFATO DE SODIO.

pH

Debe estar entre el rango de 6 a 7 (29).

#### PUREZA RADIOQUIMICA.

No debe excederse del 95% (29).

## RADIONUCLEIDO UTILIZADO EN RADIOFARMACIA

Se le denomina radionucleido a los nuclidos que por su inestabilidad emiten radiación (11).

Los radiofármacos para su uso, especialmente en el campo del diagnóstico, deben considerarse dos elementos fundamentales: el radionucleido que contiene y la forma química más adecuada (12).

La elección del radionucleido está relacionado a dos condiciones básicas:

- 1) La dosis de radiación recibida por el paciente debe ser lo más baja posible, para que la exploración pueda realizarse sin riesgo. Esto se consigue utilizando radioisótopos de corto período de desintegración y preferentemente emisores puros de radiación blanda.
- 2) Las características de la radiación emitida deben ser las adecuadas para permitir su detección con el equipo de medición utilizado (30).

A su vez, la elección de la forma química más adecuada, está igualmente condicionada por dos exigencias fundamentales:

- 1) La forma química usada debe permitir su incorporación al comportamiento biológico deseado, donde su cinética debe ser la requerida según deba permanecer en la circulación un cierto tiempo, localizarse en cierto tipo de tejido o excretarse de una forma determinada (30).

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
Biblioteca Central

2). Su excreción debe ser la más rápida posible, una vez finalizada la prueba diagnóstica. Esta característica puede ser expresada por el llamado período de semidesaparición biológica que debe ser lo más corto posible, para así disminuir la irradiación del paciente (30).

## RADIOISOTOPO $^{99m}\text{Tc}$

### 1. CARACTERISTICAS FISICAS

Su período de semidesintegración es de 6.04 hrs. y es un emisor gamma puro de 140Kev, la ausencia de emisión beta permite la administración de cantidades del orden de millicuries sin que esto signifique una dosis de radiación significativa para el paciente. Por decaimiento pasa a  $^{99}\text{Tc}$  que es un emisor beta. Sus fotones gamma de 140 Kev, presentan una adecuada penetración de los tejidos (31).

El  $^{99m}\text{Tc}$  también presenta la ventaja que puede ser obtenido fácilmente a nivel de clínicas de medicina nuclear en forma estéril, libre de pirógenos y sin portados, por elución de generadores de  $^{99}\text{Mo}$ - $^{99m}\text{Tc}$  (32).

### CARACTERISTICAS QUIMICAS DEL $^{99m}\text{Tc}$

El tecnecio es el elemento número 43 de la tabla periódica, es un metal de la segunda serie de transición, perteneciente al grupo VIIB. Se encuentra ubicado entre los elementos Mn (primera serie) y Re (tercera serie), presentando propiedades comunes con ellos, especialmente con el Re (33).



Posee estados de oxidación que van desde -1 a +7. Los estados inorgánicos más estables son como ión pertechnetato con valencia +7 y dióxido de tecnecio con valencia +4. Los restantes estados de oxidación son más inestables y difíciles de obtener, presentándose principalmente bajo forma de complejos de coordinación (34).

## MECANISMOS DE LOCALIZACIÓN DE LOS RADIOFARMACOS

### 1 BLOQUEO CAPILAR

Para estudiar la perfusión regional de sangre a un área particular del organismo, puede utilizarse el mecanismo de bloqueo capilar, o sea, la producción de microembolizaciones por la administración de partículas marcadas, de un tamaño mayor que el diámetro de los capilares sanguíneos. Una elección apropiada de la vía de administración de estas partículas radiactivas (con un rango de tamaño de 10 a 100  $\mu\text{m}$ ) permite la visualización de diferentes áreas: pulmones, flujo arterial de las extremidades o del cerebro, etc. (35,36).

Cualquier tipo de partículas con el tamaño adecuado, capaz de ser marcada con un radionucleido, podría ser usada para estudios de bloqueo capilar; sin embargo, existen limitaciones como es la necesidad de utilizar materiales biodegradables y no antigénicos. Por este motivo es que por lo general, los preparados de elección para estos estudios, son los macroagregados y microesferas de seroalbúmina humana, marcados con  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  (37,38).

Dentro de este tipo de mecanismo por bloqueo, se incluirían también los estudios de ventilación pulmonar basado en la inhalación de

Dentro de este tipo de mecanismo por bloqueo, se incluirían también los estudios de ventilación pulmonar basado en la inhalación de aerosoles con un tamaño de partículas tal, que queden retenidos a nivel de los bronquiolos terminales (39,40).

## 2. FAGOCITOSIS

La localización y visualización de órganos con células del sistema SRE como el hígado, bazo y médula ósea, puede efectuarse utilizando el mecanismo fisiológico de fagocitosis que presentan dichas células (41).

El tamaño de las partículas coloidales administradas es lo que determina el sitio primario de localización, siendo las partículas más pequeñas fagocitadas principalmente a nivel de médula ósea, las de tamaño intermedio a nivel del hígado y las más grandes, en el bazo (42).

Además de estudios morfológicos, este tipo de preparación permite evaluar la capacidad fagocitaria del SRE, para lo cual se lo desafía con dosis cada vez mayores de coloide no marcado y midiendo la velocidad de desaparición del mismo desde la sangre (31,43).

## 3. SECUESTRO CELULAR.

El uso de mecanismos propios de un órgano como es el caso de la función de captación y destrucción de glóbulos rojos por el bazo, es otro criterio que se usa para lograr la fijación preferencial de un radiofármaco (44).

Si una fracción de glóbulos rojos del paciente se marca "in vitro" con  $^{99m}\text{Tc}$  y se altera ligeramente antes de la inyección, puede

obtenerse una imagen centellográfica de bazo, sin interferencias de la radiactividad desde el hígado (45).

La administración de glóbulos rojos marcados dañados, permite efectuar estudios en caso de hiperfunción esplénica (32).

#### 4. TRANSPORTE ACTIVO

Procesos metabólicos específicos de diferentes órganos involucran mecanismos de transporte activo, los cuales pueden ser utilizados como criterio de diseño de radiofármacos para obtención de imágenes y estudios funcionales (44).

#### 5. LOCALIZACION COMPARTIMENTAL

El organismo contiene varios compartimientos bien definidos: sistema sanguíneo, fluido cerebroespinal, espacio aéreo pulmonar, tracto gastrointestinal, etc. (44).

Dichos compartimientos pueden ser estudiados introduciendo trazadores radioactivos que, bajo condiciones normales no sean removidos, no por difusión ni por transporte activo, permaneciendo en ellos el tiempo necesario para efectuar las determinaciones (45,46).

#### 6. DIFUSION SIMPLE O INTERCAMBIO

En este grupo se incluyen mecanismos de localización pasiva del trazador. Por ejemplo, alteraciones en la barrera hematoencefálica permiten que exista difusión del agente de radiodiagnóstico lograndose visualizar la lesión cerebral (47).



La difusión constituye probablemente el primer paso que guía a la localización de los agentes de imagen de hueso. El radiofármaco se difunde desde la sangre a los fluidos del espacio extracelular, quedando en contacto con el tejido óseo, al cual es rápidamente incorporado. Esta rápida fijación mantiene un gradiente de concentración favorable para que continúe la difusión del agente marcado desde la sangre hacia el fluido extracelular (47).

Se ha propuesto otro mecanismo de localización de los radiofármacos, basándose en que los mismos participen o no en reacciones bioquímicas específicas (46).

## CONTROL ANALITICO DE CALIDAD

### 1. CARACTERES ORGANOLEPTICOS

La apariencia física de una preparación radiofarmacéutica es muy importante, ya que su alteración puede reflejar cambios que influyen en su comportamiento biológico (48)

Las soluciones verdaderas inyectables, no pueden presentar partículas visibles observadas sobre fondo blanco o negro a través de un vidrio plomado o indirectamente a través de un espejo (48)

### 2. DETERMINACION DE ACTIVIDAD

Es la medida de radiactividad total presente en una muestra. La unidad comúnmente empleada es el curie (Ci) (48).

La determinación de actividad se realiza mediante el uso de equipo de detección seleccionado en base al tipo y energía de la radiación emitida, siendo práctica común el empleo de cámara de ionización para la medición de radiofármacos marcados con emisores gamma (49).

Siendo la actividad variable en función de el tiempo, el resultado de tal determinación deberá acompañarse de la fecha y la hora de la calibración (50).

Serán también importantes y deberán declararse en el rótulo de una preparación radiofarmacéutica, algunos o todos de los datos siguientes: volumen total, concentración específica. Se define concentración específica o concentración radiactiva como la relación de actividad y el volumen de solución en que está presente. Se expresa en mCi/ml (51).

La medida de actividad de un radiofármaco a administrar en un paciente representa la dosis. Su cálculo previo será dependiente del radiofármaco, propósito del estudio, características del paciente (edad, peso, etc.) y otros. Dosis correcta con fines diagnósticos es la que brinda la mejor información con un mínimo de radiación (52).

### 3. IDENTIDAD Y PUREZA RADIONUCLEIDA

La identificación del radionucleído en una preparación radiofarmacéutica, es parte integral de la determinación de pureza del sistema (53).

Se define pureza radionucleida, como la relación de actividad de un radionucleido con respecto a la actividad total de la muestra (53).

Normalmente se expresa en porcentaje. De la definición se deduce que no se trata de un fenómeno estacionario sino que depende de los períodos de semidesintegración, de la impureza y del radionucleido de interés (51).

La presencia de contaminantes radionucleido en radiofármacos al ser administrados en pacientes, pueden causar error de dosificación, incremento de radiación absorbida y/o error de diagnóstico (52).

La determinación de impurezas emisoras gamma, se realiza por espectrometría con detectores de estado sólido o de centelleo. En ambos casos se determina el espectro de la radiación electromagnética emitida por la muestra, y se calcula la proporción de los diferentes componentes con referencia a espectros patrones (51).

Los valores de pureza radionucleida exigidos normalmente, se sitúan en un 90% al momento de utilizar el material radiactivo (54).

#### 4. TAMAÑO Y NUMERO DE PARTICULAS

Cuando un radiofármaco se presenta bajo la forma farmacéutica de soluciones coloidales o de suspensiones, es necesario controlar el tamaño de las micelas, a fin de verificar una distribución acorde a las especificaciones (51).

Fundamentalmente se deberá tener en consideración la incidencia de este parámetro en la biodistribución de preparado (51).

La distribución del tamaño de partículas es dependiente de la formulación y condiciones de preparación. Su evaluación en

preparaciones coloidales puede realizarse por gel filtración, pasaje a través de membrana o microscopía electrónica (54).

## 5. pH

El concepto y la importancia del valor del pH en radiofarmacia está directamente relacionado con la estabilidad del producto. Si bien el valor ideal de un preparado a ser administrado por vía intravenosa es el pH sanguíneo, grandes diferencias pueden ser toleradas por los pequeños volúmenes inyectados y la gran capacidad tampón de la sangre (55).

## 6. ISOTONICIDAD

Debido a los pequeños volúmenes de administración de los radiofármacos, no se exige en estos preparados parenterales que sean isotónicos con los fluidos orgánicos con lo que van a estar en contacto (56).

## 7. PUREZA QUIMICA

Se define como la fracción de masa total presente en una forma química establecida. Puede referirse tanto a las materias primas del radionucleido y/o radiofármaco como el producto final (54).

El control de material inactivo se efectúa según especificaciones de las farmacopeas. En el caso de radionucleidos y/o radiofármacos se debe determinar en forma cuali y cuantitativa la presencia de productos químicos (no radiactivos) que no forman parte de su composición, especialmente de aquellos posibles contaminantes tóxicos o de sustancias que alteren el comportamiento fisicoquímico y/o biológico del preparado (52).

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE LOS RIOS DE QUINDIA  
Biblioteca Central

## 8. PUREZA RADIOQUIMICA

Pureza radioquímica de un preparado es el porcentaje de actividad del radionucleido en la forma química establecida en relación a la actividad total presente de dicho radionucleido y constituye un factor determinante de la reproducibilidad de un procedimiento diagnóstico ya que si bien las impurezas radioquímicas raramente ocasionan series de reacciones tóxicas, pueden alterar la biodistribución de la preparación (51,52,54).

Durante el almacenamiento de un radiofármaco, su pureza radioquímica puede verse afectada por el fenómeno de radiolisis. La magnitud del mismo varía con el tipo y energía de la radiación emitida, actividad específica de la preparación y período de semidesintegración del radionucleido. También puede ocurrir descomposición química independiente de la radiactividad, siendo función de variables como temperatura, luz, pH, oxígeno, solventes, etc. (53).

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. Cromatografía en capa fina es muy usado en el control de radiofármacos marcados con radionucleidos de corto período (55).

Los límites de pureza radioquímica deben ser de 90% a 97% (55).

## 9. ESTERILIDAD

La producción de un inyectable debe realizarse tendiendo a evitar la posible contaminación con microorganismos más que a destruirlos posteriormente (54,55).





Los métodos más utilizados en el área radiofarmacéutica, son aquellos que emplean modos físicos tales como calor seco o húmedo y filtración, así como la realización de procedimientos asépticos, a partir de reactivos estériles (54).

El control de esterilidad se realiza según lo indicado en las diferentes farmacopeas, con volúmenes de inoculación reducidos en cada medio de cultivo (0.1 - 0.2 ml) (57).

## 10. APIROGENICIDAD

Los pirógenos son sustancias hipertermizantes y su ausencia en una preparación inyectable es condición necesaria si el volumen de la misma supera los 20 ml o si se usa una vía especial de administración. Por tanto la apirogenicidad no constituye una exigencia para la mayoría de los radiofármacos (54).

Debido a que una de las fuentes principales la constituyen productos del metabolismo, el mejor recurso para prevenir contaminación por pirógenos es usar soluciones estériles recientemente preparadas, material despirogenizado y emplear una metodología aséptica de trabajo (54).

El método oficial de control de pirógenos se basa en la respuesta febril obtenida en conejos por administración de las sustancias a ensayar (50,51).

Existe un método "in vitro" para la determinación de endotoxinas bacterianas. Se basa en la gelificación del lisado de amebocitos del líquido circulante de un arácnido, el *Limulus polyphemus*, en presencia de pequeñas cantidades de endotoxinas bacterianas (52,53).

## 11. BIODISTRIBUCION EN ANIMALES DE EXPERIMENTACION

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, determinar su eficacia, así como obtener datos cuantitativos farmacocinéticos que constituyen una parte de la radiofarmacología básica, una nueva disciplina en Medicina Nuclear (54).

El objetivo de esta evaluación preclínica es estimar cuál será la potencial utilidad diagnóstica en humanos, a partir de los resultados obtenidos en un modelo animal. Por tanto, es evidente que la elección del modelo es de gran importancia. Diferencias entre especies anatómica y/o funcionales, pueden interferir en las etapas de absorción, distribución, metabolismo, excreción y/o interacción del compuesto marcado con el receptor (54).

## 12. ATOXICIDAD

Es la ausencia de sustancias que por su acción directa o indirecta sobre un órgano o sistema, o sobre un tejido pueden producir alteraciones que resulten nocivas para el paciente (57).

El control de toxicidad se realiza en las etapas de investigación, previa a la liberación de un radiofármaco y se determina generalmente solo la dosis letal. Esta se define como la dosis expresada en mg que inyectada a un lote de ratones, mata al 50% de los animales. Se expresa en mg/kg de peso (57).

### 13. CONTROL DE CONDICIONES AMBIENTALES

Periódicamente deberán inspeccionarse las áreas de trabajo desde el punto de vista microbiológico y polvo en suspensión, principalmente en aquellos lugares destinados a la preparación de materiales estériles, verificándose la efectividad de los filtros (58).

En el caso de las campanas de flujo laminar y/o laboratorios asépticos, deberá controlarse la velocidad de intercambio de aire de acuerdo a las especificaciones que correspondan a cada caso (57).

Controles diarios de posibles contaminaciones radiactivas se realizarán en superficies de trabajo, ropas y equipo, registrándose las situaciones anormales, así como los procedimientos de descontaminación (58).

### 14. CONTROL DE EQUIPO

Los procedimientos más importantes para efectuar el control periódico del equipo son: la verificación del nivel de fondo, la exactitud y precisión de la actividad para todos los radionucleidos de uso corriente, calibración con una fuente de Cs37 y la inealidad de la respuesta (59).

Todas las calibraciones deben registrarse en planillas especiales que se archivarán, de esta manera se podrá apreciar variaciones mínimas, comparando con las calibraciones efectuadas anteriormente (59).

ANEXO II  
TABLAS

**TABLA I**  
**CONCENTRACIONES DE Sn(II) OBTENIDAS**  
**EN LOS 3 RADIOFARMACOS UTILIZADOS**  
**(MG/ML)**

MAA	DTPA	PIP
0.080	0.130	5.30
0.07	0.130	5.30
0.08	0.130	5.30
0.08	0.130	5.30
0.08	0.130	5.30
0.08	0.130	5.30
0.06	0.130	5.40
0.08	0.130	5.30
0.08	0.130	5.40
0.08	0.130	5.70
0.07	0.130	5.30
0.08	0.130	5.30
0.07	0.130	5.30
0.08	0.130	4.80
0.08	0.130	5.30
0.08	0.140	5.30

DONDE LOS VALORES TEORICOS DE CONCENTRACION DE ESTAÑO DIVALENTE EN LOS TRES RADIOFARMACOS SON -  
 LOS SIGUIENTES:

MAA: 0.080 MG/ML

DTPA: 0.131 MG/ML

PIP: 5.300 MG/ML

TABLA II  
 DATOS DE CONCENTRACION Y ABSORVANCIA  
 OBTENDOS CON LAS SOLUCIONES ESTANDARD DE Sn (II)  
 UTILIZADAS EN EL ESTUDIO

X	Y
0.0050	0.2000
0.0050	0.2000
0.0050	0.1900
0.0050	0.1700
0.0050	0.1500
0.0050	0.1700
0.0100	0.3700
0.0100	0.4000
0.0100	0.4200
0.0100	0.3800
0.0100	0.3400
0.0100	0.4000
0.0150	0.5100
0.0150	0.6200
0.0150	0.6400
0.0150	0.6600
0.0150	0.5100
0.0150	0.5200
0.0200	0.6500
0.0200	0.8000
0.0200	0.8000
0.0200	0.8000
0.0200	0.8000
0.0200	0.7400
0.0200	0.7000
0.0250	0.9000
0.0250	1.0000
0.0250	1.1000
0.0250	1.0000
0.0250	0.9500
0.0250	0.9000
0.0500	1.1000
0.0500	1.2000
0.0500	1.5000
0.0500	1.1000
0.0500	1.5000
0.0500	1.0000

DONDE ;

X ES LA CONCENTRACION DE Sn (II) EN MG/ML

Y ES LA ABSORVANCIA

VER GRAFICAS EN EL ANEXO III

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
 Biblioteca Centr



TABLA III  
EVALUACION ESTADISTICA DE LA CURVA DE CALIBRACION

1. ANALISIS DE VARIANZA

Fuente	SC	GL	CM	F
MODELO	3.98	1	3.98	167.32
ERROR	0.81	34	0.024	
TOTAL	4.79	35		

Donde;

SC = SUMA DE CUADRADOS

CM=CUADRADO MEDIO

GL=GRADOS DE LIBERTAD

F= F CALCULADA

Ho: X y Y no se relacionan linealmente

El valor de f tabulada es de 4.17

167 > 4.17, entonces se rechaza Ho y se concluye que existe relación lineal entre X y Y

2. COEFICIENTE DE CORRELACION (r): 0.91

TABLA IV

ANALISIS ESTADISTICO DE LAS MUESTRAS  
DE LOS TRES RADIOFARMACOS ANALIZADOS  
(MG /ML)

RADIOFARMACO	$\chi$	$\sigma$	CV	IC	Tc
PIP	5.310	$\pm 0.169$	3%	5.19 - 5.42	1.16
MAA	0.078	$\pm 0.004\%$	5%	0.76 - 0.08	1.0
DTPA	0.129	$\pm 0.004$	3%	0.127 - 0.132	2.0

DONDE:  $\chi$  ES EL PROMEDIO

$\sigma$  ES DESVIACION ESTANDAD

CV ES EL COEFICIENTE DE VARIACION

IC ES EL INTERVALO DE CONFIANZA

Tc ES LA T DE STUDENT CALCULADA

EN LOS TRES CASOS:

H<sub>0</sub>: CONCENTRACION TEORICA = CONCENTRACION OBTENIDA

SI T CALCULADA ES MAYOR O IGUAL A T TABULADA, ENTONCÉS SE RECHAZA H<sub>0</sub>.

T TABULADA ES 2.131

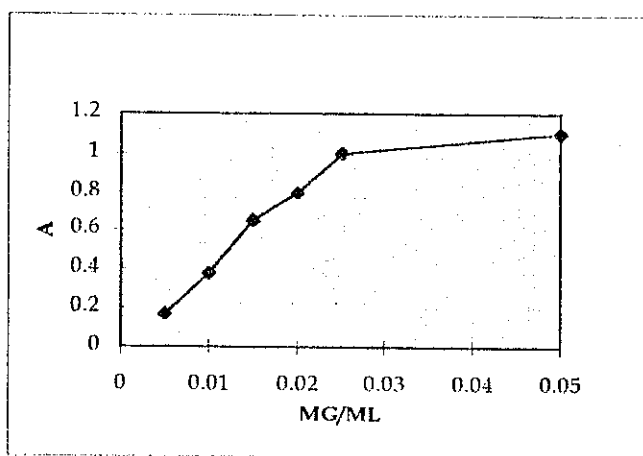
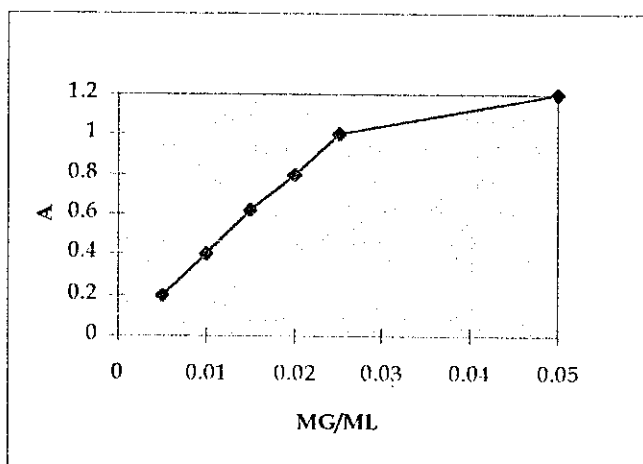
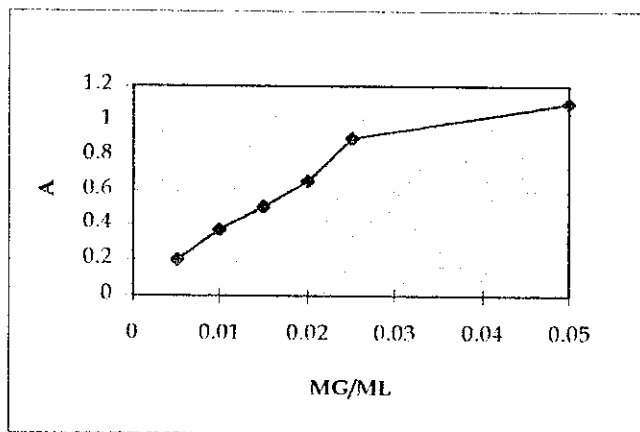
EN TODOS LOS CASOS LA T CALCULADA ES MENOR QUE T TABULADA.

POR LO TANTO, NO EXISTE DIFERENCIA ESTADISTICAMENTE SIGNIFICATIVA ENTRE LAS CONCENTRACIONES OBTENIDAS Y LAS TEORICAS.

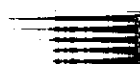


ANEXO III  
GRAFICAS

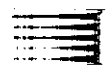
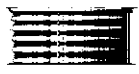
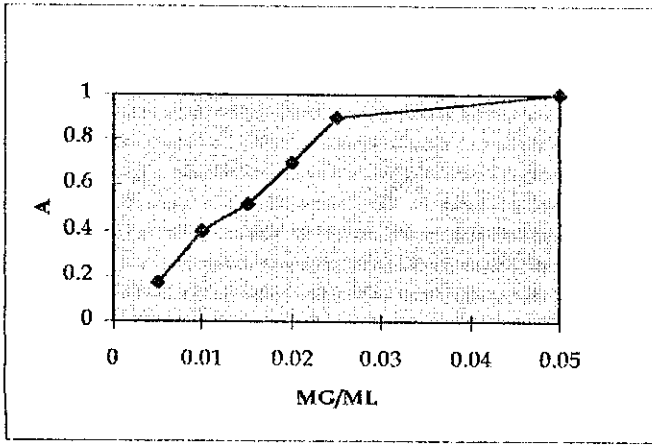
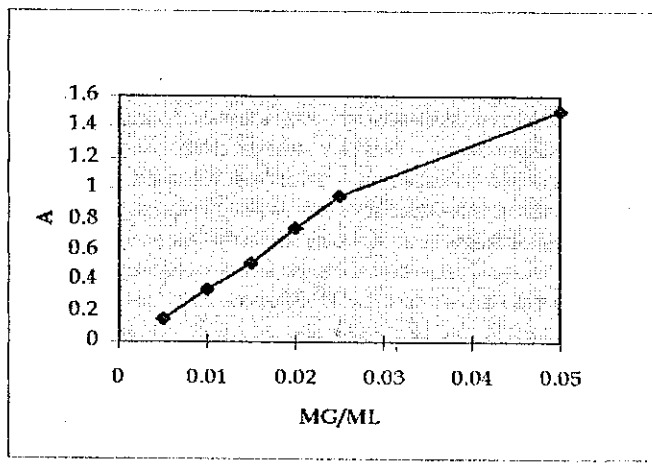
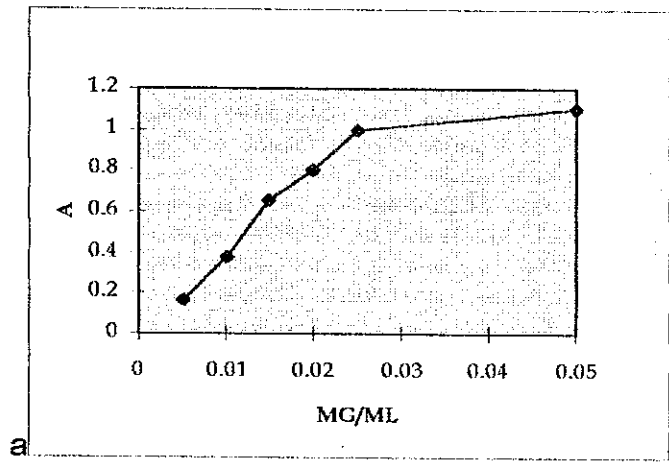
# CURVAS DE CALIBRACION DE Sn (II)

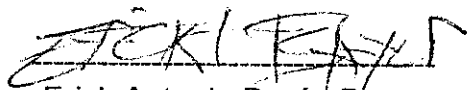


PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN  
Biblioteca



### CURVAS DE CALIBRACION DE Sn (II) (CONTINUACION)

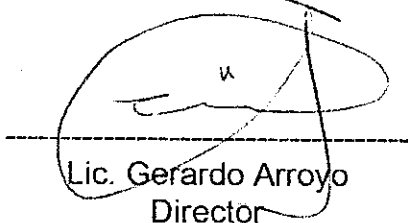




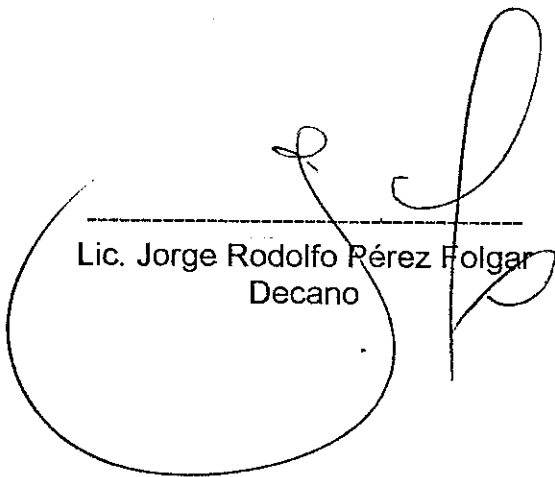
Erick Antonio Durán Bayer  
Estudiante



Licda. Diana Freire  
Asesora



Lic. Gerardo Arroyo  
Director



Lic. Jorge Rodolfo Pérez Folgar  
Decano