

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

**PRODUCCION DEL RADIOFARMACO NANO-COLOIDE
DE ALBUMINA MARCADO CON ^{99m}Tc PARA ESTUDIOS
CENTELLOGRAFICOS DEL SISTEMA LINFATICO Y MEDULA OSEA.**

INFORME DE TESIS

Presentado por

Alba Evelia González Alvarado

Para optar al título de

QUIMICO FARMACEUTICO

Guatemala, noviembre de 1997

06
T (1857)
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

AGRADECIMIENTOS

A la Licda. Diana Freire de Nave por sus conocimientos científicos y asesoría en la realización de la tesis.

A la Licda. Claudia María Quintero por su amistad, paciencia, colaboración, conocimientos científicos y asesoría en la realización de la tesis.

A los técnicos del laboratorio de Radiofarmacia.

RECONOCIMIENTO

A Silvia Irina González de Lizama por su apoyo incondicional.

DEDICO ESTA TESIS

A: Mi patria Guatemala

A: La Universidad de San Carlos de Guatemala

A: La Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia

A: El Laboratorio de Radiofarmacia de la Dirección General de Energía Nuclear, tanto al personal profesional como técnicos por su valiosa colaboración.

A: Todas las personas que ayudaron de una u otra forma a la elaboración del presente trabajo.

ACTO QUE DEDICO

- A DIOS TODO PODEROSO: POR SUS BENDICIONES Y FORTALEZA.
- A MIS PADRES: DACIO GONZALEZ GUZMAN Y
MARIA CONCEPCION ALVARADO DE GONZALEZ
POR SU AMOR Y APOYO EJEMPLAR.
- A MI ESPOSO: JOSE ALEJANDRO TORRES RODRIGUEZ
POR SU AMOR, COMPRENSION Y APOYO EN TODO
MOMENTO.
- A MI HIJA: ALBA ALEJANDRA TORRES GONZALEZ
POR SER EL MOTIVO DE MI SUPERACION
- A MIS HERMANOS: SILVIA IRINA, DACIO, AMELIA CONCEPCION Y
ELENA PAULINA.
- A MIS ABUELOS: FRANCISCO GONZALEZ VALLE
EVELIA ESPERANZA DE GONZALEZ (Q.E.P.D.)
AMELIA BELTETON DE ALVARADO (Q.E.P.D.)
- A MIS SOBRINOS: GABRIELA, MONICA, KATERINE, DACIO, JULIO
Y PAULINA.
- A MIS CUÑADOS: PATRICIA, ROLANDO, MARIO Y GUSTAVO.
- A MIS FAMILIARES: EN ESPECIAL A LUIS ALFREDO CARIAS
ALVARADO POR SU CARINO Y APOYO.
- A MIS AMIGAS: INGRID ELIZABETH, GABY, JULIA, CRISTY,
PERLA, ANA MIRIAM, ROSITA Y NORMA.
POR SU AMISTAD INCONDICIONAL.

INDICE

1.	RESUMEN.....	1
2.	INTRODUCCION.....	3
3.	ANTECEDENTES.....	5
4.	JUSTIFICACION.....	13
5.	OBJETIVOS.....	14
6.	MATERIALES Y METODOS.....	15
7.	RESULTADOS.....	29
8.	DISCUSION DE RESULTADOS.....	32
9.	CONCLUSIONES.....	34
10.	RECOMENDACIONES.....	35
11.	REFERENCIAS.....	36
12.	ANEXOS.....	42

1. RESUMEN

El objeto del presente trabajo fue realizar la producción, en Guatemala, de un nuevo radiofármaco, en la Dirección General de Energía Nuclear (DGEN) para la detección de cáncer, así como su implementación en nuestro medio, el control de calidad por medio de la pureza radioquímica, control microbiológico y calidad organoléptica, evaluar la biodistribución en ratas y comprobar su estabilidad.

El trabajo se realizó, formulando el fármaco NANO-COLOIDE DE ALBUMINA, luego se marcó con ^{99m}Tc , se evaluó la pureza radioquímica, midiendo las desintegraciones por minuto del ^{99m}Tc en un contador de centelleo tipo pozo, determinándose el porcentaje de unión del ^{99m}Tc al nanocoloide, con una pureza mayor del 90%.

La biodistribución se evaluó en ratas albinas y los resultados se sometieron a un análisis de varianza de una vía, determinándose, para médula ósea, que hay diferencia significativa en la biodistribución, en cuanto a órganos.

Se procedió a efectuar comparaciones múltiples contra el control (hueso). Se demostró que existe diferencia significativa entre bazo e hígado contra el control, pero no existe diferencia significativa entre pulmón y sangre contra el control, por lo que se deben utilizar solo bazo e hígado para los estudios correspondientes.

Se realizó un análisis de varianza, en la biodistribución del sistema linfático y los diferentes órganos, determinándose que sí existe diferencia significativa.

Se procedió a efectuar comparaciones múltiples contra el control (nódulo linfático), prueba de Dunnett, la cual dio como resultado que sí existe diferencia entre la biodistribución de cada órgano y el control, la cantidad encontrada en los nódulos linfáticos es mayor, respecto a cada órgano.

2. INTRODUCCION

La investigación de nuevos radiofármacos, así como su producción a adquirido últimamente gran importancia, en la medida que su aplicación abre nuevas perspectivas en el diagnóstico de diversas enfermedades.

La producción de radiofármacos proteicos como el Nano-coloide de albúmina marcado con Tecnecio 99metaestable (^{99m}Tc), para su utilización en centellografías, tanto de la médula ósea, como del sistema linfático, adquiere relevancia en Guatemala, pues no se cuenta con este tipo de radiofármacos que permita usarlo en estudios linfográficos y médula ósea .

En cuanto a la producción del fármaco se tomó en cuenta, su diseño, fácil disponibilidad, de costo no elevado y que pueda ser adquirido por laboratorios o lugares donde se practique medicina nuclear.

Al marcarlo con ^{99m}Tc , se obtuvo un radiofármaco cuya vida media efectiva es relativamente corta y permite efectuar un estudio centellográfico. Su radiolocalización en un amplio porcentaje aceptable, en el órgano de estudio, permite una imagen adecuada y proporciona información morfológica y funcional del órgano, en este caso, médula ósea y sistema linfático.

El control de calidad del radiofármaco es importante debido a que las sustancias sufren cambios por la interacción con la luz, humedad, pH y otras circunstancias que pueden alterar su constitución, por lo que fue necesario el estudio de estabilidad que permitió pronosticar y determinar las condiciones de almacenamiento, es decir, el material de empaque, el límite del tiempo de almacenamiento y temperatura, así como las características fisicoquímicas, microbiológicas y toxicológicas al momento de fabricarse.

El diseño y producción de este radiofármaco, de naturaleza proteica, se llevó a cabo en la sección de Bioquímica y Radiofármacos de la Dirección General de Energía Nuclear (DGEN).

3. ANTECEDENTES

3.1. TECNICA DE LA PREPARACION DEL NANO-COLOIDE DE ALBUMINA MARCADO CON ^{99m}Tc REALIZADO EN EL INSTITUTO DE INVESTIGACION PARA RADIOBIOLOGIA Y RADIOHIGIENE.

La preparación del equipo de Nano-coloide de albumina marcado con ^{99m}Tc inyectable.

El equipo consta de una liofilizadora y un esterilizador, libres de pirógenos inactivos. La formulación sellada en una atmósfera de nitrógeno, preparado para marcarlo con ^{99m}Tc para estudios de sistema linfático y médula ósea.

Nano-albúmina es un producto preparado de sero albúmina humana, el cual contiene pequeñas partículas coloidales de 100 nanómetros.

Nombre y cantidad de los ingredientes activos

Nano-albúmina HSA coloides	1.0 mg
Cloruro de estaño (II)	0.2 mg
Fosfato de Potasio, monobásico y Fosfato de sodio, dibásico	1.0 mg
Glucosa	15.0 mg

3.1.1. Propiedades Farmacológicas

No hay efectos farmacológicos.

3.1.2. Propiedades Farmacocinéticas y Farmacodinámicas

La inyección intravenosa de Nano-coloide de albúmina marcado con ^{99m}Tc pasa rápido por la células del reticuloendotelial, los cuales se distribuyen principalmente dentro del hígado, bazo y médula ósea. Dentro de la prueba clínica 15-20% de los inyectados presentan actividad en la médula ósea. Sigue la

biodegradación del marcaje que es excretado por vía de riñones y Tracto gatro intestinal (TGI).

Después de la inyección subcutánea como el 40-50% de la dosis administrada es filtrada en los capilares linfáticos.

Por el fluido linfático el radiocoloide se transporta a lo largo de los vasos linfáticos para nodos linfa y adelante para nodos linfa secundarios y principales vasos linfáticos.

3.1.3. Propiedades Toxicológicas

No es tóxico, pero no debe ser inyectado a individuos sensibles a proteínas.

3.1.4. Propiedades Clínicas

Indicaciones:

La centellografía de la médula ósea: sirve para visualizar defectos dentro de la distribución de médula ósea, expansión de la actividad de la médula dentro de los huesos largos, mielofibrosis, anemia hemolítica o desórdenes mieloproliferativos.

La linfocentellografía: sirve para demostrar la obstrucción u oclusión linfática o pérdida de la función del retículo linfático. Esta útil definición de irradiación sirve en radioterapia para continuar la secuencia linfática externa e irradiación endolinfática.

Contraindicaciones:

La preparación no debe aplicarse en personas con un historial de reacciones de hipersensibilidad a productos conteniendo serum albúmina humana. La linfocentellografía es

contraindicado en pacientes con un completo bloqueo en el sistema linfático. Estos radiofármacos no deben administrarse a personas menores de 18 años, a mujeres embarazadas o madres lactantes a menos que las expectativas de beneficio sean buenas pensando en un riesgo potencial.

En el caso de la centellografía de médula ósea se debe administrar intravenosa y en caso de linfocentellografía subcutánea (1).

3.2. VALOR DE LA LINFOCENTELOGRAFIA EN EL CANCER DE MAMA, ESTUDIOS REALIZADOS EN ARGENTINA POR EL DOCTOR Aldo E.A. Mitta.

El cancer de mama es a menudo, inicialmente, una enfermedad plurifocal de las dos glándulas mamarias, que comprende lesiones de distinta gravedad. Sin embargo, está comprobado que el sistema linfático está comprometido desde el comienzo del estadio invasor del proceso, de ahí la importancia de conocer su verdadero compromiso antes de decidir la conducta terapéutica. Como método complementario de diagnóstico por imágenes, empleamos la linfocentellografía, modificando el sitio de inyección y el radiofármaco utilizado, que podría brindarnos adecuada información sobre el grado de compromiso ganglionar en el cáncer de mama y complementar apropiadamente nuestro diagnóstico definitivo. En la práctica diaria, la linfocentellografía axilar no logró difundirse, debido al sitio álgido de la inyección (periareolar) y la linfografía convencional o radiológica resultó un método cruento e inaccesible debido al engorroso método de

canalización de los capilares linfáticos. El diagnóstico potencial de la inyección intersticial del material radioactivo fue descrito por primera vez por Sherman y Ter-Pgossian en 1953. El siguiente trabajo fue descrito por Hultbor en 1955 y por Searman algunos meses después. En 1969, citado por Freeman, describe la utilización de esta técnica, para la visualización de los ganglios linfáticos paraesternales en la evaluación del pronóstico del cáncer de mama. Se utilizó Fitato de Sodio ^{99m}Tc , para la linfocentellografía, el ^{99m}Tc marcando azufre coloidal; fué una alternativa, pero debido al tamaño de sus partículas, parte del coloide queda en el sitio de inyección. También han propuesto el uso de dextrano, de peso molecular 500.000 y 70.000, marcado con ^{99m}Tc .

El principio fundamental de la linfocentellografía es el transporte y localización intersticial e intralinfático del material radioactivo, luego de la inyección intersticial del mismo. Se considera que la linfocentellografía combinada, axilar y mamaria interna, realizada en forma cuantitativa, es un buen método de diagnóstico incruento por imágenes, para evaluar el grado de invasión linfática a nivel de los ganglios axilares, supraclaviculares, infraclaviculares y ganglios de la cadena mamaria interna, posibilitando una correcta clasificación de los estadios del cáncer de mama, evaluar correctamente el pronóstico de progresión de la enfermedad y determinar la elección del método terapéutico a instituir (2).

3.3. ARTICULO PUBLICADO EN LA REVISTA ESPAÑOLA DE MEDICINA NUCLEAR UTILIDAD DE LA GAMMAGRAFIA MEDULAR CON NANOCOLOIDES COMO COMPLEMENTO DE LA GAMMAGRAFIA OSEA EN CANCER DE MAMA.

"El marcaje de los nanocoloides con ^{99m}Tc permite la realización de gammagrafías de médula ósea (GMO). Dada la alta incidencia de metástasis óseas en neoplasias de mama, la realización de GMO podría ser de utilidad en la interpretación de los hallazgos dudosos en la gammagrafía ósea (GO) al evidenciar el desplazamiento de la población fagocítica medular por las células tumorales metastásicas. En este estudio pretendemos evaluar la utilidad de la GMO con nanocoloides en pacientes afectas de cáncer de mama.

Desde diciembre de 1993 hasta diciembre de 1994 se han estudiado 112 mujeres afectas de cáncer de mama a las que se les ha practicado GO. En 47 casos (42%) se encontraron alteraciones gammagráficas sugestivas de metástasis óseas, siendo necesaria la práctica de GMO en 6 de ellas para valorar imágenes de dudosa interpretación. Para la realización de la GMO se procedió a la inyección intravenosa de 10 mCi (185 - 555 MBq) de ^{99m}Tc -nanocoloide (95% < 80nm), con obtención de imágenes a partir de los 45-60 minutos. En todos los casos se realizó biopsia y/o RMN de las lesiones. Las imágenes dudosas en la GO se comportaron como zonas con ausencia de captación de radiotrazador en la GMO.

A pesar del reducido número de casos, la GMO con ^{99m}Tc -nanocoloides ha resultado una técnica fácil, que ha añadido información complementaria a los hallazgos de la GO, permitiendo

realizar un correcto diagnóstico de la afectación ósea" (3).

3.4. APLICACION CLINICA DE ESTRUCTURA DEL SISTEMA LINFATICO

Combinando la inyección de sustancias coloidales y la microscopía electrónica se han efectuado observaciones fundamentales sobre la estructura y la función del capilar linfático (Leak y Burke, 1966, 1968; Cliff y Nicoll, 1970; Leak 1976). El endotelio de los capilares linfáticos es similar al de los capilares sanguíneos. No existe membrana basal. Los diámetros de los capilares linfáticos varían mucho desde bulbos capilares terminales dilatados a estructura que son muy estrechas, casi una hendidura, o capilares dilatados, según el estado de su función. Se ha demostrado claramente la pinocitosis; es un método de transporte de sustancias desde los espacios de los tejidos hacia los capilares linfáticos, se forman los principales vasos linfáticos en las extremidades y en el interior de las víceras, y luego se fusionan en el conducto torácico y linfático derecho.

Existen sistemas linfáticos en todos los órganos, con excepción del sistema nervioso central y de la córnea.

3.5. FUNCIONES DEL SISTEMA LINFATICO

Una función importantísima es, claramente el retorno de proteínas, agua y electrólitos desde los espacios tisulares hacia la sangre. Los linfáticos tienen una excepcional importancia en la absorción de nutrientes, sobre todo grasas, del tracto

gastrointestinal.

Asimismo, los linfáticos sirven como mecanismo de transporte para eliminar los eritrocitos que se han perdido en los tejidos como consecuencias de la hemorragia, o las bacterias que pudieron haber invadido los tejidos (4).

3.6. AUMENTO DE TAMAÑO DE LOS GANGLIOS LINFÁTICOS

La linfadenopatía puede deberse a un aumento en el número y tamaño de los folículos linfoides con proliferación de linfocitos y células reticuloendoteliales o a la infiltración del ganglio por células que normalmente no existen en él. Las células ganglionares proliferan en respuesta a los antígenos, a otros estímulos que provoquen mayor actividad fagocitaria, y a estímulos desconocidos que hacen que las células ganglionares se transformen en células de linfoma y proliferen en forma autónoma. Los ganglios pueden resultar infiltrados por células de leucemia o de un carcinoma metastásico, por células polimorfonucleares en la linfadenitis, o por macrófagos sobrecargados de metabolitos en las enfermedades de almacenamiento de lípidos (5).

3.7. MEDULA ÓSEA

La médula ósea tiene una imagen con pequeñas partículas coloidales (<100nm). Aproximadamente 10 a 15 mCi (370-555MBq) ^{99m}Tc -sulfurocoloide o ^{99m}Tc -albumina coloidales inyectado intravenosa la investigación de médula ósea. Solamente arriba del 5% de la dosis total administrada se concentra en la médula ósea y es

manejado por las células reticuloendoteliales, mientras el remanente acumulado en el hígado y bazo. Una médula ósea investigada es obtenida de 1 a 2 horas después de la inyección por medios de una investigación de cuerpo entero o una cámara de centelleo.

La investigación de médula ósea con coloides muestra multiples mielomas, médula carcinomatosa, mielófibrosis, y otras enfermedades relativas con conductos disminuidos de los rastros en el área afectada (6).

4. JUSTIFICACION

En la actualidad la investigación de radiofármacos así como su producción, se ha incrementado debido a su eficiencia en el estudio de imágenes centellográficas para el diagnóstico de diferentes enfermedades.

La producción del radiofármaco Nano-coloide de albúmina marcado con ^{99m}Tc , reside en la importancia de su utilización en centellografías, tanto de médula ósea como del sistema linfático y que actualmente en nuestro país no se tiene.

La radiolocalización de este radiofármaco, permite estudios de médula ósea y sistema linfático con imágenes adecuadas e información estructural y funcional del mismo.

Se hace necesaria la producción de este radiofármaco para la detección de cáncer en mama, ya que es el segundo más importante en la mujer guatemalteca, como causa de mortalidad, es necesario en la medida que pueda ser adquirida por la población, es decir, el costo no elevado y su uso en medicina nuclear.

En este estudio descriptivo no se planteó hipótesis, únicamente por ensayo y error, ya que es la primera vez que se realiza en nuestro país la producción del radiofármaco Nano-coloide de albúmina marcado con ^{99m}Tc .

PROPIEDAD DE
CENTRO DE INVESTIGACIONES Y
DESENVOLUPAMIENTO TECNOLÓGICO
DEL INSTITUTO GUATEMALTECO DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS Y TECNOLÓGICAS

5. OBJETIVOS

5.1. GENERAL

Realizar la producción de un nuevo radiofármaco en Guatemala para contribuir en la detección de cáncer.

5.2. ESPECIFICOS

5.2.1. Implementar en nuestro medio la producción del Nano-coloide liofilizado y su posterior marcación con ^{99m}Tc .

5.2.2. Realizar el control de calidad en la producción del Nano-coloide, por medio de pureza radioquímica, control microbiológico y cantidad organoléptica.

5.2.3. Evaluar su biodistribución en ratas.

5.2.4. Comprobar su estabilidad, mediante pruebas de estabilidad acelerada y poder determinar su fecha de vencimiento.

6. MATERIALES Y METODOS

6.1. UNIVERSO DE TRABAJO

6.1.1. Constituido por un lote de Nano-coloide de albúmina marcado con ^{99m}Tc .

6.1.2. Ratas endocriadas.

6.2. MEDIOS:

6.2.1. RECURSOS HUMANOS

Investigadora: Alba Evelia González Alvarado.

Asesoras: Licda. Diana Freire de Nave.

Licda. Claudia María Quintero Jordán.

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

6.2.2. RECURSOS INSTITUCIONALES

Laboratorio de Radiofarmacia de la Dirección General de Energía Nuclear.

6.2.3. RECURSOS MATERIALES:

Equipo:

Liofilizadora (Lab-Conco).

Balanza Analítica (Metler AE 100).

Potenciometro (Fisher).

Campana de flujo laminar horizontal (Lab-Conco).
Autoclave (Fisher).
Refrigeradora (Cetron).
Computadora (ADC).
Impresora (EPSON).
Radiocromatógrafo (Berthold)
Contador tipo pozo de centelleo sólido con cristal
de yoduro de sodio activado con Talio (Ortek).
Incubadora (Lab-Conco).
Balanza para animales de laboratorio (Metler).
Calibrador de dosis con detector tipo gaseoso.
(Victoreen).
Plancha agitadora con calefacción (Fisher).

Materiales:

Jeringa de 1 y 5 cc.
Agujas números 21 y 23.
Filtros Millipore de 0.22 y 0.45 μ 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 ratas.
Cubas cromatográficas.
Papel cromatográfico ITLC impregnado con sílica gel
(Gelman).

REACTIVOS:

Cloruro estanoso dihidratado (Merck).
Acido Clorhídrico.
Agua destilada apirogenada.
Hidróxido de sodio.
Buffer de fosfatos.
Glucosa 40%.
Sero Albúmina Humana (HSA).
Nitrógeno Gaseoso
Generador de ^{99m}Mo - ^{99m}Tc (Amersham).
Caldo tripticasa soya (BBL).
Caldo tioglicolato (BBL).
Agar Sabouraud (BBL).

6.3. PROCEDIMIENTO

6.3.1. Producción:

Equipo Nano-albúmina para 100 ampollas.

Se prepararon las siguientes soluciones:

6.3.1.1. Solución Stock de estaño:

- 43.58 mg $\text{Sn}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ + 2.08 ml HCl 1.0 N + H_2O destilada aprotogenada 18.75 ml.
- Se agitó 10 minutos y filtró en millipore 0.22 u

6.3.1.2. Solución de albúmina:

- 10 ml Solución stock de estaño + 0.5 ml HSA 20% + 23.33 ml H_2O destilada aprotogenada.
- pH = 2.89 (o menos).

6.3.1.3. Punto Crítico:

- 20.83 ml NaOH 0.1 N. Se agregó rápidamente con agitación para evitar pasar por su punto isoeléctrico que es a 4.9 para evitar su desnaturalización.
- pH = 9.9 se adicionó \pm 2.71 ml 0.1 N HCl hasta obtener pH = 7.38 (entre 7.36 - 7.40) este pH es el ideal para la Nano-albúmina.

Se obtuvo un volumen de \pm 58.33 ml que se dividió en cuatro partes en erlenmeyer diferentes y con agitador.

Por aparte se colocó en un erlenmeyer 140 ml de H₂O destilada apirógena a calentar a 96°C con un termómetro dentro de ella.

Al llegar a los 96°C (punto crítico) se agregó rápidamente los 58.33 ml de albúmina, en este momento la temperatura bajó y entonces se contó cada 15 minutos a que la temperatura suba a 90.5°, esto es ±2 minutos (se puso cronómetro).

A los 90.5° se sacó la solución y se pasó rápidamente a un baño de hielo (H₂O + hielo) y se agitó fuerte, al estar a temperatura ambiente se esperó una hora dejando la solución en reposo.

A la solución se le adicionó 3.75 ml glucosa 40% + 10 ml buffer de fosfatos pH 7.4

Se filtró en filtro millipore 0.45 um y en filtro millipore 0.22 um.

Se dispensó 2 ml por vial, se liofilizó.

6.3.2. Pureza Radioquímica:

En la preparación extemporánea de los radiofármacos de tecnecio es preciso comprobar el rendimiento del marcaje antes de la administración del radiofármaco. Esto se realizó

6.3.4. Almacenamiento:

Se produjo un lote de 100 viales, a las cuales se les determinó su fecha de expiración en base a su estabilidad acelerada, el lote se dividió en cuatro grupos, que representaban respectivamente los tiempos de cero, uno, dos y tres meses de almacenamiento, se almacenó a tres diferentes temperaturas, las cuales fueron : $T_1 = 4^{\circ}\text{C}$, $T_2 = 25^{\circ}\text{C}$ y $T_3 = 37^{\circ}\text{C}$; comparando su estabilidad con el porcentaje de marcación del radiofármaco, calculándose así fecha de vencimiento.

6.3.5. Prueba de Humedad:

El control de humedad es importante para evitar la sobrevivencia de microorganismos, pues a humedades altas éstos se ven favorecidos.

La humedad depende de la temperatura del ambiente; se recomienda de un 35-40 % de humedad relativa. Se utilizó el método de Karl Fischer para determinar la humedad de los radiofármacos. De (7-9%) es aceptable para fármacos liofilizados.

La determinación de agua por el método de Karl-Fisher se basa en la reacción cuantitativa que se produce entre el agua y un reactivo constituido por dióxido de azufre y yodo en piridina anhidra y metanol. Después de que el agua ha reaccionado con el yodo libre en la solución produce un cambio de color y además el punto final de la titulación se puede determinar electrométricamente utilizando un microamperímetro. Para llevar a cabo esta titulación es indispensable el tomar las precauciones adecuadas

para evitar que los reactivos y el recipiente en donde se efectúa la reacción, tengan contacto con la humedad atmosférica ya que la estequiometría de la reacción no es exacta y la reproducibilidad de una determinación depende de factores tales como las concentraciones relativas de los ingredientes del reactivo, la naturaleza del solvente utilizado para disolver el producto de prueba y la técnica utilizada en la determinación particular. Por esta razón, es necesario estandarizar la técnica para alcanzar la precisión adecuada.

Reactivo de Karl-Fisher:

Se adicionó 125 g de yodo a una solución de 670 ml de metanol y 170 ml de piridina, se enfrió. Se pasó dióxido de azufre seco a 100 ml de piridina contenidos en una probeta graduada de 250 ml, sumergida en un baño de hielo, hasta que el volumen llegó a 200 ml. Se adicionó esta solución lentamente y se agitó a la solución de la mezcla de yodo enfriada. Se agitó bien para disolver el yodo, se transfirió la solución al frasco del aparato y se dejó en reposo durante la noche anterior a la valoración. Un ml de esta solución recién preparada equivale aproximadamente a 5 mg de agua pero se descompone gradualmente, por lo tanto, debe valorarse 1 hora antes de usarse o diariamente si está en uso continuo. Se protegió la solución de la luz mientras estuvo en uso. Se guardó el resto del reactivo en un recipiente de color ámbar con tapón de vidrio protegido de la luz y bajo refrigeración. Pueden usarse también soluciones comerciales estabilizadas del reactivo.

Valoración del Reactivo:

Se puso en el vaso de titulación alrededor de 36 ml de metanol y suficiente reactivo de Karl-Fisher para neutralizar el agua que pudiera contener el metanol. Se adicionó rápidamente de 150 a 350 mg de tartrato de sodio dihidratado pesado exactamente y se valoró hasta el punto final. El factor equivalente de agua, "F", en mg de agua por ml de reactivo, se obtiene por medio de la fórmula: $F = 2(18.02/230.08) (P/V)$; en donde P es el peso de tartrato de sodio dihidratado en mg; V es el volumen del reactivo usado en la valoración en ml.

Se procedió como se indicó en el párrafo anterior agregando como sustancia de referencia en vez del tartrato de sodio, entre 25 a 250 mg de agua bidestilada exactamente pesada. Se tituló hasta el punto final y se calculó el factor de equivalencia de agua, "F", en mg de agua por ml de reactivo, de acuerdo con la fórmula: $F = (P/V)$; en donde P es el peso de agua en mg; V es el volumen de reactivo usado en la valoración en ml. Determinar el factor del reactivo de Karl-Fisher el día de uso.

Solución Valorada de Metanol-Agua:

Se preparó una solución, diluyendo 2 ml de agua bidestilada con metanol a 1000 ml. Se valoró 25 ml de esta solución con reactivo de Karl-Fisher previamente valorado. Se calculó el contenido de agua en mg/ml de la solución metanol-agua de acuerdo con la fórmula: $C = V'F/25$; en donde V' es el volumen de reactivo de Karl-Fisher utilizado; F es el factor equivalente de agua del reactivo; C es el contenido de agua en mg/ml de la solución

metanol-agua. Se revaloró la solución antes de su uso.

Procedimiento:

Valoración Directa: Colocar de 30 a 40 ml de metanol en el vaso de reacción y neutralizar el agua que pudiera contener con el reactivo de Karl-Fisher. Este gasto de reactivo no deberá tomarse en consideración para los cálculos. Rápidamente agregar una porción de la muestra exactamente pesada o medida que contenga entre 10 a 100 mg de agua, agitar vigorosamente y titular con el reactivo de Karl-Fisher. Se calculó el contenido de agua en por ciento en la muestra de acuerdo con la fórmula: % de agua = $100 \frac{S}{F/P}$; en donde S es el volumen de reactivo de Karl-Fisher requerido; F es el factor de equivalencia de agua del reactivo; P es el peso de la muestra en mg.

Valoración Residual: Se colocó de 30 a 40 ml de metanol en el vaso de reacción y proceder a neutralizarlo como en el caso anterior. Se agregó rápidamente una porción de la muestra exactamente pesada o medida que contengan entre 10 a 100 mg de agua, agitar vigorosamente y se agregó un volumen de reactivo de Karl-Fisher exactamente medido, de manera que quede una cantidad en exceso sin reaccionar. Se agitó el tiempo suficiente para que la reacción sea completa.

Se valoró el exceso de reactivo con solución valorada de metanol-agua. Se calculó el contenido de agua en por ciento la muestra de acuerdo a la fórmula: % de agua = $100 \frac{(FX' - CX)}{P}$; en donde F es el factor equivalente de agua del reactivo de Karl-Fisher; X' es el volumen del reactivo de Karl-Fisher agregado; C

PROPIEDAD DE LA COMISIÓN DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS
 INSTITUTO VENEZOLANO DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS

es el contenido de agua en mg/ml de la solución valorada de metanol-agua; X es el volumen de la solución metanol-agua requerido para neutralizar el exceso de reactivo, en ml; P es el peso de la muestra en mg (9-11).

6.3.6. Diseño Estadístico:

6.3.6.1. Formulación: Se efectuó, únicamente por ensayo y error.

6.3.6.2. Biodistribución:

6.3.6.2.1. Cálculo del número de réplicas.

$$n_j = \frac{2 NC^2 \sigma^2}{\Delta^2}$$

NC = Nivel de confianza de la estimación

IC 95 % entonces NC = $Z_{1-\alpha/2} = 1.96$

σ^2 = Varianza de la respuesta (se asumió que $1\sigma^2 = 2\sigma^2$)

Δ = Límite de error en la estimación.

a) $\Delta = \sigma$

a) $n_j = 2 (1.96)^2 = 8$ ratas por grupo.

6.3.6.2.2.. Análisis: Descriptivo (promedio desviación standar) y un IC del 95 % para el promedio (para cada órgano)

En ratas

Grupo 1: Evaluación de Médula ósea

Grupo 2: Evaluación de Sistema linfático

Se determinó el porcentaje de actividad por gramo de órgano. La estimación de la actividad en cada órgano se hizo por medio de promedio (\bar{y}) de los porcentajes y desviación estándar (σ), lo que proporcionó un Intervalo de confianza.

Para comparación de Médula ósea (esternón y cresta ilíaca) se determinó la cantidad de radiofármaco que captan otros órganos como bazo, hígado, pulmón y sangre.

6.3.6.2.3. Para comparar órganos:

Diseño totalmente al azar: Cálculo del número de réplicas.

Número de órganos = 5

$$n_j = \frac{2 NC^2 \sigma^2}{\Delta^2}$$

$$NC = 3.862$$

(95 % de confianza y $\alpha = 0.05$, $\beta = 0.10$)

$$H_0 : \mu_{Mo} = \mu_B = \mu_P = \mu_S = \mu_H$$

$$\Delta = 2 \sigma$$

$$n_j = \frac{(3.862)^2}{2} = 8$$

Análisis de datos:

6.3.6.3. Los resultados de control de calidad en la producción del Nano-coloide fueron analizados mediante estadística descriptiva utilizando tablas y gráficas.

Los resultados de la biodistribución en ratas, fueron analizados mediante el Análisis de varianza de una vía, para determinar si existe diferencia estadísticamente significativa en la biodistribución.

Los resultados que presentaron diferencia significativa de biodistribución fueron analizados posteriormente con la Prueba de comparaciones múltiples de Dunnett, para determinar diferencia significativa con respecto a: estudio de médula ósea se usó como control hueso y para el estudio de sistema linfático se usó como control nódulos linfáticos.

6.3.6.4. Los resultados de estabilidad acelerada fueron analizados mediante estadística descriptiva, utilizando tablas y gráficas.

6.3.6.5. La humedad se evaluó por el método de Karl-Fisher, expresado en porcentaje de humedad.

7. RESULTADOS

7.1. FORMULACION.

Después de la producción del Nanocoloide de Albúmina se procedió a marcarlo con ^{99m}Tc , se efectuaron controles de calidad obteniendo los siguientes resultados:

7.2. CONTROL DE CALIDAD EN LA PRODUCCION DEL NANOCOLOIDE.

7.2.1. Control Microbiológico:

Se sembró 0.1 ml del radiofármaco reconstituido en un caldo de Tripticasa-soya, Tioglicolato y Agar Saburoad; no reportándose ningún crecimiento microbiano.

7.2.2. Pureza Radioquímica:

Al radiofármaco Nanocoloide marcado con ^{99m}Tc , se le determinó su pureza radioquímica por el método de cromatografía en papel, utilizando para medir la radioactividad un contador de centelleo tipo pozo. Obteniéndose un 99.28 % de porcentajes de marcación.

7.3. BIODISTRIBUCION EN SISTEMA LINFATICO Y MEDULA OSEA.

Para este estudio se utilizaron dieciséis ratas albinas de aproximadamente 130 gramos de peso, distribuidas en dos grupos de ocho ratas, a las cuales se les inyectó el radiofármaco.

7.3.1. Sistema Linfático:

Los resultados de biodistribución del sistema linfático fueron de 97.74% analizados mediante el análisis de varianza para

determinar la diferencia significativa en la biodistribución del sistema linfático con diferentes órganos, se encontró que sí existe diferencia significativa en la biodistribución, por lo que se procedió a determinar diferencias entre órganos y sistema linfático mediante la prueba de Dunnett, obteniéndose que la cantidad de radiofármaco en cada órgano es menor a la del sistema linfático ($P < 0.05$) (Tablas No.1 y No.2), (Gráfica No.1).

7.3.2. Médula Osea:

Los resultados de biodistribución en médula ósea fueron analizados mediante el análisis de varianza de una vía para determinar diferencia significativa en la cantidad de radiofármaco presente en médula ósea y diferentes órganos, obteniéndose diferencia significativa ($P < 0.05$) en la cantidad de radiofármaco. Por lo que se procedió a efectuar comparaciones múltiples contra el control (hueso) mediante la prueba de Dunnett, obteniéndose que no existe diferencia significativa entre la cantidad de radiofármaco presente en hueso, pulmón y sangre, así mismo se determinó que la cantidad de radiofármaco presente en estos órganos es menor respecto a hígado y bazo. (Tablas No.3 y No.4), (Gráfica No.2)

7.4. ESTABILIDAD:

En la Tabla No.5 se observan los resultados obtenidos del porcentaje de marcación, a cinco diferentes tiempos (0,1,2,3 y 4 meses) y a tres diferentes temperaturas (4°C , 25°C y 37°C), dicho

porcentaje de marcación es elevado a 4°C y a las otras temperaturas desciende por debajo de los límites permitidos por la Farmacopea Nacional Argentina, en su sección de Radiofármacos.

En la gráfica No.4 se presenta el comportamiento del radiofármaco a 4°C respecto al tiempo, observándose una leve disminución en el primero (92.547%) y segundo mes (94.776%).

8. DISCUSION DE RESULTADOS

Utilizando el método de cromatografía en papel y midiendo la radioactividad con un contador de centelleo tipo pozo. Los porcentajes de marcación son satisfactorios ya que fueron superiores al 90%, como se observa en la tabla No.5. En la Farmacopea Argentina se reporta que el porcentaje de marcación es aceptable siempre y cuando contenga no menos del 90% y no más del 110% de la cantidad de ^{99m}Tc como quelato, expresado en becquerel o millicuries en la fecha y hora indicados (12).

El control microbiológico fue satisfactorio ya que al reconstituir el fármaco y hacer los análisis correspondientes no se encontró crecimiento bacteriano en los medios de cultivo.

En el sistema linfático de ratas, con la prueba de Dunnett se procedió a efectuar comparaciones en donde se observó que sí existe diferencia en cada órgano y el control, concluyendo que la cantidad encontrada en el sistema linfático es mayor que en los demás órganos analizados.

Con los datos obtenidos del estudio de la biodistribución en médula ósea de ratas, existe diferencia significativa entre bazo e hígado con el control hueso, pero no existe diferencia significativa entre pulmón y sangre contra el control hueso, concluyendo: igual biodistribución: hueso, pulmón y sangre. Diferente biodistribución: hueso, bazo e hígado.

Al realizar las pruebas de estabilidad acelerada para determinar el efecto del tiempo en los porcentajes de marcación

del radiofármaco se observó que después de su producción o sea en tiempo 0, y a 1, 2 y 3 meses después, el porcentaje de marcación fue superior al 90% en la unión del fármaco con el radionucleido. Se encuentra un ligero descenso de dicho porcentaje a 92% en el primer mes, el cual no es significativo, lo que pudo deberse a que el Contador de Centelleo de Pozo presentó problemas en su componente electrónico, disminuyendo su eficiencia de conteo (Gráficas No.4 - No.7).

Al evaluar el efecto de la temperatura en los porcentajes de marcación, se observó que hay tendencia por mantenerse en 90% pero se observa en el segundo mes un descenso que es del 72% , lo que no permite dar una fecha de vencimiento para el radiofármaco.

9. CONCLUSIONES

9.1. Los resultados de la marcación del NANO-COLOIDE DE ALBUMNINA, fue mayor del 90% .

9.2. En el sistema linfático, al realizar el análisis de varianza de una vía, se concluye que sí existe diferencia significativa ($P < 0.05$), la biodistribución en los diferentes órganos, con respecto al sistema linfático de las ratas estudiadas, la captación es mayor en este sistema que en todos los demás órganos. (Gráfica No. 3).

9.3. En médula ósea, el análisis de varianza de una vía, sí hubo diferencia significativa ($P < 0.05$), entre la biodistribución entre órganos, las comparaciones múltiples contra el control (prueba de Dunnett), se demostró que existe diferencia significativa entre bazo e hígado contra el grupo control (hueso), pero la cantidad de radiofármaco presente en hueso es igual a la de pulmón y sangre.

9.4. Es necesario almacenar el radiofármaco, nanocoloide de albúmina a 4°C para lograr su estabilidad durante tres meses, la cual no se logra a temperatura ambiente o 37°C (Gráficas 5-7).

10. RECOMENDACIONES

- 10.1. Se recomienda la realización de otro estudio con ratas enfermas, con alteraciones en médula ósea y sistema linfático, para obtener una información cuantitativa en (hueso) y (nódulos linfáticos), ya que en el presente trabajo se emplearon ratas sanas.
- 10.2. Podría utilizarse el radiofármaco para la detección de determinados tumores linfáticos ya que la captación es mayor en el sistema linfático.
- 10.3. Respecto al estudio de estabilidad acelerada, realizarlo durante un año por lo menos, ya que no da tiempo a estudiar la cinética de degradación, porque el fármaco no envejece durante los cuatro meses de análisis.
- 10.4. Hacer un estudio de estabilidad no acelerada, y determinar el envejecimiento del Nano-Coloide de Albúmina, en condiciones normales.
- 10.5. Es necesaria una mayor profundización en la investigación, para su aplicación en pacientes, actualmente sólo se ha hecho en ratas.

11. REFERENCIAS

- 11.1. Jánoki GA. Documento Técnico. "Frédéric Joliot-Curie: National Research Institute for Radiobiology and Radiohygiene. Budapest, Hungary 1957. Producción de Nano-coloide. 1992.
- 11.2. Mitta A. Valor de la Linfocentellografía en el Cáncer de Mama. Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana, Vol. XXIII, No 1, 117-124, 1989. (p.117-123).
- 11.3. Valenzuela H, et al. Utilidad de la Gammagrafía Medular con Nanocoloides como complemento de la Gammagrafía osea en Cancer de Mama. Rev Esp Med Nucl. 1995;XIV:3
- 11.4. Brobeck J. Bases fisiológicas de la práctica médica. 10ªEd. México: Medica Panamericana. 1982. (p. 726-733).
- 11.5. George G. Medicina Interna. 5a. Ed. en español. Científicas. La Prensa Médica Mexicana. México. 1984. Tomo II Cap. 252 pags. 1575-1576; Tomo I Cap. 62 pag. 353; Tomo II Cap. 311 pags. 1979-1987.
- 11.6. Saha GB. Fundamentals of Nuclear Pharmacy., Third Edition. 1992 USA. Springer-Verlag (p. 273-275).
- 11.7. Mallol Escobar, J. Radiofarmacia. Ed. Interamericana-Mc Graw- Hill. Madrid 1989. pag. 41.
- 11.8. 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.

- 11.9. The United States Pharmacopeia. Twenty-First Revision Official from January 1, 1985. The National Formulary Sixteenth Edition. USP XXI. pags. 1279-1282.
- 11.10. Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. 5a. ed. Secretaria de Salud. Comisión Permanente de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. México 1988. pags. 60-61.
- 11.11. Official Methods of analysis of the Association of official Analytical Chemists. Willian Horwitz, editor. Eleventh Edition, 1970. Published by the Association of official Analytical Chemists PO Box 540, Benjamin Franklin station Washington, DC 20044. pags. 538, 539 y 562.
- 11.12. Farmacopea Nacional Argentina. Codex Medicamentarius Argentino. Suplemento 1982. Sexta edición. Buenos Aires: Imprenta Central del Ministerio de Salud Pública y Medio Ambiente. 1983. (p.54).
- 11.13. Gotta H. Medicina Nuclear: Aplicaciones Clínicas. Buenos Aires, Argentina: Fondo Educativo Interamericano, 1981. VII + 415 p. (p.1-10).
- 11.14. Levit N, et al. Radiopharmacy Laboratory Manual for Nuclear Medicine Technologist. USA: University of New Mexico College of Pharmacy, 1980. 86p. (p.64-69).
- 11.15. Andrews GA. History of Radiopharmacy. p.34-36. (In Tubis M, Wolf W. Radiopharmacy. USA: John Wiley & Sons Inc., 1976. XVI + 911 p.).

- 11.16. ALASBIN. Memorias del Curso regional sobre avances en Radiofarmacia Hospitalaria. Diseño de Radiofármacos. Madrid España. Doc. Tec. No. 1. 1992. 13 p.
- 11.17. Piere C. Control de Calidad de Radiofármacos de Tecnecio ^{99m}Tc . Memorias del curso regional sobre avances en Radiofarmacia Hospitalaria. Madrid-España, Doc. Tec. No.2. 1992. 19 p.
- 11.18. Kawada T, et al. Hospital Radiopharmacy training program. Am J Hosp Pharm 1975; 32:587-589.
- 11.19. Rodríguez V. Química de Coordinación y Radiofármacos del ^{99m}Tc . Memorias del curso regional sobre avances en Radiofarmacia Hospitalaria. España. 1992 7p.
- 11.20. 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.
- 11.21. Colombetti LG. Performance of ^{99m}Tc generating systems. p. 183-194. (In Rhodes BA. Quality Control in Nuclear Medicine. Saint Louis: The CV Mosty Company, 1977. XII + 508 p.
- 11.22. Noto MG, et al. Química Descriptiva. Buenos Aires: Latinoamericana, 1971. X + 612 p. (p.64-66).
- 11.23. Mitta AE. La Radiofarmacia en la República de Argentina. J. Marp Soc Arg Bioq Med Nucl 1981; 5: 145-148
- 11.24. Pliego OH, et al. Equipo para extracción de $^{99m}\text{TcO}_4\text{Na}$. Buenos Aires: Comisión Nacional de Energía Atómica, Doc. Tec. No. 460, 1980. 12p (p. 9).

- 11.25. Saucedo T, et al. Concentración de Tecnecio ^{99m}Tc del eluido del Generador de ^{99m}Tc . Buenos Aires: Comisión Nacional de Energía Atómica, Doc. Tec. No. 45, 1976. 269 p (p, 34-37).
- 11.26. Steigman J, et al. Chemistry of Technetium 99m . Sem Nucl Med 1974; 4: 269-279.
- 11.27. Perez R, et al. A new Radiopharmaceutical for ^{99m}Tc bone scanning. J. Nucl Med 1972; 13;783.
- 11.28. Johannsen B, Narasimhan DVS. Preparation of Kitss for ^{99m}Tc radiopharmaceuticals. Austria: International Atomic Energy Agency, Doc. Tec. No. 649, 1992. 94p. (p. 7-9, 31-32, 50-51)
- 11.29. Nicolín JO, Radicella R. Radioisótopos y sus formas farmacéuticas. 2163-2208. (En Helman J. Farmacotecnia Teórica y Práctica. México: Continental. Vol. 7, 1981. (p. 2331).
- 11.30. Notto MY, et al. Control de Calidad de los radiofármacos. Act Biog Clin L ar 1979;12:69.
- 11.31. Beck RN, Harper PV. Criterios for evaluatin radioisotope imaging systems. p. 348-384. (In Gott schal K, Beck RN. Fundamention problems in scanning. E.E.U.U.: Apringfield, 1969, IX + 542 p.)
- 11.32. Verderra ES. Control de calidad en radiofarmacia. J Nucl Med 1983; 15; 183.
- 11.33. Kristensen K. The Quality of radiopharmaceuticals: A review of corrent problem XIII International. Annual Muting Society of Nucl Med Denmark 1975;15:134-136.

- 11.34. Rodríguez S, et al. Handbook of radiofarmaceutical Quality Control. Montevideo: Latinoamerican Association of nuclear Biology Medicine Societies. (Alasbism), Doc. Tec. 1989. 154 p. (p. 13-23).
- 11.35. Pauwels E, Feitsma R. Radiochemical Quality Control of ^{99m}Tc labeled Radiopharmaceuticals. Eur J Nucl Med. 1977;2:97-103.
- 11.36. Bruch CW. Levels of Sterility: Probabilities of survivors vrs biological indicators, developments in industrial microbiology. Bullet of the parent drug assoc 1976;14(13): 105-121.
- 11.37. Mclean JR, et al. Analytical techniques for the determination of radiochemical purity of radiopharmaceuticals prepared from kits. Canada, Ottawa: Department of Nacional Health and Welfare, Doc. Tec. No. 1 1977, 189 p. (p. 89).
- 11.38. Eckelman WC, Levenson SM. Radiochemical purity of ^{99m}Tc radiopharmaceuticals. Appl Radiol Nucl Med 1977;6:211-214.
- 11.39. Zimmer AM, Pavel DG. Rapid miniaturized chromatographic quality control produces for ^{99m}Tc radiopharmaceutical. J Nucl Med 1977;18:1230-1233.
- 11.40. Subramanian G, et al. Evaluation of ^{99m}Tc labeled phosphate compounds as bone agents. Radiopharmaceuticals New York: Society of Nuclear Medicine, 1975.
- 11.41. Loberg MD. Radioisotopes. Int J Appl Radiat 1978;29:167.
- 11.42. Hesslewood SR. Quality control procedure for ^{99m}Tc -complexes J Nucl Med 1981;20:3-6.

- 11.43. Vivian A, et al. Procedure Manual Radiochemical purity of radiopharmaceuticals, J. Nucl Med 1975;16:510-517.
- 11.44. Lovegrone F, et al. Quality control in Nuclear Medicine procedures. J Nucl Med 1974;2:44-45.
- 11.45. Roll PD. Nuclear Medicine physics, instrumentation and agents. Saint Louis: The CV Mosby Company, 1977;X + 689 p. (p. 322-324).
- 11.46. Helman J. Farmacotecnia Teorica y Práctica. Tomo VII. México: Continental. 1981. (p. 2331).
- 11.47. Johnson C. Apuntes sobre Determinación de la Humedad y su significado en la Práctica Farmacéutica. Advances in Pharmaceutical sciences 1967. (p. 1-19).
- 11.48. Santich I. Buenas Prácticas de Manufactura. Inspección y Auditoría. Curso Teórico-Práctico. Vol I. Organización Panamericana de la Salud. Oficina Registros de la Organización Mundial de la Salud (OMS).
- 11.49. Guideline for Submitting Documentation for the Stability of Human Drugs and Biologics. Food and Drug Administration (FDA), Department of Health and Human Services. February 1987. 56 pp.
- 11.50. Osol A, et al. Remington Farmacia Práctica. 17ª Ed. Buenos Aires: Panamericana. 1987. (p. 381,382).

12. ANEXOS

ANEXO 1.

1.1. RADIOFARMACO

Se define como Radiofármaco a una sustancia radioactiva que por su forma farmacéutica, calidad y cantidad de radiación emitida, puede usarse en el diagnóstico o tratamiento de las enfermedades, cualquiera que sea la vía de administración usada.

El radionucleido para utilización diagnóstica debe tener un período de semidesintegración corto y emitir una radiación lo más baja posible para evitar riesgo al paciente, pero que permita su detección por el equipo de medición utilizado (13-15).

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

El radionucleido a usar se elige de acuerdo a sus características físicas; entre ellas, período 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 radiotrazadores.

Las características físicas del radionucleido 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 debe ser tóxico (16,17).

Las características principales de un radiofármaco son:

- 1.1.1. Presentar las características de todo compuesto inyectable en seres humanos (no tóxico, apirógeno y estéril).
- 1.1.2. Ser emisor gamma puro.
- 1.1.3. La actividad específica (act/gr) debe ser alta con el fin de obtener un promedio de conteo alto en pequeño volumen y masa inyectable.
- 1.1.4. Soluble en agua idealmente y permanecer soluble al mezclarse con fluidos del organismo.
- 1.1.5. Estable, tanto in vitro como in vivo.
- 1.1.6. 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.
- 1.1.7. 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.
- 1.1.8. De bajo costo y fácilmente disponible en los centros de medicina nuclear.

1.2. GENERADOR

Un generador de radionucleidos de período de semidesintegración corto consta de un radionucleido padre de período de semidesintegración relativamente largo, el cual al desintegrarse promueve la aparición del radionucleido 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 ^{99}Mo - $^{99\text{m}}\text{Tc}$, consta de una columna, generalmente de alúmina (Al_2O_3) impregnada de ^{99}Mo . La separación del ^{99}Mo , se realiza por simple elución con solución salina isotónica y estéril, a través de la columna (18).

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 su versatilidad para producir cambios en su estado de oxidación, número de coordinación, geometría y conformación, lo que es una gran ventaja para el diseño y desarrollo de diversos radiofármacos (19-21).

1.3. RADIONUCLEIDO TECNECIO ^{99m}Tc

1.3.1. Características Físicas

Su período de semidesintegración de 6.04 horas y la ausencia de emisión beta permite la administración de cantidades del orden de milicurios (mCi), sin que ésto signifique una dosis de radiación significativa para el paciente. Por decaimiento pasa a ^{99}Tc que es un emisor beta casi estable que no tiene un período de semidesintegración muy largo, de $2.12 * 10^5$ años (1 mCi de ^{99m}Tc corresponde a $3.3 * 10^{-9}$ mCi de ^{99}Tc). Sus fotones gamma de 140 kilo electron voltios (kev), presentan una adecuada penetración de los tejidos, pueden ser detectados con alta eficiencia con detectores de Ioduro de sodio (NaI) (TI) facilitando la obtención de imágenes centellográficas con una buena resolución utilizando colimadores de bajo espesor (22).

Todas estas características, son la razón de que un alto porcentaje de los radiofármacos utilizados actualmente en Medicina Nuclear, son compuestos marcados con ^{99m}Tc , ya que sus propiedades son altamente favorables en aplicaciones clínicas tanto en la obtención de imágenes como para estudios dinámicos (23,24).

Otra gran ventaja que presenta el ^{99m}Tc es que puede ser obtenido fácilmente a nivel de los servicios de Medicina Nuclear en forma estéril, libre de pirógenos y sin portador, por elución de generadores de $^{99}\text{Mo}-^{99m}\text{Tc}$ (24).

1.3.2. Características Químicas

El tecnecio es el elemento número 43 de la tabla periódica, es un metal de la segunda serie de transición, perteneciente al grupo VII B. Se encuentra ubicado entre los elementos Mn (Primera serie) y Re (Tercera serie), presentando propiedades comunes con ellos, especialmente con el Renio (Re) (25).

Todos los nucleidos del Tc son radiactivos, con periodos de semidesintegración desde 5 segundos (^{102}Tc) hasta 2.3×10^6 años (^{97}Tc). Toda la aplicación biomédica del Tc se basa en el empleo del isótopo $^{99\text{m}}\text{Tc}$ (26).

Posee estados de oxidación que van de -1 a +7. Los estados inorgánicos más estables son como ión pertecnectato (TcO_4^-) con valencia +7 de dióxido de tecnecio (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 (21).

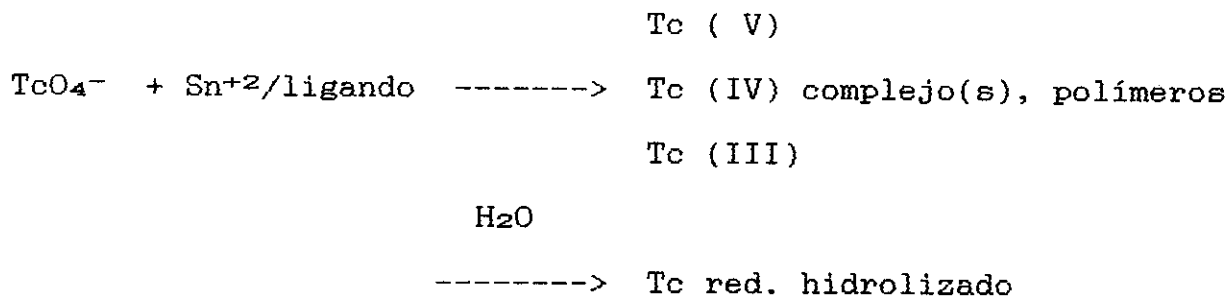
1.4. EQUIPOS PARA RADIOFARMACOS CON $^{99\text{m}}\text{Tc}$

La materia prima para la preparación de radiofármacos de $^{99\text{m}}\text{Tc}$ es el $^{99\text{m}}\text{Tc}$ pertecnectato obtenido de generadores de $^{99\text{Mo}}/^{99\text{m}}\text{Tc}$, y las sales básicas para preparar y producir el equipo. Las especificaciones del pertecnectato $^{99\text{m}}\text{Tc}$ obtenido mediante diferentes procesos, son descritos en muchas farmacopeas, como la Farmacopea de los Estados Unidos (USP), Farmacopea Británica (BF), Farmacopea Europea (EP), y en otros

documentos. La pureza química y radioquímica del pertechnetato ^{99m}Tc tiene una influencia directa en las reacciones de marcación. Variaciones en la calidad de pertechnetato ^{99m}Tc proveniente de diferentes fuentes fue un problema encontrado algunas veces hace una década. Este ha sido superado con los generadores de ^{99m}Tc de hoy. De cualquier modo, la compatibilidad de ^{99m}Tc de diferentes fuentes para la marcación de radiofármacos no puede presuponerse, y debe de probarse su compatibilidad con los diferentes radiofármacos (27).

En esencia, la preparación de radiofármacos con ^{99m}Tc es una formación compleja de un ligando específico con ^{99m}Tc , el Tc con un estado de oxidación menor que +7, generalmente +4. La composición exacta y la estructura de los complejos formados no se conoce con certeza. En coloides o partículas, las especies reducidas de ^{99m}Tc están menos definidas. Dependiendo de las condiciones de reacción, en algunos sistemas de ligandos/ ^{99m}Tc , varios complejos con diferente comportamiento biológico pueden ser formados. Por tanto, en todos los procedimientos de marcación con ^{99m}Tc , el pertechnetato es reducido con un agente reductor, generalmente cloruro estanoso (SnCl_2), seguido de la formación de un quelato, complejo estable, o un enlace a partículas apropiadas. La oxidación del SnCl_2 puede evitarse incluyendo agentes antioxidantes como el ácido ascórbico o el ácido gentísico en la formulación del radiofármaco, viéndose un mejoramiento en la eficiencia de marcación, facilidad de manejo y baja toxicidad.

El esquema general de reacción que tiene lugar en la preparación de compuestos de ^{99m}Tc :



La cantidad del ligando usada para la formación del complejo ^{99m}Tc es escogida de forma equimolecular y se basa en el dato de baja toxicidad.

1.5. PREPARACION DEL EQUIPO

El equipo contiene, el radiofármaco sin el radionucleido de ^{99m}Tc , estériles y preanalizados los componentes esenciales para la simple y conveniente preparación de radiofármaco en un sistema cerrado. La forma más popular de equipos esta basada en la estabilización del complejo ligando estannoso por liofilización en ambiente de nitrógeno antes de una oxidación por el aire o hidrólisis. Aun cuando otras formas de equipos, como líquidos o soluciones congeladas bajo una atmósfera inerte, han sido usadas también los equipos liofilizados tienen la ventaja de que su vida media es larga, la confiabilidad y seguridad del procedimiento de reconstitución en una solución clara, o suspensión en el caso de coloides o partículas marcadas, adecuado para una administración parenteral. La larga vida media del equipo, del orden de los 6 meses a 1 año. La composición de los equipos para cualquier preparación descrita en la literatura, varía un poco con

respecto a las cantidades de las sales básicas, pH y otros vehículos (28).

1.6. CONTROL DE CALIDAD DE LOS EQUIPOS DE RADIOFARMACOS

1.6.1. Controles Rutinarios

Controles Físicos:

La apariencia física de una preparación radiofarmacéutica es muy importante, ya que su alteración puede reflejar cambios que influyen en su comportamiento biológico (29).

Todo radiofármaco inyectable debe ser claro, limpido y libre de partículas visibles, excepto las suspensiones coloidales, macroagregados y microagregados de albumina y microesferas.

La determinación de actividad que es la medida de la actividad total presente en una muestra. La unidad comunmente es el Curie (Ci) o submúltiplos, definiéndose 1 Ci como $3.7 * 10^{10}$ desintegraciones por segundo (dps) (30).

La determinación de la actividad se realiza mediante el uso de equipo de detección seleccionado en base al tipo y energía de la ionización para la medición de radiofármacos marcados con emisores gamma (31).

Siendo la actividad variable en función del tiempo, el resultado de tal determinación debera acompañarse en la etiqueta de la fecha y hora de calibración, volumen total, concentración específica. Se define concentración específica o radiactiva a la

relación de actividad y el volumen de solución en que esta presente y se expresa en mCi/mL (32).

La identificación del radionucleido en una preparación farmacéutica, es parte integral de la determinación de pureza del sistema.

Se define como la proporción de la actividad total en relación a la actividad del radionucleido con respecto a la actividad total de la muestra (33).

Las impurezas radionucleidas pueden ser resultado del proceso de producción como:

- 1.6.1.1. Impurezas presentes en el blanco a irradiar.
- 1.6.1.2. Reacciones secundarias producidas por el blanco.
- 1.6.1.3. Productos originados por desintegración radiactiva o por una purificación ineficiente en el proceso de separación del producto de fisión.

El control de la pureza radionucleida es importante para asegurar que la biodistribución es característica del nucleido en cuestión y no influenciada por alguna impureza y para minimizar la radiación absorbida por el paciente (34,35).

Los valores de pureza radionucleida exigidos normalmente, se sitúan en un 90% al momento de utilización del material radiactivo (36).

· Cuando un radiofármaco se presenta bajo forma farmacéutica

de soluciones coloidales o de suspensiones, es necesario controlar el tamaño de micelas, afin de verificar una distribución acorde a las especificaciones (32).

La distribución del tamaño de partículas es dependiente de la formulación y condiciones de preparación. Su evaluación en preparaciones coloidales puede realizarse por filtración en gel, pasaje a través de membrana o microscopia electrónica (37).

El concepto y la importancia del valor del pH en radiofarmacia, esta directamente relacionada 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 de inyección y la gran capacidad tampón de la sangre (38).

La isotonicidad que es la igualdad entre las presiones osmóticas de una solución con respecto a otra. Debido a los pequeños volúmenes de administración de los radiofármacos, no se exige que éstos sean isotónicos con los fluidos orgánicos con los que van a estar en contacto (39).

Controles Químicos:

La pureza química 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 (40).

El control del material inactivo se efectúa según especificaciones de las farmacopeas. En el caso de radionucleidos y/o radiofármacos se deben 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 (41).

La 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 radiofarmacéutica (32,37,41).

Su determinación puede realizarse por métodos tales como precipitación, extracción por solventes, destilación, electroforesis y cromatografías, siendo los dos últimos los de elección por su versatilidad, facilidad y rapidez de realización. Cromatografía en papel, incluyendo instantánea en capa fina, son extensamente usados en el control de radiofármacos marcados con radionucleidos de corto período de semidesintegración (38).

Los límites de pureza radioquímica no deben ser tratados en términos abstractos, su establecimiento depende del uso específico de las impurezas, siendo en algunos suficiente un

criterio del 90% y en otros no aceptable un nivel menos al 97% (42).

Controles Biológicos:

La producción de un inyectable debe realizarse tendiendo a evitar la posible contaminación con microorganismos más que a destruirlos posteriormente (36,42).

Los métodos más utilizados en el área radiofarmacia, son aquellos que emplean métodos físicos tales como calor seco o húmedo, filtración e irradiación gamma, así como la realización de procedimientos asépticos, a partir de reactivos estériles.

El control de esterilidades se realiza según lo indicado en las diferentes farmacopeas; con volúmenes de inoculación reducidos en cada medio de cultivo (0.1 - 0.2 mL) (42).

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 utiliza una vía especial de administración (por ejemplo: intratecal). Por tanto, apirogenicidad no constituye una exigencia para la mayoría de los radiofármacos.

Debido a que una de las fuentes principales la constituyen los productos del metabolismo, el mejor recurso para prevenir contaminación por pirógenos es usar soluciones estériles recientemente preparadas, material despirogenizado (viales, jeringas, etc.) y emplear una metodología aséptica de trabajo (37).

El método de referencia de control de pirógenos se basa en la respuesta febril obtenida en conejos por administración de las sustancias a ensayar (32).

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 artrópodo, el *limulus polyphemus*, en presencia de pequeñas cantidades de endotoxinas bacterianas (del orden de mg/mL) llamado *Limulus test* (41).

Las ventajas que ofrece esta prueba frente a la convencional en conejos son: mayor sensibilidad, rapidez y de fácil realización así como posibilidad de determinación de pirógenos en medicamentos hiper o hipotermizantes, en productos radiactivos de corta vida. Por ello su empleo en radiofarmacia esta muy generalizado (36).

1.6.2. Controles No Rutinarios

Biodistribución en animales de experimentación

El estudio de distribución biológica de un nuevo agente diagnóstico es esencial para el establecimiento de su eficiencia 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.

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, anatómicas y/o funcionales, pueden interferir en las etapas de absorción, distribución, metabolismo, excreción y/o interacción del compuesto marcado en el receptor (37).

Las técnicas empleadas pueden ser no invasivas o invasivas. En el primer caso, se procede de forma similar a la de un estudio en humanos, previa sedación o anestesia. Presenta la ventaja de brindar un resultado clínico (visualización o no del área de interés); disminuir el costo del experimento por utilización de un mismo animal a diferentes tiempos postinyección; determinar curva de actividad versus tiempo en regiones específicas si se posee instrumentación computarizada (43).

Las técnicas invasivas involucran el sacrificio del animal a tiempos variables post administración del compuesto marcado y medida de la radiactividad en órganos y tejidos disectados o autorradiografía de cuerpo entero. El método de muerte puede ser físico (desnucamiento) o químico (sobredosis de anestésico).

La medida de radiactividad en las partes disectadas debe ser precedida de una toma de muestras representativa y de un tratamiento (no siempre necesario), que permita un control adecuado (39).

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 equipos de radiofármacos; contribuye a la determinación de la vida útil de los mismos, ya que muchas veces, técnicas fisicoquímicas convencionales son capaces de detectar degradación de estos precursores, especialmente en etapas tempranas de descomposición; representan un control de pureza radioquímica si las impurezas poseen una biodistribución diferente a la del radiofármaco reportada inicialmente (44).

Atoxicidad:

Ausencia de sustancias que por su acción directa o indirecta sobre un órgano sistema, o sobre un tejido pueden producir alteraciones que resulten nocivas para el paciente. Por ejemplo, cuando se administra un radiofármaco se pueden producir efectos tóxicos en el paciente, como consecuencia de variaciones en la cantidad de drogas utilizadas en la preparación del mismo o por la introducción accidental de sustancia ajenas a su composición.

El control de toxicidad se realiza en las etapas de investigación, previa a la liberación de un radiofármaco y se determina generalmente sólo la dosis letal 50 (DL₅₀). Esta se define como la dosis expresada en masa que inyectada a un lote de ratones, mata el 50% de los animales. Se expresa en mg/kg de

peso. Una vez establecida la DL₅₀ se debe establecer un factor de seguridad (DL₅₀/dosis a administrar en un humano) que será tenido en cuenta cuando se determina la formulación de un radiofármaco (45).

1.7. ESTABILIDAD ACELERADA DE LOS RADIOFARMACOS

Para decidir respecto al tipo de control de estabilidad a desarrollar, es preciso tener en cuenta que las pruebas aceleradas tienen sus limitaciones derivadas de las propiedades físicas y químicas de las drogas y de las características de las formas farmacéuticas.

Estas pruebas se hacen para determinar el efecto del calor, aire, humedad y luz. Ocurre a veces que el deterioro de un producto no se produce en forma lógica o químicamente explicable. En tal caso, resulta difícil o imposible determinar el orden de la reacción que se produce y por ende, la aplicación cinética para determinar el período de vigencia. Se acude entonces a métodos empíricos que sirven solo de orientación y por lo tanto, los resultados sólo pueden aplicarse con sentido provisorio. Por ejemplo, someter las muestras (en cantidades suficientes para permitir su control periódico), durante algunos meses a temperatura constante.

La humedad desempeña una función importante sobre la estabilidad de las formas sólidas y su conservación en envases (46).

En este caso, el agua que aparece, posiblemente por almacenamiento en una atmósfera húmeda, se adhiere a la superficie sólida de la muestra. Hay poca dificultad para determinar este tipo de agua.

El secado por calentamiento es el método más antiguo para la determinación del agua, a primera vista el más simple. Sin embargo, es un proceso altamente complejo y se corre el riesgo de la pérdida de otros materiales volátiles.

Incluso con sus limitaciones, el método de Karl Fischer es el más empleado para la determinación en productos farmacéuticos, tiene gran especificidad por el agua, buena precisión y para la clase de compuestos que es aplicable, un alto grado de exactitud (47).

El lugar o ambiente en que serán controladas las muestras deberá regularse a una temperatura definida; además contendrá un peso determinado de agua en forma de vapor. Estos dos criterios caracterizan y permiten dar valor a la humedad relativa del aire. Generalmente el problema de la humedad se trata en relación a la temperatura. Ambas condiciones se pueden variar según los autores.

Las que se usan con más frecuencia son las que siguen:

Temperatura	Humedad H.R.
45°C	95%
40°C	90%
37°C	65%
20°C	65%

Los resultados se valoran a los 8 días en un primer examen y después de cada 8 días en los dos primeros casos; al cabo de un mes en los otros tres. También se recomienda efectuar un examen organoléptico todos los días durante la primera semana (46).

1.8. BUENAS PRACTICAS DE MANUFACTURA (BPM)

Estas establecen requisitos relacionados con la fecha de expiración del producto final y los ensayos de estabilidad. Cada producto es único en términos de las propiedades físicas y químicas de sus ingredientes activos y excipientes, procedimientos de manufactura formulaciones, sistema de envase y cierre, condiciones de almacenaje y la estabilidad del producto para mantener su calidad o pureza (48).

Las BPM recomiendan para llevar a cabo las pruebas de estudios acelerados los siguientes requerimientos:

- 1.8.1. El propósito de estudios acelerado es evaluar la degradación cinética, no para determinar uniformidad.
- 1.8.2. El análisis del lote puede ser aceptable para establecer fechas de expiración tentativas.
- 1.8.3. Se requiere datos de estabilidad de por lo menos 3 meses a 37°C - 40°C y 75% o más de humedad relativa para justificar una fecha tentativa de dos años.
- 1.8.4. Los estudios acelerados deben ser seguidos por estudios controlados a temperaturas y condiciones ambientales. La combinación de ambos puede justificar una fecha de expiración de más de dos años.

1.8.5. No es razonable hacer estudios acelerados a temperaturas altas por tiempos limitados para justificar una fecha de expiración prolongada, ya que los mecanismos de degradación a temperaturas altas son diferentes a los que ocurren a temperaturas ambientales.

1.8.6. Las condiciones de almacenaje (temperatura y humedad relativa) deben ser definidas y registradas.

1.8.7. Los análisis de estabilidad deben hacerse en el mismo sistema de envase/cierre utilizado en la distribución y venta del producto.

La administración de drogas y alimentos (FDA) establece que los estudios de estabilidad en las drogas son necesarias cuando no hay disponible adecuada información sobre la estabilidad de las mismas, ya sea proveniente de estudios anteriores o de la bibliografía. El programa para el estudio de estabilidad incluye almacenamiento a temperatura ambiente y bajo condiciones aceleradas.

Las condiciones de estabilidad acelerada ordinariamente incluyen diferentes temperaturas (por ejemplo: 5°C, 50°C y 75°C); humedad, donde sea apropiado (por ejemplo: 75% o mayor), y la exposición a varias longitudes de ondas de radiaciones electromagnéticas.

Es importante detectar, aislar e identificar los productos de degradación. Los productos de degradación deberán ser cuantificados para establecer las reacciones cinéticas, cuando

sea practicable (49).

1.9. COLOIDES

El término coloide, derivado de la palabra griega que significa cola (de pegar), fue aplicado alrededor de 1850 por el químico inglés Thomas Graham polipéptidos como albumina y gelatina, a gomas vegetales como acacia, almidón y dextrina, y a compuestos inorgánicos como los hidróxidos metálicos gelatinosos y el azul de Prusia (ferrocianuro férrico). Estos compuestos no cristalizaban, y se difundían muy lentamente cuando se disolvían o dispersaban en agua. Podían separarse de solutos comunes como sales y azúcares, llamados "cristaloides" porque difundían a través de los poros finos de membranas de diálisis hechas de intestinos de animales, que retenían los "coloides". "Los cristaloides" cristalizaban fácilmente desde soluciones.

Von Weimarn fue el primero que identificó la coloidalidad (estado coloidal) como un estado o subdivisión de la materia y no como una categoría de sustancias.

Las dispersiones coloidales constan por lo menos de dos fases separadas: una o más fases dispersas, dispersada o internas y una fase continua o externa llamada medio o vehículo de dispersión.

Los sistemas en estado coloidal contienen una o más sustancias que tienen por lo menos una dimensión de 10 a 100 Å (1 unidad Angstrom = 10^{-8} cm = 10^{-10} m) o 1 - 10 nm (1 nanómetro

es igual a 10^{-9}m) en el extremo inferior y algunos micrones (μ) en el extremo superior ($1\mu = 10^4 \text{ \AA} = 10^{-6}\text{m}$). La sangre, las membranas celulares, las fibras nerviosas más finas, la leche, el látex de goma, la niebla y la espuma de cerveza son sistemas coloidales.

Las partículas coloidales, al contrario de las partículas gruesas, pasan a través del papel de filtro común pero son retenidas por membranas de diálisis o ultrafiltración. Por su pequeñez, las dispersiones coloidales presentan poca o ninguna sedimentación ni formación de crema; el movimiento browniano mantiene las partículas dispersas en suspensión (50).

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Biblioteca Central

TABLA No. 1

BIODISTRIBUCION DEL RADIOFARMACO EN SISTEMA LINFATICO

DATA	HUESO	BAZO	HIGADO	PULMON	SANGRE	LINFA
1	0,06	0,17	0,13	0,05	0,08	99,51
2	0,10	0,56	0,62	0,16	0,08	98,29
3	0,11	1,42	1,21	0,26	0,38	98,29
4	0,04	0,28	0,20	0,10	0,12	96,52
5	0,03	0,79	0,80	0,37	0,31	99,26
6	0,05	0,59	0,73	0,20	0,29	97,55
7	0,05	0,71	2,98	0,11	0,18	95,36
8	0,03	1,42	1,76	0,14	0,26	96,34
PROMEDIO	0,07	0,74	1,05	0,17	0,21	97,74
DESV. ST.	0,02	0,47	0,94	0,10	0,11	1,33
COEF. VAR	31,54	62,75	89,12	58,69	53,52	1,35

ANALISIS DE VARIANZA					
FUENTE	SC	GL	CM	F	
tratamientos	50446,00	5	12089,00	25910,81	(p<0.05)
error	20,58	42	0,49	(p<0.05)	(NS)
total	50466,58	47			

TABLA No.2

COMPARACIONES MULTIPLES (DUNNETT)

EN SISTEMA LINFATICO

RATA	HUESO	BAZO	HIGADO	PULMON	SANGRE	LINFA
1	0,06	0,17	0,13	0,05	0,08	99,51
2	0,10	0,56	0,62	0,16	0,08	98,29
3	0,11	1,42	1,21	0,26	0,38	98,29
4	0,04	0,28	0,20	0,10	0,12	96,52
5	0,08	0,79	0,80	0,37	0,31	99,26
6	0,06	6,59	0,73	3,20	0,29	97,65
7	0,06	0,71	2,98	0,11	0,18	95,36
8	0,08	1,42	1,76	0,14	0,26	96,34
PROMEDIO	0,07	6,74	1,05	0,17	0,21	97,74
DESV. ST.	0,02	0,47	0,94	0,10	0,11	1,33
COEF. VAR.	31,54	62,75	89,12	58,69	53,82	1,36

ANALISIS DE VARIANZA

FUENTE	SC	GL	CM	F
Tratamientos	60449,00	5	12089,00	25910,81
Error	20,30	42	0,48	(p<0,05)
Total	60469,30	47		

(p<0,05)
(96)

COMPARACIONES		DUNNETT
Hueso - Control	-97,67	(p<0,05) 0,88
Bazo - Control	-97,60	(p<0,05) 0,88
Higado - Control	-96,69	(p<0,05) 0,88
Pulmon - Control	-97,57	(p<0,05) 0,88
Sangre - Control	-97,53	(p<0,05) 0,88

TABLA No. 3

BIODISTRIBUCION DEL RADIOFARMACO EN MEDULA OSEA

RATA	HUESO	BAZO	HIGADO	PULMON	SANGRE
1	4,50	25,22	49,68	10,59	9,96
2	2,80	58,53	6,48	22,89	9,28
3	3,32	20,31	41,40	16,01	18,93
4	15,08	33,24	33,98	7,23	10,45
5	6,50	47,44	21,79	16,67	7,56
6	4,63	28,89	36,06	12,86	17,55
7	5,17	54,58	0,08	14,76	25,41
8	11,62	22,12	33,73	11,38	21,17
PROMEDIO	6,70	36,29	27,88	14,05	15,05
DESV. ST.	4,35	15,10	17,13	4,73	6,56
COEF. VAR.	64,93	41,61	61,69	33,64	43,56

ANALISIS DE VARIANZA				
FUENTE	SC	GL	CM	F
tratamientos	7179,88	4	1794,97	14,78
error	4251,36	35	121,47	(p<0,05)
total	11431,25	39		

p<0,05
(p<0,05)

INSTITUTO
 Biotecnología y Genética

TABLA No. 4

COMPARACIONES MULTIPLES (DUNNETT)

EN MEDULA OSEA

RATA	HUESO	BAZO	HIGADO	PULMON	SANGRE
1	4,50	25,22	49,68	10,59	9,36
2	2,80	58,53	6,48	22,89	9,29
3	3,32	29,31	41,40	16,01	18,53
4	15,08	35,24	33,98	7,23	10,45
5	6,50	47,44	21,70	16,67	7,66
6	4,63	23,89	36,06	12,86	17,55
7	5,17	54,58	0,08	14,76	25,41
8	11,62	22,12	33,70	11,38	21,17
PROMEDIO	6,70	36,29	27,88	14,05	15,05
DESV. ST.	4,35	15,10	17,18	4,73	6,56
COEF. VAR.	64,93	41,61	61,60	33,64	43,55

ANALISIS DE VARIANZA				
FUENTE	SC	GL	CM	F
tratamientos	7179,38	4	1794,97	14,78
error	4251,56	35	121,47	(p<0,05)
total	11431,25	39		

COMPARACIONES		DUNNETT
Bazo-Control	29,59	(p<0,05) 14,09
Higado-Control	21,18	(p<0,05) 14,09
Pulmon-Control	7,35	(NS) 14,09
Sangre-Control	3,35	(NS) 14,09

TABLA No. 5

PORCENTAJE DE MARCACION DEL RADIOFARMACO
Relacion Radiofarmaco-Temperatura-Tiempo

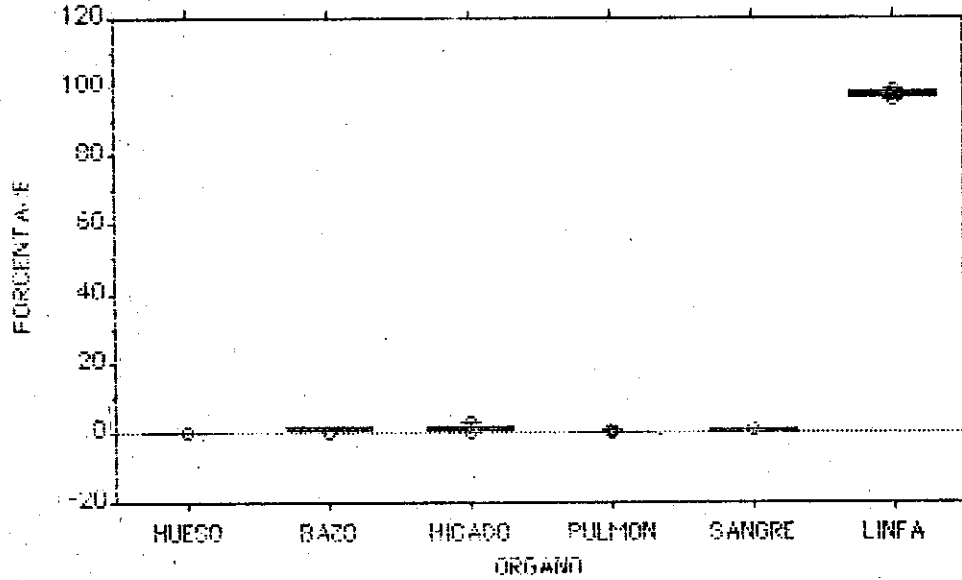
Temperatura	CUATRO GRADOS					
Tiempo en Meses Nano Coloide	Cero	Uno	Dos	Tres	Cuatro	Promedio
	99.279	92.547	94.776	99.666	84.143	94.0822

Temperatura	VEINTICINCO GRADOS					
Tiempo en Meses Nano Coloide	Cero	Uno	Dos	Tres	Cuatro	Promedio
	99.279	97.252	72.78	99.829	90.334	91.8948

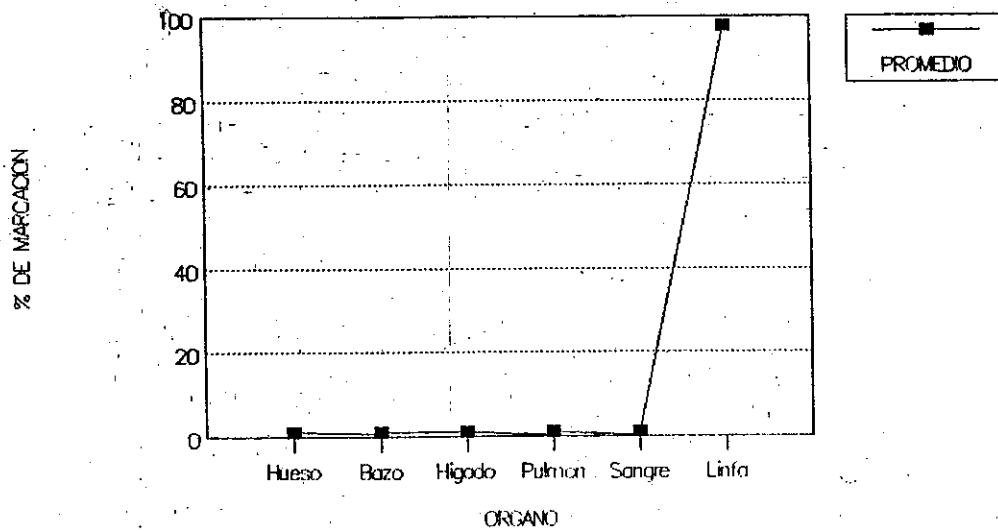
Temperatura	TREINTA Y SIETE GRADOS					
Tiempo en Meses Nano Coloide	Cero	Uno	Dos	Tres	Cuatro	Promedio
	99.279	97.21	72.916	98.456	94.581	92.4884

GRAFICA No. 1

BIODISTRIBUCION NANO-COLGIDE DE ALBUMINA PARA SISTEMA LINFATICO

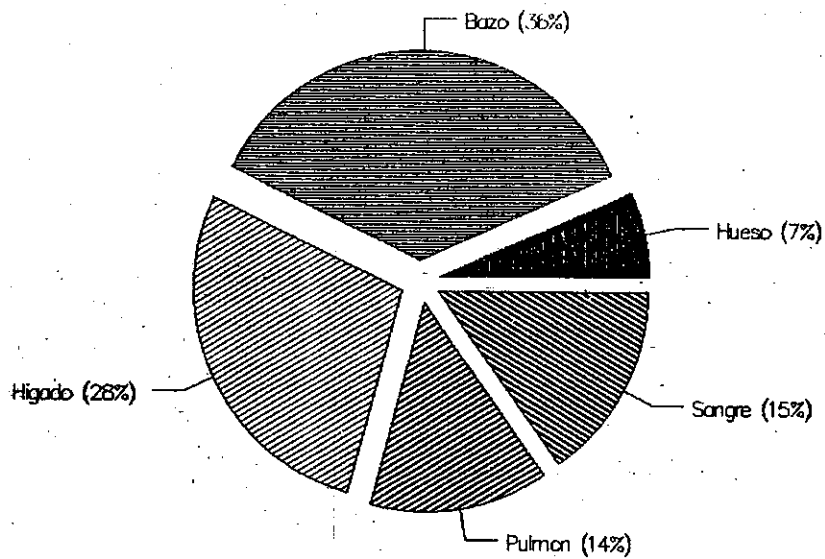
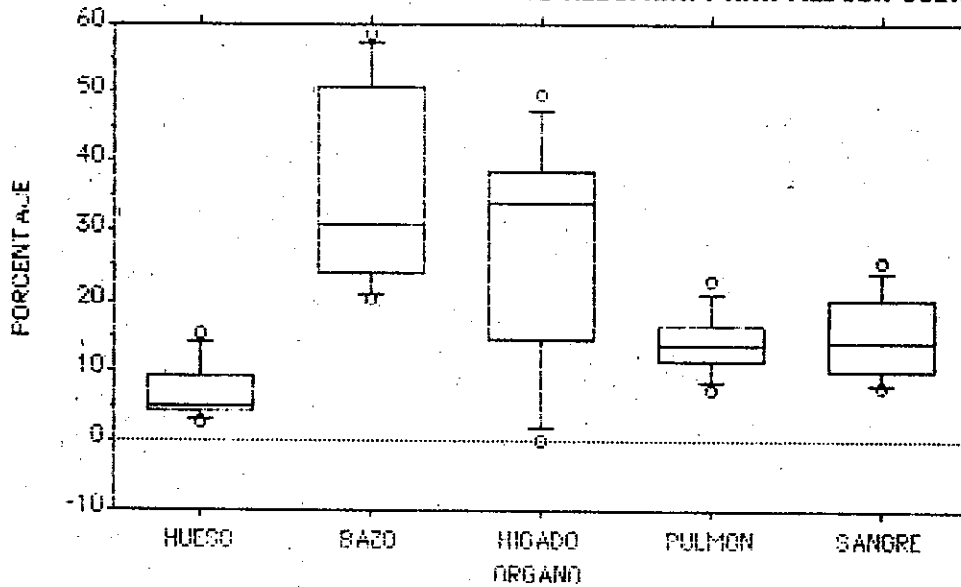


BIODISTRIBUCION NANOCOLOIDE DE ALBUMINA PARA SISTEMA LINFATICO

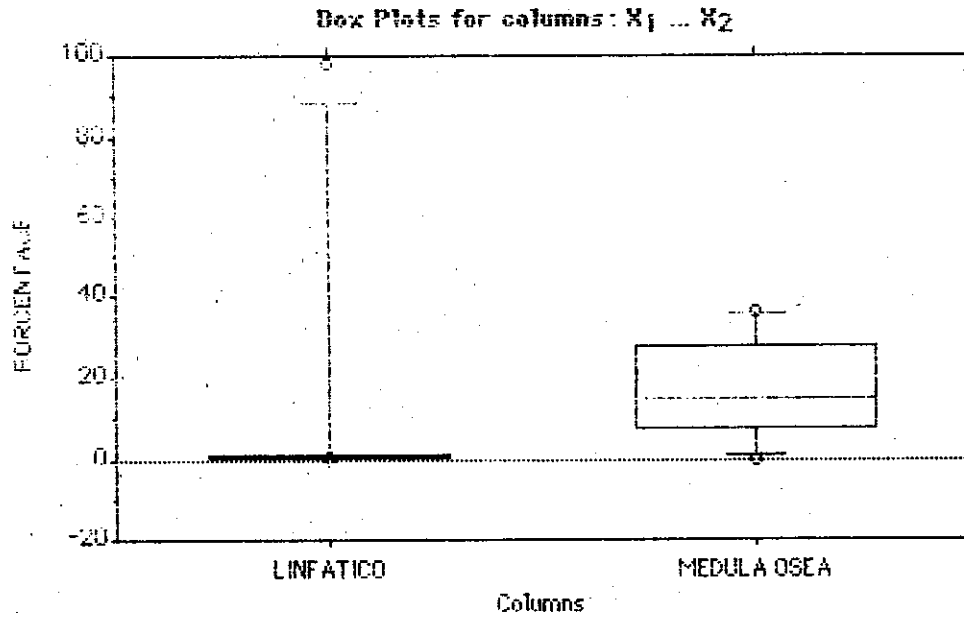


GRAFICA No. 2

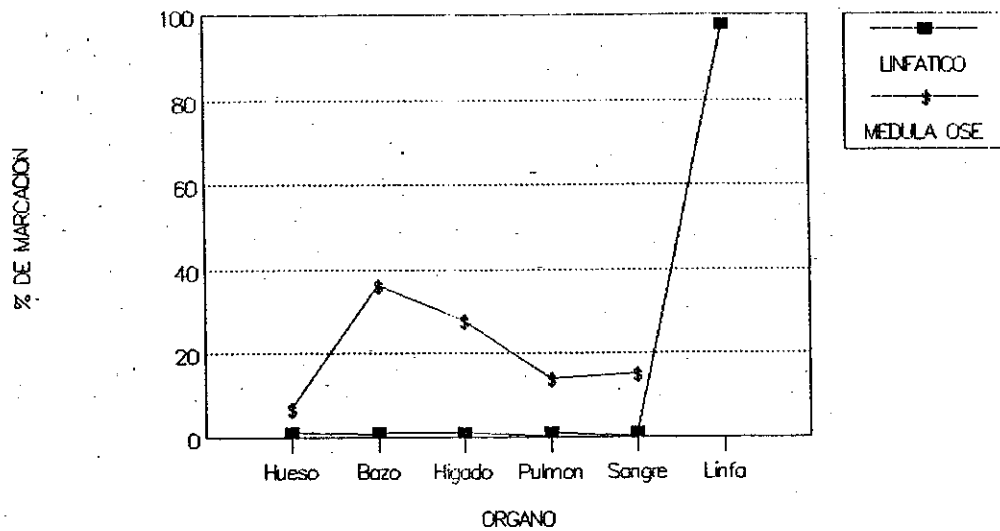
BIODISTRIBUCION NANO-COLOIDE DE ALBUMINA PARA MEDULA OSEA



GRAFICA No. 3

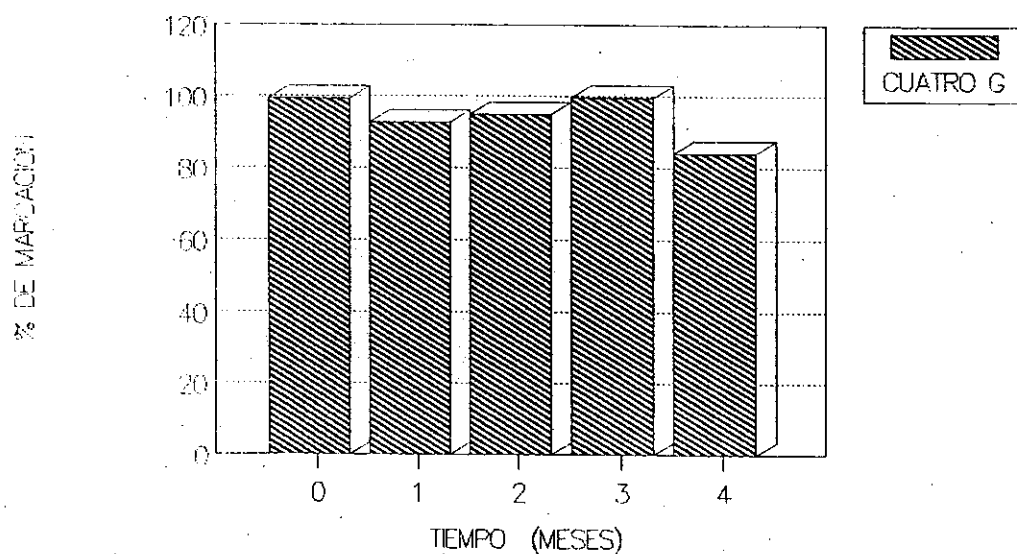


COMPARACION DE LA BIODISTRIBUCION EN SISTEMA LINFATICO Y MEDULA OSEA



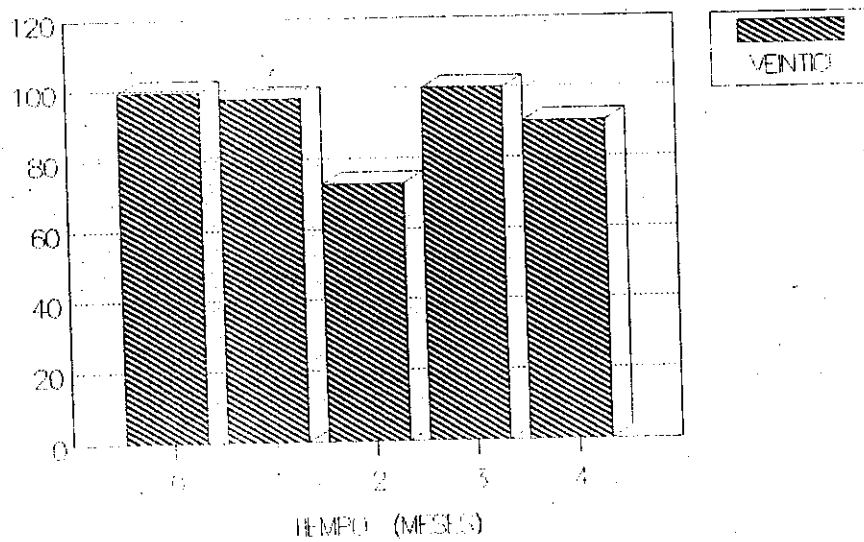
GRAFICA No. 4

EFFECTOS DEL TIEMPO EN LOS PORCENTAJES DE MARCACION A 4 GRADOS CENTIGRADOS



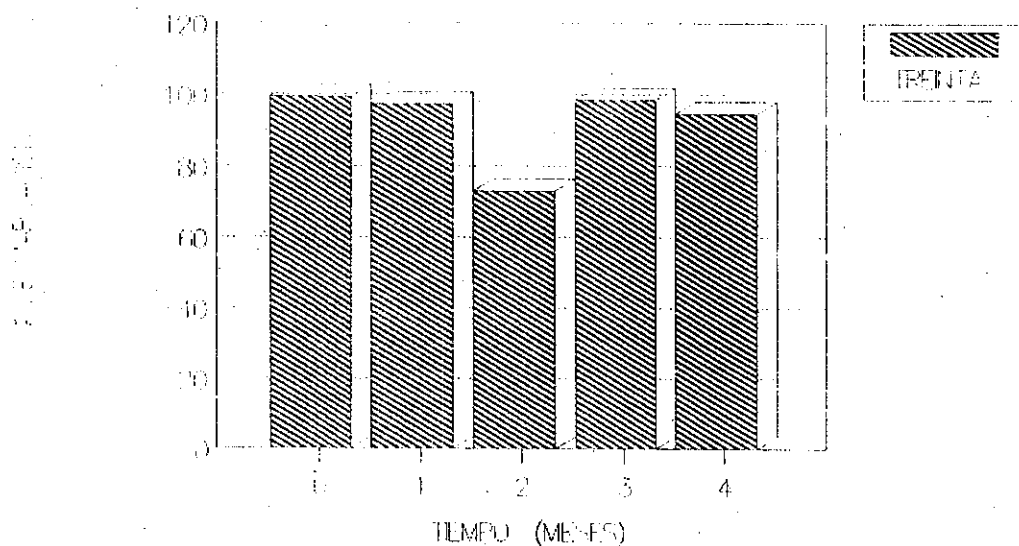
GRAFICA No. 5

EFFECTOS DEL TIEMPO EN LOS PORCENTAJES DE MARCACION A 25 GRADOS CENTIGRADOS



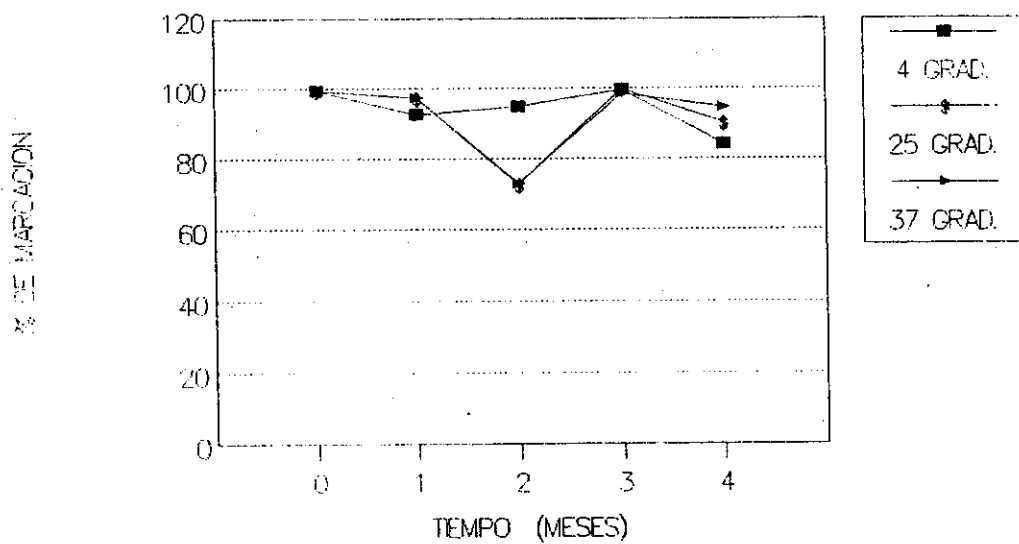
GRAFICA No. 6


EFFECTOS DEL TIEMPO EN LOS PORCENTAJES DE MARCACION A 37 GRADOS CENTIGRADOS



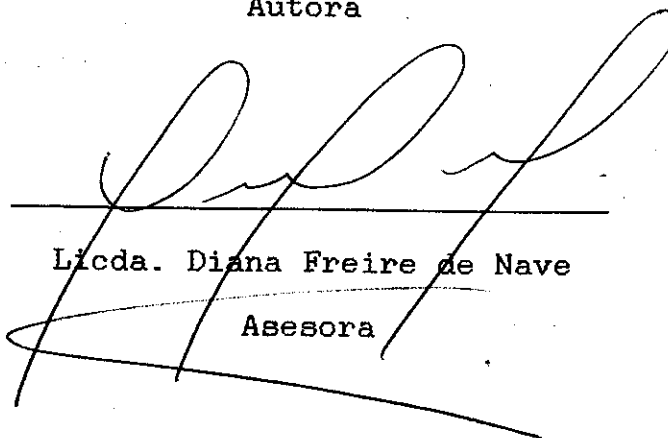
GRAFICA No. 7


COMPARACION DE LAS TEMPERATURAS EN EL RADIOFARMACO

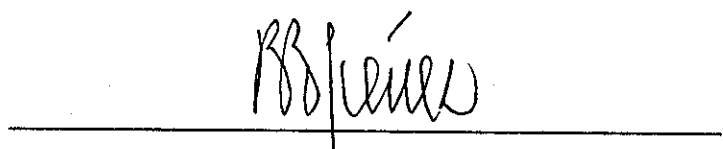


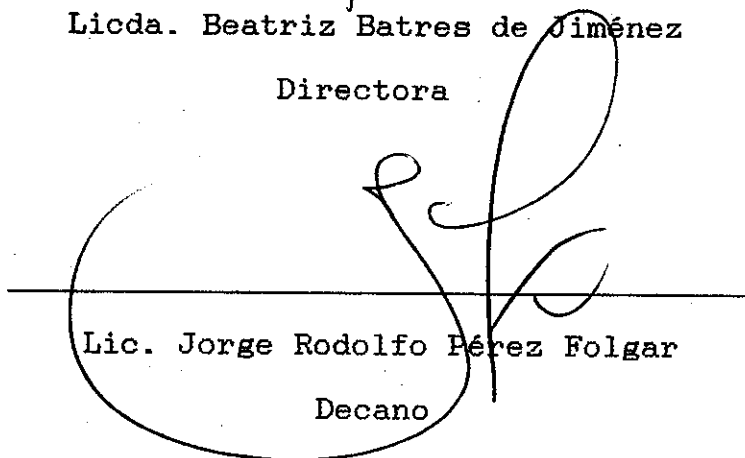

Alba Evelia González Alvarado

Autora


Licda. Diana Freire de Nave
Asesora


Licda. Claudia Maria Quintero Jordán
Asesora


Licda. Beatriz Batres de Jiménez
Directora


Lic. Jorge Rodolfo Pérez Folgar
Decano