



11229

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA
INSTITUTO NACIONAL DEL SEGURO SOCIAL
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES
DR. BERNARDO SEPÚLVEDA G.
CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI

2



CONCENTRACION *IN VITRO* E *IN VIVO*
DEL ^{99m}Tc -DTPA-BIOTINA
EN CELULAS DE HEPATOCARCINOMA

T E S I S QUE PRESENTA EL
MEDICO CIRUJANO LUIS CORREA GONZALEZ

PARA OBTENER
EL GRADO DE MEDICO ESPECIALISTA EN
MEDICINA NUCLEAR

TUTORES:
RODRIGO MUÑOZ OLVERA.
YANETH DIAZ TORRES.



MÉXICO, D.F.

CICLO: 1999 - 2002

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México

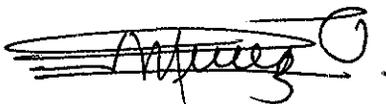


UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

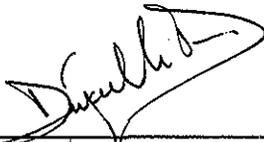
Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



DR. RODRIGO MUÑOZ OLVERA.
TUTOR DE TESIS.

MÉDICO ESPECIALISTA EN MEDICINA NUCLEAR.
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES DR. BERNARDO SEPÚLVEDA G.
CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI.
INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL.



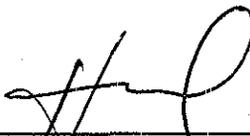
DRA. YANETH DIAZ TORRES.
TUTORA DE TESIS.

MÉDICO ESPECIALISTA EN MEDICINA NUCLEAR.
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES DR. BERNARDO SEPÚLVEDA G.
CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI.
INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL.



DR. FELIPE GORDON BARABEJZYK.
PROFESOR TITULAR DE LA ESPECIALIDAD EN MEDICINA NUCLEAR.

HOSPITAL DE ESPECIALIDADES DR. BERNARDO SEPÚLVEDA G.
CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI.
INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL.



DR. JOSÉ HALABÉ CHEREM.

JEFE DE DIVISION DE EDUCACIÓN MÉDICA E INVESTIGACIÓN.
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES DR. BERNARDO SEPÚLVEDA G.
CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI.
INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL.



SUBDIVISION DE ESPECIALIZACION
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO
FACULTAD DE MEDICINA
U. N. A. M.

AUTOR:

Luis Correa González.

TUTORES:

M. N. Rodrigo Muñoz Olvera.

M. N. Yaneth Díaz Torres.

M. N. Felipe Gordon Barabejzyk.

TUTORAS EXTERNAS:

Dra. en C. Consuelo Arteaga Murphy.

Dra. en C. Guillermina Ferro Flores.

M. en C. Martha Pedraza López.

SERVICIO DE MEDICINA NUCLEAR.

Hospital de Especialidades.

Centro Médico Nacional Siglo XXI.

Instituto Mexicano del Seguro Social.

UNIDAD DE INVESTIGACION EXPERIMENTAL Y BIOTERIO.

Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición.

Dr. Salvador Zubirán.

Secretaría de Salud.

INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIONES NUCLEARES.

México.

CONTENIDO:

Título.

Antecedentes.

Objetivo.

Recursos para el estudio.

Procedimiento.

Resultados.

Discusión.

Conclusión.

Consideraciones.

Bibliografía.

**1. CONCENTRACION *IN VITRO* E *IN VIVO* DEL ^{99m}Tc -DTPA-BIOTINA
EN CELULAS DE HEPATOCARCINOMA.**

2. ANTECEDENTES:

La radiactividad es el proceso de desintegración espontánea de los núcleos en forma gradual hasta alcanzar el estado estable. Esta forma de desintegración, emisión o decaimiento, puede ser alfa, beta o gamma dependiendo de la partícula o energía emitida.

La interacción de estas emisiones a nivel celular puede de acción directa traduciendo cambios en la estructura o función de su ADN y de acción indirecta, implicando la absorción de la radiación por el medio intracelular, dando lugar a la formación de iones y radicales libres. Las reacciones que produce la radiación en el medio intracelular, son consecuencia de los electrones formados por ionización. De estos productos, los más reactivos son los oxidantes, como el radical hidroxilo, el peróxido de hidrógeno y el reductor radical hidronio (1-6).

Los cambios biológicos que resultan de estas interacciones como la muerte celular, dependen del tiempo de interacción y de la dosis inicial absorbida de radiación (3-5, 7).

De las emisiones radiactivas alfa, beta o gamma, la más adecuada para fines diagnósticos es la emisión **gamma**; emisión con muy baja transferencia lineal de energía; y entre los elementos químicos radiactivos (radionúclidos) que se utilizan con tales fines encontramos el galio(Ga)⁶⁷ utilizado en la detección temprana de linfoma recurrente y la diferenciación del tumor activo en relación con tejido fibrótico, el talio(Tl)²⁰¹ que se utiliza en el diagnóstico de osteosarcoma, en la valoración de la respuesta al tratamiento, para distinguir entre sarcoma de kaposi y linfoma maligno; otros radionúclidos que también se utilizan con fines diagnósticos y que comparten tanto la energía gamma y beta son el yodo(I)-131, el renio(Re)-188 y el samario(Sm)-153 (12).

Estos radionúclidos con emisión gamma y beta se unen a diferentes moléculas con la finalidad de ser transportados por éstas a sitios específicos.

En algunos casos, la unión entre los radionúclidos con emisión gamma y estas moléculas tienen finalidad diagnóstica como el ^{99m}Tc-metoxi-isobutil-isonitrilo(MIBI) utilizado en el diagnóstico de cáncer de mama y

pulmón; determinando la selección de la quimioterapia, la presencia de resistencia a multifármacos y en otros casos tienen finalidad diagnóstica y terapéutica como la metayodobencilguanidina marcada con I-131, análoga de la noradrenalina la que es captada selectivamente por las células cromafines de las glándulas suprarrenales y por las vesículas sinaptosomales adrenérgicas utilizada en el tratamiento de los neuroblastomas estadio III y IV, el etilendiamino-tetrametilenfosfato(EDTA) marcado con Sm-153, el cual transporta y dirige al samario al tejido óseo lesionado, lo que permite utilizarlo en el tratamiento del dolor óseo metastásico (8-11).

Los emisores gamma también se unen a algunas vitaminas como la **biotina** que es una molécula hidrosoluble, formada por anillos condensados de imidazol y tiofeno (13,14). Su absorción se lleva cabo a nivel de colon, su paso a través de éste, es libre y no necesita de ningún transportador (15). Sus principales órganos de biodistribución son hígado y riñón; también se ha demostrado que en algunos tumores como los gliomas, su concentración es muy alta (18-20). En estas estructuras su concentración a nivel intracelular depende de un sistema

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

acarreador como lo es la enzima Na-K-ATPASA (15-17), y una vez dentro de la célula, desempeña un papel de transportador intermediario en el ciclo de los ácidos tricarbóxicos a nivel mitocondrial, involucrando este sistema en el ciclo respiratorio (14,21-23). Posteriormente parte de la biotina es eliminada por vía renal la cual aparece de manera intacta en orina y otra cantidad se une en el medio extracelular de manera específica a la avidina (24-26).

Ya que esta unión avidina-biotina es altamente específica; ha permitido su aplicación *in vitro*, en inmunohistoquímica, ELISA, biología molecular y aplicación clínica (28), en la cual este sistema avidina-biotina se ha utilizado para terapia antitumoral en gliomas, ya que esta vitamina se une a un radionúclido con emisión beta llamado ITRIO-90 (^{90}Y), formando compuestos como el ^{90}Y -1,4,7,10-tetra-azaciclododecano-N, N', N'', N'''-ácido tetra-acético (DOTA)-BIOTINA; la finalidad de la unión de la **biotina** con un radionúclido con emisor beta (^{90}Y) es que la biotina transporte selectivamente al ^{90}Y a la célula tumoral, permitiendo que éste penetre en el medio intracelular, produciendo ionización y destrucción celular tumoral (12).

La aplicación de este radiofármaco ^{90}Y -DOTA-BIOTINA es mediante la técnica de tres pasos; esta técnica, consiste en la aplicación inicial de anticuerpos monoclonales dirigidos a la biotina, lo que permite la inactivación de esta vitamina en el organismo; el segundo paso consiste, en la administración de 30mg de avidina ó 50mg de estreptoavidina, entre las 18 y 24 horas posteriores a la aplicación de los anticuerpos para inactivar la biotina restante del organismo, finalmente, ya que se ha producido un déficit de los valores de biotina en todo el organismo, se genera una mayor demanda celular generalizada de esta vitamina, con predominio de las células tumorales, por último se procede al tercer paso, administrando ^{90}Y -DOTA-BIOTINA con finalidad terapéutica debido a la emisión beta del ^{90}Y . Este radiofármaco genera dosis absorbida en centigrays (cGy), la cual es una unidad que expresa la relación entre la cantidad de energía que absorben los tejidos y la exposición a la radiación. Los valores obtenidos para las dosis absorbidas del ^{90}Y -DOTA-BIOTINA son: para tejido óseo de 1.1 ± 0.6 cGy, riñón de 4.5 ± 2.1 cGy, hígado de 1.5 ± 1.0 cGy y la dosis absorbida por el tumor fue de 15.2 ± 8.7 cGy, lo cual

es mayor que para otros tejidos; esto representa que el 67% de la dosis administrada del radiofármaco, se concentró en el tumor (27,28).

El ^{153}Sm -ácido-diamino-penta-acético(DTPA)-BIOTINA, (^{153}Sm -DTPA-BIOTINA) es un nuevo radiofármaco caracterizado químicamente y que estudios *in vitro* han demostrado que es estable después de diluirlo en solución salina y suero humano; *in vivo*, la farmacocinética demostró su biodistribución en ratones sanos de 30 gramos a nivel renal, en células mononucleares de sangre periférica, intestino e hígado con eliminación renal del $92\% \pm 4.32\%$ a las 3 horas después de la inyección (12).

Para el estudio de nuevos radiofármacos como el ^{153}Sm -DTPA-BIOTINA y el $^{99\text{Tc}}$ -DTPA-BIOTINA es necesario realizar estudios farmacológicos que comprendan la farmacocinética y farmacodinamia, cuantificando mediante el uso de modelos matemáticos los procesos de absorción, biodistribución, biotransformación, eliminación y el efecto sobre órgano blanco.

La absorción implica el paso del fármaco, desde su sitio de administración a la circulación general. Con excepción de la vía intravenosa, en los demás casos, el fármaco se incorpora gradualmente al torrente circulatorio a partir del tubo digestivo o de las vías parenterales. Cuando se obtienen muestras a tiempos escalonados, del tiempo cero en adelante, el resultado de los parámetros farmacocinéticos es la concentración plasmática máxima ($C_{m\acute{a}x}$), tiempo para alcanzar esta ($t_{m\acute{a}x}$) y área bajo la curva (ABC), que son aplicados a los estudios de biodisponibilidad, los cuales consisten en determinar la cantidad de fármaco que está presente en la circulación general y la velocidad con que se realiza este proceso a partir de una cierta dosis; después de la administración intravenosa, el fármaco se mezcla en el plasma, el cual puede unirse parcialmente a las proteínas plasmáticas, absorberse, captarse para producir su efecto y difundirse en células sanguíneas y hacia los tejidos extravasculares. Estos procesos, producen un decremento inicialmente rápido, de la concentración plasmática del fármaco. El descenso subsiguiente es debido a la eliminación del fármaco del organismo por biotransformación, excreción renal, biliar u otras vías, el cual se

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

acompañía de la caída concomitante de su concentración en aquellos órganos y tejidos que contengan una fracción significativa de la cantidad total del fármaco (30-39).

La realización de estudios experimentales que demuestren que los fármacos, péptidos y vitaminas, son capaces de transportar selectivamente a los elementos químicos radiactivos con emisión gamma, a los tumores, para localizarlos con fines diagnósticos, serán útiles como parte de los estudios farmacológicos de un nuevo radiofármaco; y ya que se desconoce si la biotina es capaz de transportar selectivamente al ^{99m}Tc hacia células tumorales, es necesario realizar estudio *in vitro* e *in vivo* de este nuevo radiofármaco.

3. OBJETIVO DEL ESTUDIO:

Determinar en fase experimental si el ^{99m}Tc -DTPA-BIOTINA se concentra *in vitro e in vivo* en celulas de hepatocarcinoma.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

4. RECURSOS PARA EL ESTUDIO:

A. HUMANOS:

Instituto Mexicano del Seguro Social.

Luis Correa González.

M. N. Rodrigo Muñoz Olvera.

M. N. Yaneth Díaz Torres.

M. N. Felipe Gordon Barabejzyk.

Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Dr. Salvador Zubirán.

D. en C. Consuelo Artega Murphy.

M. en C. Martha Pedraza López.

Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares.

D. en C. Guillermina Ferro Flores.

B. RECURSOS MATERIALES:

- 5 aisladores.
- 45 ratas wistar de 300 gramos.
- Línea celular ASD-30 (HEPATOCARCINOMA).
- 51 dosis de ^{99}Tc -DTPA-BIOTINA.
- 20 dosis de pertecneciato.
- 100 tubos de ensayo y 100 jeringas de 1 ml.
- 1 metro de cordón
- 20 pares de guantes de latex del número 8.
- 20 cubre boca y 20 cubre pelo.
- 1 caja de portaobjetos.
- Papel de cromatografía.
- 2 cajas de discos de 3 ½".

C. RECURSOS FINANCIEROS

Recursos con los que cuentan las instituciones.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

4. PROCEDIMIENTO:

45 ratas wistar de 300 gramos, permanecieron en el bioterio en aisladores con ciclo luz-obscuridad, 12 por 12 horas, temperatura de 21 grados centígrados y humedad del 50% al 60% a cargo del veterinario, el cual alimentó a libre demanda a todos los animales, realizando examen físico diario.

14 de los animales se utilizaron para mantener viva la línea celular, sacrificando 2 animales cada 7 días, de los cuales se obtenían 2ml de líquido de ascitis, que contenían la línea celular y se inoculaban a otros 2 animales en cavidad peritoneal.

A. Para determinar si el ^{99}Tc -DTPA-BIOTINA se concentraba *in vitro* en células de hepatocarcinoma, se realizó estudio piloto con 20 tubos que contenían 1 gramo de la línea celular de hepatocarcinoma; a las que se les realizó control histopatológico verificando la estirpe celular, contaminación con bacterias, hongos o presencia de polimorfos nucleares; si alguna muestra estuvo contaminada se desecho.

Para el grupo experimental se utilizaron 10 muestras que se incubaron a temperatura ambiente durante 2 horas con 50 microcuries de ^{99m}Tc -DTPA-BIOTINA y 10 muestras para el grupo control que se incubaron con 50 microcuries de pertecneciato; posteriormente todas las muestras se centrifugaron a 3000 revoluciones por minuto durante 10 minutos, después se separó el sobrenadante del botón celular para su conteo durante 30 segundos en un detector de centelleo tipo pozo obteniendo las cuentas/gramo y según las diferencias de captación encontradas del ^{99m}Tc -DTPA-BIOTINA y del pertecneciato en el botón celular de hepatocarcinoma se calculó el tamaño de la muestra.

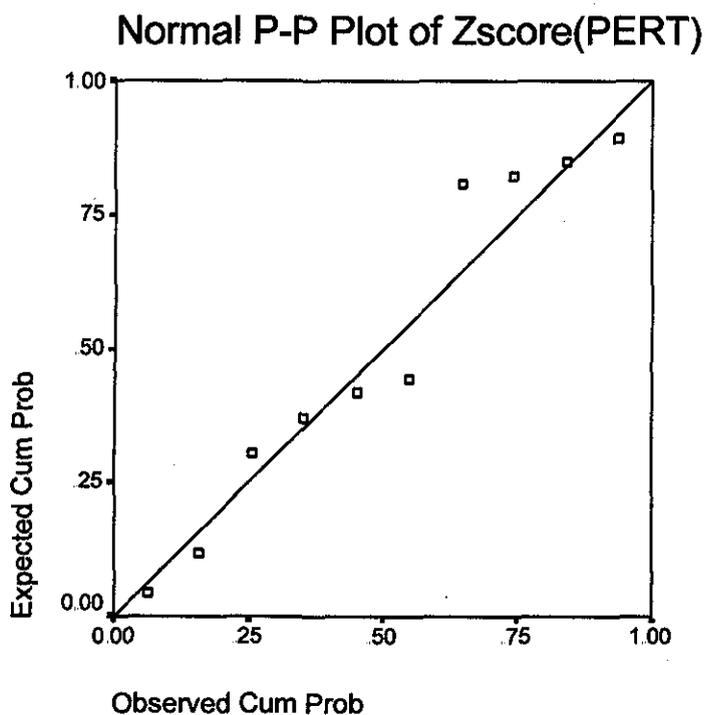
B. Para determinar si el ^{99m}Tc -DTPA-BIOTINA se concentraba *in vivo* en células de hepatocarcinoma se realizó estudio piloto con un grupo de 10 ratas a las que se les anestesió por vía nasofaríngea, sujetándolas por las cuatro patas con un cordón de algodón en un molde de polietileno apropiado para ello, implantando 0.2ml de las células de hepatocarcinoma por inyección intramuscular en el lomo a cada una de ellas; después del procedimiento se dejaron libres en el bioterio bajo vigilancia del veterinario. 7 días después se les inyectó por la vena de la

cola a cada rata, una dosis de 50 microcuries de ^{99m}Tc -DTPA-BIOTINA; sacrificándose a las 2 horas en una cámara de CO_2 se les hizo una incisión dorsal para extraer una muestra del tumor implantado en músculo y otra muestra del músculo contralateral sano, estas porciones de tejido se colocaron en tubos para el conteo de radiactividad durante 30 segundos en un detector de cristal tipo pozo, obteniendo las cuentas/gramo de tejido; y según las diferencias de captación del radiofármaco encontradas entre tumor implantado en músculo y el músculo contralateral sano, a las 2 horas se calculó el tamaño de la muestra para cada tiempo.

5. RESULTADOS DE LOS ESTUDIOS PILOTO:

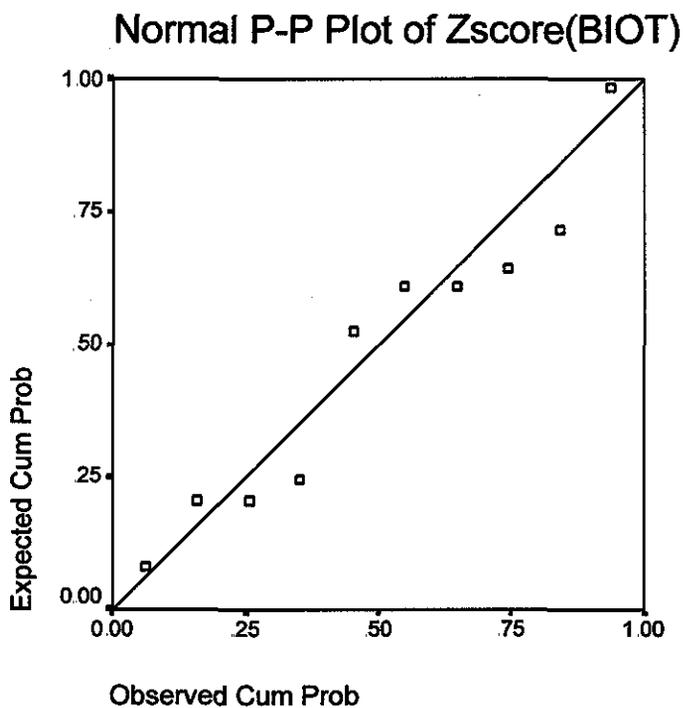
A. CAPTACIÓN *IN VITRO* DEL ^{99m}Tc -DTPA-BIOTINA:

Distribución estandarizada de los resultados de la captación del pertecneciato en 1 gramo de células de hepatocarcinoma.



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Distribución estandarizada de los datos de la captación del ^{99m}Tc -DTPA-BIOTINA en 1 gramo de células de hepatocarcinoma.



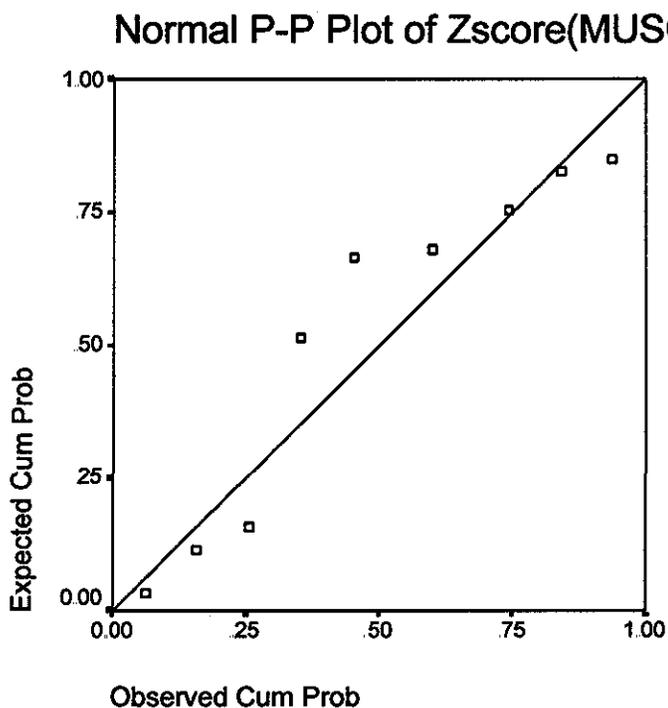
TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

FASE IN VITRO		
cts/gr		
PERTECNECIATO		^{99m} Tc-DTPA-BIOTINA
284		2684
239		2234
245		2300
289		1940
296		2230
286		2796
249		2795
251		3748
200		2941
217		2840
MEDIA	250	2650
DESVIACION ESTANDAR	32	510

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

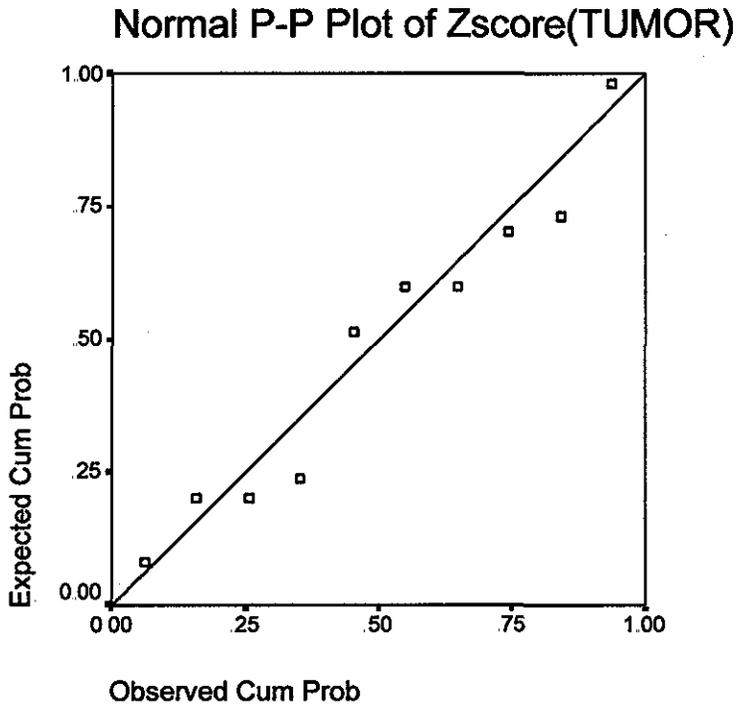
B. CAPTACIÓN *IN VIVO* DEL ^{99m}Tc -DTPA-BIOTINA:

Distribución estandarizada de los resultados de la captación del ^{99m}Tc -DTPA-BIOTINA en 1 gramo de músculo sano.



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Distribución estandarizada de los datos de la captación del ^{99m}Tc -DTPA-BIOTINA en 1 gramo de tumor implantado en músculo.



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

FASE IN VIVO		
cts/gr		
MUSCULO SANO		MUSCULO CON TUMOR
295		2641
290		2191
301		2257
303		1897
289		2187
256		2753
290		3705
280		2752
251		2900
236		2943
MEDIA	279	2622
DESVIACION ESTANDAR	23	518

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Los resultados del estudio piloto fueron: en la fase *in vitro* se obtuvo una media y desviación estandar para el grupo experimental de 2650+-510 y para el grupo control de 250+-32. En la fase *in vivo* se obtuvo una media y desviación estandar para el grupo experimental de 2622+-518 y para el grupo control de 279+-23.

Con la distribución estandarizada de los datos que tienden a distribuirse de manera normal y los resultados obtenidos de la media y desviación estandar en la fase *in vitro* e *in vivo*, se calculó el tamaño de la muestra considerando el pool de varianza de 130562 y 134426.5, el valor delta de 2400 y 2343, poder nivel beta de 90% y un alfa de 95%, obteniendo un tamaño de muestra para cada fase de 1, sin embargo se tomaron 10 muestras para la fase *in vitro* y 3 animales por cada tiempo en la fase *in vivo*.

6. FASE EXPERIMENTAL:

C. Para determinar *in vitro* qué cantidad se captaba del ^{99m}Tc -DTPA-BIOTINA en células de hepatocarcinoma, se tomaron 20 tubos que contenían 1 gramo de la línea celular de hepatocarcinoma; a las que se les realizó control histopatológico verificando la estirpe celular, contaminación con bacterias, hongos o presencia de polimorfos nucleares; si alguna muestra estuvo contaminada se desecho.

Para el grupo experimental se utilizaron 10 muestras que se incubaron a temperatura ambiente durante 2 horas con 50 microcuries de ^{99m}Tc -DTPA-BIOTINA y 10 muestras para el grupo control que se incubaron con 50 microcuries de pertecneiato; después todas las muestras se centrifugaron a 3000 revoluciones por minuto durante 10 minutos, después se separó el sobrenadante del botón celular para su conteo durante 30 segundos en un detector de centelleo tipo pozo, obteniendo las cuentas/gramo para cada grupo.

D. Para determinar *in vivo* qué cantidad se captaba del ^{99m}Tc -DTPA-BIOTINA en células tumorales de hepatocarcinoma, se tomaron 7 grupos de 3 ratas cada uno a las que se les anestesió por vía nasofaríngea, sujetándolas por las cuatro patas con un cordón de algodón en un molde de polietileno apropiado para ello, implantando 0.2ml de células de hepatocarcinoma por inyección intramuscular en el lomo, después del procedimiento se dejaron libres en el bioterio, bajo vigilancia del veterinario. 7 días después se les inyectó una dosis de 50 microcuries de ^{99m}Tc -DTPA-BIOTINA en 0.1ml. en la vena de la cola; sacrificándose en una cámara de CO_2 un grupo de 3 ratas al finalizar los siguientes tiempos (5, 15, 30 minutos, 1, 2, 3 y 24 horas), después se les hizo una incisión dorsal para extirpar músculo con el tumor y músculo contralateral sano, todas las porciones de tejido se colocaron en tubos para el conteo de radiactividad (cuentas/gramo) en un detector de cristal tipo pozo (34,39).

7. RESULTADOS DE LA FASE EXPERIMENTAL:

C. CAPTACION *IN VITRO* DEL ^{99m}Tc -DTPA-BIOTINA:

FASE <i>IN VITRO</i>		
cts/gr		
PERTECNECIATO		^{99m}Tc-DTPA-BIOTINA
461		3390
378		3140
351		3215
412		3800
414		4512
518		3151
578		4012
493		3405
512		3456
613		4112
MEDIA	473	3619
DESVIACION ESTANDAR	85	467

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

D. CAPTACIÓN *IN VIVO* A LAS 2 HORAS DEL ^{99m}Tc-DTPA BIOTINA:

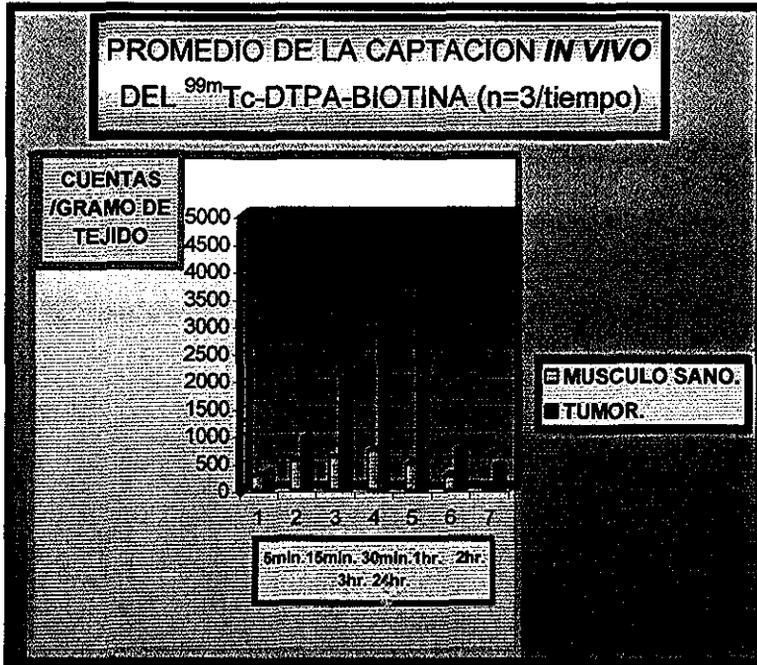
FASE <i>IN VIVO</i>		
cts/gr		
MUSCULO SANO		MUSCULO CON TUMOR
368		4888
576		4411
470		4649
MEDIA	471	4649
DESVIACION ESTANDAR	104	238

ANÁLISIS ESTADISTICO

Se realiza t student para 2 muestras independientes con un intervalo de confianza del 95%. Obteniendo en la fase *in vivo* e *in vitro* una p de 0.000 demostrando que la diferencia de medias encontrada es estadísticamente significativa.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

E. Promedio de la captación *in vivo* del ^{99m}Tc -DTPA-BIOTINA en ratas con hepatocarcinoma implantado en músculo sano y sacrificadas a los 5, 15, 30 minutos, 1, 2, 3 y 24 horas.



En la fase *in vitro* se obtuvo una media y desviación estandar para el grupo experimental de 3619+467 y para el grupo control de 473+85, en la fase *in vivo* a las 2 horas se obtuvo una media y desviación estandar para el grupo experimental de 4649+238 y para el grupo control de 471+104.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Se realiza prueba de friedman obteniendo una p de 0.000; lo que indica que independientemente del tiempo de captación siempre se encontrará diferencia de captación entre el músculo sano y el músculo con tumor implantado

8. DISCUSIÓN:

Con los resultados obtenidos en la fase experimental en animales, demostramos que la biotina es capaz de transportar al emisor gamma (^{99m}Tc -) hacia células tumorales de hepatocarcinoma con una concentración máxima del radiofármaco a las 2 horas.

Por lo que es necesario realizar una fase clínica para demostrar su utilidad diagnóstica en seres humanos ya que este nuevo radiofármaco será capaz de brinda imagen e identificar el hepatocarcinoma.

Se realiza prueba de friedman obteniendo una p de 0.000; lo que indica que independientemente del tiempo de captación siempre se encontrará diferencia de captación entre el músculo sano y el músculo con tumor implantado

8. DISCUSIÓN:

Con los resultados obtenidos en la fase experimental en animales, demostramos que la biotina es capaz de transportar al emisor gamma (^{99m}Tc -) hacia células tumorales de hepatocarcinoma con una concentración máxima del radiofármaco a las 2 horas.

Por lo que es necesario realizar una fase clínica para demostrar su utilidad diagnóstica en seres humanos ya que este nuevo radiofármaco será capaz de brinda imagen e identificar el hepatocarcinoma.

9. CONCLUSIÓN:

La biotina es capaz *in vitro* e *in vivo* de transportar al ^{99m}Tc - (emisor gamma) hacia células tumorales de hepatocarcinoma, con una concentración máxima del radiofármaco a las 2 horas.

Obtuvimos un nuevo radiofármaco tumorofílico. Por lo que es necesario realizar una fase clínica para demostrar su utilidad diagnóstica en humanos.

10. CONSIDERACIONES:

A. ETICAS:

En el presente estudio se utilizaron ratas, a las cuales se produjo estrés inevitable con dolor, que resultó en daño para la integridad del animal, con inducción de un déficit anatómico o psicológico, llevándolo a la pérdida de la vida por lo que se utilizaron métodos de eutanasia, que indujeron la rápida inconciencia y muerte, como la cámara de CO₂ (29).

B. DE PROTECCION RADIOLÓGICA:

La dosis de $^{99}_{m}\text{Tc}$ -DTPA-BIOTINA utilizada para realizar este estudio, fue pequeña (50 microcuries), en comparación con dosis de hasta 6 milicuries de $^{99}_{m}\text{Tc}$ -sulfuro-coloidal para estudios diagnósticos hepatoesplénicos, por lo que el radiofármaco inyectado, no representó ningún peligro para los animales ni para el investigador.

B. DE LOS DESECHOS RADIATIVOS:

1. Después de extraer los tejidos de cada rata, el cadáver de cada una se colocó en una bolsa de plástico de color amarillo, la cual está indicada para desechos biológicos, permaneciendo dentro del cuarto caliente del servicio de medicina nuclear y después de que el radiofármaco decayó seis vidas medias físicas, se procedió a la incineración.

2. Después de que decayeron en el cuarto caliente seis vidas medias físicas, los tubos utilizados para el conteo de la radiactividad, se desecharon en el contenedor especial para vidriería.

11. BIBLIOGRAFIA:

1. Golpa B, Saha. Fundamentals of Nuclear Pharmacy. 3er ed. Springer-Verlag. 1992; 7: 121-123.
2. Peña F, Domenech F.M. Isotopos, Radiaciones y Detecciones. 1983; 1: 1-6.
3. Sources and Effects of Ionizing Radiation. United Nations Scientific Committee, Report to the General Assembly. 1988.
4. Committee on Biological Effects of Ionizing Radiations (BEIR) of the National Sciences Academy. Report to the General Assembly. 1980.
5. Recommendations of the International Commission on Radiological Protection. ICRP Publication 26. Pergamon Press. January 1977.
6. Recommendations of the International Commission on Radiological Protection, ICRP Publication 60. Pergamon Press. November 1990.

7. Curso Avanzado de Protección Radiológica para Encargados de Seguridad Radiológica. Manual de Procedimientos y Fundamentos. Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares 1999; 1-3: 1-30.
8. Harbet C, Eckelman C, Neumann D. Medicina Nuclear Diagnosis and Therapy. Thieme 1996; 13: 281-282.
9. Farina A, Quagha MG, Bossu E, Melchiorre P. Analysis of Iododoxorubicin and its major impurity. J Phar. Biomed. Analysis 1991; 9: 1165-1168.
10. Johns DG, Spencer RP, Chang PK, Bertino JR. 131-I-iodoaminopterin:agama-labeled active-site directed enzyme inhibitor. J. Nucl. Med 1968; 9: 530-536.
11. Kleinert HD, Baker WR, Stein HH. Orally available peptide like molecules: a case history. Biopharmacy 1993; 6: 36-41.

12. Guillermina FF, Flor de María R, José IT, Gilmara PG, Consuelo AM, Laura MA, Jorge AA, Bárbara YC. Preparation and Pharmacokinetics of Samarium (III)-153-Labeled DTPA-bis-Biotin. Characterization and Theoretical Studies of the Samarium (III)-152 Conjugate. *Bioconjugate Chem* 1999; 10(5): 726-734.

13. Stolz J, Hoja U, Meier S, Sauer N, Schweizer E. Identification of the plasma membrane H⁺-biotin symporter of *Saccharomyces cerevisiae* by rescue of a fatty acid-auxotrophic mutant. *J Biol Chem* 1999 Jun; 274(26): 18741-18746.

14. Albert L, Lehninger. *Bioquímica. Las bases moleculares de la estructura y función celular.* 1982; 13: 341-485. 15: 397-485. 24: 671-738.

15. Said HM, Ortiz A, McCloud E, Dyer D, Moyer MP, Rubin S. Biotin uptake by human colonic epithelial NCM460 cells: a carrier-mediated process shared with pantothenic acid. *Am J Physiol* 1998 Nov; 275(5 Pt 1): 1365-1371.

16. Jitrapakdee S, Walker ME, Wallace JC. Functional expression, purification, and characterization of recombinant human pyruvate carboxylase. *Biochem Biophys Res Commun* 1999 20 Dec; 266(2): 512-517.

17. Zempleni J, Moch DM. Mitogen-induced proliferation increases biotin uptake into human peripheral blood mononuclear cells. *Am J Physiol* 1999 May; 276(5 Pt 1): 1079-1084.

18. Tanaka Y, Ijiri R, Yamanaka S, Kato K, Nishihira H, Nixhi T, Misugi K. Pancreatoblastoma: optically clear nucle in squamoid corpuscles are rich in biotin. *Mod Pathol* 1998 Oct; 11(10): 945-949.

19. Zempleni J, Mock DM. Uptake and metabolism of biotin by human peripheral blood mononuclear cells. *Am J Physiol* 1998 Aug; 275(2 Pt 1): 382-388.

20. Suormala T, Fowler B, Duran M, Burtscher A, Fuchsguber A, Tratzmuller R, Lenze MJ, Raab K, Baur B, Wick H, Baumgartner R. Five patients with a biotin-responsive defect in holocarboxylase formation: evaluation of responsiveness to biotin therapy in vivo and comparative biochemical studies in vitro. *Pediatr Res* 1997 May; 41(5): 666-673.

21. Wexler ID, Kerr DS, Du Y, Kaung MM, Stephenson W, Lusk MM, Wappner RS, Higgins JJ. Molecular characterization of pyruvate carboxylase deficiency in two consanguineous families. *Pediatr Res* 1998 May; 43(5): 579-584.

22. Aoki Y, Suxuki Y, Li X, Sakamoto O, Chikaoka H, Takita S, Narisawa K. Characterization of mutant holocarboxylase synthetase (HCS): a K_m for biotin was not elevated in patient with HCS deficiency. *Pediatr Res* 1997 Dec; 42(6): 849-854.

23. Mukhopadhyay B, Stoddard SF, Wolfe RS. Purification, regulation, and molecular and biochemical characterization of pyruvate carboxylase from *Methanobacterium thermoautotrophicum* strain delta H. *J Biol Chem*. 1998 Feb; 273(9): 5155-5166.
24. Koffas MA, Ramamoorthi R, Pine WA, Sinskey AJ, Stephanopoulos G. Sequence of the *Corynebacterium glutamicum* pyruvate carboxylase gene. *Appl Microbiol Biotechnol* 1998 Sep; 50(3): 346-352.
25. Sakamoto O, Suxuki Y, Li X, Aoki Y, Hiratsuka M, Suormala T, Baumgartner ER, Gibson KM, Narisawa K. Relationship between kinetic properties of mutant enzyme and biochemical and clinical responsiveness to biotin in holocarboxylase synthetase deficiency. *Pediatr Res* 1999 Dec; 46(6): 671-676.
26. Van Coster RN, Janssens S, Misson JP, Verloes A, Leroy JG. Prenatal diagnosis of pyruvate carboxylase deficiency by direct measurement of catalytic activity on chorionic villi samples. *Prenat Diagn* 1998 Oct; 18 (10): 1041-1042.

27. Paganelli G, et al. Therapy trials in cancer patients using an improved 3-step pretargeting approach radioactive isotopes in clinical medicine and research XXII 1997; 513-517.
28. Chinol M, et al. Pretargeted Radioimmunotherapy of Cancer. European Institute of Oncology Milano Italy. 1996.
29. American Association for Laboratory Animal Science. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. International research council 1987 Jan.
30. Maheshwari YK, Hill CS Jr, Haynie TP III, et al. ^{131}I therapy in differentiated thyroid carcinoma. Cancer 1981; 47: 664.
31. Shyh-Jen W, Wan-Yu L, et al. Intratumoral Injection of Rhenium-188 Microspheres into an Animal Model of Hepatoma. J Nucl Med 1998; 39(10): 1752-1757.

32. Hiromichi Ohira, Kazuo Kubota, et al. Comparison of Intratumoral Distribution of ^{99}Tc -MIBI and Deoxyglucosa in Mouse Breast Cancer Models. *J Nucl Med* 2000; 41: 1561-1568.
33. Frantisek Trejtnar, Milan Laznicek, et al. Pharmacokinetics and Renal Handling of $^{99\text{m}}$ Tc-labeled peptides. *J Nucl Med* 2000; 41: 177-184.
34. Murphy, R. BIEXP Computer program, Instituto Nacional de Astrofísica, Óptica y Electrónica INAOE, Tonantzintla, Puebla, México. 1991.
35. Palma-Aguirre J.A. Importancia clínica de la farmacocinética. *Gaceta Médica de México*. 1991; 127(4): 341-348.
36. Suzuki et al. Biodistribution and kinetics of holmium-166-chitosan complex (DW-166HC) in rats and mice. *J Nucl Med* 1998; 39: 2161-2166.

37. Meijs et al. Zirconium-labeled monoclonal antibodies and their distribution in tumor-bearing nude mice. J Nucl Med 1997; 38: 112-118.
38. Santens et al. Biodistribution and dosimetry of carbon-11-methoxyprogabidic acid, a possible ligand of GABA-receptors in de brain. J Nuc Med 1998; 39: 307-310.
39. Watson E, Stabin M, Bolch W. "MIRDOSE" Oak Ridge Associated Universities 1984.