



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
POSGRADO EN CIENCIAS FÍSICAS

**DESARROLLO, CARACTERIZACIÓN Y DOSIMETRÍA DEL FRAGMENTO PEPTÍDICO  
UBIQUICIDINA 29-41 MARCADO CON  $^{68}\text{Ga}$  PARA LA EVALUACIÓN DE PROCESOS  
INFECCIOSOS MEDIANTE PET**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

**MAESTRO EN CIENCIAS (FÍSICA MÉDICA)**

PRESENTA:

**JHONATAN CARRASCO HERNÁNDEZ**

DIRECTOR DE LA TESIS  
DR. MIGUEL ÁNGEL ÁVILA RODRÍGUEZ  
FACULTAD DE MEDICINA

MIEMBROS DEL COMITÉ TUTOR

DRA. MARÍA ISABEL GAMBOA DE BUEN  
INSTITUTO DE CIENCIAS NUCLEARES

Dr. LUIS ALBERTO MEDINA VELÁZQUEZ  
INSTITUTO DE FÍSICA

MÉXICO, D. F. ENERO 2016



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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.

## Resumen

En medicina nuclear se han desarrollado diversos radiofármacos para el diagnóstico de procesos infecciosos, sin embargo, ninguno de ellos es capaz de diferenciar claramente entre procesos infecciosos de aquellos procesos inflamatorios estériles. En este trabajo se desarrolló y caracterizó un radiofármaco de tercera generación dirigido a un blanco molecular específico.

Se utilizó el agente quelante bifuncional DOTA, para radiomarcarse de forma indirecta con  $^{68}\text{Ga}$  (un radionúclido metálico emisor de positrones) el fragmento peptídico Ubiquidina (29-41), un péptido catiónico antimicrobiano capaz de acumularse en sitios donde existan infecciones bacterianas. El trabajo realizado se divide en 3 fases:

1. La producción del radiofármaco [ $^{68}\text{Ga}$ ]Ga-DOTA-UBI; que engloba la obtención de  $^{68}\text{Ga}$  a partir de un generador de  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ , el desarrollo de un kit para la optimización del radiomarcado, la preparación del conjugado radiomarcado en formulación farmacéutica y las pruebas de control de calidad.
2. Estudios *in vivo* para conocer su biodistribución, mediante un sistema de microtomografía por emisión de positrones (microPET), primero en ratas sanas Wistar y después en un modelo de inflamación-infección en ratones BALB/c.
3. Estudios PET/CT en 4 voluntarios sanos, para realizar el cálculo de la dosimetría interna de radiación con el software especializado OLINDA/EXM.

La pureza radioquímica del radiofármaco fue siempre mayor a 97% y la estabilidad del compuesto se mantuvo por más de 3 h después de la síntesis. Los estudios en animales mostraron una biodistribución satisfactoria con rápida eliminación por vía urinaria en ratas sanas, y el modelo de inflamación-infección verificó la capacidad *in vivo* de [ $^{68}\text{Ga}$ ]Ga-DOTA-UBI de acumularse selectivamente en sitios de infección.

Los resultados del cálculo de dosis de radiación en voluntarios sanos indican que la dosis efectiva promedio es de  $3.9 \pm 0.6$  mSv para una actividad inyectada de 5 mCi, valor similar al obtenido con otros radiofármacos marcados con  $^{68}\text{Ga}$ , siendo la pared de la vejiga el órgano crítico, con una dosis absorbida por unidad de actividad administrada de  $0.21 \pm 0.03$  mGy/MBq. Estos resultados son los primeros que se tienen documentado en la literatura ya que es la primera vez que se evaluó la dosimetría del radiofármaco [ $^{68}\text{Ga}$ ]Ga-DOTA-UBI en humanos.

## Abstract

Several radiopharmaceuticals have been developed in the field of nuclear medicine for the diagnosis of infectious processes; however, none of them is able to clearly differentiate between infectious processes of those sterile inflammatory processes. In this work, a third-generation radiopharmaceutical directed against a specific molecular target was developed.

The bifunctional chelating agent DOTA was used for indirectly radiolabel with  $^{68}\text{Ga}$ , a positron emitting metallic radionuclide, the peptide fragment Ubiquicidin 29-41, an antimicrobial cationic peptide capable of accumulating at sites affected by bacterial infections. The work was divided into 3 phases:

1. Production of the radiopharmaceutical [ $^{68}\text{Ga}$ ]Ga-DOTA-UBI; which comprises obtaining  $^{68}\text{Ga}$  from a generator  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ , the development of a kit for optimizing the radiolabeling, preparation of the radiolabeled conjugate in pharmaceutical formulation and quality control tests.
2. In vivo studies to determine biodistribution, with a microPET scanner, first in healthy Wistar rats and then in an inflammation-infection animal model in BALB/c mice.
3. PET/CT studies in 4 healthy volunteers, for the calculation of internal radiation dosimetry with the specialized software OLINDA/EXM.

The radiochemical purity of the radiopharmaceutical was greater than 97% in all cases and the labeled compound was stable for more than 3 h after synthesis. Animal studies showed good biodistribution with rapid urine excretion in healthy rats, and the inflammation-infection model confirmed the in vivo ability of [ $^{68}\text{Ga}$ ]Ga-DOTA-UBI to specifically accumulate at sites of infection.

Dosimetry calculations in healthy volunteers determined that the average effective dose of [ $^{68}\text{Ga}$ ]Ga-DOTA-UBI is  $3.9 \pm 0.6$  mSv for an injected activity of 5 mCi, similar to that obtained with other radiopharmaceuticals labeled with  $^{68}\text{Ga}$ , being the bladder wall the critical organ, with an radiation-absorbed dose per unit activity administered of  $0.21 \pm 0.03$  mGy/MBq. To the best of our knowledge these are the first human dosimetric results reported in the literature using the radiopharmaceutical [ $^{68}\text{Ga}$ ]Ga-DOTA-UBI.

*A mis padres Ubaldo Carrasco Gutiérrez  
y Lourdes Hernández Rivera*

# Agradecimientos

Al Dr. Miguel Ángel Ávila Rodríguez por sus orientaciones, enseñanzas, paciencia y motivación que han sido fundamentales para mi formación y que ha inculcado en mí, responsabilidad y rigor académico lo cual me ha hecho crecer no solo académicamente si no también en el ámbito personal. Tiene toda mi admiración y gratitud por todo lo recibido durante el periodo de tiempo que ha durado esta tesis de maestría.

A mis padres Ubaldo y Lourdes quienes me han dado educación, apoyo y consejos durante toda mi vida, sin su ayuda incondicional no podría haberlo logrado.

A Dulce Belem quien ha estado junto a mí con su cariño, ternura y paciencia en todo momento, gracias por empujarme a seguir adelante siempre.

A los miembros de mi comité tutor, Dra. María Isabel Gamboa de Buen, Dr. Luis Alberto Medina Velázquez, Dr. Miguel Ángel Ávila Rodríguez ya que fueron parte muy importante de este trabajo con sus acertadas recomendaciones y sugerencias.

A los integrantes del comité sinodal, Dra. Olivia Amanda García Garduño, M. en C. Alejandro Rodríguez Laguna, Dr. Miguel Ángel Ávila Rodríguez Dra. Olga Leticia Ávila Aguirre, Dra. Paola Ballesteros Zebadúa, gracias por el tiempo que han dedicado a la revisión de este trabajo.

A los grandes amigos que me llevo de la maestría, con los que compartí muy gratos momentos, así como el apoyo en los momentos difíciles.

De forma muy especial a Nohemí y Jackie quienes estuvieron en esos momentos difíciles al inicio de esta etapa, mi más sincero agradecimiento.

A Damaris Albores García y Dafne Fabiola Garduño-Torres por su apoyo durante los estudios preClínicos, a Gabriela Contreras-Castañón por su ayuda durante la producción del radiofármaco, a la Dra. Martha Pedraza López por su enorme colaboración en los estudios preClínicos, a Hugo Enrique Solís Lara quien contribuyó enormemente para hacer posible los estudios en humanos. Y finalmente a todos aquellos que participaron directa o indirectamente en la elaboración de esta tesis.

## Agradecimientos institucionales

A las Unidades Radiofarmacia-Ciclotrón y PET/CT de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) por permitirme utilizar sus instalaciones para el desarrollo de este trabajo.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca otorgada para mis estudios de maestría con número de becario 514015693.

A los proyectos DGAPA-PAPIIT IT201115, IAEA RC-16467 y CONACyT 179218 por financiamiento para la realización de esta investigación.

Al Programa de Apoyo a los Estudios de Posgrado (PAEP) de la UNAM por el apoyo para asistir a:

\* LVII CONGRESO NACIONAL DE FÍSICA; Mazatlán, Sinaloa; 5 al 10 de octubre de 2014.

\* LVIII CONGRESO NACIONAL DE FÍSICA; Mérida, Yucatán; 5 al 10 de octubre de 2015.

A la Red Temática de Física Médica y al Comité Organizador del IV Congreso de la Federación Mexicana de Organizaciones de Física Médica (FMOFM) por su apoyo para asistir al:

\* IV Congreso de la FMOFM; San Luis Potosí, 14 al 16 de noviembre de 2015.

# Índice general

1. Introducción	1
2. Marco teórico	4
2.1. Medicina nuclear	4
2.2. Modalidades de imágenes en Medicina Nuclear	4
2.3. Radiofármacos	6
2.4. Péptidos antimicrobianos	8
2.5. Producción de radionúclidos mediante generadores	10
2.5.1. Equilibrio radiactivo	12
2.5.2. El generador de $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$	13
2.6. Agentes quelantes bifuncionales	15
2.7. Radiofármacos para detección de inflamación-infección	16
3. Dosimetría interna	19
3.1. Conceptos básicos	20
3.1.1. Dosis equivalente	20
3.1.2. Dosis efectiva	20
3.2. Formalismo MIRD	21
3.2.1. Actividad acumulada	22
3.2.2. Valor S	24
3.2.3. Características del programa OLINDA/EXM	25
3.2.4. Maniquí adulto	26
4. Metodología experimental	28
4.1. Caracterización del generador itG de $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ de matriz de resina orgánica	29
4.1.1. Perfil de elución de $^{68}\text{Ga}$	29



4.1.2.	Cuantificación de impurezas radionuclídicas del eluato	30
4.2.	Radiomarcado de DOTA-UBI (29-41)	33
4.3.	Pruebas de control de calidad	35
4.3.1.	Pruebas físico-químicas	35
4.3.2.	Pruebas biológicas	38
4.4.	Ensayos <i>in vivo</i>	38
4.4.1.	Biodistribución en ratas sanas	39
4.4.2.	Estudios preclínicos en un modelo de inflamación-infección en ratones	40
4.5.	Biodistribución y dosimetría interna en humanos	44
4.5.1.	Estudios PET/CT	44
4.5.2.	Adquisición de las imágenes PET/CT	46
4.5.3.	Cálculo de la dosis de radiación	48
<b>5.</b>	<b>Resultados y Discusión</b>	<b>50</b>
5.1.	Caracterización del generador de $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$	50
5.1.1.	Perfil de elución de $^{68}\text{Ga}$	50
5.1.2.	Cuantificación de impurezas radionuclídicas del eluato	51
5.2.	Radiomarcado de DOTA-UBI (29-41)	52
5.3.	Pruebas de control de calidad	53
5.4.	Ensayos <i>in vivo</i>	57
5.4.1.	Biodistribución en ratas sanas	57
5.4.2.	Estudios preClínicos en un modelo de inflamación-infección en ratones	60
5.5.	Biodistribución y dosimetría interna en humanos	60
<b>6.</b>	<b>Conclusiones</b>	<b>70</b>
	<b>Referencias</b>	<b>71</b>

# Capítulo 1

## Introducción

Las enfermedades infecciosas son una de las principales causas de muerte a nivel mundial, según la Organización Mundial de la Salud (OMS) en 2012, las infecciones de las vías respiratorias (como la neumonía) estuvieron entre las tres principales causas de muerte junto con la cardiopatía isquémica y los accidentes cerebrovasculares [1]. Enfermedades como la tuberculosis, meningitis, malaria, infecciones de las vías respiratorias y diarreas causan con frecuencia desde dolores intensos, discapacidades permanentes, hasta la muerte.

Por otra parte, en los últimos años se ha visto un incremento en el número de infecciones nosocomiales en todo el mundo, *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) es uno de los patógenos más frecuentes en hospitales, con cepas cada vez más virulentas y resistentes a los antibióticos más potentes como la metilicina. Tan solo en Estados Unidos (EUA) *S. aureus* ocupa el segundo lugar como causa de hospitalización prolongada a causa de infecciones adquiridas en el hospital [2]. En México la Red Hospitalaria de Vigilancia Epidemiológica (RHVE) reportó que en el periodo de 1997-2003 *S. aureus* ocupó el tercer lugar en morbilidad y el cuarto lugar en mortalidad por complicaciones originadas a partir de infecciones adquiridas en el hospital.

Es conocido que en medicina nuclear se emplean técnicas de imágenes para el diagnóstico de lesiones, la tomografía por emisión de positrones (PET) es una de las técnicas cuya sensibilidad y calidad de imagen ofrece grandes ventajas para el diagnóstico temprano de diferentes patologías. Actualmente no se cuenta con un radiofármaco para PET que permita la detección eficaz de un proceso infeccioso (como es el caso de las fiebres de origen desconocido o lesiones infectadas profundas de los pacientes con prótesis ortopédicas) y que sea capaz de diferenciarlo de un proceso inflamatorio estéril. Es por esto que contar con un radiofármaco que le indique al médico si se trata de un proceso inflama-

torio estéril o una lesión infectada, así como su localización, permitiría brindar atención terapéutica temprana y así evitar complicaciones que pueden llegar a ocasionar hasta la muerte.

Recientemente se ha estudiado el péptido catiónico antimicrobiano Ubiquidina (29-41) para la detección de bacterias, los resultados han mostrado una alta capacidad de concentrarse selectivamente en sitios donde haya procesos infecciosos sin causar efectos nocivos en humanos. Así, la Ubiquidina radiomarcada indirectamente con  $^{68}\text{Ga}$  a través de un agente quelante bifuncional, hará posible la detección de lesiones infectadas por medio de PET con una alta calidad de imagen y en un tiempo relativamente corto en comparación con otras opciones dentro del diagnóstico por imagen en medicina nuclear.

**La novedad científica del trabajo** está, por una parte, en la producción de  $^{68}\text{Ga}$  Ga-DOTA-UBI, utilizando un método de radiomarcaje indirecto del fragmento UBI (29-41) con el agente quelante bifuncional DOTA, y por otro lado, será el primer estudio sobre la dosis interna de radiación en humanos utilizando este radiofármaco lo que permitirá establecer la actividad que se deberá administrar de forma segura durante cada estudio PET.

### **Objetivo general:**

Preparar, caracterizar, realizar las pruebas preClínicas y dosimetría del conjugado peptídico  $^{68}\text{Ga}$  Ga-DOTA-UBI como un radiofármaco específico de procesos infecciosos mediante tomografía por emisión de positrones.

### **Objetivos específicos:**

1. Caracterizar el generador itG de  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ : obtención del perfil de elución de  $^{68}\text{Ga}$  y la cuantificación de impurezas radionuclídicas del eluido.
2. Desarrollar un kit para el marcado del conjugado DOTA-UBI con una solución de  $^{68}\text{Ga}$  GaCl<sub>3</sub> obtenida del generador de  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ .
3. Preparar el conjugado  $^{68}\text{Ga}$  Ga-DOTA-UBI en formulación farmacéutica con una pureza radioquímica mayor al 97 %.
4. Llevar a cabo las pruebas de control de calidad: físicas, químicas y biológicas.
5. Estudiar la biodistribución del radiofármaco en ratas sanas (Wistar) y en un modelo de infección-inflamación en ratones BALB/c mediante un sistema de microtomografía por emisión de positrones (microPET).

6. Realizar la dosimetría interna del radiofármaco en voluntarios sanos usando el software especializado OLINDA/EXM.

# Capítulo 2

## Marco teórico

### 2.1. Medicina nuclear

Desde el descubrimiento de los rayos X por Roentgen en 1895, la radiactividad en 1896 por Henri Becquerel y más tarde con los trabajos novedosos de Pierre y Marie Curie con el descubrimiento del polonio y radio, los físicos se dieron cuenta de la posibilidad de observar estructuras internas de una manera no invasiva. De igual manera, la posibilidad de utilizar trazadores radiactivos en el cuerpo y poder transmitir señales a detectores fue algo totalmente revolucionario. Las primeras aplicaciones de la radiactividad en medicina nuclear se dieron en el diagnóstico de enfermedades, es decir: el estudio de las estructuras y procesos para el diagnóstico de enfermedades. Hoy en día puede decirse que no hay órgano que no pueda ser explorado con esta técnica, como por ejemplo: patologías óseas, cardiacas y oncológicas, aunque también se utiliza en terapia donde se administran niveles altos de radiación para intentar destruir tejidos dañados en el cuerpo.

### 2.2. Modalidades de imágenes en Medicina Nuclear

La medicina nuclear ha venido experimentando un rápido crecimiento, las dos principales técnicas de imágenes son: Tomografía computarizada de emisión de fotón único (SPECT) y Tomografía por emisión de positrones (PET), que hacen uso de radionúclidos emisores gamma y positrones, respectivamente. Estas técnicas detectan la radiación emitida desde los órganos y tejidos del paciente obteniendo imágenes funcionales del interior del cuerpo, es decir, la distribución espacial y temporal del radiofármaco, lo que permite la evaluación de procesos fisiológicos y patológicos *in vivo*. Ambas técnicas de

imagen tienen sus ventajas y desventajas que están dadas principalmente por las propiedades de los radionúclidos utilizados y las modalidades de detección de cada una. [3]. El SPECT es una técnica que hace uso de radionúclidos emisores de rayos gamma, los cuales son detectados por uno o dos detectores planos que giran alrededor del paciente en diferentes ángulos, para obtener imágenes tridimensionales que se forman por el uso de un colimador, el cual, selecciona aquellos fotones que lleven una dirección determinada (figura 2.1). Existe una amplia gama de radiofármacos disponibles, de hecho, la mayoría de exámenes diagnósticos en medicina nuclear utilizan el isótopo  $^{99m}\text{Tc}$ , gracias a su facilidad para ser obtenido a partir del generador de  $^{99}\text{Mo}/^{99m}\text{Tc}$ . Por lo general estos equipos son más accesibles y de bajo costo en comparación con PET [4].

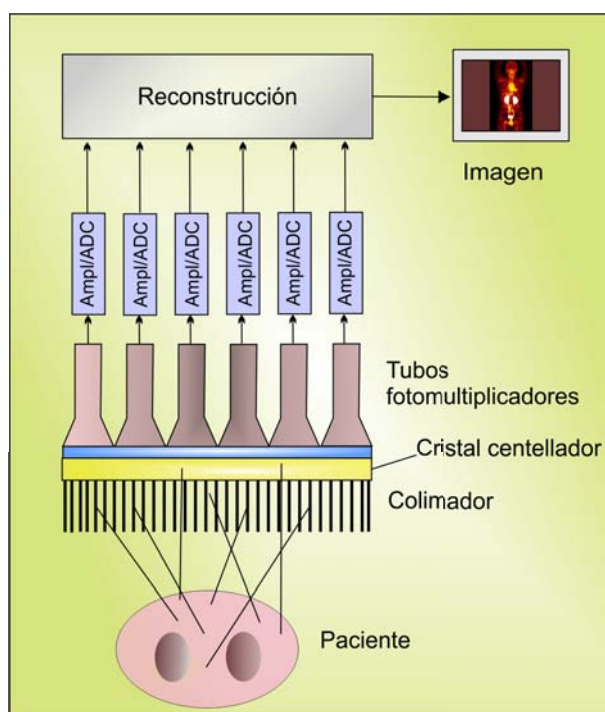


Figura 2.1: Esquema de un equipo SPECT.

En PET se hace uso de radionúclidos emisores de positrones, éstos son emitidos del núcleo durante el decaimiento radiactivo de un isótopo inestable rico en protones, este se combina con un electrón a pocos milímetros, resultando en la aniquilación de ambos y la creación de dos fotones emitidos simultáneamente, cada uno con una energía de 511 keV a  $180^\circ$ . La detección simultánea de ambos fotones permite la localización de su origen sobre una línea de respuesta entre los dos detectores (figura 2.2) [4].

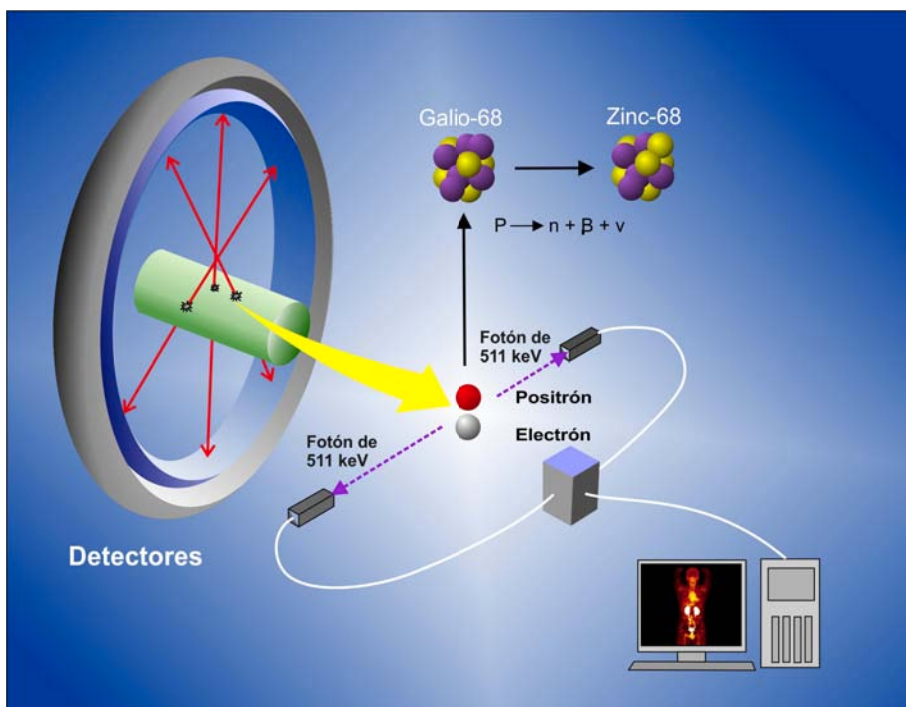


Figura 2.2: Decaimiento  $\beta^+$  y aniquilación del positrón.

La PET ha tenido gran éxito, en parte, por el desarrollo y uso de deoxiglucosa marcada con  $^{18}\text{F}$  [FDG] en oncología, así como también por el desarrollo de nuevos agentes de imagen con blancos moleculares específicos y es aquí donde  $^{68}\text{Ga}$  ha tenido una gran contribución.

### 2.3. Radiofármacos

Un **radiofármaco** es toda sustancia que contiene un átomo radiactivo dentro de su estructura y que, por su forma farmacéutica, cantidad y calidad de radiación, puede ser administrado en los seres humanos con fines diagnósticos o terapéuticos. [5]

Un estudio de medicina nuclear envuelve la inyección de pequeñas trazas de un radiofármaco en el cuerpo, este compuesto está marcado con un emisor de rayos gama o un radionúclido emisor de positrones. Cuando el radionúclido decae, emite radiación y un dispositivo externo la detecta y forma una imagen de la biodistribución del radionúclido en el cuerpo, y por lo tanto del compuesto.

Existe una dosis de radiación asociada con los estudios en medicina nuclear, incluyendo

dosis específicas a los diferentes órganos dependiendo del radionúclido administrado y la distribución espacial y temporal del compuesto marcado. La dosis absorbida en estudios humanos, debe ser cuidadosamente establecida, a través de estudios dosimétricos para cada nuevo radiofármaco, con la finalidad de justificar un beneficio neto que sobrepase con creces los riesgos del uso del compuesto radiactivo. Las características que debe tener un radiofármaco de diagnóstico para uso en humanos son [6]:

1. Debe proporcionar una dosis mínima de radiación al paciente.
2. La radiación emitida debe ser detectada fácilmente y a distancia por instrumentos.
3. Tener una vida media compatible con el tiempo requerido para rastrear el fenómeno biológico estudiado.
4. Ser de administración única y vía intravenosa.
5. Debe ser capaz de producirse fácilmente y de forma relativamente económica.

### **Tipos de radiofármacos**

Por su diseño, los radiofármacos se pueden clasificar en tres generaciones [7].

1. **Radiofármacos de primera generación:** La primera generación de radiofármacos explotan procesos fisiológicos normales del cuerpo y que pueden ser captados por algún órgano, pero sin un receptor específico. Aquí se radiomarcaban compuestos químicos o se administran directamente radiopartículas.
2. **Radiofármacos de segunda generación:** La segunda generación surgió como resultado del desarrollo de compuestos que tenían un radiometal unido con ligantes con una geometría bien definida. Su biodistribución se establecía por sus características fisicoquímicas tales como carga total, peso molecular, forma. De aquí surgieron unos ligantes llamados agentes quelantes bifuncionales (BFCA).
3. **Radiofármacos de tercera generación:** Estos se utilizan en medicina nuclear para obtener imágenes de blancos moleculares específicos por su capacidad para detectar sitios bioquímicos, como receptores y enzimas. Los avances en el conocimiento del genoma humano han hecho posible la síntesis de fragmentos de ADN, de fragmentos protéicos o péptidos similares a los que el organismo produce, esto a su vez ha permitido el desarrollo de radiofármacos que no son considerados extraños para el organismo. En general estos radiofármacos se componen de tres partes:

1. Un radionúclido.



2. El agente quelante bifuncional que se encuentra ubicado entre el radionúclido y una molécula vector.
3. Un fragmento bioactivo que sirve como transportador que lleva al radionúclido al sitio receptor en las células o moléculas blanco. Estas moléculas pueden ser fracciones de anticuerpos, péptidos, análogos de ADN, oligonucleótidos etc.

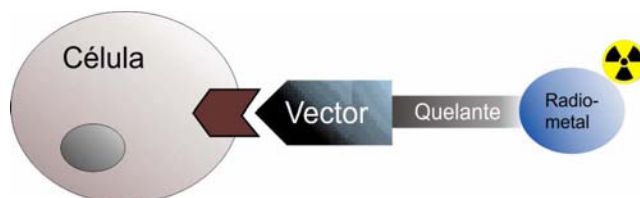


Figura 2.3: Esquema de un radiofármaco de tercera generación.

## 2.4. Péptidos antimicrobianos

Los péptidos antimicrobianos se hallan en casi todos los seres vivos y son parte importante del sistema inmune de múltiples organismos como: anfibios, insectos, mamíferos, plantas; generalmente están compuestos por menos de 200 aminoácidos. Los péptidos antimicrobianos tienen un amplio espectro de actividad, entre ellas: antiviral, antifúngica, antibacteriana e incluso antitumoral, hasta el momento se conocen más de 800 péptidos antimicrobianos, la mayoría de ellos son fáciles de sintetizar y se pueden almacenar en grandes cantidades.

En los organismos multicelulares, los péptidos antimicrobianos se encuentran en la superficie externa de la piel, en los pulmones o se hallan dentro de los neutrófilos, desde donde pueden ser liberados para ejercer su acción bactericida. La mayoría de los péptidos antimicrobianos son catiónicos a pH fisiológico, esto se debe a su contenido de arginina y lisina (que son aminoácidos cargados positivamente) lo que causa la atracción electrostática a más de un lugar de la membrana de las bacterias que están cargadas negativamente, los mecanismos de acción son muy variados, pero por lo general después de esta primera interacción, los péptidos antimicrobianos generan áreas de inestabilidad en la membrana (formación de poros), produciendo daños internos en las bacterias [8] [9].

### Ubiquidina (UBI)

La Ubiquidina es un péptido catiónico antimicrobiano que se encuentra presente en múltiples especies de plantas y animales así como en el ser humano, fue inicialmente

aislado de macrófagos murinos y después de células epiteliales de las vías respiratorias humanas [10]. Este péptido está formado por 59 aminoácidos, en la tabla 2.1 se muestra la secuencia de aminoácidos de algunos fragmentos de UBI que han sido estudiados.

Tabla 2.1: Secuencias de aminoácidos de fragmentos de Ubiquidina.

Péptido	Fragmento	Secuencia
Ubiquidina	UBI 1-18	KVHGSLARAGKVRGQTPK
	UBI 29-41	TGRAKRRMQYNRR
	UBI 18-29	KVAKQEKKKKKT
	UBI 18-35	KVAKQEKKKKKTGRAKRR
	UBI 31-38	RAKRRMQY
	UBI 22-35	QEKKKKKTGRAKRR

En un estudio realizado por Welling et. al. en 2000 [11] se radiomarcaron péptidos naturales basados en la secuencia del péptido antimicrobiano ubiquidina (UBI) (tabla 2.1) con tecnecio-99m para seleccionar aquellos que pueden discriminar entre infecciones bacterianas de inflamaciones estériles.

Primero se evaluó la capacidad de unión de estos péptidos a bacterias sobre otras células (leucocitos), para esto los radiopéptidos fueron inyectados en ratones infectados con *Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*) cuantificando la cantidad de actividad asociada con las bacterias y leucocitos. Los resultados mostraron que los fragmentos UBI 22-35, UBI 31-38 UBI 18-35 y UBI 29-41 poseen una alta unión a bacterias la cual fue considerablemente más alta que la unión a leucocitos humanos llegando a ser hasta 220 mayor con el fragmento UBI 29-41. Además, se demostró esta misma tendencia de acumulación a bacterias de *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) y MRSA que son cepas de *S. aureus* resistentes a la metilina, uno de los antibióticos más potentes.

En la siguiente etapa del experimento se investigó la capacidad de los péptidos para discriminar entre infecciones bacterianas de inflamaciones estériles, para esto se inyectaron los radiopéptidos en ratones infectados con MRSA además de que se les provocó una inflamación estéril con LPS (Lipopolisacáridos) de bacterias. De los cuatro fragmentos de UBI seleccionados, dos de ellos: UBI 29-41 y UBI 18-35 mostraron una alta unión a bacterias de 5-30 min después de la inyección con un valor de 2 y 3 de T/NT (Target/Non-Target), el valor máximo de T/NT fue observado 1 h después de la inyección de los radiopéptidos. No se observó acumulación de los radiopéptidos en zonas inyectadas con LPS. De estos dos fragmentos, UBI 18-35 posee características antimicrobianas superiores a UBI-29-41 por lo que no lo hace tan útil para estudios diagnósticos como el fragmento UBI-29-41.

En otro estudio realizado por Akhtar et. al. en 2004 [12] se evaluó el péptido UBI (29-41) marcado con  $^{99m}\text{Tc}$  como agente para encontrar infecciones producidas por *S. aureus* y *Escherichia coli*, los estudios fueron hechos en conejos los cuales fueron inyectados con *S. aureus* o *E. coli* en el músculo de la pierna derecha, además de inducir inflamaciones estériles en otros con bacterias muertas de *S. aureus* en la misma región. La captación del péptido fue determinada por cuantificación de actividad. Los resultados mostraron una significativamente alta acumulación de  $^{99m}\text{Tc}$ -ubi (29-41) en sitios infectados con *S. aureus*  $T/NT=2.2 \pm 0.5$  comparado con animales infectados con *E. coli*  $T/NT=1.7 \pm 0.4$ . Además, no se observó acumulación significativa en conejos inyectados con bacterias de *S. aureus* muertas obteniendo valores de  $T/NT < 0.05$ .

UBI 29-41 es un fragmento peptídico formado por 13 aminoácidos, en la posición 5 de su secuencia de aminoácidos se encuentra una lisina la cual posee un grupo amino libre esto permite que sea posible la unión de la cadena peptídica con agentes quelantes bifuncionales [11]. Además se ha investigado recientemente la capacidad de UBI (29-41) para radiomarcarse, obteniendo un alto rendimiento y alta estabilidad [13] [14] [15].

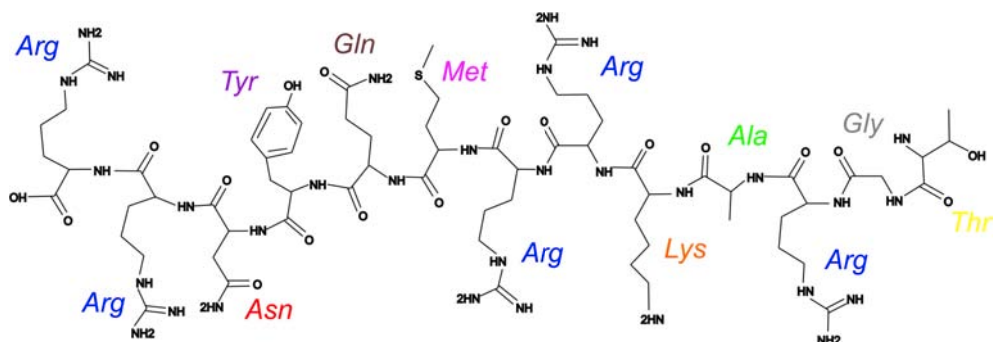


Figura 2.4: Estructura del fragmento peptídico UBI (29-41).

## 2.5. Producción de radionúclidos mediante generadores

Los generadores son una fuente de radionúclidos que se utilizan para la producción de radiofármacos en medicina nuclear. El principio básico de un generador es que dos radionúclidos estén relacionados mediante una secuencia de desintegración, es decir, un radionúclido padre generalmente producido en un ciclotrón o reactor nuclear y con una vida media larga decae a un radionúclido hija con una vida media más corta, esto permite la separación de la hija repetidamente durante un lapso grande de tiempo,

generalmente por procesos químicos, la tabla 2.2 da algunos ejemplos de generadores usados en medicina nuclear.

Un generador consiste de una columna de vidrio llena con un material absorbente (como óxido de aluminio o una resina), donde se encuentra impregnado el radionúclido padre, a través de una plataforma de elución (donde un vial estéril es conectado con una línea de salida) pasa una sustancia (líquida) que es empujada desde el reservorio del eluyente lentamente y acarrea selectivamente al radionúclido hija fuera de la columna hacia el vial colector (figura 2.5).

Tabla 2.2: Generadores para aplicaciones médicas.

Padre ( $T_{1/2}$ )	Modo de decaimiento	Hija ( $T_{1/2}$ )	Modo de decaimiento
$^{99}\text{Mo}$ (65.9 h)	$\beta^-$	$^{99m}\text{Tc}$ (6.01 h)	gama
$^{113}\text{Sn}$ (115.1 d)	EC	$^{113m}\text{In}$ (1.66 h)	gama
$^{81}\text{Rb}$ (4.58 h)	EC, $\beta^+$	$^{81m}\text{Kr}$ (13.3 s)	gama
$^{82}\text{Sr}$ (25.3 d)	EC	$^{82}\text{Rb}$ (1.25 m)	EC, $\beta^+$
$^{68}\text{Ge}$ (270.9 d)	EC	$^{68}\text{Ga}$ (67.7 m)	EC, $\beta^+$

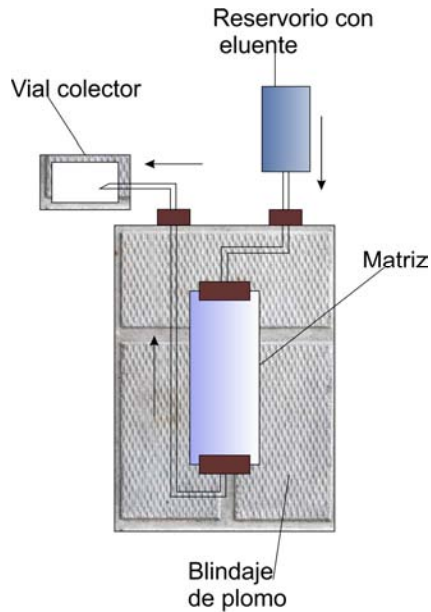


Figura 2.5: Componentes de un generador de radionúclidos.

### 2.5.1. Equilibrio radiactivo

La generación de un radionúclido hija formado por el decaimiento de un radionúclido padre considera los parámetros de decaimiento del padre (subíndice 1) y la hija (subíndice 2). El decaimiento del padre se muestra en la ecuación (2.1)

$$\frac{dN_1}{dt} = -\lambda_1 N_1, \quad N_1 = N_1^0 e^{-\lambda_1 t} \quad (2.1)$$

donde  $\lambda$  es la constante de decaimiento para el radionúclido,  $N$  representa el número de átomos en el tiempo  $t$  y  $N^0$  indica la correspondiente cantidad cuando  $t = 0$ . El radionúclido hija se forma a la misma razón que el padre decae,  $\lambda_1 N_1$ , sin embargo, la hija a su vez decae a la razón  $\lambda_2 N_2$  por lo que la producción neta está dada por:

$$\frac{dN_2}{dt} = \lambda_1 N_1 - \lambda_2 N_2 = \lambda_1 N_1^0 e^{-\lambda_1 t} - \lambda_2 N_2 \quad (2.2)$$

la solución de esta ecuación lineal es:

$$N_2 = \frac{\lambda_1}{\lambda_2 - \lambda_1} N_1^0 (e^{-\lambda_1 t} - e^{-\lambda_2 t}) \quad (2.3)$$

si la vida media del padre es mayor que la vida media de la hija ( $T_{1/2,1} > T_{1/2,2}$ , i.e.  $\lambda_1 < \lambda_2$ ), entonces  $e^{-\lambda_2 t}$  es despreciable comparado con  $e^{-\lambda_1 t}$  después de un tiempo  $t$  suficientemente largo, y

$$N_2 = \frac{\lambda_1}{\lambda_2 - \lambda_1} N_1^0 e^{-\lambda_1 t} \quad (2.4)$$

si  $N_1 = N_1^0 e^{-\lambda_1 t}$ , entonces el cociente del número de átomos de los dos radionúclidos es:

$$\frac{N_1}{N_2} = \frac{\lambda_2 - \lambda_1}{\lambda_1} \quad (2.5)$$

y el cociente de las actividades  $A$  de los dos radionúclidos es:

$$\frac{A_1}{A_2} = \frac{\lambda_2 - \lambda_1}{\lambda_2} = 1 - \frac{\lambda_1}{\lambda_2} \quad (2.6)$$

esta condición de actividades constante de un padre y una hija se conoce como equilibrio radiactivo. En el caso donde la vida media del padre es mucho mayor que la vida media de la hija ( $T_{1/2,1} \gg T_{1/2,2}$ , o  $\lambda_1 \ll \lambda_2$ ), las ecuaciones 2.5 y 2.6 se reducen a  $N_1/N_2 = \lambda_2/\lambda_1$  y  $A_1 = A_2$  respectivamente. Este tipo de equilibrio en el que la actividad de la hija es igual a la actividad del padre se le conoce como equilibrio secular. La máxima actividad de la hija ocurre en el tiempo  $t_m$  el cual se obtiene al multiplicar por  $\lambda_2$  y derivar con respecto al tiempo la ecuación 2.3 he igualar a cero:

$$t_m = \frac{1}{\lambda_2 - \lambda_1} \ln \frac{\lambda_2}{\lambda_1} \quad (2.7)$$

### 2.5.2. El generador de $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$

Los radiofármacos a base de  $^{99m}\text{Tc}$  se han utilizado durante décadas a nivel mundial, debido en parte a la amplia disponibilidad de los generadores de  $^{99}\text{Mo}/^{99m}\text{Tc}$ . Sin embargo, en los últimos años la producción del padre  $^{99}\text{Mo}$  ha disminuido drásticamente debido al cierre del reactor en Canadá. En consecuencia, el número de exámenes clínicos utilizando radiofármacos con  $^{99m}\text{Tc}$  ha descendido, esta escasez de  $^{99}\text{Mo}$  ha motivado el desarrollo de alternativas como el generador de  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  [3].

El radionúclido padre  $^{68}\text{Ge}$  decae 100% captura electrónica con una vida media relativamente larga de 270.95 días, la principal forma de producción de  $^{68}\text{Ge}$  es vía ciclotrón por la reacción (p,2n) sobre blancos de  $^{69}\text{Ga}$ . El producto del decaimiento de  $^{68}\text{Ge}$  es  $^{68}\text{Ga}$ , un emisor de positrones con un 89% de emisión, una energía máxima de 1,899 keV y va acompañado de una baja abundancia de fotones de alta energía (tabla 2.3), con una vida media de 67.71 min decae finalmente a  $^{68}\text{Zn}$  estable (figura 2.6). La vida media de  $^{68}\text{Ga}$  lo hace compatible con la farmacocinética de algunas biomoléculas de bajo peso molecular tales como fragmentos de anticuerpos, péptidos, oligonucleótidos y otros [16].

La producción del radionúclido padre  $^{68}\text{Ge}$ , su separación del material blanco y posterior procesado químico para la separación del par padre-hija son algunos de los factores que se han tenido que desarrollar para la producción de un generador de  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  lo que ha significado esfuerzos tecnológicos de las industrias radioquímicas y de radiofármacos para garantizar un sistema confiable y de alta eficiencia para dar lugar a una aplicación clínica amplia de  $^{68}\text{Ga}$ .

Tabla 2.3: Radiación emitida durante el decaimiento de  $^{68}\text{Ga}$ .

Radiación	Energía (MeV)	Abundancia ( $\text{Bq} \cdot \text{s}^{-1}$ )
$\beta_1^+$	0.352 <sup>a</sup>	0.0119
$\beta_2^+$	0.836 <sup>b</sup>	0.877
$\gamma_{\pm}$	0.511	1.78
$\gamma_1$	1.077	0.0322
$\gamma_2$	1.261	0.00094
$\gamma_3$	1.883	0.00137

<sup>a</sup>Energía promedio emitida

<sup>b</sup>Energía promedio emitida

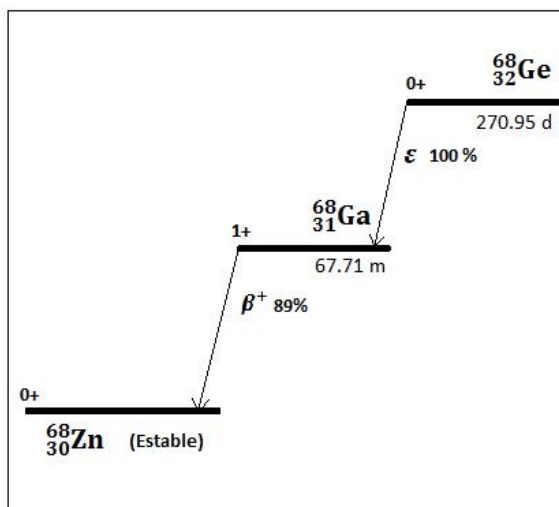


Figura 2.6: Esquema de decaimiento de  $^{68}\text{Ge}$ .

### Matrices orgánicas

El  $^{68}\text{Ge}$  forma complejos muy estables con compuestos fenólicos, esta propiedad fue usada por Schumacher et al. [17] para preparar resinas de pirogalol-formaldehído las cuales permiten la elución de  $^{68}\text{Ga}^{3+}$  como  $^{68}\text{GaCl}_4^-$  con 5.5 M HCl, seguido de una purificación y concentración del eluato. Recientemente se ha demostrado que otro polímero orgánico basado en *N*-meti-glucamina también puede usarse como matriz de resina orgánica, usando como eluente 0.1 M citrato trisódico obteniendo una alta eficiencia de elución  $> 90\%$  y un bajo desprendimiento de  $^{68}\text{Ge} < 0,0004\%$ .

### Matrices de óxidos inorgánicos

Las matrices inorgánicas  $\text{Al}_2\text{O}_3$  y  $\text{ZrO}_2$  fueron las primeras donde se logró una elución eficiente de  $^{68}\text{Ga}^{3+}$  como  $^{68}\text{Ga}(\text{EDTA})^+$  [18], con el inconveniente de que este proceso hacía la síntesis de radiofármacos larga y tediosa. Un generador que recién se encuentra comercialmente disponible basado en una matriz de  $\text{TiO}_2$  eluido con 0.1 M HCl para obtener  $^{68}\text{Ga}^{3+}$  ha mostrado un alto rendimiento ( $> 98\%$ ) y actividades específicas  $> 1\text{GBq}/\mu\text{mol}$  [19].

### Química del galio

Galio es el tercer elemento del grupo 13 de la tabla periódica, el estado de oxidación +3 de este metal es el más estable en solución acuosa (ambiente ácido). Para que un

quelato pueda ser utilizado para producir radiofármacos, debe ser termodinámicamente estable a la hidrólisis a pH fisiológico y ser cinéticamente estable durante el periodo de uso clínico. El  $^{68}\text{Ga}^{3+}$  está clasificado como un ácido fuerte, y forma complejos termodinámicamente estables con ligandos de bases fuertes tales como: carboxilatos, fosfonatos y grupos aminos por lo que estos constituyen buenos agentes quelantes para  $^{68}\text{Ga}^{3+}$  [16].

## 2.6. Agentes quelantes bifuncionales

Si un ligando además de la unión a un radiometal, también presenta un grupo  $-\text{NH}_2$  ó  $-\text{COOH}$  que permiten el acoplamiento covalente a una molécula vectora, se le da el nombre de agente quelante bifuncional.

Un quelante bifuncional debe cumplir con los siguientes criterios:

1. Cuando se une con una macromolécula debe quelar rápida y suficientemente al radiometal.
2. El quelato debe ser estable a la desmetalización en un rango de pH de 4-8 y en presencia de otros cationes en suero como por ejemplo:  $\text{K}^+$  y  $\text{Na}^+$ .

Los aminocarboxilatos lineales son quelantes de cadena abierta y se han utilizado desde los inicios de la radioquímica con  $^{68}\text{Ga}$  (figura 2.7). Dos ejemplos de estos quelantes lineales son el ácido etilendiaminotetracético (EDTA) y dietilenetriamina-N,N,N,N,N-pentaacético (DTPA). Entre sus principales usos se encuentran el marcado de microesferas de derivados de albúmina para imágenes funcionales del hígado, riñones, corazón, y pulmón. Otro quelante es el desferrioxamina (DFO) el cual fué uno de los primeros quelantes bifuncionales naturales conjugados a ácido fólico, anticuerpos y a análogos de somatostatina [16].

Estudios más recientes han desarrollado policarboxilatos macrocíclicos tales como tri- o tetrazacicloalcanos (figura 2.8), éstos se caracterizan por ser termodinámicamente estables así como de cinética inerte, por lo que proporcionan protección a  $^{68}\text{Ga}$  ante condiciones fisiológicas. DOTA (ácido 1, 4, 7, 10- tetraazaciclododecano- N, N', N'', N'''-tetraacético) y sus derivados DO3A, DO2A han mostrado ser lo suficientemente estables para evitar la pérdida de  $^{68}\text{Ga}^{3+}$  en condiciones fisiológicas, es decir su estabilidad *in vivo* lo hace adecuado para ser conjugado a biomoléculas [16].



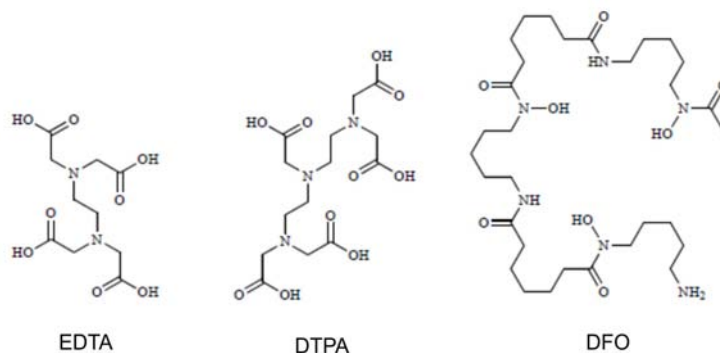


Figura 2.7: Quelantes lineales.

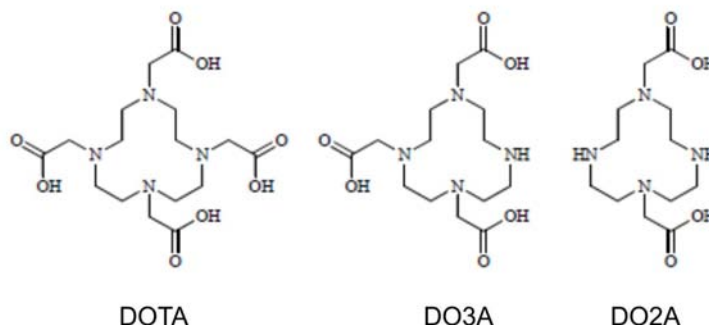


Figura 2.8: Quelantes macrocíclicos.

## 2.7. Radiofármacos para detección de inflamación-infección

Una inflamación es una respuesta defensiva del sistema inmunológico ante algún tipo de lesión, la cual puede ser causada por múltiples estímulos nocivos: físicos, químicos, invasores extraños tales como virus, bacterias, parásitos etc. Esta respuesta se produce por un aumento en el flujo sanguíneo de la región; leucocitos, proteínas y otras sustancias químicas son transportados por el torrente sanguíneo hasta el lugar de la lesión.

Las técnicas de imagen radiológicas como tomografía computarizada y rayos X aportan información anatómica y estructural de los órganos y tejidos del cuerpo, sin embargo no es posible hacer un seguimiento de enfermedades a menos que se presente un daño anatómico en los tejidos, A continuación se describen algunos de los radiofármacos

principales en medicina nuclear para evaluar lesiones de inflamación-infección [20].

### **Citrato de $^{67}\text{Ga}$**

El  $^{67}\text{Ga}$ -citrato fue uno de los primeros radiofármacos desarrollados para visualizar lesiones con infección. Es transportado a través de la sangre donde se fija a dos moléculas: la transferrina que es una glicoproteína cuya función es transportar el hierro a través del organismo ejerciendo un papel regulador en la sangre, así como también a la lactoferrina que es otra glicoproteína ligadora de hierro producida por las células epiteliales de las mucosas de los mamíferos la cual se libera en el plasma durante una infección para impedir que las bacterias usen el hierro. Por lo que  $^{67}\text{Ga}$ -citrato se concentra en sitios con procesos inflamatorios-infecciosos, pero no es capaz de diferenciar entre éstos. En sujetos sanos se acumula en médula ósea, hígado, bazo y glándulas salivales, presenta una relativamente elevada dosis de radiación (ver tabla 5.8) y sus características de decaimiento no son del todo las adecuadas en SPECT, por lo que su uso no es muy amplio como agente de imagen ante sospecha de infección [20].

### **Leucocitos marcados**

Leucocitos marcados son el estándar de oro en medicina nuclear para imágenes de inflamación-infección, tiene una alta sensibilidad y especificidad en infecciones agudas sin embargo presenta una sensibilidad baja ante infecciones crónicas, además que no es capaz de distinguir entre condiciones inflamatorias de infecciosas. Se pueden marcar con  $^{111}\text{In}$ -oxina y  $^{99m}\text{Tc}$ -HMPAO, el proceso puede tardar varias horas durante el cual se extraen los leucocitos, se separan para ser marcados y después reinyectados en el organismo. Algunas posibles desventajas se dan en pacientes con prótesis, ya que los leucocitos se depositan allí debido a la regeneración ósea [20].

### **$^{99m}\text{Tc}$ -ciprofloxacina**

El marcado de  $^{99m}\text{Tc}$  con un antibiótico como la ciprofloxacina produce un radiofármaco con una alta especificidad para el diagnóstico de procesos infecciosos como osteomielitis e infecciones ortopédicas. Su principal ventaja con respecto a los anteriores es su capacidad de diferenciar infecciones de inflamaciones estériles, al unirse específicamente a una enzima llamada ADN girasa la cual queda bloqueada e impide el desenrollamiento de la doble cadena de ADN de la bacteria por lo que queda incapacitada para dividirse y muere sin proliferar. Aunque su capacidad de captación se ve reducida en pacientes con historial de tratamientos con antibióticos por largos periodos [20].

### **[<sup>18</sup>F] flúor-2-deoxi-D-glucosa**

FDG es un radiofármaco con el que se puede cuantificar el metabolismo glucídico de los órganos y tejidos, por medio de los transportadores de glucosa se introduce al interior de la célula y es fosforilada por las hexoquinasas a FDG-6-fosfato, sin embargo no continua en el metabolismo de la glucosa y se queda atrapada dentro de la célula. Entre los usos del FDG en la clínica están: enfermedades neoplásicas malignas, enfermedades cardiovasculares, enfermedades inflamatorias-infecciosas, afecciones autoinmunes [20], sin embargo aunque este radiofármaco podría ayudar a establecer un diagnóstico de infección o inflamación no es específico para detectar este tipo de lesiones.

### **<sup>99m</sup>Tc-UBI**

Este radiofármaco utiliza el mismo fragmento del péptido catiónico antimicrobiano ubiquidina (UBI 29-41) que se está estudiando aquí, pero radiomarcado con el emisor gamma <sup>99m</sup>Tc, estudios recientes muestran una alta especificidad por infecciones en humanos, con una alta sensibilidad y exactitud, es además capaz de discriminar entre infecciones de inflamaciones estériles. Los estudios de biodistribución con SPECT muestran una rápida eliminación y mínima acumulación en tejidos no blancos, en cuanto a la dosis de radiación muestra una baja dosis efectiva, a pesar de tener todas estas características el diagnóstico por medio de <sup>99m</sup>Tc-UBI se ve limitado por la baja sensibilidad de la técnica SPECT [21].

## Capítulo 3

# Dosimetría interna

Un análisis de la dosis de radiación depositada es fundamental para el uso de cualquier radiofármaco en diagnóstico o terapia. En medicina nuclear, el método usado más comúnmente para el cálculo de la estimación de dosis por exposición interna es el desarrollado por el comité Medical Internal Radiation Dose (MIRD). Este método permite calcular la dosis de radiación depositada a órganos blanco debido a uno o más órganos fuente en el cuerpo. El procedimiento general para calcular la dosis de radiación a un órgano blanco debido a radiactividad en un órgano fuente es un proceso en tres pasos [4]:

1. Se determina la actividad en los órganos fuente y el tiempo que permanece dentro del órgano, entre mayor sea la cantidad de actividad y el tiempo sea más largo, la dosis depositada será mayor.
2. Se calcula la cantidad total de energía emitida por la radiación en los órganos fuente. Esta depende primeramente de la energía de las emisiones radiactivas y su frecuencia de emisión (número por desintegración).
3. Y por último se calcula la fracción de la energía emitida por el órgano fuente que es absorbida por el órgano blanco.

Cada uno de estos pasos tiene sus dificultades como: la variación en la anatomía de los pacientes, las variaciones en el metabolismo y la distribución de las cantidades de radionúclidos en los humanos, además la distribución de radiactividad dentro de un órgano puede ser no homogénea etc. Debido a estas complicaciones y variaciones, los cálculos de dosis de radiación son hechos en base a modelos anatómicos que incorporan tamaños y formas anatómicas promedio [4].

### 3.1. Conceptos básicos

El daño por radiación depende de la absorción de energía debido a radiación ionizante y es proporcional a la energía absorbida en el tejido irradiado. Es por esto que la unidad de dosis de radiación  $D$  se expresa en términos de la energía absorbida por unidad de masa de tejido [22]:

$$D = \frac{d\epsilon}{dm} \quad (3.1)$$

La unidad para la dosis de radiación absorbida en el Sistema Internacional (SI) es llamada gray y se define como la energía depositada por radiación ionizante en un medio por unidad de masa  $1\text{Gray} = 1\frac{\text{J}}{\text{kg}}$ . Considerando el hecho que los diferentes tipos de radiación provocarán diferente grado de daño al tejido para la misma dosis y el hecho de que la probabilidad de efectos estocásticos dependerán del tejido irradiado, la International Commission on Radiation Units and Measurements (ICRU) ha definido dos cantidades para propósitos de protección radiológica, estas son: la dosis equivalente y la dosis efectiva [22].

#### 3.1.1. Dosis equivalente

En protección radiológica es necesario contar con una relación numérica bien definida entre la dosis absorbida y el posible efecto que produzca. La magnitud que relaciona los efectos estocásticos tardíos a niveles bajos de radiación se le conoce como dosis equivalente y se define como:

$$H_{T,R} = w_R D_{T,R} \quad (3.2)$$

donde  $D_{T,R}$  es la dosis promedio debida al tipo de radiación R en el tejido u órgano T y  $w_R$  es el factor de peso por tipo de radiación y sus unidades son el Sievert (Sv) (tabla 3.1). Esta magnitud se usa con fines de protección radiológica, ya que está relacionada con el probable efecto biológico resultante de la dosis recibida [22]. Cuando un tejido recibe dosis por distintos tipos de radiación la dosis equivalente será:

$$H_{T,R} = \sum_R w_R D_{T,R} \quad (3.3)$$

#### 3.1.2. Dosis efectiva

Cada tipo de tejido tiene diferente susceptibilidad a la radiación por lo que la dosis equivalente no es suficiente para estimar el posible daño o efecto para cada tejido, la magnitud dosimétrica que relaciona la probabilidad total de los efectos estocásticos se

Tabla 3.1: Factores de peso por tipo de radiación.

<b>Radiación</b>	<b>w<sub>R</sub></b>
Rayos X y gama de todas las energías	1
Electrones de todas las energías	1
Neutrones	
Térmicos	5
0.01 MeV	10
0.1 MeV	10
0.5 MeV	20
> 0.1 - 2 MeV	20
> 2 - 20 MeV	10
> 20 MeV	5
Protones de alta energía	5
Partículas alfa, núcleos pesados	20

le llama dosis efectiva y es la suma de las dosis equivalente en cada tejido multiplicadas por un factor de peso:

$$E = \sum_T w_T H_{T,R} \quad (3.4)$$

Donde  $w_T$  es el factor de ponderación por tipo de tejido (tabla 3.2) y  $H_{T,R}$  es la dosis equivalente. Esta magnitud sirve para expresar el posible efecto biológico total, producido por las dosis equivalentes recibidas en los distintos órganos y tejidos, ponderados por el tipo de tejido [22].

## 3.2. Formalismo MIRD

En este método, la dosis absorbida  $D$  se calcula como el producto de dos factores  $\tilde{A}$  y  $S$ :

$$D = \tilde{A} \cdot S \quad (3.5)$$

La unidad de  $D$  en el SI es (J/kg) llamado gray.  $\tilde{A}$  es la actividad acumulada y no es más que el número de decaimientos que ocurren en una cierta región fuente, sus unidades son  $Bq \cdot s$ ,  $S$  denota la tasa de dosis por unidad de actividad administrada expresada en  $Gy \cdot (Bq \cdot s)^{-1}$ . Una región fuente o blanco puede ser cualquier volumen bien definido, por ejemplo, el cuerpo entero, un órgano o tejido, etc. La región fuente se denota por

Tabla 3.2: Factores de peso por radiosensibilidad del tejido.

Órgano	$w_T$
Gónadas	0.2
Médula roja	0.12
Colon	0.12
Pulmones	0.12
Estómago	0.12
Vejiga	0.05
Pechos	0.05
Hígado	0.05
Esófago	0.05
Tiroides	0.05
Piel	0.01
Superficie de huesos	0.01
Resto del cuerpo	0.05

$r_S$  y la región blanco  $r_T$  de modo que la dosis absorbida se puede escribir como (figura 3.1) [23]:

$$D = \tilde{A}(r_S) \cdot S(r_T \leftarrow r_S) \quad (3.6)$$

### Órgano crítico

El órgano crítico es el órgano o tejido que recibe la más alta dosis de radiación absorbida. Por lo tanto la dosis a este órgano determinará la máxima actividad del radiofármaco que puede ser administrada.

#### 3.2.1. Actividad acumulada

Al numero total de desintegraciones en una región fuente se le llama actividad acumulada, esta se calcula, como el área bajo la curva que describe la actividad como una función del tiempo ( $A(r_S, t)$ ), en una región fuente después de la administración del radiofármaco. La actividad en una región fuente como una función del tiempo es comúnmente determinada por medio de estudios de imágenes (PET, SPECT). Matemáticamente si la curva actividad-tiempo está descrita por la función  $A(r_S, t)$  entonces la actividad acumulada es:

$$\tilde{A}(r_S) = \int A(r_S, t) dt \quad (3.7)$$

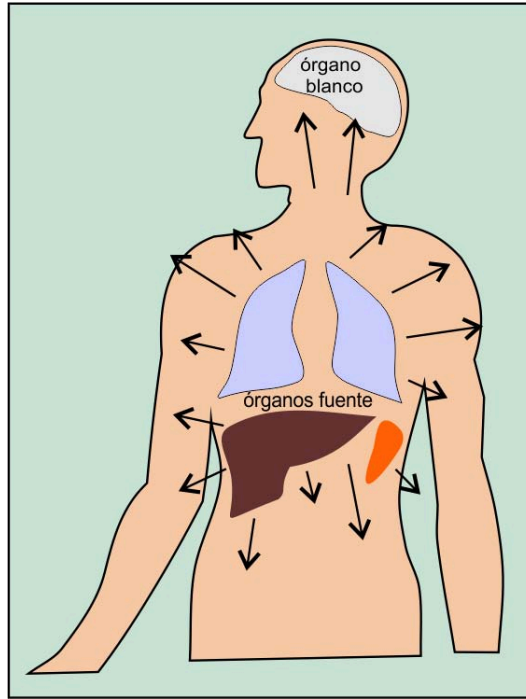


Figura 3.1: Órganos fuente y blanco.

El periodo de integración  $T$  es comunmente escogido desde la hora de administración del radiofármaco hasta que ha desaparecido del órgano ( $t = \infty$ ). Al resultado de dividir la actividad acumulada  $\tilde{A}$  entre la actividad administrada  $A_0$  se le conoce como tiempo de residencia  $\tau$  (MBq·s/MBq). El área bajo la curva que describe la actividad como una función del tiempo es igual al área del rectángulo  $\tau \cdot A_0$  (figura 3.2):

$$\int_0^T A(r_S, t) dt = \tau \cdot A_0 \quad (3.8)$$

y puede interpretarse como el tiempo promedio que la actividad permanece en una región fuente.

La actividad como una función del tiempo  $A(t)$ , en la mayor parte de los órganos fuente, puede ser bien descrita por una suma de funciones exponenciales (ecuación 3.9) donde  $j$  denota el número de exponenciales,  $A_j$  la actividad inicial,  $\lambda$  la constante de decaimiento para el radionúclido,  $\lambda_j$  la constante de eliminación biológica y  $t$  el tiempo después de



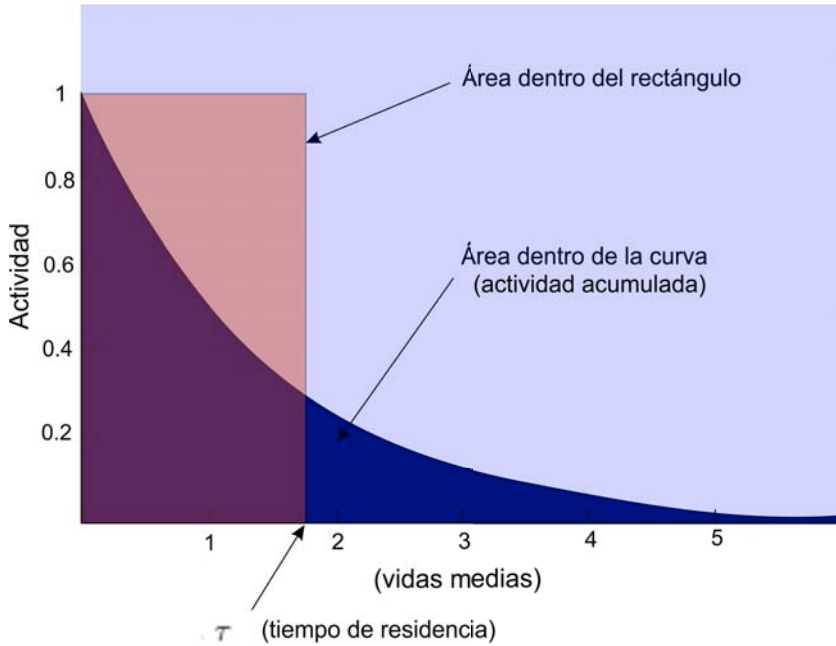


Figura 3.2: Curva de actividad tiempo en un órgano fuente y el tiempo de residencia.

la administración del radiofármaco.

$$A(r_S, t) = \sum_j A_j \cdot e^{-(\lambda + \lambda_j t)} \quad (3.9)$$

La constante de decaimiento  $\lambda$  es igual a  $\lambda = \frac{\ln 2}{T_{1/2}}$

### Vida media biológica

La vida media biológica  $T_{1/2,b}$  de un radiofármaco es el tiempo que toma la concentración del radiofármaco en un órgano, tejido o cuerpo completo para reducirse al 50 % de su valor máximo, sin considerar decaimiento radiactivo.

La vida media física  $T_{1/2}$  y la vida media biológica  $T_{1/2,j}$  se puede combinar en una vida media efectiva  $T_{1/2,eff}$ :

$$T_{1/2,eff} = \frac{T_{1/2,j} \cdot T_{1/2}}{T_{1/2,j} + T_{1/2}} \quad (3.10)$$

### 3.2.2. Valor S

Este valor incluye la energía promedio  $E_i$  del i-ésimo tipo de radiación, la probabilidad  $Y_i$  de emitir radiación con energía  $E_i$ , la fracción de la energía emitida por el

órgano fuente  $\phi(r_T \leftarrow r_S)$  que es absorbida por el órgano blanco y la masa del órgano blanco  $M(r_T)$  [23].

$$S = \frac{E_i Y_i \phi(r_T \leftarrow r_S)}{M(r_T)} \quad (3.11)$$

Al producto de la energía  $E$  y su probabilidad de ser emitida  $Y$  se denota  $\Delta$ . La energía absorbida total debido a todos los tipos de radiación  $i$  emitida durante cada transición es:

$$S(r_T \leftarrow r_S) = \sum_i \frac{\Delta_i \phi(r_T \leftarrow r_S)_i}{M(r_T)} \quad (3.12)$$

La dosis absorbida promedio total a la región blanco  $D(r_T)$  está dada por la sumatoria de todas las contribuciones de cada región fuente  $r_S$ :

$$D(r_T) = \sum_{r_S} \tilde{A}(r_S) S(r_T \leftarrow r_S) \quad (3.13)$$

### 3.2.3. Características del programa OLINDA/EXM

OLINDA/EXM es un código de computadora escrito en el lenguaje de programación Java, para el cálculo de dosis interna de radiación en medicina nuclear. El software cuenta con librerías de datos sobre el decaimiento de 800 radionúclidos, con 8 categorías de emisión: rayos gamma, rayos X, fotones de aniquilación, partículas beta +, partículas beta -, electrones de conversión interna, electrones Auger y partículas alfa. Además de que se puede escoger entre distintos maniqués (hombre y mujer) de diferentes tamaños y edades (adultos y niños) y mujeres en diferentes tiempos de embarazo.

Para hacer cálculos de dosis el software despliega una interfaz que se divide en tres partes principalmente, una para seleccionar el radionúclido, otra para escoger el modelo de maniquí, y una más para introducir los datos cinéticos del radiofármaco los cuales son obtenidos de manera experimental o en la literatura. El resultado que arroja el programa, es una tabla con los valores de dosis absorbidas por cada órgano del cuerpo y la dosis efectiva [24], los factores de peso por tipo de tejido están basados en las recomendaciones dadas por la International Commission on Radiological Protection (ICRP 60) [25].

Los dos mayores conjuntos de datos necesarios para el cálculo de dosis interna son los datos del decaimiento radiactivo publicados por Stabin et. al 2002 [26] y las fracciones absorbidas específicas para los maniqués de interés publicadas por Cristy y Eckerman 1987 [27]. Otras de las características de OLINDA/EXM para el cálculo de dosis se enlistan a continuación:

1. Un módulo donde se puede introducir los valores cinéticos (porcentajes de actividad por órgano), graficar los datos y realizar un ajuste con uno, dos o tres términos

exponenciales, el programa puede integrar estas curvas de actividad-tiempo y obtener los tiempos de residencia para cada órgano.

2. Posee un modelo gastrointestinal (GI) para calcular los tiempos de residencia de cada segmento del tracto: estómago, intestino delgado, intestino grueso superior e intestino grueso inferior, esto con solo introducir la fracción de actividad que entra al tracto GI.
3. Además cuenta con un módulo llamado *Voiding bladder model* para calcular el número de desintegraciones que ocurren en la vejiga con solo introducir las fracciones de actividad inyectada entrando en la vejiga y las vidas medias biológicas. Con este modelo se puede escoger entre diferentes intervalos de vaciado de la vejiga.

### 3.2.4. Maniquí adulto

El maniquí adulto está compuesto por materiales que asemejan tres tipos de tejido: esquelético ( $1.4 \text{ g/cm}^3$ ), pulmonar ( $0.296 \text{ g/cm}^3$ ) y tejido suave ( $1.04 \text{ g/cm}^3$ ), cada uno tiene diferentes densidades y composiciones químicas distintas, publicados en la edición ICRP 23. Este maniquí es hermafrodita y fue diseñado por Snyder et. al. en 1974, con algunas modificaciones realizadas después por Cristy (1980).

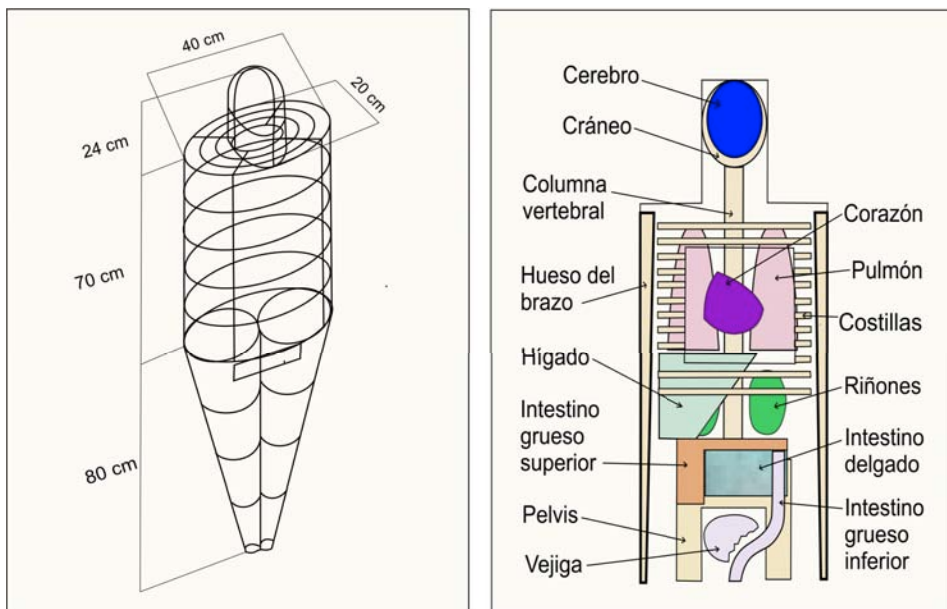


Figura 3.3: La figura muestra las características externas y las estructuras internas del maniquí adulto.

Consiste de tres partes: 1) un cilindro elíptico que representa el tronco y brazos; 2) dos conos circulares truncados representando las piernas y pies; y 3) un cilindro elíptico cubierto por un medio elipsoide que representa la cabeza y cuello. Unido a las piernas hay una pequeña sección plana que contiene a los testículos, así como también dos porciones de elipsoides unidos al tronco que representan los senos femeninos. El exterior e interior del maniquí adulto se muestra en la figura 3.3, los brazos no están separados del tronco, y los apéndices menores como: dedos, barbilla, nariz son omitidos.

## Capítulo 4

# Metodología experimental

En los últimos años la medicina nuclear ha tenido un gran crecimiento, en gran parte, gracias al desarrollo de la tecnología capaz de proporcionar imágenes con información anatómica y funcional. La tomografía por emisión de positrones (PET) es una herramienta fundamental en medicina nuclear que junto a los radiofármacos permiten el diagnóstico de enfermedades *in vivo* y de una manera no invasiva, con una alta calidad de imagen superior a cualquier otra técnica en medicina nuclear. En la Facultad de Medicina de la UNAM se cuenta con el equipo médico y humano para llevar a cabo todas las etapas de este proceso: desde la producción de los radionúclidos que se utilizarán para marcar moléculas y que son producidos en un acelerador de partículas tipo ciclotrón, una radiofarmacia para la producción y el control de calidad de radiofármacos, un PET/CT donde se realizan los estudios clínicos en pacientes y un microPET para la investigación preclínica en pequeños animales.

Entre los principales radionúclidos que se producen en este ciclotrón encontramos cuatro:  $^{18}\text{F}$ ,  $^{11}\text{C}$ ,  $^{15}\text{O}$  y  $^{13}\text{N}$  los cuales se utilizan para producir radiofármacos que son utilizados principalmente para aplicaciones oncológicas, neurológicas y cardíacas, entre los más usados rutinariamente están: fluorodeoxiglucosa [ $^{18}\text{F}$ ]FDG que permite evaluar la actividad glucolítica la cual tiende a elevarse en células neoplásicas, fluorotimidina [ $^{18}\text{F}$ ]FLT para estudios de proliferación celular, [ $^{13}\text{N}$ ]amoníaco para estudios de perfusión miocárdica y [ $^{11}\text{C}$ ]acetato que es útil en cáncer de próstata y carcinoma hepatocelular [28]. Además, actualmente cuenta con dos generadores de  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  para obtener  $^{68}\text{Ga}$  sin necesidad de producirlo con el ciclotrón.

A continuación se describe el desarrollo experimental que se hizo para la producción y desarrollo de un radiofármaco para PET específico para procesos infecciosos y que es capaz de discriminar entre inflamaciones asépticas de infecciones.

## 4.1. Caracterización del generador itG de $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ de matriz de resina orgánica

El generador marca itG (isotope technologies garching) de  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  cuyas características se muestran en la tabla 4.1 y figura 4.1, es básicamente un dispositivo del cual se obtiene una solución de cloruro de galio [ $^{68}\text{Ga}$ ]GaCl<sub>3</sub> la cual se utilizará para radiomarcarse alguna molécula de interés, como esta solución será administrada a los pacientes, se debe conocer con exactitud el contenido de actividad de  $^{68}\text{Ga}$  durante cada elución y las impurezas radionuclídicas que puedan estar presentes.

Aquí se describe el método usado para cuantificar las impurezas radionuclídicas que son acarreadas durante la elución del generador y la optimización de la concentración de actividad por medio del análisis del perfil de elución de  $^{68}\text{Ga}$ .

Tabla 4.1: Características del generador de  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$

Generador de $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$	Descripción
Empresa	isotope technologies Garching (itG)
Actividad (MBq)	1498
Fecha calibración	12/Enero/2015
Fecha de expiración	12/Enero/2016
Número de Lote	GaG-15-006

### 4.1.1. Perfil de elución de $^{68}\text{Ga}$

Se usó un generador comercial de  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  fabricado en Alemania por la empresa isotope technologies Garching (itG), éste posee una matriz de resina orgánica que se encuentra impregnada con  $^{68}\text{Ge}$ . El radionúclido  $^{68}\text{Ga}$  que se produce en la columna por el decaimiento de  $^{68}\text{Ge}$  es extraído con una solución de ácido hidroclorídrico (HCl, 4 ml, 0.05 M), el eluato es incoloro y libre de partículas [30] [29].

La desventaja de usar un volumen grande de HCl es la baja concentración de actividad de  $^{68}\text{Ga}$  (MBq/ml) en el eluato durante el marcado de moléculas. La elución del generador tarda unos cuantos minutos (2-3 minutos aproximadamente), por lo que es importante saber en qué momento durante la elución está siendo extraída la mayor cantidad de  $^{68}\text{Ga}$ , esto se logra trazando el perfil de elución de  $^{68}\text{Ga}$ , como se describe a continuación:

Se eluyó el generador a velocidad media, el volumen de 4 ml de eluato se fraccionó en 30 viales de 130  $\mu\text{l}$  aproximadamente y se midió la actividad de cada vial con un activímetro

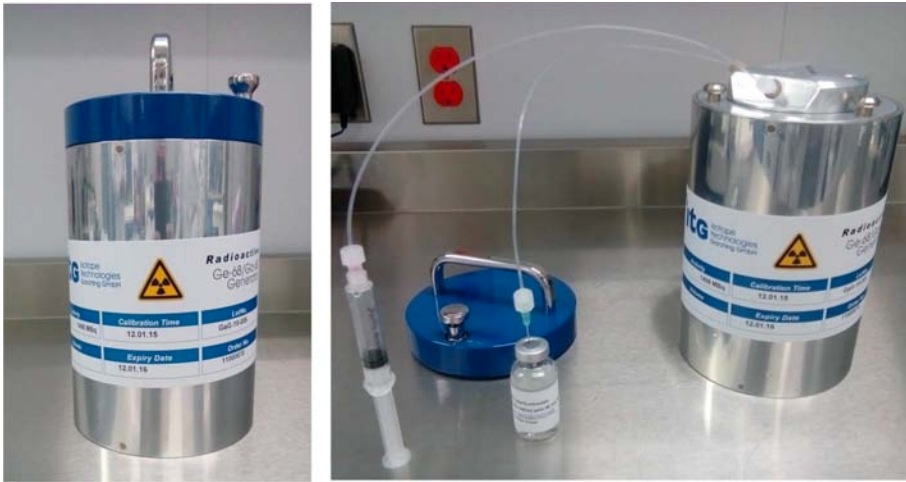


Figura 4.1: Generador itG de  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  de matriz de resina orgánica.

de pozo (marca CAPINTEC, modelo CRC-15), estos datos se grafican para determinar los máximos de actividad y determinar en qué momento durante la elución es extraída la mayor actividad del generador y de ser necesario, utilizar solo la fracción de elución con mayor concentración de actividad [31] [29].

#### 4.1.2. Cuantificación de impurezas radionuclídicas del eluato

Las impurezas radionuclídicas que se encuentran en un radiofármaco producto del proceso de fabricación no aportan ninguna información útil para el diagnóstico pero si contribuyen a la dosis depositada en el paciente. En un generador de  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  la impureza más importante es el  $^{68}\text{Ge}$  que se desprende de la resina durante cada elución. La actividad debida a  $^{68}\text{Ge}$  durante cada elución es del orden de un par de micro Curies (según especificaciones del fabricante), para poder medir estos ordenes de magnitud se utilizó un detector centellador de Yoduro de Sodio dopado con Talio ( $\text{NaI}(\text{Tl})$ ) marca ORTEC BICRON (número de serie 905-3) que consiste de un cristal de  $\text{NaI}(\text{Tl})$ , un fotomultiplicador y un preamplificador, la figura 4.2 muestra un esquema de este detector. Este equipo funciona por medio de un software denominado MAESTRO con el que se obtiene el espectro de radiación de la fuente en función de la energía de los fotones incidentes. El  $^{68}\text{Ga}$  decae emitiendo positrones que se aniquilan y emiten dos fotones de 511 keV, el detector capta estos fotones y el espectro de radiación muestra un pico en 511 keV.

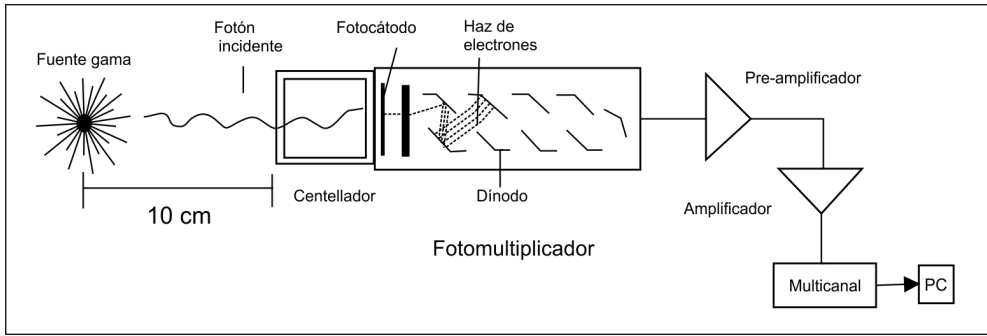


Figura 4.2: Esquema del detector de NaI (Tl).

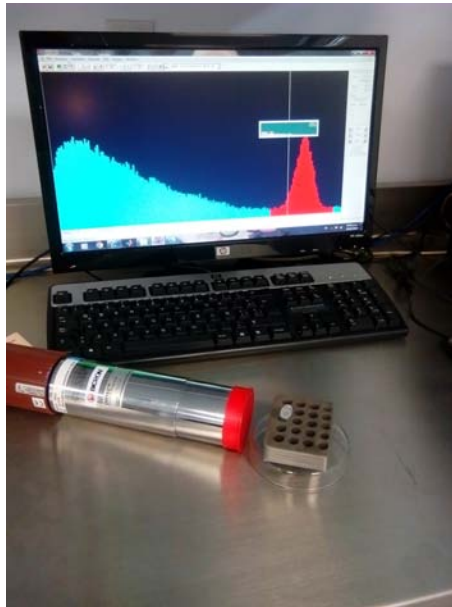


Figura 4.3: Arreglo experimental.

### Calibración del detector de NaI (Tl)

Para relacionar la respuesta del detector con actividad de  $^{68}\text{Ga}$  se montó el arreglo experimental de la figura 4.3. Se prepararon 5 viales ependorf de 1 ml con una solución de  $^{68}\text{Ga}$  a diferentes concentraciones de actividad, se obtuvieron los espectros de radiación (por aproximadamente 5 min) y se analizaron para obtener la tasa de conteo (cps) del fotopico de 511 keV de cada espectro (ver figura 4.4), se graficaron las cps en función



de la actividad de los viales y se hizo un ajuste lineal por mínimos cuadrados con lo que se obtuvo una curva de calibración.

### Cuantificación de Germanio [ $^{68}\text{Ge}$ ]

Para saber cuánto  $^{68}\text{Ge}$  se desprende de la resina orgánica, se eluye el generador, se colectan los 4 ml del eluato y se mide la actividad total. Se sustrae 1 ml de la solución en un vial ependorf y se deja decaer por un lapso mínimo de 48 horas; tiempo suficiente para que todo el  $^{68}\text{Ga}$  haya decaído, de esta manera la actividad presente en el vial se debe únicamente a  $^{68}\text{Ge}$ . Pasado ese tiempo se obtuvo el espectro de radiación del vial con idéntica geometría a la utilizada durante la calibración del detector, de esta manera se obtuvieron las cps, y con la curva de calibración se calculó la actividad de  $^{68}\text{Ge}$  contenida en la elución.

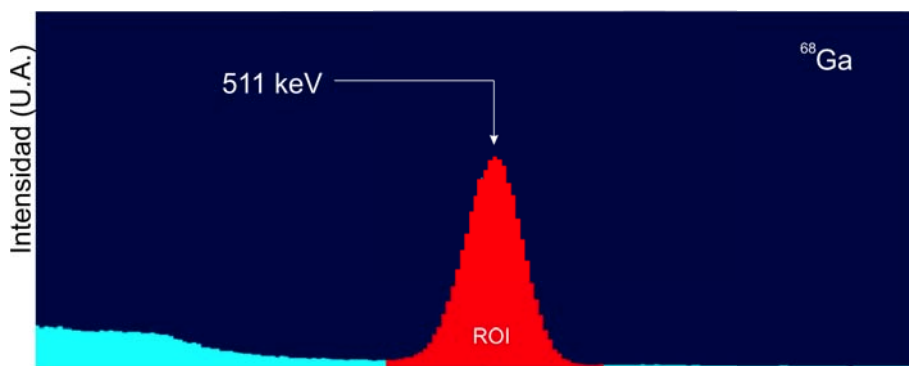


Figura 4.4: Espectro de radiación.

### Respuesta del detector de NaI (Tl)

Para verificar que la respuesta del detector se mantuviera constante el día de la calibración y el día de la cuantificación de  $^{68}\text{Ge}$ , se utilizó una fuente de  $^{137}\text{Cs}$  (tabla 4.2), este radionúclido tiene una vida media de 30.08 años, decae a  $^{137}\text{Ba}$  y su principal emisión es un fotón de 662 keV, la geometría utilizada fue la misma de la figura 4.2, se obtuvo el espectro de radiación el día de la calibración y de nuevo 48 h después cuando se cuantificó  $^{68}\text{Ge}$ , se compararon las cps para ver cuál era la variación de la respuesta del detector en ese periodo.

Tabla 4.2: Características de la fuente de  $^{137}\text{Cs}$ .

Isótopo	$^{137}\text{Cs}$
Vida media (años)	30.08
Actividad (kBq)	296
Fecha calibración	Enero-2001

## 4.2. Radiomarcado de DOTA-UBI (29-41)

### Obtención de una solución de $^{68}\text{Ga}[\text{GaCl}_3]$

Una vez que se cuantificaron las impurezas radionuclídicas y la concentración de actividad se optimizó, se procedió a la preparación de DOTA-UBI (29-41) en un kit para posteriormente ser marcado con  $^{68}\text{Ga}$ .

Como se realizó anteriormente, el generador de  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  fue eluido a velocidad media con 4 ml de HCl 0.05 M para obtener una solución de  $^{68}\text{Ga}[\text{GaCl}_3]$ ; la solución fue repartida en tres fracciones según el perfil de elución de  $^{68}\text{Ga}$ ; primer mililitro (fracción 1), siguientes 1.3 ml (fracción 2) y el resto (fracción 3), al término de la elución se midió la actividad de cada fracción. Para el marcado se utilizó la fracción 2 ya que es donde se encuentra la mayor cantidad de actividad según el perfil de elución obtenido antes [29].

### Elaboración de un kit para el marcado del conjugado DOTA-UBI (29-41)

El conjugado peptídico DOTA-UBI (29-41) fue preparado mezclando los siguientes reactivos: 1 mg ( $\pm 5$ ) DOTA-Ubiquidín (29-41) acetate liofilizado (ABX) que se mezcló con NaOAc 0.5 M (acetato de sodio) como buffer. Se hicieron varias pruebas variando la concentración de acetato de sodio hasta obtener la que proporcionó un alto rendimiento de marcado (3.3 ml de NaOAc). Esta solución se dividió en un total de 20 fracciones con un volumen aproximado de 160  $\mu\text{l}$  cada una y 50  $\mu\text{gr}$  de DOTA-Ubiquidín (29-41), este kit se almacenó a una temperatura de  $-20\pm 5$  °C [29].

### Radiomarcado del conjugado DOTA-UBI (29-41)

A un kit del conjugado se le agregó 1.3 ml de  $^{68}\text{Ga}[\text{GaCl}_3]$ , la mezcla se agitó y calentó a 95 °C en un termomixer por 10 min con agitación a 300 rpm, pasado ese tiempo se dejó enfriar por algunos minutos, el volumen total obtenido es aproximadamente 1.5 ml durante cada radiomarcado, después se le agrega 3 ml de solución salina y se filtra a

través de una membrana marca MILLEX-GV con un tamaño de poro de  $0.22 \mu\text{m}$  [29]. En la figura 4.5 se muestra la estructura de  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-UBI (29-41) al final del proceso de producción.

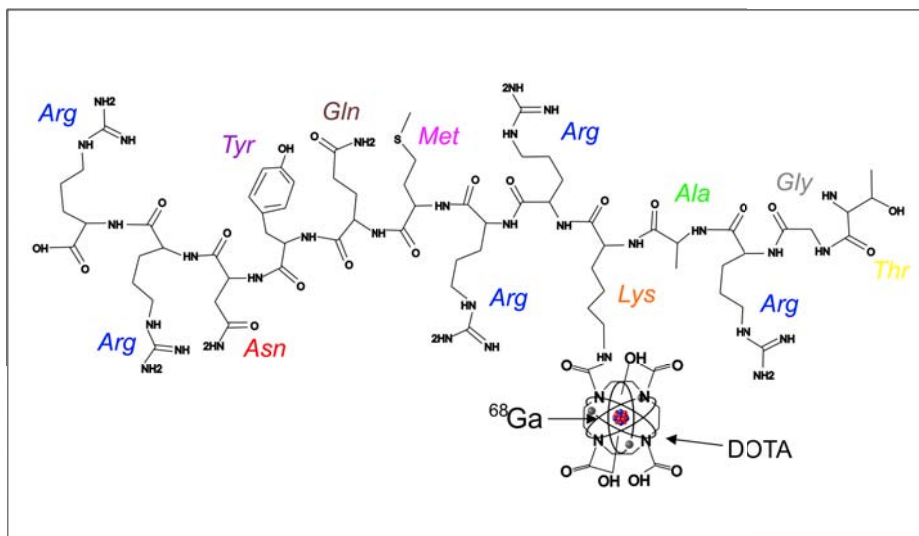


Figura 4.5: Molécula DOTA-UBI (29-41) radiomarcada con  $^{68}\text{Ga}$ .

Todo el proceso, desde la elución del generador hasta el radiomarcado del péptido se realiza dentro de una campana de flujo laminar acondicionada (con el objetivo de poner en práctica las medidas de protección radiológica *tiempo, distancia y blindaje*); está protegida con una ventanilla corrediza para evitar contacto con la sustancia radiactiva (y evitar contaminaciones tanto externas como internas) y bloques de plomo que sirven como blindaje entre la fuente de  $^{68}\text{Ga}$  y el operador, el generador se encuentra almacenado en un compartimento inferior, este se sube por medio de un elevador hasta la zona de trabajo solo hasta que el proceso de elución va a realizarse, esto reduce el tiempo (2-3 min) que el operador esta expuesto a la fuente radiactiva, además de que ésta es manipulada siempre usando guantes y pinzas de metal largas para maximizar la distancia fuente-operador, la campana también cuenta con un activímetro de pozo para cuantificar la actividad de los productos, además de un contador geiger para monitorizar cualquier posible contaminación (figura 4.6).

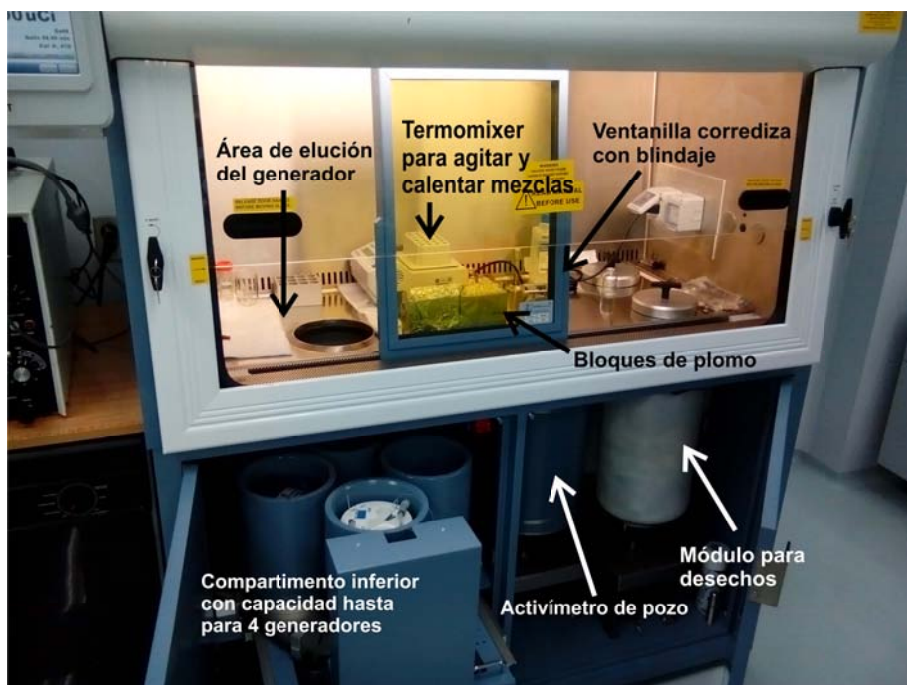


Figura 4.6: Campana de flujo laminar.

## 4.3. Pruebas de control de calidad

Todos los radiofármacos administrados a pacientes deben ser seguros, eficaces y de calidad para su uso. Por esto, se realizan un conjunto de pruebas, que consisten en medir determinados parámetros del producto antes de ser liberado y posteriormente inyectado al paciente. Los valores obtenidos son comparados con ciertas especificaciones preestablecidas, lo cual asegura su eficacia y que no producirá efectos tóxicos en los seres humanos. Estas pruebas se dividen en dos grupos: pruebas físico-químicas y pruebas biológicas [32].

### 4.3.1. Pruebas físico-químicas

#### Inspección visual

El producto debe ser observado a través de un blindaje adecuado y verificar su apariencia: generalmente no debe presentar coloración a menos que se indique lo contrario y no debe contener ningún tipo de partículas. Esta es la primera y la más sencilla de las pruebas, además es la que determina si se continúa con las demás.

## pH

El valor del pH de una solución que será inyectada en pacientes, debe ser de preferencia lo más cercana al pH fisiológico (7.4), para esto, se usan tiras reactivas (marca WHATMAN), estas se sumergen en una pequeña cantidad del producto, la coloración de la tira se compara con una escala de colores que mide el pH, de esta manera se comprueba la acidez o alcalinidad del radiofármaco.

## Pureza radioquímica

La pureza radioquímica se define como el porcentaje de actividad del radionúclido utilizado que está presente en la forma química deseada. En este caso el porcentaje de  $^{68}\text{Ga}$  unido al conjugado DOTA-UBI se comprobó por cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC). El equipo utilizado es un sistema integrado por una válvula de inyección (donde se introduce un pequeño volumen del producto), dos bombas que proporcionan la fuerza necesaria para generar altas presiones y cuatro detectores, las características de estos equipos se muestran en la tabla 4.3.

Tabla 4.3: Componentes del sistema HPLC.

<b>Equipo</b>	<b>Descripción</b>
2 bombas	515 HPLV Pump
Detector	
Absorbancia	Waters 2487
Índice de refracción	Waters 2410
Conductividad	Waters 432
Radiación	NaI (Tl) Bioscan, INC

Este sistema funciona por medio de gradientes, 2 solventes se mezclan a diferentes concentraciones manteniendo un flujo constante. Los solventes utilizados fueron:

Solvente A: ácido trifluoroacético 0.1 N (TFA)

Solvente B: acetonitrilo

El gradiente inicia con 95 % de A y 5 % de B que se mantiene constante por un tiempo de 2 minutos, después cambia linealmente a 0 % de A y 100 % de B en 20 segundos y se mantiene así por dos minutos, finalmente regresa a 95 % de A y 5 % de B manteniendo siempre un flujo constante de 2.5 ml/min. El resultado es un cromatograma (figura 4.7) que muestra la señal del detector de radiación y los tiempos de retención de cada sustancia. Para determinar la pureza radioquímica se compara el área bajo la curva de

los picos. La pureza radioquímica se midió a cuatro tiempos después del marcado: 0 h, 1 h, 2 h y 3 h para determinar la estabilidad del producto.

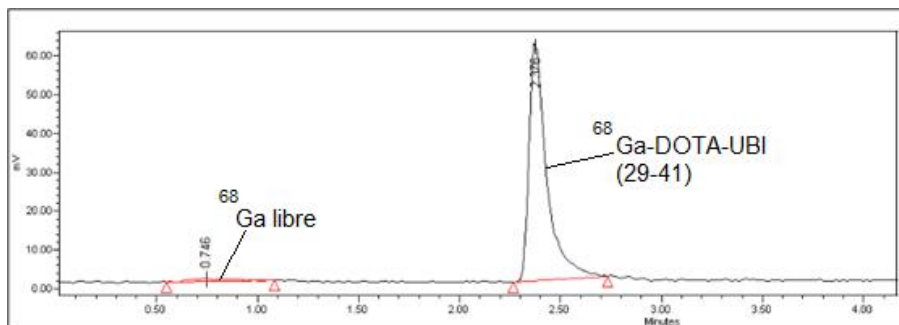


Figura 4.7: Radio-cromatograma típico del radiofármaco  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-UBI.

Después de analizar el producto con HPLC, se procede a la purificación (si el porcentaje de pureza radioquímica es menor al 91 %) para esto se utiliza un cartucho Oasis HLB [29] (previamente acondicionado con 1 ml de etanol y 1 ml de agua) el procedimiento se describe a continuación:

1. Se hace pasar el conjugado radiomarcado a través del cartucho a velocidad media (el radiofármaco queda retenido dentro del cartucho).
2. Se lava el cartucho con 1 ml de agua.
3. Para extraer el radiofármaco se pasa 0.5 ml de etanol muy lentamente.
4. Se agrega solución salina, para obtener una concentración  $\leq 10\%$  de EtoH.
5. Se filtra a través de una membrana marca MILLEX-GV de  $0.22\ \mu\text{m}$  para esterilizar el producto.

### Pureza e identidad radionuclídica

Para dar una evaluación de la pureza radionuclídica del radiofármaco, se debe comprobar que esté presente el radionúclido deseado, y luego, las identidades de todas las impurezas radionuclídicas que están presentes en el producto.

Para identificar al radionúclido  $^{68}\text{Ga}$  primero se procede a obtener un espectro gamma en el cual se identifica el fotopico de 511 keV, este nos dice que en el producto se encuentra presente un radionúclido emisor de positrones. Después se mide la vida media del radionúclido para verificar la identidad del emisor de positrones presente. En cuanto

a la presencia de impurezas radionuclídicas presentes en el producto, se identifican los fotopicos a partir del espectro gamma obtenido anteriormente.

### 4.3.2. Pruebas biológicas

#### Pirógenos

Los pirógenos son sustancias poliméricas que provienen de microorganismos, todas las formas microbianas producen pirógenos. La estructura primaria involucrada en las reacciones pirogénicas en mamíferos es el lipopolisacárido (LPS), de la membrana celular de bacterias, conocido también como endotoxina. [33]. Cuando son inyectados en humanos en cantidades suficientes, los pirógenos pueden causar variedad de efectos adversos, el más común es el aumento de la temperatura corporal.

Esta prueba se realiza con un equipo marca *Endosafe PTS* que consiste de un espectrómetro, una bomba de vacío, una cámara de incubación y cartuchos especiales con cuatro canales, dos de ellos contienen una cantidad de endotoxina conocida y en los otros dos se coloca una muestra diluida (25  $\mu$ l, 1:50) del radiofármaco, se coloca el cartucho dentro del equipo a una temperatura de 37 ° y se deja aproximadamente 20 min [34].

#### Esterilidad

La esterilidad es una de las características más importantes y esenciales de un producto. Puede definirse como la ausencia de todo microorganismo capaz de multiplicarse, un producto estéril debe estar absolutamente libre de organismos para asegurar que su uso en humanos no va a desencadenar ningún proceso infeccioso.

La filtración por membrana es la técnica más recomendable para efectuar esterilización. Se filtra el producto final a través de una membrana marca MILLEX-GV con un tamaño de poro de 0.22  $\mu$ m, después se comprueba la integridad de la membrana sometiéndola a una presión mínima de gas de 3100 mbar, ya que este tipo de membranas impiden el paso de medios gaseosos después de ser humedecidas con un medio líquido, si la membrana soporta esa presión se dice que el producto está esterilizado [33].

## 4.4. Ensayos *in vivo*

Una vez que el radiofármaco ha sido producido en forma farmacéutica y cumpliendo las exigencias establecidas por el control de calidad, toca el momento de las pruebas preclínicas en animales. Para esto se hicieron dos estudios preclínicos de imagen, el primero en ratas sanas (Wistar) proporcionadas por el bioterio de la Facultad de Medicina y para el segundo se utilizó un modelo de inflamación-infección en ratones (balb/c)

desarrollado y proporcionado por el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán.

Los animales recibieron el cuidado y atención necesaria para asegurar su bienestar antes, durante y después de los estudios, siguiendo las especificaciones para el uso y cuidado de los animales de laboratorio descritos en la **Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio**. Para la obtención de las imágenes se utilizó el manual de procedimientos del laboratorio de imagen preClínica microPET de la Facultad de Medicina, aprobado por la Comisión de Investigación y Ética de la División de Investigación.

### **Equipo de micro-tomografía por emisión de positrones (microPET)**

La adquisición de imágenes se realizó con un equipo de micro-tomografía por emisión de positrones MicroPET Focus 120 propiedad de la Facultad de Medicina UNAM; este sistema tiene las mismas características que un equipo PET para uso en humanos pero en miniatura, lo que permite conocer la biodistribución del radiofármaco a través de la investigación en animales pequeños como: ratas, ratones, conejos pequeños [35]. Las características principales de este sistema se muestran en la tabla 4.4.

#### **4.4.1. Biodistribución en ratas sanas**

##### **Preparación de los animales**

Se utilizaron tres ratas macho sanas (Wistar), se les permitió libre acceso a comida y agua previo al estudio, los animales fueron preparados como se indica a continuación:

1. Cada animal se anestesió con isoflurano al 5% para inducción y al 3.5% para mantenimiento, a un flujo de oxígeno de 2 l/min en una cámara de acrílico cerrada. Se utilizó una lámpara de luz incandescente para mantener su temperatura (37 °C) en todo momento.
2. El radiofármaco fue preparado en 0.5 ml de solución salina isotónica. La actividad inyectada a cada animal se muestra en la tabla 4.5.
3. El radiofármaco es administrado vía intravenosa en una vena lateral de la cola.
4. El animal es colocado sobre la camilla del microPET para adquirir los datos.



Tabla 4.4: Características del MicroPET Focus 120.

<b>Equipo</b>	<b>Descripción</b>
Marca	Concorde Microsystems. Inc
Diámetro del anillo detector (mm)	172
Número de anillos	4
Número de bloques detectores	96
Cristales por bloque	12x12
Número de cristales detectores	13,824
Tamaño del cristal (mm <sup>3</sup> )	1.51x1.51x10
Material del cristal	Oxisilicato de Lutecio (LSO)
FOV <sup>a</sup> transaxial (mm)	100
FOV axial (mm)	76
Algoritmos de reconstrucción	FBP <sup>b</sup> OSEM2D <sup>c</sup> OSEM3D <sup>d</sup>
Tipos de estudios	Dinámico. Estático

<sup>a</sup>FOV: field of view (campo de vista)

<sup>b</sup>FBP: Filtered-backprojection (retroproyección filtrada)

<sup>c</sup>OSEM2D: Ordered Subsets Expectation Maximization 2D

<sup>d</sup>OSEM3D: Ordered Subsets Expectation Maximization 3D

## Adquisición de las imágenes

1. El animal es centrado en el campo de visión del microPET (riñones y vejiga).
2. Se introducen los datos en el sistema: actividad inyectada, hora de la inyección, tipo de estudio (dinámico), duración del estudio, método de reconstrucción. El protocolo de adquisición de cada animal se muestra en la figura (4.8).
3. Al terminar, los animales (aún bajo anestesia) son sacrificados con pentobarbital vía intraperitoneal.
4. Se reconstruyen los datos con el algoritmo OSEM2D.

### 4.4.2. Estudios preclínicos en un modelo de inflamación-infección en ratones

El modelo desarrollado evalúa la efectividad de <sup>68</sup>Ga-DOTA-UBI para acumularse en sitios donde existan procesos infecciosos, para esto se utilizó *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) una de las bacterias más comunes causantes de infecciones en humanos.

Tabla 4.5: Actividad inyectada y pesos de los animales.

Rata	Peso	Actividad inyectada ( $\mu\text{Ci}$ )
1	233	820
2	202	890
3	212	830
Promedio $\pm$ SD	216 $\pm$ 16	846 $\pm$ 38

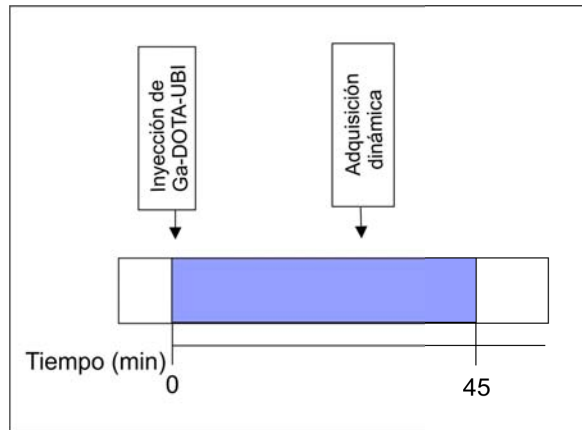


Figura 4.8: Protocolo estudio dinámico en ratas.

Esta bacteria es endémica de poblaciones humanas y es considerado un patógeno con gran potencial para causar múltiples infecciones en el humano y en los animales, se encuentra generalmente en la piel y fosas nasales de las personas sanas y usualmente causa infecciones en niños, pacientes inmunodeprimidos y personas que hayan atravesado por un proceso quirúrgico. Esta bacteria es responsable de una gran variedad de infecciones, desde pequeñas como: forúnculos, ampollas, vejigas y abscesos cutáneos hasta enfermedades graves como neumonía, meningitis, síndrome del shock tóxico y sepsis. En los últimos años se ha observado un considerable aumento de la resistencia de staphylococcus aureus a múltiples antibióticos como la meticilina, favorecido por su uso indiscriminado [36].

En este modelo se utilizaron ratones hembras (BALB/c) a los que se les provocó una inflamación estéril con lipopolisacáridos (LPS) y una infección con *S. aureus*, a continuación se describe el procedimiento.

## Inducción de inflamación estéril

Para inducir la inflamación estéril los ratones fueron inyectados i.m. (intramuscular) en la pata anterior izquierda con 100  $\mu$ l de lipopolisacáridos (LPS) en solución salina que fueron obtenidos a partir de bacterias *Klebsiella pneumoniae*, las cuales se calentaron a 100 °C por dos horas para matarlas. Después de 24 horas los ratones presentaban los típicos síntomas de inflamación en el lugar de la inyección [36].

## Inducción de infección bacteriana

Se utilizó *S. aureus* como microorganismo patógeno para inducir infección. Se inyectó 100  $\mu$ l de una suspensión con *S. aureus* intramuscular en la pata anterior derecha. Después de 24 horas los ratones presentaban un abultamiento en el lugar de la inyección así como síntomas de infección [36]. En la figura 4.9 se muestra el lugar donde se inoculó las bacterias *S. aureus* y donde se provocó inflamación estéril con LPS.

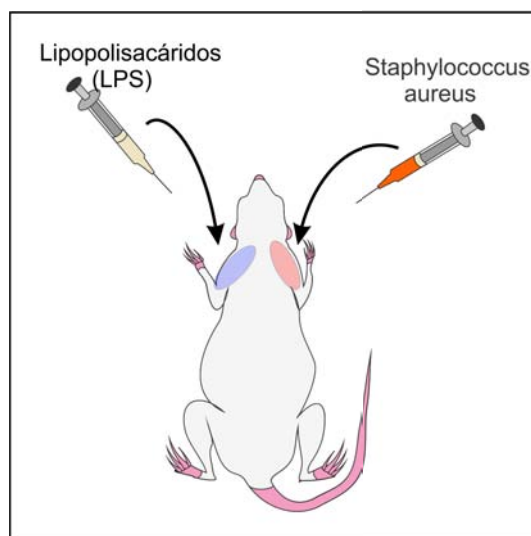


Figura 4.9: Esquema de un ratón inducido con infección-inflamación.

## Preparación de los animales

1. El animal se anestesia en una cámara cerrada de acrílico. Para inducir al animal se utilizó isoflurano 4% y para mantenimiento 2.5% a un flujo de oxígeno constante de 1 l/min, la temperatura fue regulada a 37 °C con una luz incandescente.

2. Se prepara el radiofármaco en una jeringa con 150  $\mu\text{l}$  de solución isotónica, la actividad inyectada por ratón se muestra en la tabla (4.6).
3. Se inyecta el radiofármaco vía intravenosa en una vena lateral de la cola.
4. El animal es colocado sobre la camilla del microPET (figura 4.10).

Tabla 4.6: Actividad inyectada y pesos de los animales.

Ratón	Peso (gr)	Actividad inyectada ( $\mu\text{Ci}$ )
1	17	1000
2	18	560
Promedio $\pm$ SD	17.5 $\pm$ 0.7	780 $\pm$ 311



Figura 4.10: Ratón sobre la camilla del microPET.

#### Adquisición de las imágenes

1. El animal es centrado en el campo de visión del microPET.

2. Se introducen los datos en el sistema, Se hizo un estudio estático después de 60 minutos de biodistribución, el protocolo se muestra en la figura 4.11.
3. Los dos animales fueron sacrificados por dislocación cervical al terminar los estudios.
4. Los datos obtenidos se reconstruyen con el algoritmo OSEM2D.

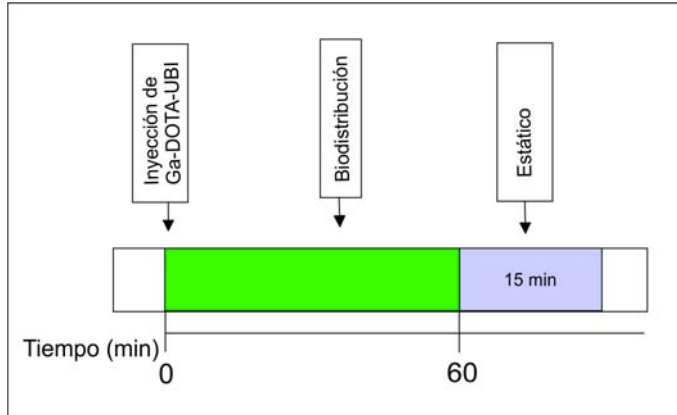


Figura 4.11: Protocolo de adquisición.

## 4.5. Biodistribución y dosimetría interna en humanos

El desarrollo de nuevos radiofármacos en medicina nuclear, tanto para diagnóstico como terapia, implica un estudio detallado sobre su biodistribución y la dosis de radiación depositada en sujetos sanos, para estimar los riesgos y beneficios de la administración del radiofármaco.

Se hicieron estudios PET/CT a 4 voluntarios asintomáticos (dos mujeres y dos hombres), recibieron una inyección intravenosa de  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-UBI y se adquirieron imágenes PET/CT de cuerpo completo (la actividad inyectada a los voluntarios fue de acuerdo a lo publicado en la literatura para trazadores marcados con  $^{68}\text{Ga}$  [29]).

### 4.5.1. Estudios PET/CT

Los estudios PET/CT fueron realizados en personas asintomáticas voluntariamente inscritas, sus características se muestran en la tabla 4.7. El procedimiento completo desde su ingreso hasta su salida se muestra a continuación.

Tabla 4.7: Características de los voluntarios y la actividad inyectada.

<b>Voluntario</b>	<b>Edad (años)</b>	<b>Peso (kg)</b>	<b>Altura (m)</b>	<b>Actividad inyectada (MBq)</b>
1 (F)	27	52	1.61	203
2 (F)	26	60	1.63	185
3 (M)	29	97	1.75	180
4 (M)	25	89	1.83	229
Promedio $\pm$ SD	$28 \pm 2$	$74.5 \pm 22$	$1.7 \pm 0.1$	$199 \pm 22$

### Preparación

- Al arribo al centro PET, el voluntario se hizo pasar a una habitación ligeramente iluminada, con mínimo ambiente de ruido y un asiento reclinable para maximizar su confort.
- Se registraron sus datos personales: nombre, edad, fecha de nacimiento, altura y peso. Se le colocó un catéter en una vena antecubital del brazo derecho y se verificó que la vía fuera permeable pasando solución salina a través del catéter.
- Se le inyectó  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-UBI (la actividad inyectada está basada en estudios dosimétricos realizados con radiofármacos marcados con  $^{68}\text{Ga}$ , aproximadamente 200 MBq [29]), y se le permitió descansar durante 30 min en la habitación.

### Posicionamiento

- Después de 30 minutos de biodistribución el paciente pasa a la habitación donde se encuentra el equipo PET/CT.
- La adquisición de imágenes PET/CT se hizo en modo de cuerpo entero, de modo que se acuesta sobre la camilla en posición supina, con los brazos extendidos sobre la cabeza, se le colocó una almohadilla en el cuello para proporcionar soporte.
- Se le dan instrucciones para mantenerse quieto y que su respiración sea lo más normal y tranquila.

### Equipo PET/CT

Todos los estudios PET/CT se realizaron en el equipo de la Unidad PET/CT de la Facultad de Medicina de la UNAM (figura 4.12), que es un equipo Siemens Bio-

graph Truepoint 64 (Siemens Medical Systems, Knoxville, TN, USA), las características principales del equipo se enlistan en la tabla 4.8.



Figura 4.12: Equipo PET/CT Biograph 64 (Siemens) de la Facultad de Medicina de la UNAM.

Tabla 4.8: Características principales del equipo PET/CT Biograph 64.

Equipo	Siemens Biograph Truepoint 64
Diámetro del anillo detector (cm)	84.2
Numero de anillos	39
Número de detectores por anillo	624
Cristales por bloque	169
Tamaño del cristal (mm)	1.0x4.0x20
Material del cristal	Ortosilicato de Lutecio (LSO)
Campo de visión axial (mm)	162

#### 4.5.2. Adquisición de las imágenes PET/CT

Se hicieron un total de tres estudios PET por cada voluntario después de la inyección de  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-UBI. El protocolo de adquisición de las imágenes se muestra en la figura 4.13.

- Se cargan los datos en la consola de mando y empieza el estudio.

- Se adquiere un topograma para establecer la zona anatómica de exploración (con una dosis efectiva de 0.1-0.4 mSv [37]).
- Después se realizó un CT desde la cabeza hasta 2/3 de la pierna (El CT contribuye a la dosis efectiva total con: 13-14 mSv con 120 kV [38] y 100-300 mA, y con calidad anatómica (baja dosis): 1.3-4.5 mSv [37]).
- En seguida se adquiere un PET de cuerpo entero.

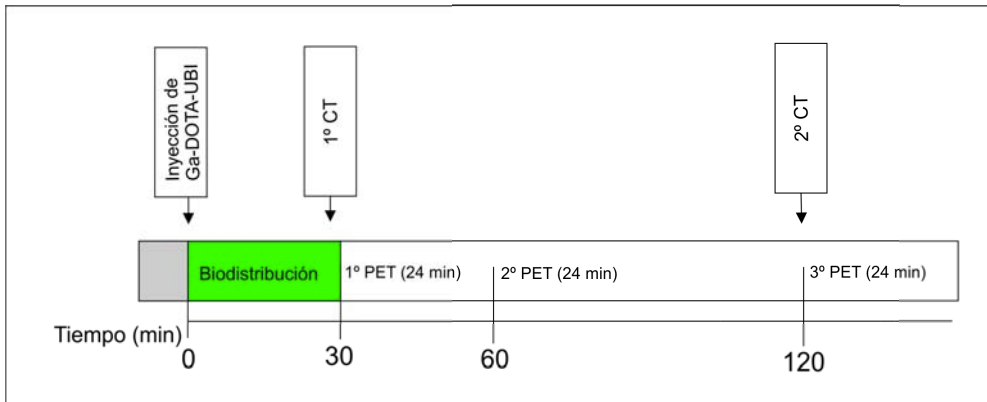


Figura 4.13: Protocolo de adquisición de estudios.

Tabla 4.9: Características de adquisición de las imágenes PET/CT Biograph 64.

<b>CT</b>	<b>Descripción</b>
Topograma	35 mAs, 120 kV
$CT_1$	CareDose (120 kV)
$CT_2$	35 mAs, 100 kV
<b>PET</b>	
Tipo reconstrucción	OSEM 2D 4 iteraciones 8 subconjuntos
Procesamiento filtro	Gaussiano
FMWH	10 mm
Exploración	Transmisión
Espesor de corte	3 mm



Para el segundo estudio PET no se realizó un CT ya que los voluntarios no se movieron de la camilla desde el inicio del primer PET hasta el segundo. Los parámetros de adquisición del equipo PET/CT se muestran en la tabla 4.9. Los voluntarios no vaciaron la vejiga durante el tiempo que duró la adquisición de las imágenes.

### 4.5.3. Cálculo de la dosis de radiación

#### Plataforma de visualización OsiriX

Las imágenes PET/CT se analizaron utilizando el software OsiriX MD, un software que corre en el sistema operativo Mac OSX y que está diseñado para visualizar, interpretar y procesar imágenes creadas por equipos médicos como: MRI, CT, PET-CT, SPECT-CT; esta herramienta es muy útil para crear y almacenar ROI's en imágenes y aplicarlos después a cualquier otra serie de imágenes, además es posible fusionar conjuntos de imágenes como es el caso de las PET/CT.

#### Regiones de interés

Las imágenes PET se fusionaron con las CT y se dibujaron volúmenes de interés (VOIs) sobre los siguientes órganos completos: riñones, vejiga e hígado (se utilizó el primer CT para delinear los órganos del primer y segundo estudio PET ya que los voluntarios se mantuvieron en la camilla durante todo este tiempo). A partir de los VOIs se obtuvo la concentración de actividad (C.A. (Bq/ml)) de cada órgano.

#### Curvas actividad-tiempo (TAC)

Para construir las curvas actividad-tiempo (TAC) de los volúmenes de interés se deben convertir las C.A. en valores de porcentaje de actividad inyectada (%AI) del hombre y mujer de referencia [39], esto se hace con la siguiente ecuación:

$$\%AI(t)_{referencia} = \left( \frac{C(t)}{A_0} \right)_{individual} \cdot V_{referencia} \cdot 100 \quad (4.1)$$

donde  $V_{referencia}$  es el volumen del órgano del hombre y mujer de referencia en ml,  $C(t)$  es la concentración de actividad y  $A_0$  es la actividad inyectada. Para el contenido de la vejiga urinaria en lugar de normalizar al volumen estándar del hombre y mujer de referencia (ya que este volumen depende de muchos factores, entre ellos el estado de hidratación del voluntario) se consideró el volumen total sobre esta región. [40]. Los valores de %AI se corrigieron por decaimiento radiactivo al momento de la inyección de  $^{68}\text{Ga-DOTA-UBI}$  y se obtuvieron las TAC .

## Tiempos de residencia $\tau$

Los tiempos de residencia  $\tau$  (Bq-h/Bq) se obtuvieron graficando los %AI y ajustando una función exponencial en el caso de: riñones e hígado con el módulo "fit data to model" de OLINDA/EXM:

$$A(t) = A_0 e^{-\lambda t} \quad (4.2)$$

donde  $A_0$  corresponde a la fracción de actividad en ese órgano y  $\lambda$  la constante de eliminación biológica, esta ecuación se integró desde el tiempo cero a infinito. En el caso de la vejiga urinaria se ajustó una función exponencial del tipo:

$$A(t) = A_0(1 - e^{-\ln 2 t / T_{1/2}}) \quad (4.3)$$

donde  $A_0$  es la fracción de la actividad en la vejiga y  $T_{1/2}$  es la vida media biológica, estos parámetros fueron introducidos en el módulo "voiding bladder model" de OLINDA/EXM con un intervalo de vaciado de 1 hora. El tiempo de residencia en el resto del cuerpo ( $\tau_{RB}$ ) se calculó restando los  $\tau$  de los demás órganos al valor teórico  $\tau_{TB} = T_{1/2,f} / \ln 2$  donde  $T_{1/2,f}$  es la vida media de  $^{68}\text{Ga}$  [40] [41] [42].

Finalmente los  $\tau$  se usaron para calcular la dosis absorbida  $D$  de los órganos, y la dosis efectiva  $E$  introduciendo los valores cinéticos ( $\tau$ ) en el software OLINDA/EXM (versión 1.0) y escogiendo el modelo de maniquí específico (hombre adulto, mujer adulta).

# Capítulo 5

## Resultados y Discusión

### 5.1. Caracterización del generador de $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$

#### 5.1.1. Perfil de elución de $^{68}\text{Ga}$

El perfil de elución (figura 5.1) del generador itG de  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  determinado a partir del fraccionamiento del eluato en 30 viales, muestra que en los primeros 7 viales, la cantidad de  $^{68}\text{Ga}$  es muy baja (fracción 1), la actividad sin embargo aumenta hasta alcanzar un máximo en el vial 12, es en esta zona (viales 8-17) donde se concentra la mayor cantidad de  $^{68}\text{Ga}$  (fracción 2), del vial 18-30 la actividad disminuye por debajo de  $700 \mu\text{Ci}$  (fracción 3), la actividad total eluida fue de  $34.7 \pm 0.2 \text{ mCi}$ .

La concentración de actividad al fraccionar de esta manera el eluato se muestra en la tabla 5.1, más del 80% de la actividad total se encuentra entre 1 y 2.3 ml (fracción 2) por lo que al coleccionar el eluato en tres fracciones podemos desechar aquellas con una baja C.A. y aprovechar aquella con una alta C.A. lo que a su vez significa un pequeño volumen lo cual es indispensable durante el marcado o en el momento de la inyección del radiofármaco.

Tabla 5.1: División del eluato en tres fracciones.

Fracción	Volumen (ml)	Actividad (mCi)	Actividad (%)	C.A. (mCi/ml)
1	0.9	$1.84 \pm 0.04$	$5.3 \pm 0.1$	$1.97 \pm 0.04$
2	1.3	$28.42 \pm 0.02$	$82.0 \pm 0.5$	$21.3 \pm 0.1$
3	1.7	$4.4 \pm 0.06$	$12.7 \pm 0.2$	$2.5 \pm 0.04$

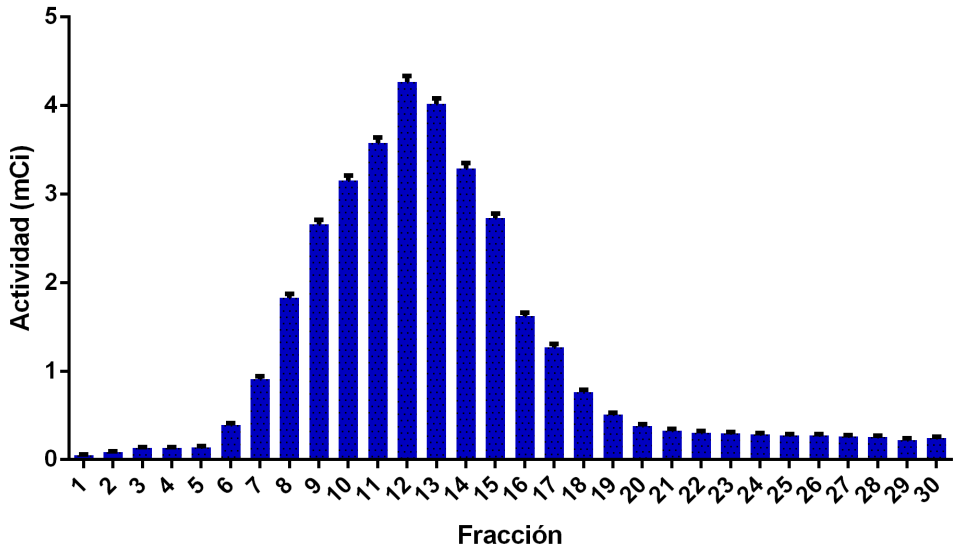


Figura 5.1: Perfil de elución de  $^{68}\text{Ga}$  del generador itG  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ .

### 5.1.2. Cuantificación de impurezas radionuclídicas del eluato

Con las cps medidas con el detector de NaI (Tl) de cada uno de los 5 viales de referencia (tabla 5.2) se construyó un gráfico de cps vs Actividad ( $\mu\text{Ci}$ ), en la figura 5.2 se puede ver que esta relación es lineal. Se realizó un ajuste por mínimos cuadrados y a partir de estos datos se obtuvo una curva de calibración.

Tabla 5.2: Concentración de actividad y respuesta del detector de NaI (Tl).

Parte	C.A. ( $\mu\text{Ci}/\text{ml}$ )	cps
1	$0.71 \pm 0.02$	$395.7 \pm 1.2$
2	$0.61 \pm 0.02$	$341.2 \pm 1.1$
3	$0.48 \pm 0.02$	$274.3 \pm 0.9$
4	$0.35 \pm 0.01$	$202.1 \pm 0.7$
5	$0.19 \pm 0.03$	$112.5 \pm 0.4$

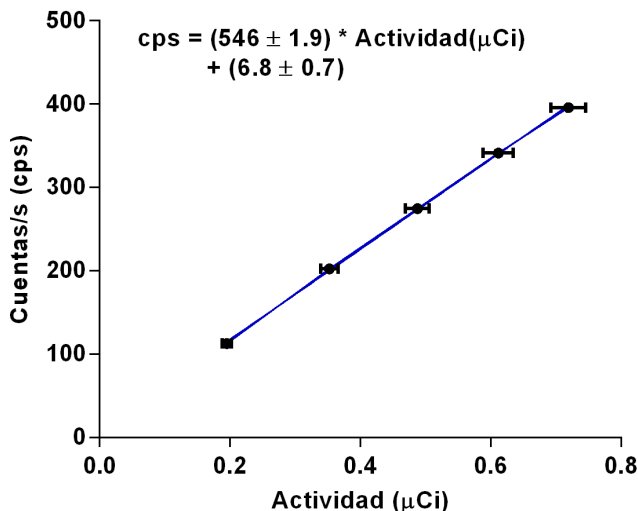


Figura 5.2: Curva de calibración.

Con la curva de calibración ya puede determinarse el contenido de  $^{68}\text{Ge}$  al preparar y medir un vial con la misma geometría.

En la tabla 5.3 aparecen tabulados: la actividad de  $^{68}\text{Ge}$  (como única impureza radio-nuclídica importante), el total de actividad eluida del generador y el porcentaje correspondiente a  $^{68}\text{Ge}$ . Comparando este valor con el dado por el fabricante, se concluye que la actividad de  $^{68}\text{Ge}$  que es acarreado durante la elución del generador  $0.0030 \pm 0.0002\%$  no rebasa el límite máximo especificado por el fabricante  $0.005\%$ .

Tabla 5.3: Porcentaje de actividad de  $^{68}\text{Ge}$  acarreado durante la elución.

$^{68}\text{Ge}$ ( $\mu\text{Ci}$ )	Actividad total de $^{68}\text{Ga}$ ( $\mu\text{Ci}$ )	Porcentaje de $^{68}\text{Ge}$ (%)	Especificación del fabricante (%)
$0.91 \pm 0.06$	$30100 \pm 346$	$0.0030 \pm 0.0002$	$< 0.005$

## 5.2. Radiomarcado de DOTA-UBI (29-41)

La actividad obtenida al eluir el generador de  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  fue la esperada según el perfil de elución obtenido anteriormente (tabla 5.4), dividiendo el eluato en tres fracciones se logra la mayor concentración de actividad para el producto, con esto se aprovecha

al máximo la cantidad de Ga-68 acarreada en la elución para el marcado del conjugado DOTA-UBI (29-41), cabe destacar que las pequeñas variaciones de actividad de la tabla 5.4 con la tabla 5.1 se deben al tiempo transcurrido desde que se obtuvo el perfil de  $^{68}\text{Ga}$  y el primer radiomarcado (aproximadamente 1 mes), ya que la máxima actividad disponible para la elución del generador disminuye por el decaimiento del  $^{68}\text{Ge}$ , otros factores son: la velocidad de elución del generador y el hecho de que el proceso se realiza de forma manual lo que contribuye a pequeñas variaciones en la partición y recolección del eluato.

Tabla 5.4: Eluato dividido en 3 fracciones.

	<b>Volumen (ml)</b>	<b>Actividad (mCi)</b>
1	0.9	$2.51 \pm 0.05$
2	1.3	$24.7 \pm 0.15$
3	1.8	$4.62 \pm 0.07$

El kit ha mostrado ser muy práctico para la producción de  $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-DOTA-UBI}$ , ya que se ha obtenido una alta eficiencia durante el radiomarcado (purezas radioquímicas mayores a 97%), y esto ha significado que no se realice la purificación del producto mediante los cartuchos oasis (la pureza radioquímica mínima es de 91% para el uso de radiofármacos en humanos). Además, la pureza radioquímica del radiofármaco se ha mantenido por arriba de 97% aún después de 5 meses de fabricado el kit. Con esto se comprueba que el proceso de producción de  $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-DOTA-UBI}$  mediante este kit de marcado es fácil, eficiente y rápido ya que puede elaborarse el kit y refrigerarse para cuando se necesite.

A continuación se describen los resultados obtenidos al radiomarcarse  $^{68}\text{Ga}$  con el kit de DOTA-UBI (29-41), dados por las pruebas de control de calidad .

### 5.3. Pruebas de control de calidad

#### Inspección visual

El producto tiene una apariencia incolora, libre de material particulado, por lo que es aprobado (figura 5.3).

	<b>Apariencia</b>	<b>Resultado</b>
<b>Inspección visual</b>	incoloro, libre de partículas	Aprobado



Figura 5.3: Producto final.

## pH

El pH de la solución fue de 6, el intervalo idóneo es 4.5-7.5 por lo que esta prueba fue aprobada.

	<b>Intervalo recomendado</b>	<b>Valor medido pH</b>	<b>Resultado</b>
<b>Medición del pH</b>	4.5-7.5	6	Aprobado

## Pureza radioquímica

El análisis de pureza radioquímica por gradiente-HPLC se realizó inmediatamente después del marcado, el cromatograma de la figura 5.4 muestra el resultado a la hora 0, el pico que corresponde a  $^{68}\text{Ga}$  libre alcanzó solo un 2.47 % y el porcentaje de actividad correspondiente a  $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-DOA-UBI}$  fue de 97.53 %. La pureza radioquímica obtenida rebasa significativamente el porcentaje de actividad que se requiere para aplicaciones médicas clínicas el cual debe ser mayor al 91 %.

El análisis de HPLC a 0 h, 1 h, 2 h y 3 h (tiempo suficiente para garantizar su estabilidad

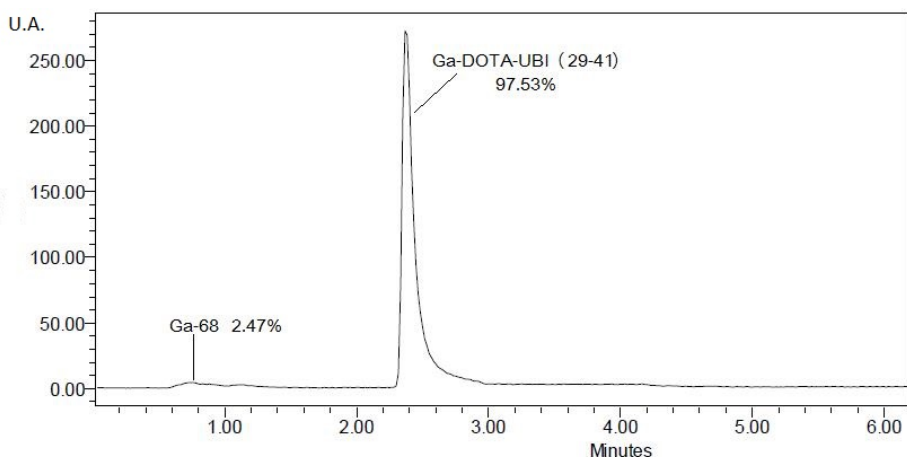


Figura 5.4: Radio-cromatograma típico.

en estudios PET, permitió verificar la estabilidad radioquímica  $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-DOTA-UBI}$  (tabla 5.5). El resultado de este análisis mostró que la pureza radioquímica se mantuvo por arriba de 97 % incluso pasando tres horas desde el marcado, por lo que la estabilidad de  $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-DOTA-UBI}$  en este periodo es óptima.

Tabla 5.5: Porcentaje de pureza radioquímica a diferentes tiempos post-marcado de  $^{68}\text{Ga-DOTA-UBI}$ .

Tiempo (h)	Pureza radioquímica (%) promedio $\pm$ SD
0	97.5 $\pm$ 0.2
1	97.3 $\pm$ 0.2
2	97.3 $\pm$ 0.3
3	97.4 $\pm$ 0.3

	Referencia	Valor medido (%)	Resultado
Pureza radioquímica	> 91 %	97.5 $\pm$ 0.2	Aprobado



## Pureza radionuclídica

La vida media se obtuvo al medir la actividad de una muestra del producto con un activímetro de pozo marca CAPINTEC, modelo CRC-15. El espectro gama (figura 5.5) se obtuvo con un detector centellador de NaI (Tl) marca ORTEC BICRON, número de serie 905-3. Del espectro gama obtenido se identificó el fotopico de 511 keV que indica la presencia de un emisor de positrones. La vida media medida fue de  $67.5 \pm 0.4$  min consistente con la vida media de  $^{68}\text{Ga}$  publicada en la literatura ( $\tau_{1/2} = 67,71$  min). No se identificaron otros fotopicos en el espectro gama por lo que se confirma la ausencia de impurezas radionuclídicas además de  $^{68}\text{Ge}$ . Anteriormente se midió la cantidad de  $^{68}\text{Ge}$  presente en el eluato y se encontró que no rebasaba el límite máximo especificado por el fabricante.

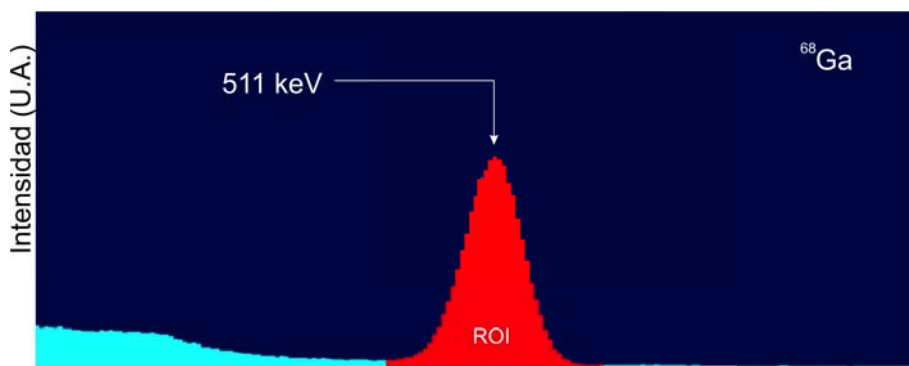


Figura 5.5: Espectro gama.

	Vida media (min)	Impurezas observadas	Resultado
Pureza radionuclídica	$67.5 \pm 0.4$	Ninguna	Aprobado

## Endotoxinas bacterianas (pirógenos)

	Valor referencia (UE/ml)	Valor medido (UE/ml)	Resultado
Pirógenos	< 35	< 5	Aprobado

## Esterilidad

Se utilizó un filtro marca MILLEX-GV con un tamaño de poro de  $0.22 \mu m$  para esterilizar el producto. Este se sometió a una presión de 4000 mbar, con esto se comprobó la integridad del filtro puesto que el mínimo valor que debe soportar es 3100 mbar.

<b>Esterilidad</b>	<b>Presión mínima requerida</b>	<b>Presión soportada</b>	<b>Resultado</b>
<b>Integridad del filtro</b>	3100 mbar	4000 mbar	Aprobado

## 5.4. Ensayos *in vivo*

### 5.4.1. Biodistribución en ratas sanas

El estudio PET en las ratas sanas Wistar se hizo inmediatamente después de la inyección del radiofármaco. En la figura 5.6 se muestra una imagen de máxima intensidad representativa de la biodistribución de  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-UBI(29-41) en la rata 1. Se aprecia claramente una acumulación en riñones y vejiga, con una clara ausencia en otros tejidos y órganos.

En la figura 5.7 se muestra el porcentaje de actividad inyectado por unidad de volumen (%Actividad/ml) de vejiga y riñones desde el momento de la inyección hasta 45 min después (cabe destacar que a pesar de la diferencia en actividad inyectada en ambas ratas esto no alteró la biodistribución de  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-UBI(29-41) en los órganos y tejidos). El [ $^{68}\text{Ga}$ ]Ga-DOTA-UBI comienza a eliminarse a través de riñones inmediatamente alcanzando un máximo a los 4-5 min después de haber sido inyectado, en contraste, en vejiga aumenta gradualmente durante los primeros 20 min después de la inyección, después de este tiempo la actividad deja de aumentar hasta cierto límite donde presenta una tendencia a mantenerse constante  $< 30\%$ .

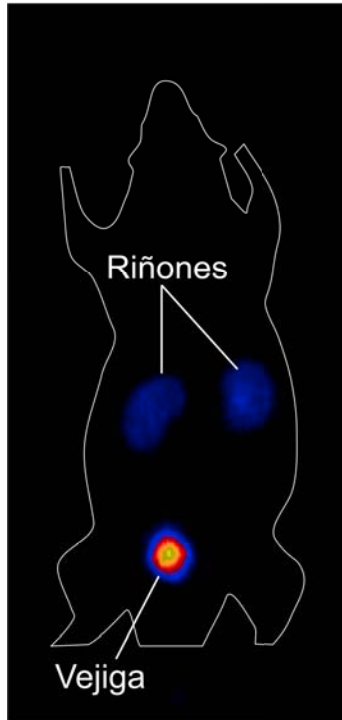


Figura 5.6: Imagen PET de máxima intensidad de  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-UBI a 60 min post-inyección.

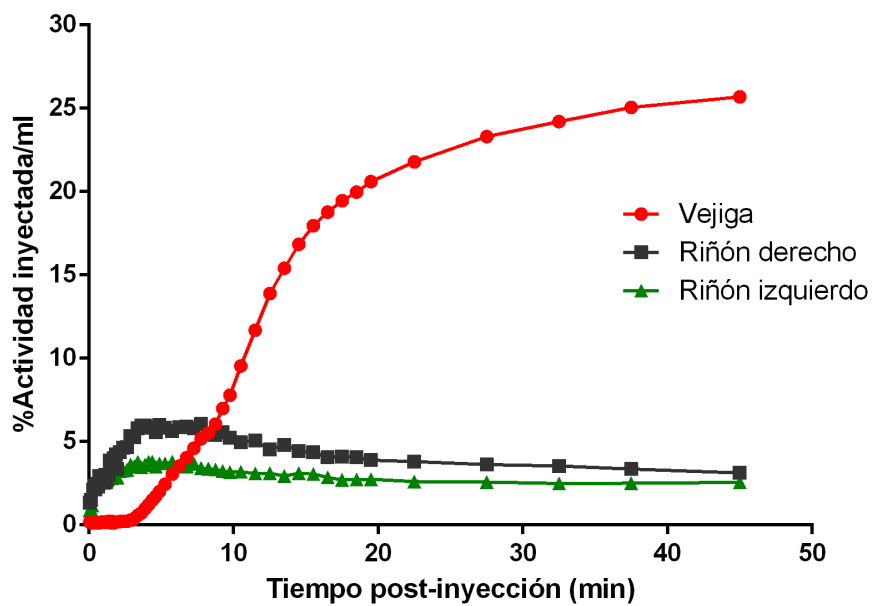


Figura 5.7: Curvas de actividad-tiempo de  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-UBI en rata sana.

### 5.4.2. Estudios preClínicos en un modelo de inflamación-infección en ratones

Las imágenes de los ratones BALB/c del modelo de inflamación-infección (figura 5.8), muestran que la actividad se acumula en el sitio donde se inoculó *S. aureus* (pata anterior derecha), mientras que la zona donde se provocó una inflamación estéril con LPS (pata anterior izquierda) existe una baja acumulación de  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-UBI, lo cual demuestra la capacidad del radiofármaco para discriminar entre lugares donde existan inflamaciones estériles de aquellos donde exista una infección bacteriana.

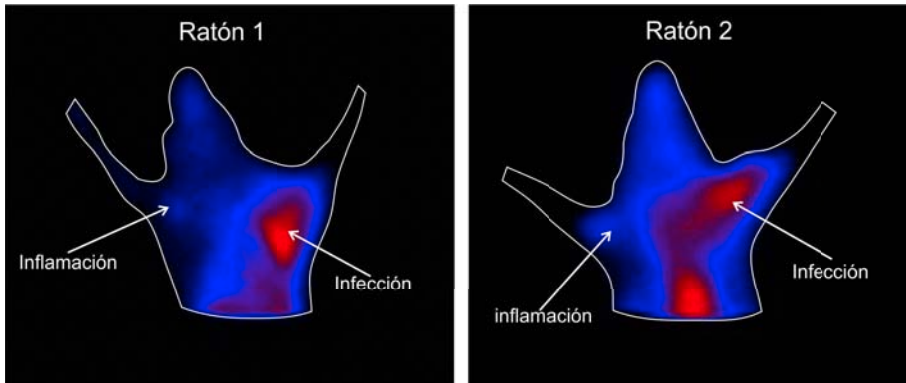


Figura 5.8: Modelo murino de inflamación-infección, 45 min después de la inyección de  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-UBI.

## 5.5. Biodistribución y dosimetría interna en humanos

La biodistribución de  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-UBI se determinó a partir de las imágenes PET adquiridas con el protocolo previamente descrito en 4 voluntarios sanos. Las figuras 5.9 a 5.12 muestran 3 proyecciones de máxima intensidad (MIP) de cada uno de los voluntarios a los tiempos que fueron realizados los estudios. Un análisis visual de las imágenes revela aquellos órganos cuya acumulación del radiofármaco es fácilmente distinguible: riñones y vejiga en los cuatro voluntarios, mientras que el resto de órganos importantes como: corazón, hígado, bazo, cerebro y demás tejidos presentan una baja acumulación del radiofármaco. Estos resultados mostraron ser consistentes con los obtenidos previamente en los ensayos *in vivo* en ratas (fig 5.6) donde solo se logra visualizar los riñones y vejiga por ser los órganos que se encargan de filtrar el compuesto de la sangre para ser eliminado a través de la orina.

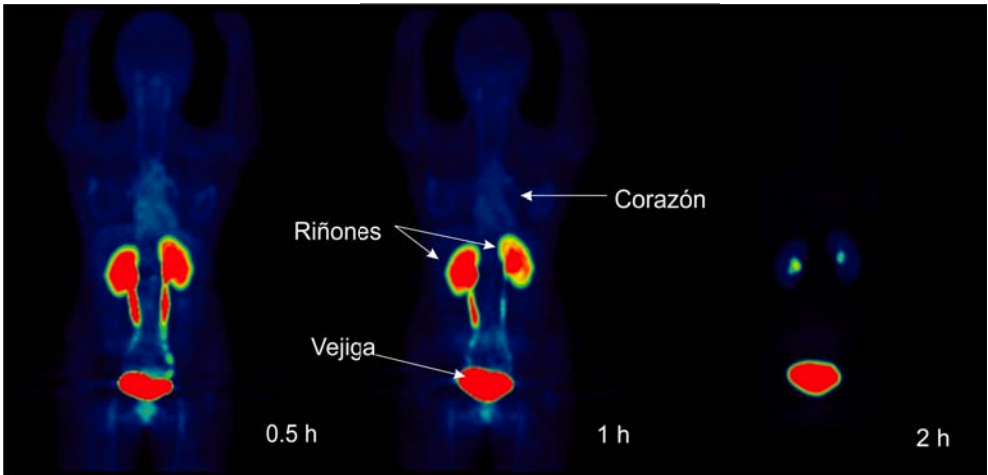


Figura 5.9: Biodistribución normal de  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-UBI en voluntario 1 (mujer, 52 kg, 161 cm estatura).

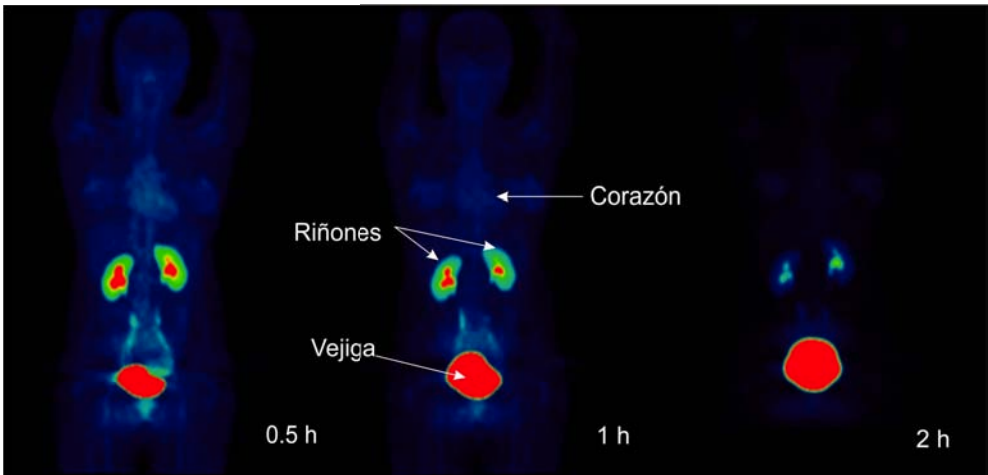


Figura 5.10: Biodistribución normal de  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-UBI en voluntario 2 (mujer, 60 kg, 163 cm estatura).

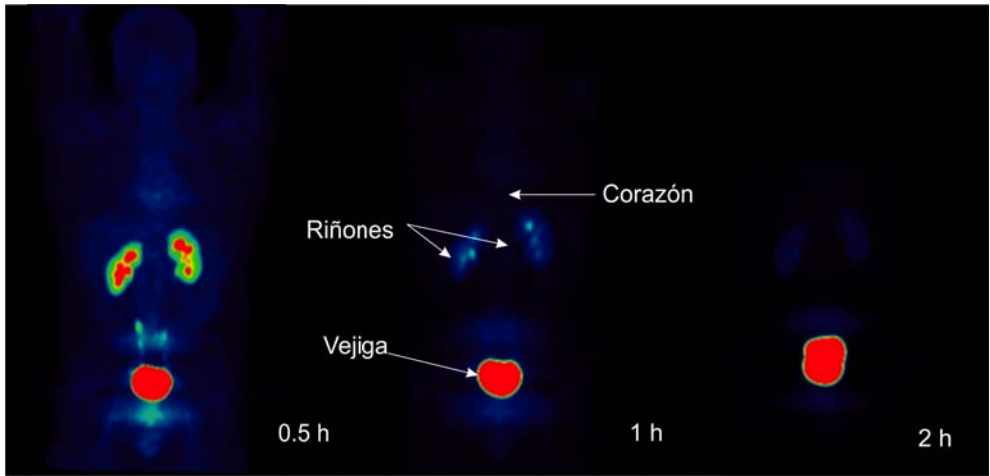


Figura 5.11: Biodistribución normal de  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-UBI en voluntario 3 (hombre, 97 kg, 175 cm estatura).

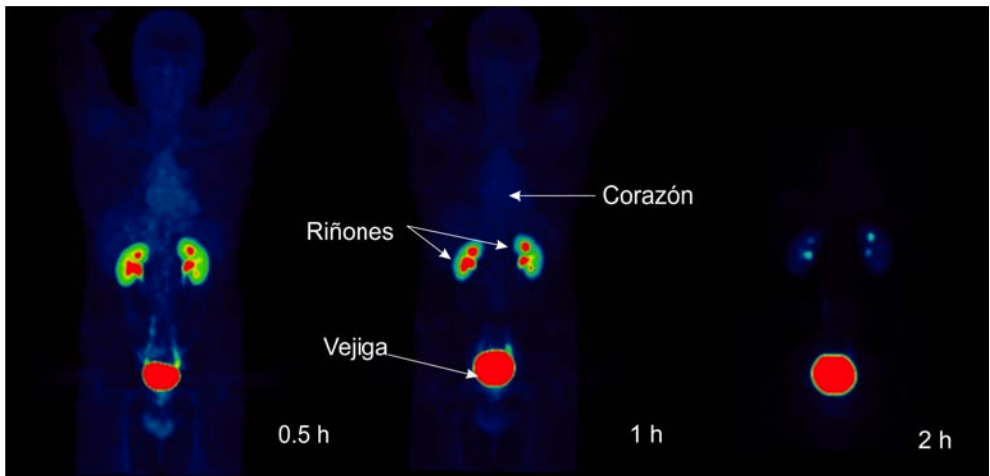


Figura 5.12: Biodistribución normal de  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-UBI en voluntario 4 (hombre, 89 kg, 183 cm estatura).

La biodistribución (porcentaje de actividad inyectada promedio %IA) en tres órganos se muestra en la gráfica de la figura 5.13: riñones y vejiga que son los órganos con una concentración de actividad evidente de  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-UBI e hígado que se tomó como tejido de referencia para el resto del cuerpo por su baja acumulación, como puede verse en las imágenes de las figuras 5.9 a 5.12.

Esta gráfica revela una excreción gradual de  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-UBI por vía renal, el %ID en riñones bajó de 3.0% a los 30 min hasta 2.0% en 60 minutos y a 1.4% en 120 min. Un patrón similar mostró el hígado, aunque con un volumen 5 veces mayor que riñones el %IA pasó de 1.9% a los 30 min a 1.4% en 60 min y 0.9% a las 2 horas. La vejiga urinaria por el contrario mostró una acumulación gradual como era de esperarse puesto que los voluntarios no orinaron durante todo el estudio ( $\sim 2.5$  h), con valores de actividad inyectada en 30 min de 17.1%, 27.7% en 60 min y 42.6% en 120 min.

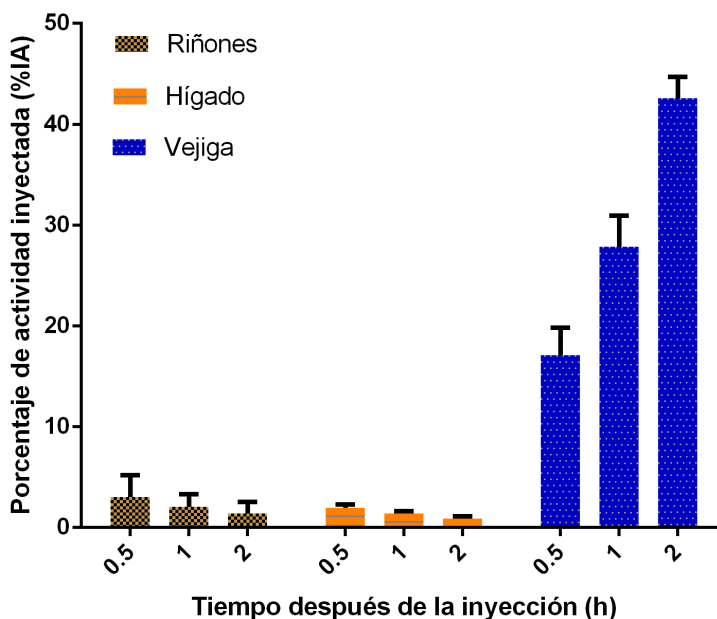


Figura 5.13: Porcentaje de actividad inyectada promedio (% IA) como función del tiempo en riñones, hígado y vejiga urinaria, los datos fueron corregidos por decaimiento radiactivo.

Las estimaciones de dosis absorbidas (dado que el factor de ponderación para fotones de estas energías y electrones es 1, las dosis absorbidas son iguales en magnitud a las



dosis equivalentes) para todos los órganos incluidos en OLINDA/EXM se dan en la gráfica 5.14 para una actividad inyectada de 185 MBq. De aquí podemos ver que los órganos que reciben las mayores dosis absorbidas fueron: los riñones con  $10.7 \pm 7.3$  mGy y la pared de la vejiga urinaria con  $38.7 \pm 5.4$  mGy, para los demás órganos las dosis absorbidas no superan los 4 mGy.

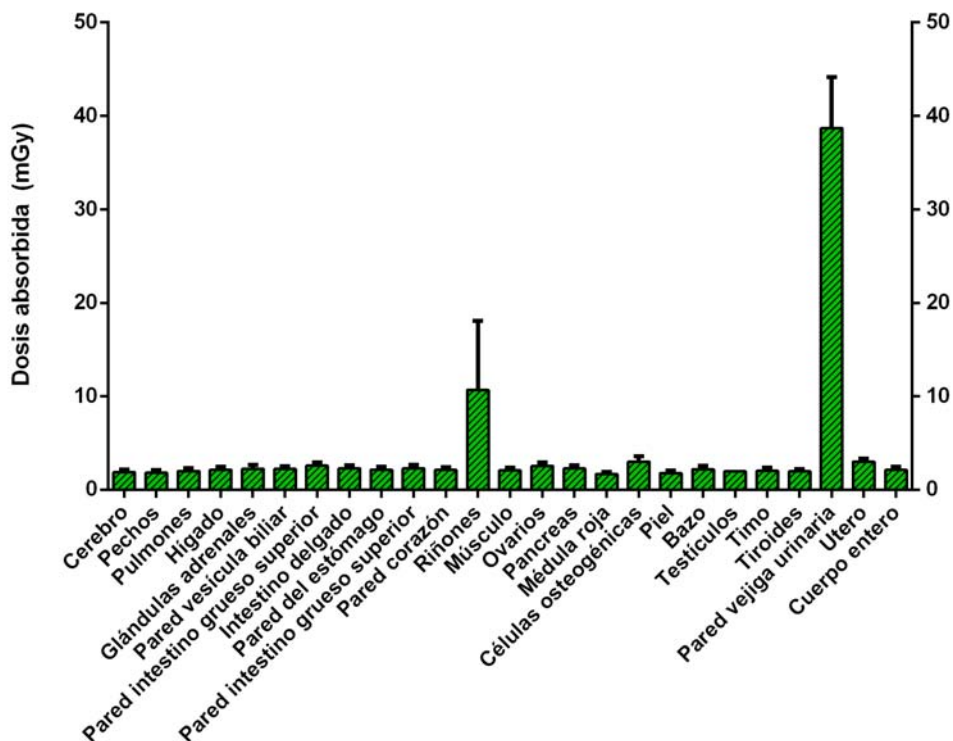


Figura 5.14: Dosis abdosrbidas para una actividad inyectada de 185 MBq en todos los órganos incluidos en OLINDA/EXM.

De particular importancia para la dosimetría interna son los tejidos más radiosensibles: gónadas, tejidos que produzcan células sanguíneas, córneas y cuerpo entero; ya que de acuerdo a la Food and Drug Administration (FDA) título 21, parte 361: bajo ninguna circunstancia la dosis de radiación a un sujeto adulto sometido a un solo estudio o varios en el transcurso de un año puede catalogarse como segura si la dosis excede los siguientes valores [43]:

Tabla 5.6: Límites de dosis

Órganos	Un estudio (mSv)	Varios estudios al año (mSv)
Gónadas, córneas, cuerpo entero	30	50
Órganos productores de células sanguíneas	30	50
Otros órganos	50	150

De este modo podemos ver que tanto vejiga como riñones no superan los 50 mSv por estudio y aquellos órganos que son más radiosensibles como testículos, ovarios, cerebro (córneas) y el cuerpo entero no superan los 4 mSv valor considerablemente menor a los 30 mSv indicados en la tabla 5.6.

La dosis efectiva por unidad de actividad administrada (mSv/MBq) estimada con OLINDA/EXM para cada voluntario se muestra en la tabla 5.7. Se puede ver que para ambas mujeres (voluntarios 1 y 2) la dosis efectiva resultó ser mayor que para los hombres (voluntarios 3 y 4) esto se debe a que el peso del cuerpo entero utilizado por OLINDA/EXM para el cálculo de la dosis interna de radiación de los hombres es considerablemente mayor a las mujeres (hombre 74 kg y mujer 57 kg).

Tabla 5.7: Dosis efectiva por unidad de actividad administrada (mSv/MBq).

Voluntario	$^{68}\text{Ga-DOTA-UBI}$ (mSv/MBq)
1 (F)	0.024
2 (F)	0.023
3 (M)	0.019
4 (M)	0.018
Promedio $\pm$ SD	$0.021 \pm 0.003$

El promedio de las dosis efectivas por unidad de actividad administrada obtenido de los 4 voluntarios es de  $0.021 \pm 0.003$  mSv/MBq para  $^{68}\text{Ga-DOTA-UBI}$ , este valor es similar a las dosis efectivas publicadas en la literatura para radiofármacos para PET que utilizan este radionúclido como:  $^{68}\text{Ga-DOTA-TOC}$  con 0.023 mSv/MBq [44] y  $^{68}\text{Ga-DOTA-TATE}$  con 0.021 mSv/MBq [45].

## Comparación de dosis interna de radiación de $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-UBI con otros radiofármacos para inflamación-infección

El presente trabajo es el primer estudio de dosimetría interna de radiación con  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-UBI. Se encontró que la dosis efectiva por unidad de actividad administrada es ligeramente mayor en mujeres que en hombres. Las dosis absorbidas en los riñones y vejiga fueron altas en comparación con los demás órganos, siendo la pared de la vejiga urinaria el órgano crítico, además la dosis efectiva promedio estimada fue de  $3.9 \pm 0.6$  mSv para una actividad inyectada de 185 MBq.

A continuación se muestran tabulados algunos de los principales radiofármacos utilizados en diagnóstico de inflamación-infección con las respectivas dosis absorbidas en los órganos críticos y la dosis efectiva para una determinada actividad inyectada.

Tabla 5.8: Dosis absorbidas a órganos críticos y dosis efectiva para algunos radiofármacos de inflamación-infección en comparación con  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-UBI [46] [21].

Radiofármaco	Actividad típica (MBq)	Órganos críticos	Dosis absorbida por órgano crítico (mGy)	Dosis efectiva (mSv)
$^{67}\text{Ga}$ -Citrato	185	Superficie huesos Médula roja	38.9 29.6	18.5
$^{18}\text{F}$ -FDG	370	Pared vejiga Corazón	22.9 10.4	7.1
$^{111}\text{In}$ -WBC	18.5	Bazo Hígado	13.1 9.6	6.7
$^{99m}\text{Tc}$ -(HMPAO) leucocitos	270	Bazo	40.5	4.6
$^{99m}\text{Tc}$ -UBI	647	Riñones	$84.8 \pm 25.8$	$2.8 \pm 0.6$
$^{68}\text{Ga}$ -DOTA-UBI (este trabajo)	185	Pared vejiga Riñones	$38.7 \pm 5.4$ $10.7 \pm 7.3$	$3.9 \pm 0.6$

De la tabla podemos ver que  $^{67}\text{Ga}$ -Citrato es el radiofármaco con el que la dosis efectiva al paciente es mayor, y los dos tejidos críticos son radiosensibles y sobrepasan el límite establecido por la Food and Drug Administration. Por otra parte, aunque FDG muestra una dosis efectiva baja y no tiene altas dosis absorbidas en órganos radiosensibles, su uso para detectar lesiones con inflamación-infección es muy limitado. Tanto

$^{99m}\text{Tc}$ -(HMPAO) como  $^{111}\text{In}$ -WBC son radiofármacos para infección con relativamente bajas dosis efectivas, sin embargo, el proceso que involucra su producción y posterior administración al paciente lo hace largo, algo costoso e incómodo para el paciente.

### **$^{68}\text{Ga}$ -DOTA-UBI vs $^{99m}\text{Tc}$ -UBI**

$^{99m}\text{Tc}$ -UBI es un radiofármaco para SPECT con muchas similitudes con  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-UBI. Este ha demostrado ser rápido y fácil de producir, es bien tolerado por los pacientes sin ocasionar efectos tóxicos, además de presentar una alta estabilidad y una biodistribución con rápida eliminación renal. La dosis efectiva también es muy favorable llegando a ser un poco menor a  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-UBI, sin embargo la dosis absorbida al órgano crítico que es el riñón ( $84.8 \pm 25.8$  mSv) excede significativamente el límite permitido que es de 50 mSv (tabla 5.8).

Estos dos radiofármacos a diferencia de los anteriores sí son específicos para detectar lesiones donde existan focos infecciosos y para poder discriminar aquellas lesiones donde se lleven a cabo procesos inflamatorios estériles. Puesto que, tanto  $^{99m}\text{Tc}$  como  $^{68}\text{Ga}$  utilizan el mismo fragmento del péptido catiónico antimicrobiano Ubiquicidina, es de esperar que los resultados de ambos sean bastante parecidos en cuanto a una alta sensibilidad y especificidad por este tipo de lesiones, entonces:

¿Que diferencia a  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-UBI de  $^{99m}\text{Tc}$ -UBI?

La técnica de imagen en medicina nuclear PET permite diagnósticos cuantitativos gracias a la capacidad de detectar y grabar un alto porcentaje de los eventos emitidos. Esta capacidad se debe a la emisión de los dos fotones de aniquilación de un mismo evento lo que permite prescindir de colimadores físicos y en su lugar utilizar colimación electrónica lo que significa poder tener una alta sensibilidad de detección (entre 100 y 1000 veces mayor a SPECT) y realizar estudios con [47]:

- \* Alta calidad de imagen.
- \* Reducción del tiempo del estudio.
- \* Capacidad de realizar estudios con diferentes campos de vista.

## $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-UBI en pacientes

Como parte final de este trabajo que inició con la producción de este nuevo radiofármaco para PET específico de procesos infecciosos, se realizó un estudio en una paciente.

La figura 5.15 muestra una imagen MIP de cuerpo entero de una paciente inyectada con  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-UBI, el estudio fue realizado en el Instituto Nacional de Cancerología (INCan) a una paciente diagnosticada con osteosarcoma.

Este padecimiento llamado también cáncer óseo se presenta mayormente en los huesos tubulares largos (fémur, tibia, húmero).

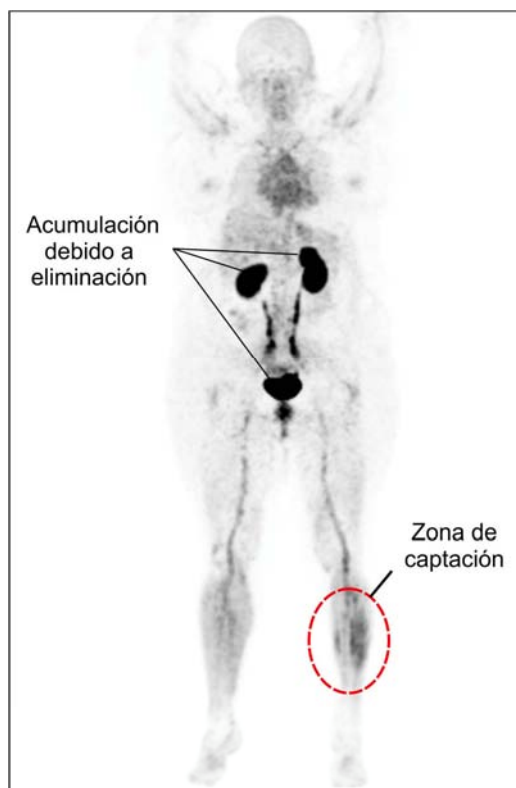


Figura 5.15: Paciente inyectado con  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-UBI.

La justificación para inyectar  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-UBI en la paciente es que el médico encargado presume la existencia de un proceso infeccioso, por lo que esta paciente es candidata idónea para la prueba.

La figura 5.16 muestra dos imágenes:, es evidente la captación de  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-UBI en los tejidos de la pierna derecha, mostrando un claro contraste con los tejidos de la pierna

izquierda. Para corroborar la presencia de infección en la zona seleccionada, se realizó un examen de laboratorio para verificar la presencia de bacterias u otros microorganismos, los resultados dieron positivo para staphilococcus epidermis.

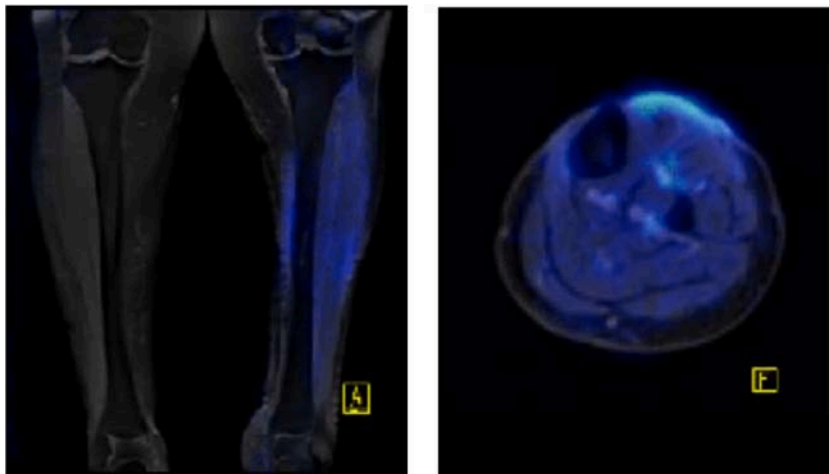


Figura 5.16: Imágenes PET fusionadas con imágenes de resonancia magnética (PET/RM).

# Capítulo 6

## Conclusiones

El objetivo general de este trabajo fue: preparar, caracterizar, realizar las pruebas preClínicas y de dosimetría del conjugado peptídico [ $^{68}\text{Ga}$ ]Ga-DOTA-UBI como un radiofármaco específico de procesos infecciosos mediante tomografía por emisión de positrones. Los resultados obtenidos muestran que:

1. La caracterización del generador sirvió para la obtención de un eluato con una alta concentración de actividad y para cuantificar la cantidad de  $^{68}\text{Ge}$  como principal impureza radionuclídica, cuyo valor no excede la especificación del fabricante.
2. La preparación de un kit del conjugado DOTA-UBI permitió realizar la producción de [ $^{68}\text{Ga}$ ]Ga-DOTA-UBI de manera fácil y rápida, obteniendo un alto rendimiento en la pureza radioquímica durante cada radiomarcado, incluso después de varios meses desde su elaboración.
3. Con el control de calidad se verificó la alta calidad del producto final, obteniendo en cada una de ellas los valores óptimos para asegurar que el producto inyectado será seguro para pacientes.
4. Los estudios de biodistribución en ratas aportaron información sobre la eliminación del radiofármaco a través de riñones y vejiga. Con el modelo murino de inflamación-infección se comprobó la alta especificidad del radiofármaco para concentrarse en sitios donde existan procesos infecciosos bacterianos y la capacidad de discriminar y no acumularse donde haya lesiones inflamatorias estériles.
5. No existen datos en la literatura sobre el uso de [ $^{68}\text{Ga}$ ]Ga-DOTA-UBI en humanos, por lo que el estudio de la dosis interna de radiación en voluntarios sanos es el primero que se realiza con este radiofármaco. Los resultados muestran que los únicos

órganos donde existe acumulación por eliminación se da en riñones y vejiga, siendo la pared de la vejiga urinaria el órgano crítico. Las dosis absorbidas en los órganos radiosensibles están muy por debajo del límite establecido por la FDA. Por otro lado, la dosis efectiva calculada es similar a otros radiofármacos que utilizan  $^{68}\text{Ga}$  como radiotrazador, y al compararlo con valores de dosis efectiva de otros radiofármacos utilizados en inflamación-infección, resulta ser, de los que contribuyen con la dosis efectiva más baja.

Con el desarrollo de este nuevo radiofármaco con alta especificidad para detectar infecciones bacterianas se podrán realizar estudios en pacientes mediante PET, una técnica en medicina nuclear con una alta sensibilidad y capaz de obtener imágenes de alta calidad, para el diagnóstico específico de estas lesiones, además, se hará de forma segura puesto que los resultados de los cálculos de dosis de radiación están acorde a los límites establecidos para garantizar la seguridad de las personas durante estudios en medicina nuclear.



# Referencias

- [1] WORLD HEALTH ORGANIZATION. 2014. *World health statistics*. World Health Organization.
- [2] VELÁZQUEZ, M. M. 2005. *Surgimiento y diseminación de Staphylococcus aureus meticilinorresistente*. Salud pública de México, 47(5), 381-387.
- [3] VELIKYAN, I. 2014. *Prospective of 68Ga-radiopharmaceutical development.*, Theragnostics, 4(1), 47.
- [4] CHERRY, S. R., SORENSON, J. A., y PHELPS, M. E. 2012. *Physics in nuclear medicine*, Elsevier Health Sciences.
- [5] KOWALSKY, R. J. y FALEN, S. W. 2004. *Radiopharmaceuticals in Nuclear Pharmacy and Nuclear Medicine*. American Pharmacist Association DC, 471-475.
- [6] WELCH, M. J. y REDVANLY, C. S., *Handbook of radiopharmaceuticals. Radiochemistry and Applications*, Wiley, 3.
- [7] FERRO, F. G., ARTEAGA, M. C. y MELÉNDEZ A. L. 2006. *Third generation radiopharmaceuticals for imaging and targeted therapy*, Current Pharmaceutical Analysis, 2(4), 339-352.
- [8] NEVARES, N. (2004). *Marcación de un péptido antimicrobiano con tecnecio-99m:  $^{99m}\text{Tc} - \text{HYNIC} - \text{UBI29} - 41$  para localización de focos infecciosos (tesis de maestría)*, Universidad Tecnológica Nacional, Facultad Regional, Buenos Aires.
- [9] TÉLLEZ, G. A. y CASTAÑO, J. C. 2010. *Péptidos antimicrobianos*, Infectio, 14(1), 55-67.
- [10] KAHROM, M., BAHAR, M. M., JANGJOO, A., ERFANI, M., SADEGHI, R. y ZAKAVI, S. R. 2014. *Poor sensitivity of  $^{99m}\text{Tc}$ -labeled ubiquicidin scintigraphy in diagnosis of acute appendicitis*, European Surgery, 46(4), 173-176.

- [11] WELLING, M. M., PAULUSMA, A. A., BALTER, H. S., PAUWELS, E. K. y NIBBERING, P. H. 2000. *Technetium-99m labelled antimicrobial peptides discriminate between bacterial infections and sterile inflammations*, European journal of nuclear medicine, 27(3), 292-301.
- [12] AKHTAR, M. S., PAULUSMA, A. IQBAL, J., KHAN, M. A., IRFANULLAH, J.,... y IMRAN, M. B. 2004. *99mTc-labeled antimicrobial peptide ubiquicidin (29-41) accumulates less in Escherichia coli infection than in Staphylococcus aureus infection*, Journal of Nuclear Medicine, 45(5), 849-856.
- [13] MELÉNDEZ A. L., DE MARÍA, R. F., FERRO, F. G., DE MURPHY, C. A., PEDRAZA, L. M. y HNATOWICH, D. J. 2003. *Lys and Arg in UBI: A specific site for a stable Tc-99m complex?*, Nuclear medicine and biology, 30(6), 605-615.
- [14] FERRO, F. G., DE MARÍA, R. F., MELÉNDEZ, A. L., DE MURPHY, C. A. y PEDRAZA, L. M. 2004. *Molecular recognition and stability of 99m Tc-UBI 29-41 based on experimental and semiempirical results.*, Applied radiation and isotopes, 61(6), 1261-1268.
- [15] MELÉNDEZ, A. L., RODRÍGUEZ, C. J., FERRO, F. G., DE MURPHY, C. A., HERRERA, R. R., MITSOURA, E. y MARTÍNEZ, D. C. 2004. *Lys and Arg in UBI: Biokinetics of 99m Tc-UBI 29-41 in humans.*, Nuclear medicine and biology, 31(3), 3735-379.
- [16] ROESCH, F. y J RISS, P. 2010. *The renaissance of the 68Ge/68Ga radionuclide generator initiates new developments in 68Ga radiopharmaceutical chemistry*, Current topics in medicinal chemistry, 10(16), 1633-1668.
- [17] SCHUHMACHER, J. y MAIER, B. W. 1981. *A new 68 Ge/68 Ga radioisotope generator system for production of 68 Ga in dilute HCl*, The International Journal of Applied Radiation and Isotopes, 32(1), 31-36.
- [18] GREENE, M. W. y TUCKER, W. D. 1961. *An improved gallium-68 cow*, The International Journal of Applied Radiation and Isotopes, 12(1), 62-63.
- [19] VELIKYAN, I. , BEYER, G. J. y LÅNGSTRÖM, B. 2004. *Microwave-supported preparation of 68Ga bioconjugates with high specific radioactivity*, Bioconjugate chemistry, 15(3), 554-560.
- [20] HERNÁNDEZ, A., (2009), *Marcaje de ciprofloxacina con 99mTc para el diagnostico de infecciones. Comparación y evaluación preclínica de dos métodos (Tesis de Docto-*

rado), Centro de Investigaciones Clínicas (CIC). Centro Nacional de Investigaciones Científicas (CNIC), Ciudad de la Habana.

- [21] DE MURPHY, C. A., GEMMEL, F. y BALTER, J. 2010. *Clinical trial of specific imaging of infections*, Nuclear medicine communications, 31(8), 726-733.
- [22] CEMBER, H. (1996). *Introduction to Health Physics*, McGraw Hill Professional.
- [23] INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY , (2015), *Nuclear Medicine Physics: A Handbook for Teachers and Students*, International Atomic Energy Agency.
- [24] STABIN, M. G. 1996. *MIRDDOSE: Personal computer software for internal dose assessment in nuclear medicine*, Journal of Nuclear Medicine, (37), 538-46.
- [25] INTERNATIONAL COMMISSION ON RADIOLOGICAL PROTECTION. 1991. *ICRP Publication 60: 1990 Recommendations of the International Commission on Radiological Protection (No. 60)*, Annals of the ICRP.
- [26] STABIN, M. G. y DA LUZ, L. C. 2002. *Decay data for internal and external dose assessment*, Health physics, 83(4), 471-475.
- [27] CRISTY, M. y ECKERMAN, K. F. 1987. *Specific absorbed fractions of energy at various ages from internal photon sources. VI. Newborn*, ORNL/TM-8381, 6.
- [28] ÁVILA, R. M y ALVA, S. H. 2010. *Radiofármacos para PET, Una Nueva Perspectiva de la Medicina Nuclear Molecular en México*, El Residente, 5(3), 103-10.
- [29] LÓPEZ-RODRÍGUEZ, V., GALINDO-SARCO, C., GARCÍA-PÉREZ, F. O., FERRO-FLORES, G., ARRIETA, O. y ÁVILA-RODRÍGUEZ, M. Á. 2015. *PET-Based Human Dosimetry of the Dimeric  $\alpha_v\beta_3$  Integrin Ligand  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-E-[c (RGDFK)]<sub>2</sub>, a Potential Tracer for Imaging Tumor Angiogenesis*, Journal of Nuclear Medicine, jnumed-115.
- [30] ROESCH, F. 2012. *Maturation of a Key Resource—The Germanium-68/Gallium-68 Generator: Development and New Insights*, Current radiopharmaceuticals, 5(3), 202-211.
- [31] PATRASCU, I., NICULAE, D., LUNGU, V., URSU, I., ILIESCU, M., TUTA, C. y ANTOHE, A. 2011. *The purification and the quality control of  $^{68}\text{Ga}$  eluates from  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  generator*, Romanian Reports in Physics, 63(4), 988-996.
- [32] INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. 2006. *Nuclear Medicine Resources Manual*, International Atomic Energy Agency.

- [33] CARO, N., 2006, *Validación de las pruebas de esterilidad por la técnica de filtración por membrana y endotoxinas bacterianas por el método de LAL en 3 productos farmacéuticos (Tesis de Grado)*, Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias, Bogotá D.C.
- [34] CONTRERAS, G., 2014, *Producción y control de calidad del aminoácido L-[<sup>11</sup>C-metil]-metionina para el diagnóstico de gliomas de bajo grado (Tesis de Grado)*, UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO. Facultad de Medicina, México, D.F.
- [35] ALVA, S. H., RODRÍGUEZ, B. C. A., TREJO, B. F., LARA, C. V., ÁVILA, R. M. y ROBLES, D. G. 2012. *Investigación preclínica por microPET en la UNAM*, Revista de la Facultad de Medicina, 2012, 55(3), 292-301.
- [36] BUSTOS, M. J., HAMDAN, P. A. y GUTIÉRREZ, C. M. 2006. *Reemergencia de un patógeno en la comunidad*, Rev Biomed, 17, 287-305.
- [37] BRIX, G., LECHER, U., GLATTING, G., ZIEGLER, S. I., MÜNzing, W., MÜLLER, S. P. y BEYER, T. 2005. *Radiation exposure of patients undergoing whole-body dual-modality <sup>18</sup>F-FDG PET/CT examinations*, Journal of Nuclear Medicine, 46(4), 608-613.
- [38] HUANG, B., LAW, M. W. M y ZAIDI, H. 2009. *Whole-body PET/CT scanning: estimation of radiation dose and cancer risk 1*, Radiology, 251(1), 166-174.
- [39] VALENTIN, J. 2002. *Basic anatomical and physiological data for use in radiological protection: reference values: ICRP Publication 89.*, Annals of the ICRP, 32(3), 1-277.
- [40] ENDRES, C. J., COUGHLIN, J. M., GAGE, K. L., WATKINS, C. C., KASSIOU, M. y POMPER, M. G. 2012. *Radiation dosimetry and biodistribution of the TSPO ligand 11C-DPA-713 in humans*, Journal of Nuclear Medicine, 53(2), 330-335.
- [41] STABIN, M. G. 2008. *Fundamentals of nuclear medicine dosimetry*, Springer Science & Business Media.
- [42] LIN, K. J., WENG, Y. H., WEY, S. P., HSIAO, T., LU, C. S., SKOVRONSKY, D. y YEN, T. C. 2010. *Whole-body biodistribution and radiation dosimetry of 18F-FP-(+)-DTBZ (18F-AV-133): a novel vesicular monoamine transporter 2 imaging agent.*, Journal of Nuclear Medicine, 51(9), 1480-1485.
- [43] FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, *Radioactive Drugs for Certain Research Uses*, Code of Federal Regulations (CFR), 21, 41-89.

- [44] SANDSTRÖM, M., VELIKYAN, I., GARSKE-ROMÁN, U., SÖRENSEN, J., ERIKSSON, B., GRANBERG, D. y LUBBERINK, M. 2013. *Comparative biodistribution and radiation dosimetry of  $^{68}\text{Ga}$ -DOTATOC and  $^{68}\text{Ga}$ -DOTATATE in patients with neuroendocrine tumors*, Journal of Nuclear Medicine, 54(10), 1755-1759.
- [45] HARTMANN, H., ZOPHEL, K., FREUDENBERG, R., OEHME, L., ANDREEFF, M., WUNDERLICH, G. y KOTZERKE, J. 2009. *Radiation exposure of patients during  $^{68}\text{Ga}$ -DOTATOC PET/CT examinations.*, Nuklearmedizin, 48(5), 201.
- [46] BUSHBERG, J. T. y BOONE, J. M. 2011. *The essential physics of medical imaging.*, Lippincott Williams & Wilkins.
- [47] RAHMIM, A. y KHONG, P. L. 2008. *PET versus SPECT: strengths, limitations and challenges*, Nuclear medicine communications, 29(3), 193-207.