



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MÉXICO

---

---

FACULTAD DE CIENCIAS

*”Modelo biocinético y dosimetría  
del citrato de Galio 67 en ratones  
con estrés fisiológico inducido”*

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

FÍSICA

PRESENTA:

**Dulce Yesenia Jaimes Hernández**

Director de tesis:

Dr. en C. Eugenio Torres García



Toluca, México Abril 2018





8.5 Voto Aprobatorio  
Procedimiento de Evaluación Profesional  
Facultad de Ciencias  
Subdirección Académica  
Departamento de Evaluación Profesional

Versión: 1  
Fecha: 19/10/2016

VOTO APROBATORIO

Toda vez que el trabajo de evaluación profesional, ha cumplido con los requisitos normativos y metodológicos, para continuar con los trámites correspondientes que sustentan la evaluación profesional, de acuerdo con los siguientes datos:

Nombre del pasante	Dulce Yesenia Jaimes Hernández				
Licenciatura	Física	N° de cuenta	0712522	Generación	2010-2015
Opción	tesis	Escuela de Procedencia	Facultad de Ciencias		
Nombre del Trabajo para Evaluación Profesional	Modelo biocinético y dosimetría del citrato de Galio 67 en ratones con estrés fisiológico inducido				

NOMBRE		FIRMA DE VOTO APROBATORIO	FECHA
ASESOR	Dr. Eugenio Torres García		14-Oct-2017
COASESOR ASESOR EXTERNO (Sólo si aplica)			

NOMBRE		FIRMA Y FECHA DE RECEPCIÓN DE NOMBRAMIENTO	FIRMA Y FECHA DE ENTREGA DE OBSERVACIONES	FIRMA Y FECHA DEL VOTO APROBATORIO
REVISOR	Dr. Rigoberto Oros Pantoja	19-Oct-2017 	20-Dic-2017 	08-Enero-2018 
REVISOR	Dr. Luis Enrique Díaz Sánchez	19-Oct-2017 	08-Dic-2017 	19-Enero-2018 

Derivado de lo anterior, se le **AUTORIZA LA REPRODUCCIÓN DEL TRABAJO DE EVALUACIÓN PROFESIONAL** de acuerdo con las especificaciones del **anexo 8.7** "Requisitos para la presentación del examen de evaluación profesional".

NOMBRE		FIRMA	FECHA
ÁREA DE EVALUACIÓN PROFESIONAL			



# Dedicatoria

*Dedico este trabajo a Dios,  
por haberme permitido llegar  
a este momento tan importante  
en mi formación profesional.*

*A mi familia,  
principalmente a mis padres  
por haberme apoyado en todo  
momento de mi carrera.*



# Agradecimientos

Doy infinitamente gracias a Dios, por haberme dado fuerza y valor para culminar esta etapa de mi vida.

Agradezco también a mis padres Ariel y Soledad, por ser los pilares de lo que hoy soy, sé que están orgullosos que sin duda alguna en el trayecto de mi vida me han demostrado su amor, corrigiendo mis faltas y celebrando mis triunfos.

A mis hermanos Ivan y Katia, que con sus consejos me han ayudado a afrontar los retos que se me han presentado en mi vida. Katia, gracias por ser tan paciente conmigo, apoyandome en mis tareas, sin dudarlo fuiste mi heroína en todo momento.

A mis primas y primos que siempre creyeron en mi, viviendo momentos de alegría y tristeza, demostrandome que siempre podré contar con ustedes, tenerlos como familia y amigos es una gran bendición. Katia y Stephanie gracias por acompañarme durante mi carrera, teniendo aventuras y siendo amigas de generación. A mis tías y tíos por el apoyo incondicional, demostrandome la gran fe que tienen en mi, tía Elena gracias.

A mis amigos Anita, Jesica, Isahic, Luis, Memo y Roberto, fuimos un gran equipo de trabajo, apoyandonos en tareas, exámenes y desvelos para aprobar materias. Denisse, Fernando, Juan y Katia, amigos de antaño que valoro, afortunada de tenerlos a mi lado.

A mi comité sinodal: Dr. Eugenio Torres García, Dr. Rigoberto Oros Pantoja y Dr. Luis Enrique Díaz Sánchez, por su asesoramiento y apoyo desde el inicio de mi proyecto hasta la realización de la misma.

Gracias al Posgrado en Ciencias con Especialidad en Física Médica de la Facultad de Medicina de la UAEMex, por haberme aceptado y trabajar en

un importante e interesante proyecto que llevé a cabo.

Al Departamento de Medicina Nuclear en el Hospital Oncológico ISSEMyM, en especial al Dr. Neri Obed Hernández y Dra. Claudia Isabel Herrera, agradezco su amabilidad y atención durante mi proyecto.

Gracias a las personas que ayudaron directa e indirectamente en la realización de este proyecto.

# Resumen

El estrés es una reacción que resulta de la exposición a eventos adversos. Es la manera en la que un organismo se enfrenta en un reto y se prepara para actuar ante una situación difícil con enfoque, fortaleza, vigor y agudez mental. En el caso de los humanos se sabe que el estrés provoca la secreción de glucocorticoides, los cuales tienen efectos antiinflamatorios de manera aguda. Sin embargo, se ha reportado de qué manera indirecta, puede promover la producción de radicales libres con el subsecuente desarrollo de daño oxidativo, la secreción de citocinas proinflamatorias, incrementa el metabolismo basal e induce hiperglucemia, prepara algunos tejidos para la expresión de receptores vinculados a rutas de señalización inflamatoria y del metabolismo del hierro. Estos factores a su vez, de manera individual o conjunta pueden provocar el desarrollo de un estado inflamatorio silencioso. Dado que el citrato de  $^{67}\text{Ga}$  es un biomarcador empleado en la localización de procesos infecciosos e inflamatorios, podría determinar las zonas afectadas por el estrés en ratones. Por lo anterior, el objetivo de este trabajo fue construir el modelo biocinético y determinar la dosimetría del  $^{67}\text{Ga}$  en ratones estresados. Se emplearon 23 ratones CD1 para grupo control y 13 para grupo estrés de 10 semanas, formando al Grupo Control (GC) y al Grupo de Estrés (GE). El GE se sometió a estrés por inmovilización durante 14 días; mientras que el GC permaneció en cajas, con alimento y agua en óptimas condiciones, con ciclos de luz de 12/12. A los 14 días, a los dos grupos de ratones se les inyectó por vía peritoneal  $380.24 \pm 49.35 \mu\text{Ci}$  de citrato de  $^{67}\text{Ga}$  y fueron sacrificados a 2, 4, 8, 12, 24, 36, 48, 60 y 72 horas y 24, 26, 48, 60 y 72 h para GE y GC respectivamente. La actividad se registró mediante un activímetro de pozo y se determinó el modelo biocinético. La dosimetría se realizó con el esquema MIRD. Los resultados muestran que la velocidad de depuración en GE es más rápida, esto quiere decir que el mecanismo biológico de un ratón estresado está saturado de hierro, lo que podría resultar en procesos inflamatorios a nivel multiorgánico. Además, se observó un 7% de pérdida de peso en el GE en los 14 días de estrés. La fase de depuración en GC comienza a partir de las 60 horas y del GE la depuración comienza a partir de las 24 horas.



# Índice general

Dedicatoria	I
Agradecimientos	III
Resumen	V
Índice de figuras	XII
Índice de cuadros	XIII
Introducción	1
<b>1. Marco Teórico</b>	<b>3</b>
1.1. Estrés . . . . .	3
1.2. Causas del estrés . . . . .	4
1.3. Efectos del estrés . . . . .	5
1.4. Modelo de estrés . . . . .	5
1.5. Estrés fisiológico . . . . .	6
1.6. Eje Hipotálamo-Hipófisis-Adrenal . . . . .	6
1.7. Hormonas del estrés . . . . .	6
1.7.1. Catecolaminas (CA) . . . . .	7
1.7.2. Glucocorticoides (GCs) . . . . .	7
1.8. Hierro (Fe) . . . . .	10
1.8.1. Metabolismo del hierro . . . . .	10
1.8.2. Compartición del hierro en el organismo . . . . .	11
1.8.3. Necesidad orgánica del hierro en el cuerpo . . . . .	12
1.8.4. Deficiencia de hierro . . . . .	12
1.8.5. Sobrecarga de hierro . . . . .	12
1.9. Radical libre . . . . .	13
1.9.1. Mitocondria y radicales libres . . . . .	13
1.10. Estrés oxidativo . . . . .	14
1.11. Isótopo . . . . .	14

1.11.1. Radioisótopo o radionucleido . . . . .	15
1.12. Características físicas de los radioisótopos . . . . .	15
1.12.1. Radiación alfa ( $\alpha$ ) . . . . .	15
1.12.2. Radiación beta ( $\beta$ ) . . . . .	15
1.12.3. Radiación gama ( $\gamma$ ) . . . . .	16
1.13. Decaimiento radiactivo y vida media . . . . .	16
1.14. Galio (Ga) . . . . .	18
1.14.1. Galio en aplicaciones médicas . . . . .	19
1.14.2. Galio 67 ( $^{67}\text{Ga}$ ) . . . . .	20
1.14.3. Decaimiento del Galio 67 . . . . .	21
1.15. Interacción de la radiación ionizante con la materia . . . . .	21
1.15.1. Procesos de interacción . . . . .	22
1.16. Conotador de pozo . . . . .	23
1.17. Modelo biocinético . . . . .	24
1.17.1. Modelo empírico . . . . .	24
1.17.2. Modelo analítico . . . . .	25
1.17.3. Modelo comportamental . . . . .	26
1.18. Dosimetría . . . . .	27
1.18.1. Esquema MIRD . . . . .	27
1.18.2. Método Monte Carlo . . . . .	28
1.18.3. Código PENELOPE . . . . .	28
1.19. Prueba U de Mann Whitney . . . . .	29
<b>2. Hipótesis</b>	<b>31</b>
<b>3. Objetivos</b>	<b>33</b>
3.1. Objetivo general . . . . .	33
3.2. Objetivos particulares . . . . .	33
<b>4. Metodología</b>	<b>35</b>
4.1. Animales de experimentación . . . . .	35
4.2. Modelo de estrés por inmovilización . . . . .	36
4.3. Medición de peso . . . . .	36
4.4. Obtención de regiones de interés . . . . .	37
4.5. Modelo biocinético . . . . .	40
4.6. Prueba estadística . . . . .	40
4.7. Dosimetría . . . . .	40
<b>5. Resultados</b>	<b>43</b>
5.1. Animales de experimentación . . . . .	43
5.2. Modelo de estrés por inmovilización . . . . .	43

5.3. Medición de peso . . . . .	44
5.4. Obtención de regiones de interés . . . . .	44
5.4.1. Ratones control . . . . .	44
5.4.1.1. Modelo biocinético de ratones control . . . . .	44
5.4.1.2. Dosimetría en ratones control . . . . .	47
5.4.2. Ratones con estrés . . . . .	48
5.4.2.1. Modelo biocinético de ratones con estrés . . . . .	48
5.4.2.2. Dosimetría en ratones con estrés . . . . .	51
5.5. Prueba U de Mann-Whitney . . . . .	52
<b>6. Discusión</b>	<b>53</b>
<b>7. Conclusiones</b>	<b>55</b>
<b>Bibliografía</b>	<b>57</b>



# Índice de figuras

1.1.	<i>Estructura atómica del hierro (Fe).</i>	10
1.2.	<i>Distribución del hierro en el organismo.</i>	11
1.3.	<i>Estructura atómica del galio (Ga).</i>	18
1.4.	<i>Relación de parámetros químicos de los elementos <math>Ga^{3+}</math>, <math>Fe^{3+}</math>, <math>Al^{3+}</math> e <math>In^{3+}</math>.</i>	19
1.5.	<i>Características químicas del <math>^{67}Ga</math>.</i>	20
1.6.	<i>Decaimiento del <math>^{67}Ga</math>, se observa la ramificación del <math>^{67}Ga</math> al estado fundamental de <math>^{67}Zn</math>, [Meyerhof W y cols, 1593].</i>	21
1.7.	<i>Dispersión Compton.</i>	22
1.8.	<i>Efecto fotoeléctrico.</i>	23
1.9.	<i>Contador de pozo. Detector de centelleo de cristal construido con un pozo interno para enviar muestras in vitro.</i>	23
1.10.	<i>Contador de pozo del Hospital Oncológico ISEEMyM, Toluca, Edo. de México.</i>	23
1.11.	<i>Fases de distribución de un radiofármaco.</i>	25
4.1.	<i>Ratones machos CD1, 30-35 gr con una edad de 10-11 semanas.</i>	35
4.2.	<i>Ratones bajo inmovilización.</i>	36
4.3.	<i>Peso de los ratones después de inmovilización.</i>	37
4.4.	<i>Administración del citrato de <math>^{67}Ga</math> por vía intraperitoneal. Hospital Oncológico ISEEMyM, Toluca, Edo. de México.</i>	37
4.5.	<i>Citrato de <math>^{67}Ga</math> solicitado por el ININ.</i>	38
4.6.	<i>Hospital Oncológico, ISSEMyM, Toluca, Edo. de México.</i>	38
4.7.	<i>Órganos de interés, bazo, corazón, hígado, pulmón, riñones y timo.</i>	38
4.8.	<i>Balanza analítica.</i>	39
4.9.	<i>Campana de plomo y contador de pozo del Hospital Oncológico ISEEMyM, Toluca, Edo. de México.</i>	39
4.10.	<i>Introducción de órgano en el contador de pozo (marca: Biodex Medical System, modelo: AtomLab 100 Plus) del Hospital Oncológico ISEEMyM, Toluca, Edo. de México.</i>	39
4.11.	<i>Imágenes de simulación SMC con el código PENELOPE.</i>	40

5.1. <i>Peso en ratones con estrés.</i> . . . . .	44
5.2. <i>Función ajustada del bazo en ratones control.</i> . . . . .	45
5.3. <i>Función ajustada del corazón en ratones control.</i> . . . . .	45
5.4. <i>Función ajustada del hígado en ratones control.</i> . . . . .	45
5.5. <i>Función ajustada del pulmón en ratones control.</i> . . . . .	46
5.6. <i>Función ajustada del riñón en ratones control.</i> . . . . .	46
5.7. <i>Función ajustada del timo en ratones control.</i> . . . . .	46
5.8. <i>Función ajustada de sangre en ratones control.</i> . . . . .	47
5.9. <i>Función ajustada del bazo en ratones con estrés.</i> . . . . .	48
5.10. <i>Función ajustada del corazón en ratones con estrés.</i> . . . . .	49
5.11. <i>Función ajustada del hígado en ratones con estrés.</i> . . . . .	49
5.12. <i>Función ajustada del pulmón en ratones con estrés.</i> . . . . .	49
5.13. <i>Función ajustada del riñón en ratones con estrés.</i> . . . . .	50
5.14. <i>Función ajustada del timo en ratones con estrés.</i> . . . . .	50
5.15. <i>Función ajustada de sangre en ratones con estrés.</i> . . . . .	50

# Índice de cuadros

4.1. Valores $S$ calculados con SMC con el código PENELOPE. . .	41
5.1. Ecuaciones ajustadas del modelo biocinético de ratones control y $R^2$ . . . . .	47
5.2. Dosimetría de ratones control. . . . .	48
5.3. Ecuaciones ajustadas del modelo biocinético de ratones con estrés y $R^2$ . . . . .	51
5.4. Dosimetría de ratones con estrés. . . . .	51
5.5. Prueba $U$ de Mann-Whitney, valores obtenidos para comprobar hipótesis en cada órgano. . . . .	52



# Introducción

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS), el estrés provoca 25 % de los 75 mil infartos registrados en México anualmente; 75 % de los trabajadores mexicanos padecen estrés laboral, por lo que el país se sitúa en primer lugar a nivel mundial; le sigue China con 73 % y Estados Unidos con 59%. El estrés laboral trae como consecuencia aumento en la angustia o irritabilidad, dificultad en la toma de decisiones, cansancio, depresión, intranquilidad, inflamación en los órganos entre otros. La inflamación es una de las respuestas causadas por el estrés, el citrato de  $^{67}\text{Ga}$  es un radiofármaco de emisión  $\gamma$  que detecta zonas inflamadas, siendo un análogo del hierro se puede unir a la transferrina, lactoferrina y sideróforos. Este radiofármaco puede ser cuantificando en un órgano biológico detectando la actividad de depuración. El comportamiento de depuración del radiofármaco en un órgano nos dará un comportamiento exponencial y uno de los parámetros de caracterización del decaimiento nuclear es la vida media, que es el tiempo durante el cual decae la mitad de un número conocido de núcleos radioactivos. Una de las formas de poder cuantificar las cuentas que emite cierto órgano es por medio de un contador de pozo que es un cristal apantallado con un agujero, perforado en el centro donde se puede sostener una muestra en un tubo de ensayo. La biocinética y dosimetría del  $^{67}\text{Ga}$  cambia por efecto del estrés, por lo que este trabajo se enfocará en describir y cuantificar esos cambios.



# Capítulo 1

## Marco Teórico

### 1.1. Estrés

En 1936 Hans Selye definió el estrés como “Estímulos inespecíficos que alteran la homeostasis y producen una respuesta inespecífica” [Unglaub-Silverthorn D., 2009]. Después Mason aportó la definición de “respuesta no específica al estrés”, incluyendo el miedo y la ansiedad como factores principales. Chrousos y Gold en 1992, definieron al estrés como “un estado de desarmonía o amenaza de la homeostasis que provoca una respuesta específica o inespecífica”, proponiendo que cualquier agente estresante puede causar el síndrome del estrés. En 1998 McEwen lo definió como un “estado de amenaza para la homeostasis, durante el cual se activa la respuesta adaptativa compensatoria”, o de una manera más simple, “la respuesta general del organismo ante cualquier estímulo o situación estresante”. Actualmente Goldestein define al estrés, como una condición donde las posibilidades genéticamente programadas, dadas por previo aprendizaje o deducidas por circunstancias, no coinciden con las perspectivas actuales o previstas en el medio interno siendo una desigualdad entre lo que se observa o detecta y lo esperando [Oros-Pantoja R., 2004].

Se clasifican 5 categorías de agentes estresantes.

1. **Estresantes físicos:** Radiación, estresantes químicos, venenos, fármacos, ruido, frío, calor, vibración, inmovilización, dolor.
2. **Estresantes psicológicos:** Procesos emocionales, cambios de comportamiento como miedo, ansiedad, frustración. En animales, inmovilización, restricción de movimientos, manipulación.

3. **Estresantes sociales:** Alteraciones del individuo, laboral, económico, familiar, dominancia (en animales).
4. **Estresantes que modifican la homeostasis metabólica o cardiovascular:** Hipoglicemia, hemorragia, ortostasis, inclinación vertical, ejercicio.
5. **Estresantes biológicos:** Agentes infecciosos.

Dependiendo del tiempo de duración, se clasifican en:

- **Estrés agudo.** Cualquier fuerza tiende a alterar la homeostasis, cuando se prolonga por un periodo de horas o días, pero de baja magnitud como una situación laboral, crisis económica, y tiene como consecuencia infección, dolor, temperaturas extremas [Dvorkin M. y cols, 2010], hipotermia, hipoglucemia, trauma emocional [Michael J., 2012].
- **Estrés crónico.** Cuando existe una acumulación de episodios de estrés por un periodo de horas a días o meses, esto provoca a largo plazo cambios permanentes en el emocional, fisiológico, y en el comportamiento que influyen en la enfermedad [Unglaub-Silverthorn D., 2009].

Se mencionan tres fases del estrés, **1)** Alarma (preparan al individuo para la lucha o la huida), **2)** Resistencia (toman papel importante los glucocorticoides) y finalmente **3)** Agotamiento (prolongación del estímulo) [Dvorkin M. y cols, 2010].

Hay dos números de agentes estresantes [Oros-Pantoja R., 2004]:

1. **Homotípicos:** Solo se trabaja con un solo agente estresante.
2. **Heterotípico:** Se trabaja con dos o más agentes estresantes.

## 1.2. Causas del estrés

Sucesos de la vida cotidiana como presiones de tiempo, situaciones incómodas en el trabajo, problemas económicos, de salud, en el hogar, accidentes, violencia, etc. elevan el estrés en las actividades de los sistemas fisiológicos, causando en primer plano sentimientos de ansiedad y frustración, dando como respuesta una “lucha o huida”. Sterling y Eyer introdujeron el término “alostasis” definiendo que es el proceso activo por el cual el cuerpo responde a los acontecimientos cotidianos y mantiene a la homeostasis. Cuando existe un

estrés a corto plazo (estrés agudo), las hormonas que están relacionadas con el estrés y la carga alostática se encargan de mantener el cuerpo estable pero si el cuerpo empieza a tener un exceso de estrés a largo plazo (estrés crónico), el cuerpo empieza a tener una “carga o sobrecarga alostática” [McEwen B. 1998].

### 1.3. Efectos del estrés

El estrés genera cambios en nuestro cuerpo, considerando que las respuestas son neuroquímicas y neuroendocrinas tratando de llegar a una adaptación, pero el cerebro tiende al cambio bajo condiciones de estrés repentinos como cambios en la conducta motora, disminución de las conductas apetitiva y sexual, factores de riesgo cardiovasculares como la depresión, adicción al tabaco, obesidad, sedentarismo. Disminución de secreción acida gástrica [Dvorkin M. y cols, 2010, Yoshifumi W. y cols, 1992]. También úlceras de estrés que son generadas por una hemorragia digestiva, algún estresor que afecte la estabilidad del sistema que sea un fenómeno inmunológico se denomina estrés inflamatorio. Los factores de estrés psicosociales que están relacionados con trastornos de ansiedad generan mayor excitación autónoma a través del eje hipotálamo-hipófisis, lo que aumenta las catecolaminas en la glándula suprarrenal. Durante un tiempo prolongado, la inflamación se convierte en crónica y la inflamación puede detonar el desarrollo de enfermedades [Sánchez P. y cols, 2008].

Como el estrés eleva los glucocorticoides, puede existir un daño neuronal en el hipocampo, si lo relacionamos con el estrés social y la pérdida de neuronas del hipocampo [Yoshifumi W. y cols, 1992, Player M. y Peterson L., 2011].

Desorden del sistema nervioso autónomo, endocrino e inmune dan respuesta inflamatoria.

### 1.4. Modelo de estrés

El estrés está basado en dos modelos: modelo psicológico y fisiológico. El primero refiere a cuando el cuerpo hace un sobre esfuerzo para controlar la situación, los factores estresantes son interpretados por el cerebro y se modula a través de la experiencia y las expectativas de la persona [Unglaub-Silverthorn D., 2009] y el segundo se describe con detalle dado que es la causa de estudio de este protocolo.

## 1.5. Estrés fisiológico

El estrés es una respuesta que de manera crónica afecta al sistema inmunitario, se da por activación del eje hipotalámico-hipófisis-glándula adrenal o por medio sistema nervioso simpático. Para saber cómo se altera el sistema nervioso y cómo afecta al sistema inmunológico, se estudiara como un sistema de retroalimentación que está relacionado con diferentes sustancias humorales, captadas por sensores; después, sistemas aferentes que llevan la información a centros donde se integra y finalmente a sistemas efectores que son los que darán la respuesta a estos estímulos. El cuerpo reacciona al estrés primero liberando las hormonas de catecolaminas (p/ej adrenalina, noradrenalina) y las hormonas glucocorticoides (p/ej cortisol, corticosterona).

## 1.6. Eje Hipotálamo-Hipófisis-Adrenal

El hipotálamo se encuentra en la zona central de la base del cerebro, recibe y controla información del ambiente, trabajando a la par con el sistema nervioso central, autónomo y endócrino. Principalmente, recibe información visual, olfativa, auditiva y sensitiva.

Una de las funciones del hipotálamo es controlar la secreción de hormonas hipofisarias y acciones involuntarias por medio del Sistema Nervioso Autónomo (SNA). En el núcleo paraventricular del hipotálamo se secreta la hormona corticotropina (CRH) a través del sistema portahipofisario, en respuesta, en la hipófisis anterior se secreta la hormona adrenocorticotrófica (ACTH) donde circula y se une a receptores en la corteza suprarrenal, liberando cortisol (en humanos) y corticosterona (en roedores). Durante el estrés se trabaja una sobreestimulación hipotalámica, provocando hipersecreción hormonal.

Algunas situaciones de estrés como la hipoglicemia, procesos inflamatorios, fiebre, trauma, ejercicio intenso, cirugía y problemas emocionales pueden activar el sistema del estrés, que está conformado por el eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal (HPA) y el Sistema Simpático Adrenomedular, controladas por señales límbicas, circadianas, neurosensoriales y hormonales.

## 1.7. Hormonas del estrés

Las hormonas que se secretan por el estrés, son las catecolaminas que activan el Sistema Nervioso Simpático y glucocorticoides activando el eje

hipotálamo-hipófisis-suprarrenal.

### 1.7.1. Catecolaminas (CA)

Son hormonas metabotrópicas, secretadas en la médula de la glándula suprarrenal. Agentes estresantes físicos provocan la estimulación de nervios simpáticos, transmitiendo por circulación sanguínea la liberación de catecolaminas.

Las reacciones de lucha o huida generadas por estímulos estresantes activan la adrenalina y noradrenalina. La secreción de adrenalina incrementa en situaciones de estrés físico, cólera y conductas de alto riesgo. La noradrenalina trabaja cuando hay estímulos psíquicos como ansiedad, miedo y angustia.

Los efectos que pueden provocar esta secreción de hormonas son inmediatos o tardíos, cuando es inmediato, existe una reacción de alarma, dando como resultado un aumento de gasto cardíaco y resistencias periféricas, también presión arterial, dilatación pupilar e incremento de la fuerza y flujo sanguíneo en músculos activos. En un efecto tardío, se trabaja cuando se presenta a nivel del metabolismo tisular, por ejemplo: la lipólisis, la glucogenólisis hepática y muscular con hiperglicemia.

Las CA trabajan a través de receptores adrenérgicos en la superficie de las células, los receptores laboran con las proteínas G, dividiendo en dos subgrupos: Receptores ( $\alpha$  y  $\beta$ ). Los receptores  $\beta_2$ , son indispensables para el sistema inmunitario, tienen 7 dominios transmembrana presentes en varios tipos celulares como macrófagos y células. Se activación del  $\beta_2$  provoca señalización citoplasmática, activando adenilato ciclasa y esta va a catalizar la síntesis de cAMP provocando la activación de la proteína cinasa A (PKA). La activación de Adenosín monofosfato cíclico (cAMP) provoca la fosforilación de factores de transcripción (CREB). CREB incita la transcripción basal de genes, activando la respuesta a cAMP, partiendo de elementos conservados, identificando en la región promotora de varios genes como el de la interleucina 6 (IL-6). Tomando en cuenta lo anterior, la secreción de CA durante el estrés, puede provocar la expresión de varios genes relacionados con la respuesta inmunitaria.

### 1.7.2. Glucocorticoides (GCs)

Estímulos estresantes activan la secreción de CRH en el hipotálamo, generando secreción de ACTH en la hipófisis anterior, regulando la actividad

de células adrenocorticales en la glándula suprarrenal, en la zona glomerular y fascicular. En especial, la zona fascicular, la ACTH estimula la selección de cortisol (en humanos) y corticosterona (en roedores). El aumento de secreción de cortisol, provoca hiperplasia de las células que trae como consecuencia hipertrofia de la glándula suprarrenal.

Los GCs son moléculas liposolubles que pueden atravesar la membrana de la célula uniéndose a sus receptores localizados en el citoplasma o quedarse en la membrana celular.

Los GCs intracelulares pueden provocar efectos lentos tomando la vía genómica y rápidos relacionados con la vía no genómica. La estructura de los GCs contienen un dominio N-terminal o de transactivación, un dominio de unión a ADN (dedos de zinc) y un dominio C-terminal de unión ligado. Dependiendo del tiempo, el mecanismo lento se trabaja de tres maneras:

1. Segundos a minutos. Hay difusión de GCs a través de las membranas celulares.
2. 10 a 30 minutos. Translocación nuclear del ligado-receptor, se transloca el núcleo y se une a sitios específicos del ADN, regulando la síntesis de RNA.
3. 5 a 120 minutos. Unión de homodímeros y la activación de genes blanco para transactivación o transrepresión.

Durante el mecanismo rápido ocurren en cuestión de segundos o minutos, se utiliza receptores y vías de señalización parecidas a las que utilizan las proteínas G, se sugieren tres sitios efectores:

1. Interacción no específica con la membrana celular.
2. Interacción específica con receptores de membrana.
3. Interacción con receptores citosólicos.

El incremento de cortisol daña el metabolismo de los carbohidratos, lípidos y proteínas, alteran funciones vitales como reacciones inflamatorias e inmunomoduladoras. En forma general, el aumento de GCs afecta el sistema inmunitario, por los receptores que trabajan relacionado con este sistema, los efectos inmunosupresores se relacionan con el tejido linfoide, alteraciones sobre la respuesta inflamatoria y sobre la inmunidad celular y humoral

[Oros-Pantoja R., 2004].

Los GCs actúan sobre receptores citoplasmáticos, mientras que las CA sobre receptores adrenérgicos transmembranales. De manera inicial se sabe que estas hormonas inhiben la secreción de citocinas proinflamatorias. Sin embargo de manera crónica, factores como: el estrés laboral, agotamiento, nivel bajo socioeconómico, evento de la vida, falta de apoyo social, la soledad, etc. Se sabe que incrementan la producción de citocinas proinflamatorias. En este sentido, la respuesta inflamatoria puede tiempo dependiente de acuerdo a la cronicidad del estrés y se puede clasificar en tres etapas.

- **Etapla inicial:** El estrés crónico regulariza las citocinas antiinflamatorias y regula negativamente las citocinas proinflamatorias.
- **Etapla intermedia:** Existe fatiga en el eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal (HPA) por lo que los receptores de glucocorticoides empiezan a regularizarse negativamente y el cortisol en el sistema inmune empieza a disminuir.
- **Etapla final:** La resistencia de los glucocorticoides en el eje HPA hace que las citocinas proinflamatorias aumenten por lo que induce a tener una respuesta inflamatoria [Tian R. y cols, 2014].

Los estímulos pueden iniciados por lesiones intracerebrales o extracerebrales, como es el factor de necrosis tumoral alfa o el interferón  $\gamma$  debido a la liberación de factores inflamatorios o citocinas. Las sustancias actúan en el sistema nervioso por vía humoral o por el nervio vago, vía nerviosa.

En regiones del sistema nervioso central se procesa esta información (humoral o nerviosa) y se distribuye al encéfalo, a través de los llamados órganos circunventriculares y el hipotálamo. Por otro lado se sabe que existe una comunicación estrecha entre el sistema nervioso y el sistema inmunitario. Esta comunicación bidireccional se da cuando las citocinas liberadas por macrófagos o linfocitos son captadas por receptores específicos en el sistema nervioso. Una vez procesada la información enviada por el sistema inmunitario, el eje hipotálamo-hipófisis-adrenal, el sistema simpático y parasimpático, se encargan de efectuar la respuesta del estrés, mediante la secreción de corticoides y mediadores adrenérgicos o colinérgicos a los órganos o células linfoides. Por tanto, las células inmunitarias aumentan o disminuyen la liberación de citocinas, las cuales son captadas por neuronas encefálicas [Dvorkin M. y cols, 2010].

Dentro de los efectos adversos del estrés, la secreción de hormonas puede provocar ansiedad, efectos cardiovasculares, depresión, así como alteraciones sobre el metabolismo de hierro y las consecuencias subsecuentes.

## 1.8. Hierro (Fe)

Características químicas del hierro (Fe):

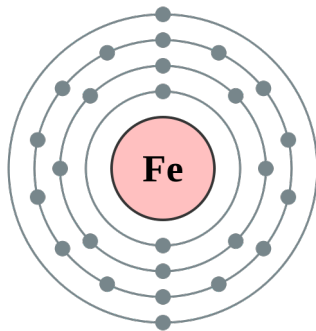


Figura 1.1: *Estructura atómica del hierro (Fe).*

- Es un metal de transición, ubicado en el grupo BVIII de la tabla periódica
- Número atómico: 26
- Estados de oxidación: +2, +3
- Peso atómico  $\approx$  26 u
- Se encuentra en el orbital: d
- Configuración electrónica:  
 $1s^2 2s^2 2p^6 3s^2 3p^6 4s^2 3d^6$
- Electronegatividad: 1.83 (escala de Pauling)

### 1.8.1. Metabolismo del hierro

El hierro es un elemento esencial para la vida que interviene en procesos biológicos y bioquímicos [Forrellat-Barrios M. y cols, 2000, Neison D. y cols, 2009].

Funciones químicas donde interviene el hierro en el hombre son:

- En casi todos los procesos de oxidación-reducción.
- Formación de complejos de coordinación.

Funciones biológicas donde está intervenido el hierro en el hombre son:

1. **Funcional:** formado por los numerosos compuestos como hemoglobina, transferrina y enzimas.
2. **Depósito:** como reservas corporales del metal en la ferritina y hemosiderina.

### 1.8.2. Compartición del hierro en el organismo

En la mujer, el contenido total de hierro es aproximadamente del 3.5-4gr y en el hombre del 4-5 gr aproximadamente, el 65 % de hierro se encuentra en la hemoglobina, 10 % en la mioglobina, 5 % en enzimas (catalasas, peroxidadas y citocromos) , 20 % como hierro de depósito (ferritina y hemosiderina) y el 0.1, 0.2 % unido a la transferrina [Forrellat-Barrios M. y cols, 2000].

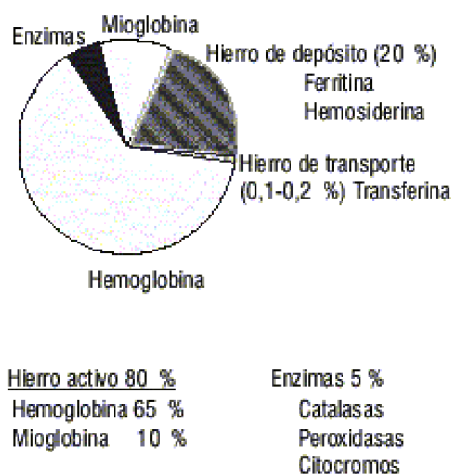


Figura 1.2: *Distribución del hierro en el organismo.*

El ciclo de hierro en el organismo se clasifica en tres compartimentos [Forrellat-Barrios M. y cols, 2000, Cascante-Burgos V., 1999]:

1. **TRANSPORTE DE HIERRO** El transporte de hierro es por medio de la transferrina, que es una glicoproteína, se sintetiza en el hígado, posee 2 dominios homólogos de unión para el hierro férrico ( $Fe^{3+}$ ).

La apotransferrina es un proteína que no contiene hierro, al unirse con el hierro se genera la transferrina. La unión de la apotransferrina con un átomo de hierro se llama: monoférrica, la unión con dos átomos: diférrica y cuando todos los sitios de transporte están saturados se llama: transferrina saturada, cuando toda la transferrina esté saturada, el hierro que se absorbe no es fijado y se deposita en el hígado y tiene una vida media de 8 a 10 días.

2. **CAPTACIÓN CELULAR** Las células y tejidos por medio de receptores, absorben la transferrina de acuerdo a sus necesidades. El 70 y 90 % de

tranferrina es captado por los eritoblastos que son células eritropoyéticas que es el proceso mediante el cual se forman eritrocitos (glóbulos rojos) y el resto es captado por tejidos para la síntesis de citocromos, mioglobina, peroxidasas y otras proteínas que lo requieren como cofactor. La máxima captación de tranferrina se encuentra en las células eritropoyéticas donde el hierro es captado por las mitocondrias para ser incluido en las células protoporfirinas en la síntesis del grupo hemo.

3. **DEPÓSITOS** La ferritina y la hemosiderina se depositan intracelularmente, principalmente en el SER del bazo, el hígado y la médula ósea. Para la utilización posterior en la síntesis de proteínas y enzimas. Una molécula de ferritina puede contener hasta 4 500 átomos de hierro.

### 1.8.3. Necesidad orgánica del hierro en el cuerpo

En promedio, el consumo diario de hierro en el humano es de 1 miligramo para reponer las pérdidas fisiológicas [Cascante-Burgos V., 1999].

### 1.8.4. Deficiencia de hierro

El problema principal de la deficiencia de hierro es el síndrome anémico y falta de oxigenación en el cuerpo. Algunos de sus síntomas son: palidez, mareos, taquicardia y debilidad. Entre otros:

- Alteración de conducta: generando un aumento de secreción de catecolaminas.
- Aumento en la absorción de metales pesados tóxicos.
- Disminución en la respuesta inmune en linfocitos y neutrófilos.
- Aumento de sensibilidad al frío.

La anemia en un trastorno crónico (ATC) existe una relación entre procesos de inflamación e infección y tumorales. En ATC existirá una alteración en el metabolismo del hierro y en las células eritropoyesis, causando una eritropoyesis deficiente de hierro.

### 1.8.5. Sobrecarga de hierro

La sobrecarga de hierro puede ser provocada por varias causas como:

- Incremento en la absorción.

- Alto contenido en dieta de hierro.
- Transfusiones de sangre repetidas.

Al tener una sobrecarga, se genera hierro libre, dañando a estructuras celulares de manera toxica sufriendo oxidaciones y daño por radicales libres. Influidando en dos factores la sobrecarga de hierro:

1. Velocidad del hierro: aumentando la beta talasemia y disminuyendo la hemocromatosis hereditaria.
2. Afectando células parénquima: sensible a la sobrecarga de hierro en el macrófago.

## 1.9. Radical libre

Son aquellas moléculas que en su estructura atómica tienen un electrón desapareado o impar en su último orbital generando una alta inestabilidad siendo reactivo y con una vida muy pequeña. Estos radicales libres tienen la capacidad de combinarse con facilidad en diversas moléculas como: carbohidratos, lípidos, proteínas, ácidos nucleicos y derivados de cada uno de ellos.

El oxígeno molecular ( $O_2$ ) es birradical, o sea, tiene 2 electrones no apareados en su último orbital, evitando la captación de 2 electrones simultáneamente en las reacciones que interviene. El  $O_2$  solo puede aceptar los electrones de uno en uno, interviniendo en reacciones univalentes.

### 1.9.1. Mitocondria y radicales libres

La mitocondria es la fuente principal de radicales libres. Este fenómeno se gestiona a nivel de la cadena de transporte de electrones, última etapa de producción de protones de alta energía generando un gradiente eléctrico que aporta energía necesaria para formar la adenosina trifosfato (ATP) por medio de la membrana interna mitocondrial.

En este proceso (fosforilación oxidativa) el oxígeno responde como aceptor de electrones, obteniendo un total de 4 electrones de moléculas con producción de 2 moléculas de agua. Se pueden generar diferentes grados de oxidaciones, esto dependiendo de los nutrientes iniciales y el gradiente eléctrico al final del proceso, pudiendo dar 1 ó 2 electrones al oxígeno y producir radicales libres.

En los leucocitos (glóbulos blancos) tienen en su membrana la enzima NADPH oxidasa generadora de  $O_2$  haciéndose altamente tóxico cuando hay contacto con el hierro. Siento una de las causas de procesos inflamatorios [Rodríguez-Perón J.M, y cols, 2001].

## 1.10. Estrés oxidativo

Agentes físicos y químicos en el organismo pueden provocar oxidación en tejidos y células, generando estrés oxidativo; radicales de oxígeno en exceso que producen las células y provocando su propia muerte.

Cuando no está controlado el mecanismo de defensa como los antioxidantes: tioles, vitaminas C y E y catecolaminas reducidos o enzimas: catalasa peroxidasa y superóxido dismutasa, SOD produce daño en las proteínas, lípidos y ADN. El estrés oxidativo puede dar resultado a [Gagné F., 2014]:

1. Presencia de xenobióticos.
2. Activación del sistema inmune en respuesta a microorganismos invasores (inflamación).
3. Radiación.

Dado que el estrés ejerce importantes efectos sobre el metabolismo y el estado inflamatorio, la biodistribución del hierro podría resultar afectada, dada su estrecha participación en estos procesos. En el estudio de su farmacocinética y su farmacodinamia, podrían ser evaluados mediante herramientas diagnósticas bioquímicas, por estudio histopatológico, moleculares, de imagen y por medicina nuclear mediante el empleo de radiofármacos [Pérez-Gastell P.L., 2000].

## 1.11. Isótopo

Isótopos, del griego *ισος τόπος* (isos topos) que significa "mismo lugar", se definen como átomos de un mismo elemento con la misma cantidad de protones pero distinta cantidad de neutrones, es decir, distinta masa atómica ( $A$ ),  $A = Z + N$ .

Dónde  
 $Z$  = Número de protones en el núcleo, también conocido como el número de

carga

$N$  = Número de neutrones en el núcleo

Existen dos tipos de Isótopos, los estables y los inestables (radioisótopos). Los isótopos estables son más abundantes en la naturaleza, los isotopos inestables o radioisótopos son menos abundantes y se caracterizan por ser radiactivos [Serway R. y cols, 2009, Bailey D. y cols, 2014].

### 1.11.1. Radioisótopo o radionucleido

Un radioisótopo es un átomo radiactivo que decae por emisión de partículas radiactivas  $\alpha$ ,  $\beta$ , y/o  $\gamma$ , llegando a un estado estable.

Cuando un radioisótopo entra en el cuerpo, el comportamiento interno dependerá de factores físicos y químicos del radioisótopo [Bailey D y cols, 2014].

## 1.12. Características físicas de los radioisótopos

### 1.12.1. Radiación alfa ( $\alpha$ )

Una partícula  $\alpha$ , tiene la misma composición de un núcleo de Helio, dos neutrones y dos protones y se presenta como una carga positiva. La emisión de un núcleo de helio se denomina radiación alfa, es decir, un núcleo padre radiactivo P se desintegra en un núcleo hija D más estable mediante la expulsión de una partícula  $\alpha$  enérgica. Por ejemplo, el elemento Uranio 238 y tiene un número atómico de 92, emite una partícula  $\alpha$  dando como resultado al Torio 234 con número atómico de 90. Las partículas alfa apenas pueden penetrar una hoja de papel. [Powsner R y cols, 1998, Bailey D y cols, 2014, Serway R y cols, 2009].

### 1.12.2. Radiación beta ( $\beta$ )

Radiación  $\beta^-$ : En este tipo de desintegración, se emite desde el núcleo un electrón ( $e^-$ ) junto con una partícula que lleva la energía ausente de la reacción llamada antineutrino, en el núcleo un neutrón se convierte en un protón.

Radiación  $\beta^+$ : En el núcleo, un protón se convierte en un neutrón y emite un positrón ( $e^+$ ), el positrón encuentra fácilmente un  $e^-$  y se aniquilan emitiendo dos rayos gamma. Este tipo de radiación es más penetrable que la

radiación  $\alpha$ , penetran unos cuantos milímetros de aluminio también pueden ser frenadas por metros de aire o unos centímetros de agua [Powsner R y cols, 1998, Serway R y cols, 2009].

### 1.12.3. Radiación gama ( $\gamma$ )

Un rayo  $\gamma$  es un fotón (energía) emitido por la excitación de un núcleo. Estos fotones tienen una energía muy alta comparada con la energía emitida por la luz visible. La radiación gamma es comúnmente el resultado de un núcleo excitado después de haber sufrido un decaimiento alfa o beta y pueden penetrar varios centímetros de plomo [Powsner R y cols, 1998, Serway R y cols, 2009, Khan F y cols, 1994].

## 1.13. Decaimiento radiactivo y vida media

Para poder describir de manera matemática el proceso de decaimiento, se necesita de algunos cálculos estadísticos. Partiendo del número de núcleos radiactivos ( $N$ ) sin decaimiento radiactivos presentes en un momento determinado [Serway R y cols, 2009, Herbert-Attix F, 1986, Khan F y cols, 1994].

$$\frac{dN}{dt} = -\lambda N \quad (1.1)$$

Donde,  $\lambda$  es la constante de decaimiento, la probabilidad de decaimiento por cada núcleo por cada segundo.

$\frac{-dN}{N}$  es negativo, porque  $N$  se va reduciendo en el transcurso del camino.

$$\frac{dN}{N} = -\lambda N \quad (1.2)$$

Integrando por separación de variables, donde  $N = N_0$ , cuando  $t = 0$ , tomando  $t = 0$  cuando la cantidad de núcleos radiactivos aun no decaen.

entonces

$$\int_{N_0}^N \frac{dN}{N} = - \int_0^t \lambda dt \quad (1.3)$$

$$\ln N - \ln N_0 = -\lambda (t - 0) \quad (1.4)$$

$$\text{Ln} \left( \frac{N}{N_0} \right) = -\lambda t \quad (1.5)$$

$$N = N_0 e^{-\lambda t} \quad (1.6)$$

Esta ecuación describe el comportamiento exponencial del número de núcleos sin decaer.

También existe otro parámetro como caracterización del decaimiento nuclear, es la vida media  $T_{\frac{1}{2}}$ .

**Definición:**

Vida media: de una sustancia radioactiva es el tiempo durante el cual decae la mitad de un número conocido de núcleos radioactivos.

Para calcular la vida media, dividimos la ec. (1.6) entre 2.

$$\frac{N_0}{2} = N_0 e^{-\lambda T_{\frac{1}{2}}} \quad (1.7)$$

$$\text{Ln} \frac{1}{2} = -\lambda T_{\frac{1}{2}} \quad (1.8)$$

$$T_{\frac{1}{2}} = \frac{\text{Ln} 2}{\lambda} \quad (1.9)$$

Es el valor esperado del tiempo requerido para que la mitad el número inicial de núcleos se desintegre.

También podemos calcular la constante de decaimiento de la ec. (1.9),

$$\lambda = \frac{\text{Ln} 2}{T_{\frac{1}{2}}} \quad (1.10)$$

Las unidades de actividad son:

$$1 \text{ Ci} \equiv \frac{3,7 \times 10^{10} \text{ descomposiciones}}{\text{s}} = 1 \text{ s}^{-1}$$

Otras fracciones de ésta unidad son:

$$\begin{aligned}
1 \text{ mCi} &= 10^{-3} \text{ Ci} = 3,7 \times 10^7 \text{ s}^{-1} \\
1 \text{ }\mu\text{Ci} &= 10^{-6} \text{ Ci} = 3,7 \times 10^4 \text{ s}^{-1} \\
1 \text{ nCi} &= 10^{-9} \text{ Ci} = 3,7 \times 10^1 \text{ s}^{-1} \\
1 \text{ pCi} &= 10^{-12} \text{ Ci} = 3,7 \times 10^{-2} \text{ s}^{-1}
\end{aligned}$$

Y en el Sistema Internacional de Unidades:

$$1 \text{ Bq} \equiv 1 \frac{\text{descomposiciones}}{\text{s}} = 2,70 \times 10^{-11} \text{ Ci}$$

entonces,

$$1 \text{ Ci} = 3,7 \times 10^{10} \text{ Bq}$$

Este trabajo se enfoca en el radiofármaco  $^{67}\text{Ga}$  anexando características físicas, químicas y aplicaciones médicas.

## 1.14. Galio (Ga)

Características químicas:

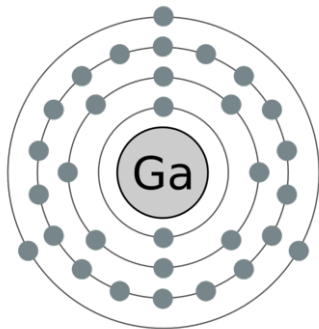


Figura 1.3: Estructura atómica del galio (Ga).

- Es un metal de la tabla periódica, ubicado en el grupo 13, periodo 4
- Número atómico: 31
- Estados de oxidación: +3
- Peso atómico  $\approx 69.72 \text{ u}$
- Se encuentra en el orbital: p
- Configuración electrónica:  $1s^2 2s^2 2p^6 3s^2 3p^6 4s^2 3d^{10} 4p^1$
- Electronegatividad: 1.81 (escala de Pauling)
- El ion  $\text{Ga}^{+3}$  es un ácido que dura de acuerdo a la clasificación de Pearson [Bernstein L., 1998]

### 1.14.1. Galio en aplicaciones médicas

En la medicina, el galio ha beneficiado varios trastornos como: reabsorción ósea acelerada, con o sin calcio plasmático elevado; enfermedad autoinmune y rechazo de aloinjerto; ciertos tipos de cáncer y enfermedades infecciosas.

Existe mucha relación bioquímica entre el  $\text{Ga}^{3+}$  y el  $\text{Fe}^{3+}$ , principalmente con la proteína y la unión del quelato, esto genera mucha similitud fisiológica del galio y valores comprables con los radios iónicos. En la siguiente tabla se observa la relación que existe entre el  $\text{Ga}^{3+}$  y  $\text{Fe}^{3+}$  [ Bernstein L, 1998].

Parameter	Unit	$\text{Ga}^{3+}$	$\text{Fe}^{3+}$ high spin	$\text{Al}^{3+}$	$\text{In}^{3+}$
Ionic radius (octahedral)	Å	0.620	0.645	0.535	0.800
Ionic radius (tetrahedral)	Å	0.47	0.49	0.39	0.62
Ionization potential (4th ionization potential)	eV	64	54.8	119.99	54
Electron affinity (3rd ionization potential)	eV	30.71	30.65	28.45	28.03
Absolute hardness (Pearson)	eV	17	12.08	45.77	13
Electronegativity (Pauling)	Pauling units	1.81	1.83	1.61	1.78
Metal-oxygen bond dissociation energy	KJ mol <sup>-1</sup>	353.5	390.4	511	320.1
First metal-hydroxide formation constant: $K_1 = [\text{MOH}^{2-}]/[\text{M}^{3+}][\text{OH}^-]$	log $K_1$	11.4	11.81	9.01	10.0
Tendency to ionic bonding ( $H_A$ )	none	7.69	7.22	10.50	6.30

Figura 1.4: *Relación de parámetros químicos de los elementos  $\text{Ga}^{3+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Al}^{3+}$  e  $\text{In}^{3+}$ .*

La sangre tiene componentes como proteínas, aniones, iones metálicos, componentes coloidales y celulares. Estudios in vivo han usado  $^{67}\text{Ga}$  y demuestran que el galio se encuentra en el plasma y a su vez están unidos a la transferrina de transferencia de hierro [Bernstein L, 1998].

La transferrina (TF) es la proteína transportadora de hierro entre los sitios de absorción, almacenamiento y utilización. Se sintetiza en varios tejidos diferentes, algunos de estos tejidos sintetizan con rapidez la transferrina dando respuesta a un desequilibrio fisiológico [Idzerda R y cols, 1986]. Cuenta con dos dominios similares a lóbulos homólogos que tienen un peso molecular total de 79.570. Cada dominio puede unirse independientemente a un ion  $\text{Fe}^{3+}$  o ( $\text{Ga}^{3+}$ ), junto con un anión carbonato o bicarbonato por ion metálico. La cantidad total de TF en seres humanos es de aproximadamente 240  $\text{mg/kg}$ , dividida por igual entre el plasma y los fluidos extravasculares. La capacidad de unión a hierro de este TF (denominada capacidad total de unión al hierro) es normalmente de aproximadamente 330  $\text{mg / dl}$  (o 3,3  $\text{mg/ml}$ ); Típicamente, sólo aproximadamente 33% de los sitios de unión de TF están ocupados por  $\text{Fe}^{3+}$  en cualquier momento [Bernstein R, 1998].

También transporta su carga metálica a las células a través del receptor TF, una proteína que puede unirse a dos moléculas de TF. Los iones de galio pueden unirse a los dos sitios metálicos de transferrina. Esta lentitud probablemente refleje la energía necesaria para "abrir" los sitios metálicos una vez que estén ocupados.

### 1.14.2. Galio 67 ( $^{67}\text{Ga}$ )

El  $^{67}\text{Ga}$  es producto del ciclotrón, emisor gamma, cuya energía detectable por la cámara gamma es de 184 keV con el 21 %, con vida media de 78 horas [Gotta H, 1981] y es producto de la irradiación de protón  $^{67}\text{Zn}$  [Bernstein R, 1998].

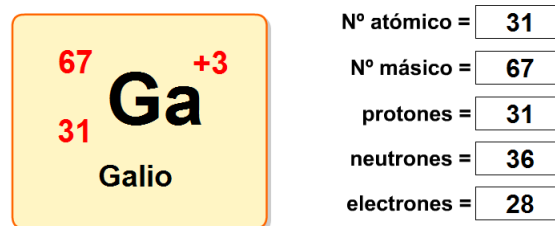


Figura 1.5: Características químicas del  $^{67}\text{Ga}$ .

Es un radiofármaco utilizado para la localización de procesos infecciosos e inflamatorios [Bunyaviroch T y cols, 2006], en los años 70's se observó que el Galio se acopla en sitios de inflamación e infección, y por lo regular las concentraciones de Galio se encuentran en el hígado, baño, riñones y senos lactantes [Bernstein L, 1998]. Un análogo del hierro, se une a una forma iónica a la transferrina circulante y utiliza receptores de transferrina para acceder a las células, y luego se hace estable dentro de las células [Hughes D, 2003]. Se espera que todo el galio se una a la transferrina donde se encuentren grandes cantidades de receptor TF y ferritina, en tejidos proliferantes (tumores). En algunos casos donde el galio entra independientemente de TF, en los sitios donde hay inflamación e infección, el Galio puede ser concentrado por la lactoferrina, proteína perteneciente a la familia de las transferrinas. También concentrándose por leucocitos, particularmente neutrófilos y linfocitos [Bernstein L, 1998].

### 1.14.3. Decaimiento del Galio 67

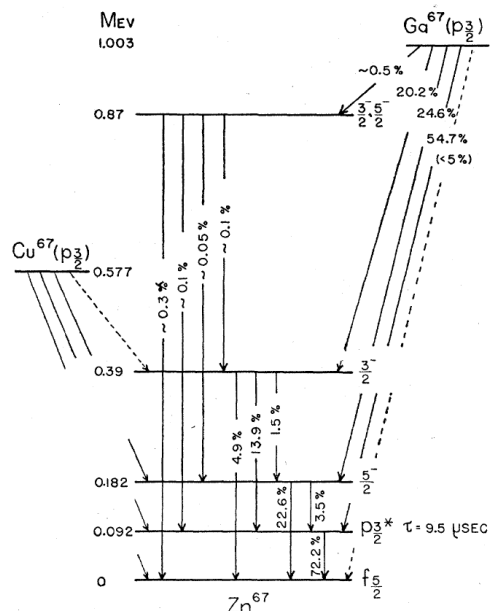


Figura 1.6: Decaimiento del  $^{67}\text{Ga}$ , se observa la ramificación del  $^{67}\text{Ga}$  al estado fundamental de  $^{67}\text{Zn}$ , [Meyerhof W y cols, 1593].

## 1.15. Interacción de la radiación ionizante con la materia

La radiactividad es el proceso del núcleo atómico que resulta en la emisión de partículas subatómicas energéticas [Hewitt P, 2007]. La radiación ionizante es un tipo de energía liberada por los átomos mediante dos maneras. Una es por ondas electromagnéticas (fotón) y la otra por partícula [Sears F, 1978]. Los cuales son capaces de crear pares ion en el medio donde se propagan.

La interacción con la materia se puede dar por efecto fotoeléctrico y por dispersión Compton, tomando en cuenta las radiaciones electromagnéticas como partículas. La cantidad de energía transportada por tal paquete de energía o fotón está dada por:

$$E = h\nu \quad (1.11)$$

Donde

$E$  = Energía del fotón [*joules*]

$h$  = Constante de Plank [ $h = 6,63 \times 10^{-34} Js$ ]

$\nu$  = Frecuencia [*ciclos/segundo*]

Y tomando la ecuación de la energía propagada con la velocidad de la luz:

$$c = \nu\lambda \quad (1.12)$$

Donde

$c$  = Velocidad de la luz [*m/s*]

$\nu$  = frecuencia [*ciclos/segundo*]

$\lambda$  = longitud de onda [*m*]

Relacionando la ec. (1.11) y (1.12):

$$E = \frac{hc}{\lambda} \quad (1.13)$$

### 1.15.1. Procesos de interacción

Los fotones interactúan inelásticamente con los electrones en la materia mediante los procesos de dispersión Compton y efecto fotoeléctrico para la energía de  $184 keV$ .

#### ■ DISPERSION COMPTON

Modelo cuántico para la dispersión de rayos X a causa de un electrón. La colisión del fotón con el electrón muestra la naturaleza corpuscular del fotón [Serway R y cols, 2009].

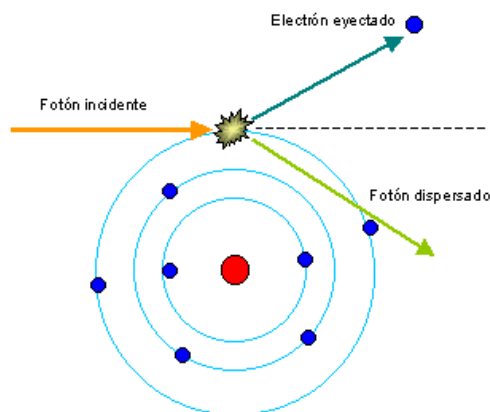


Figura 1.7: *Dispersión Compton.*

## ■ EFECTO FOTOELÉCTRICO

Cuando un fotón incide, es absorbido por el electrón del medio dándoles la energía suficiente para escapar de éste.

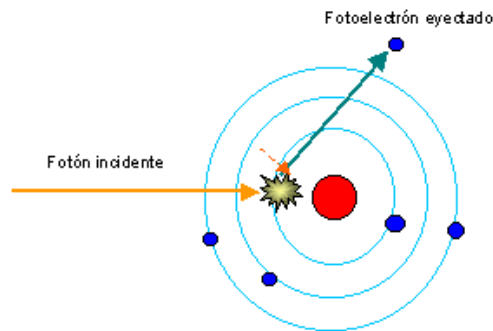


Figura 1.8: *Efecto fotoeléctrico.*

El depósito de la energía de la radiación ionizante en la materia y su efecto en tejido vivo, se describe a través de la dosimetría.

## 1.16. Conotador de pozo

Es un cristal apantallado con un agujero, en la parte superior está perforado del centro donde se puede sostener una muestra en un tubo de ensayo, el diámetro del pozo es aproximadamente de 2 a 3 *cm*, de modo que sola una pequeña fracción de radiación puede escapar de ella (Fig. 1.9 y 1.10) [Powsner R y cols, 1998].

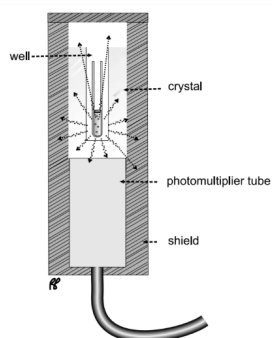


Figura 1.9: *Contador de pozo. Detector de centelleo de cristal construido con un pozo interno para enviar muestras in vitro.*



Figura 1.10: *Contador de pozo del Hospital Oncológico ISEEMyM, Toluca, Edo. de México.*

## 1.17. Modelo biocinético

El modelo biocinético nos explica matemáticamente la distribución biología de algún radiofármaco dependiente del tiempo que es introducido al cuerpo hasta su depuración biológica o física. Existen tres tipos de modelos [Strand SE y cols, 1993]:

- Empírico
- Analítico
- Comportamental

### 1.17.1. Modelo empírico

Se usa este modelo para obtener la concentración del radiofármaco en diferentes tejidos a distintos tiempos, graficando actividad vs tiempo e integrando directamente se obtiene el área bajo la curva que representa la actividad acumulada del órgano o tejido blanco. Tomando en cuenta que en este modelo no se hacen suposiciones de la actividad, en la primera ni en la última medida. Sin embargo, el cálculo de tal integración es dependiente de la actividad administrada en el órgano o tejido blanco [Ramírez-Franco J, 2011]. Es por eso que es importante tener varias muestras de la distribución y retención del radiofármaco durante la experimentación. Para ello es necesario tener presente los siguientes criterios [Santos-Cuevas CL, 2007]:

- Obtener los picos de captación rápida y la fase de eliminación rápida.
- Realizar el estudio cubriendo al menos un lapso de tiempo de tres vidas medias efectivas del radiofármaco.
- Tener al menos dos datos por tiempo.
- Obtener la dosis absorbida máxima en primer tiempo.
- Tomar en cuenta las principales vías de excreción (orina, heces, exhalación, etc.)
- Tener en cuenta la cinética esperada del radiofármaco para realizar un buen diseño del estudio.

### 1.17.2. Modelo analítico

A diferencia del modelo empírico, en este modelo se pueden extrapolar los datos del último tiempo de lectura, ajustase a una función analítica llamada “función de distribución” y puede ser ajustada a una función, suma de exponenciales [ec. 14] dependiente del tiempo antes de la medición y después de la última medición [Makoid M y cols, 1996-1999].

$$Z_h(t) = \sum_j A_{h_j} e^{\lambda_{h_j} t} \quad (1.14)$$

Donde

$Z_h(t)$  es la función de distribución de la región fuente  $r_h$  que representa la actividad corregida por decaimiento radiactivo ( $Bq$ ) en  $r_h$  al tiempo  $t$  post-administración ( $h$ ) del radiofármaco,  $A_{h(j)}$  es la actividad ( $Bq$ ) para el  $j$ -ésimo componente exponencial en al tiempo  $t = 0$  y  $\lambda_{h(j)}$  es la constante de eliminación efectiva del  $j$ -ésimo componente exponencial de la curva actividad *vs* tiempo en  $r_h$ , que representa la fracción de la actividad eliminada por unidad de tiempo para el  $j$ -ésimo componente exponencial de la curva actividad *vs* tiempo.

Los datos de actividad *vs* tiempo al ser graficados en papel semilogarítmico (la actividad se grafica en la escala logarítmica de las ordenadas y el tiempo en la escala aritmética de las abscisas), producen un segmento lineal para cada componente de la función de distribución  $Z_{h(t)}$  y, el número de componentes exponenciales corresponde al número de segmentos lineales identificables, de esta forma, se puede obtener por arreglo de mínimos cuadrados la función correspondiente.

Al administrar el radiofármaco por vía intravenosa, se considera una fase inicial rápida (distribución), seguida de una fase lenta (equilibrio y eliminación) como en la siguiente figura.

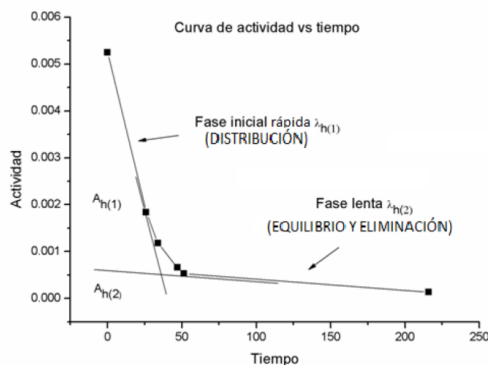


Figura 1.11: Fases de distribución de un radiofármaco.

La función de distribución biexponencial matemáticamente se representa como:

$$Z_h(t) = A_{h(1)}e^{\lambda_{h(1)}t} + A_{h(2)}e^{\lambda_{h(2)}t} + \dots \quad (1.15)$$

Donde:

$A_{h(1)}$  y  $A_{h(2)}$  son constantes relacionadas a la actividad inicial a  $t = 0$  :  $A_0 = A_{h(1)} + A_{h(2)}$ , las constantes de decaimiento indican la rapidez con la que la curva decae en cada compartimento. Incorporando la función de distribución en la expresión de actividad acumulada e integrando de cero a infinito se obtiene como resultado, en términos generales, la siguiente ecuación:

$$\tilde{A}(0, \infty) = \sum_j \frac{A_{h(j)}}{\lambda_{h(j)}} \quad (1.16)$$

### 1.17.3. Modelo comportamental

Este tipo de modelo se utiliza cuando estudian al organismo en una serie de sectores o compartimentos, donde el radiofármaco se distribuye de manera homogénea. El compartimento utilizado no es una región fisiológica o anatómica real, solo es considerado como un tejido o grupo de tejidos que tienen un flujo sanguíneo parecido a un radiofármaco.

El traslado del radiofármaco entre los compartimentos es guiado por principios cinéticos de primer orden, algo similar a la cinética química. La retención de un elemento en el cuerpo entero será descrita por un término exponencial.

Para poder tener un buen resultado de distribución y retención del radiofármaco, se deben tener en cuenta algunos criterios:

- Obtener los picos de captación rápida y la fase de eliminación rápida del radiofármaco.
- Se puede realizar el estudio tomando al menos un lapso de tres vidas medias efectivas del radiofármaco.
- Tomar como mínimo dos muestras por tiempo.
- Corregir actividad de decaimiento por tiempo.

Tomar en cuenta la actividad en las principales vías de excreción (orina, heces, exhalación, etc.)

En los modelos biocinéticas, se considera la vida media efectiva  $\frac{1}{t_{eff}}$  la cual depende de la vida media radiactiva, física ( $t_{\frac{1}{2}}$ ) y la vida media biológica ( $t_{\frac{1}{2}}^b$ ) que es el tiempo necesario para que la actividad en un órgano disminuya a la mitad debido a la excreción biológica y la vida media efectiva se expresa por la siguiente ecuación:

$$\frac{1}{t_{eff}} = \frac{1}{t_{1/2}} + \frac{1}{t_{1/2}^b} \quad (1.17)$$

La constante de decaimiento efectiva ( $\lambda_{eff}$ ) se define como:

$$\lambda_{eff} = \lambda + \lambda_b \quad (1.18)$$

## 1.18. Dosimetría

El depósito de la energía de la radiación ionizante en la materia y su efecto en tejido vivo, se describe a través de la dosimetría.

El enfoque de la dosimetría de radiación ionizante se sitúa en el cálculo de las dosis absorbidas para fines diagnóstico y terapéutico, bajo distintas metodologías entre las cuales se encuentra el esquema MIRD.

### 1.18.1. Esquema MIRD

Para determinar de manera precisa la actividad del radiofármaco en los tejidos del cuerpo, se usa el esquema MIRD (Medical Internal Radiation Dose Committee), establecido por la sociedad de Medicina Nuclear de USA en 1960 y una imagen gammagrafía planar o por medición directa con un contador de pozo. El modelo biocinético se conoce a partir de graficar varios puntos de actividad en el tiempo, con lo que se calcula la actividad acumulada. Por otro lado, de alguna manera experimental o teóricamente se determina la dosis absorbida por unidad de desintegración también conocida en MIRD como valor  $S$ . Para el cálculo de dosis absorbida por los pacientes se define como el producto de la actividad acumulada por valor  $S$ , es decir [Siegel J y cols, 1999]:

$$\bar{D} = \tilde{A}XS \quad (1.19)$$

Donde

$\bar{D}$  Dosis absorbida [ $Gy$  ó  $rad$ ]

$\tilde{A}$  Actividad acumulada [ $Bq\ s$  ó  $\mu Ci\ hr$ ]

$$\tilde{A} = \int_0^{\infty} A(t)dt \quad (1.20)$$

$S$  Dosis absorbida por unidad de actividad acumulada [ $\frac{Gy}{Bq\ s}$  ó  $\frac{rad}{\mu Ci\ hr}$ ]

$$S = \frac{k \sum_j n_j E_j \phi_j (T \leftarrow S)}{m_T} \quad (1.21)$$

Donde  $n$  es el número de fotones o partículas con energía  $E$  transmitida por transformación nuclear,  $E$  es la energía por radiación ( $MeV$ ),  $i$  es el número de transformaciones nucleares en el esquema de decaimiento del radionúclido,  $\phi$  es la fracción absorbida (fracción de energía de radiación absorbida en el blanco),  $m$  es la masa de la región blanco ( $g$  ó  $kg$ ), y  $k$  es la constante de proporcionalidad ( $\frac{Gy\ kg}{MBq\ MeV}$  ó  $\frac{rad\ g}{\mu Ci\ h\ MeV}$ ) [Ramírez-Franco J, 2011].

### 1.18.2. Método Monte Carlo

En forma general, el Método Monte Carlo trabaja la interacción de la radiación con la materia por procedimientos matemáticos o métodos numéricos cuya finalidad es la utilización de números generados aleatoriamente y el muestreo de distribuciones de probabilidad.

Simulación: Trayectoria de una partícula que es vista como una secuencia aleatoria de desplazamientos libres que termina con un evento de interacción donde la partícula cambia su dirección de movimientos, pierde energía y puede generar partículas secundarias.

Existen códigos cuyo objetivo es simular el camino seguido por partículas que atraviesan medios materiales manteniendo las leyes de la física y las probabilidades, partiendo de ciertas condiciones iniciales de energía y tipo de partícula [Duque-Mojica G y cols, 2010].

### 1.18.3. Código PENELOPE

Con el código PENELOPE se pueden simular cascadas de fotones y electrones de casi cualquier material sólidos amorfos, líquidos o gaseosos, se deter-

minan con ecuaciones de segundo grado trabajando con geometrías cuadradas. El nombre de este código es “Penetration and Energy Loss of Positrons and Electrons”, trabaja con un rango de energía para los electrones de: 100  $eV$  hasta 1  $GeV$  y para fotones, 1 $keV$  hasta 1  $GeV$ .

Trabaja con los parámetros:

- Materiales
- Geometría
- Tipo de partículas que se simularán
- Numero inicial de partículas
- Energía inicial
- Energía de absorción

Principalmente, lo que se obtiene del código PENELOPE es la energía, posición y momento de cada partícula después de la interacción [Duque-Mojica G y cols, 2010].

## 1.19. Prueba U de Mann Whitney

Es un procedimiento estadístico no paramétrico, de dos grupos independientes. Es recomendable para poblaciones que tengan el mismo tamaño. También para comparar dos grupos de rangos (medianas) y determinar que la diferencia no se deba al azar. Cuando la variable dependiente se mide en un nivel de intervalos, se puede utilizar la prueba t de Student si no se está seguro de cumplir con las condiciones que exigen las pruebas paramétricas.

El cálculo de prueba U de Mann-Whitney consiste en una serie de pasos.

1. Combinar los datos de ambos grupos y ordenarlos (ascendente o descendente).
2. Asignar un rango: al dato menor se le asigna el rango 1, al siguiente el rango 2 y así sucesivamente.
3. En caso de que haya varias puntuaciones iguales (empates) a cada valor se le asigna el promedio de los rangos que les corresponderían si se les diera rangos sucesivos a cada una de ellas.

4. Obtener el rango promedio ( $R$  asig).
5. Obtener el valor  $T$  que se obtiene mediante la operación:

$$T_j = \frac{t_j^3 - t_j}{12} \quad (1.22)$$

6. Se suman los valores de  $T$  para hacer la correlación por empates.
7. Se sustituyen los datos de los dos grupos que se ordenaron de manera ascendente o descendente por los rangos correspondientes y se suman los rangos en cada grupo por  $R_1$  y  $R_2$ .
8. Se calculan los valores  $u$  para cada grupo (Ec. 23 y 24). El de menor valor es el estadístico  $U$  de Mann-Whitney.

$$U_1 = n_1 n_2 + \frac{n_1(n_1 + 1)}{2} - R_1 \quad (1.23)$$

$$U_2 = n_1 n_2 + \frac{n_2(n_2 + 1)}{2} - R_2 \quad (1.24)$$

9. La significancia de  $U$  puede obtenerse de la tabla de la distribución  $U$  cuando el grupo de mayor tamaño es menor o igual a 20.
10. Cuando  $N$  es mayor de 20, debe obtenerse la media y el error estándar de la distribución  $U$  para estandarizar el valor de nuestro estadístico. Además necesitaremos la suma de la columna  $T$  para ajustar el valor del error estándar de acuerdo a los empates encontrados en los datos.
11. La significancia de  $U$  se puede obtener convirtiendo este valor a un valor  $z$  mediante la ecuación:

$$z = \frac{U - \mu_U}{\sigma_U} \quad (1.25)$$

Donde  
 $\mu_U$  es la media de  $U$

$$\mu_U = \frac{n_1 n_2}{2} \quad (1.26)$$

$\sigma_U$  es la desviación estándar de  $U$

$$\sigma_U = \sqrt{\frac{n_1 n_2 (n_1 + n_2 + 1)}{12}} \quad (1.27)$$

# Capítulo 2

## Hipótesis

El modelo biocinético del citrato de  $^{67}\text{Ga}$  en un modelo murino se modificará si el huésped es sometido a estrés fisiológico.



# Capítulo 3

## Objetivos

### 3.1. Objetivo general

Determinar la biocinética y dosimetría del  $^{67}\text{Ga}$  en ratones estresados de manera crónica.

### 3.2. Objetivos particulares

- Criar ratones CD1 bajo condiciones controladas para uso de experimentación.
- Estresar a los ratones durante 14 días.
- Inyectar a los grupos de ratones en el día 14 del periodo de estrés.
- Sacrificar y cuantificar la actividad en órganos de interés a tiempos dados postinyección en un contador de pozo.



# Capítulo 4

## Metodología

### 4.1. Animales de experimentación

Se emplearon 36 ratones machos CD1, de 30-35 gr con una edad de 10-11 semanas, los animales se mantuvieron en cajas de acrílico, con un ciclo de luz-obscuridad de 12x12 (Fig. 4.1). Los ratones fueron separados en dos grupos; grupo con estrés por restricción de movimiento ( $n = 23$ ) y grupo control ( $n = 13$ ).



Figura 4.1: *Ratones machos CD1, 30-35 gr con una edad de 10-11 semanas.*

El manejo se realizó de acuerdo a las normas de la Comisión de Bioética de la Facultad de Medicina de la UAEMex y la NORMA Oficial Mexicana: NOM-062-ZOO-1999.

## 4.2. Modelo de estrés por inmovilización

Siendo Hans Selye en 1936 Hans Selye utilizó el modelo de estrés por inmovilización en ratas. Mostrando un incremento de secreción de hormonas ACTH y alterando la glándula adrenal en la zona hipertrofia.

Los ratones del grupo estrés se fijaron durante dos horas con cinta adhesiva en posición ventral sobre una placa de metal en un periodo de 14 días, cada 15-20 (Fig. 4.2).



Figura 4.2: *Ratones bajo inmovilización.*

Al día 7 de estrés fisiológico, los ratones empezaron adaptarse al modelo, por tal motivo para evitar la habituación, se implementó la aplicación de estímulos impredecibles cada 10 minutos, los cuales se realizaron de la siguiente forma:

- Movimiento de la placa de sujeción
- Vibración
- Ruido con alarma de Smartphone
- Aplicar agua caliente en la cola
- Estimulo doloroso en la cola

## 4.3. Medición de peso

Al término del periodo de estrés estipulado, fue cesada la inmovilización, se pesaron al inicio de las sesiones cada tercer día, y retornaron a su caja con alimento y agua (Fig. 4.3).



Figura 4.3: *Peso de los ratones después de inmovilización.*

El grupo control se mantuvo en el bioterio todo el tiempo. Al final del experimento fueron sacrificados.

#### 4.4. Obtención de regiones de interés

El día 15 se les administró a los dos grupos el radiofármaco  $^{67}\text{Ga}$  por vía intraperitoneal un promedio de  $380.24 \pm 49.35 \mu\text{Ci}$  por ratón (Fig. 4.4).



Figura 4.4: *Administración del citrato de  $^{67}\text{Ga}$  por vía intraperitoneal. Hospital Oncológico ISEEMyM, Toluca, Edo. de México.*

El radiofármaco (Fig. 4.5) se pidió con anticipación al Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares (ININ) que llega directo al departamento de

Medicina Nuclear, Hospital Oncológico (Fig. 4.6), la dosis administrada fue realizado con base a un examen en humano obtenida por edad y peso.

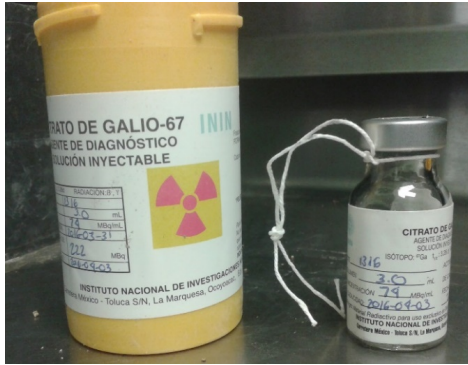


Figura 4.5: *Citrato de  $^{67}\text{Ga}$  solicitado por el ININ.*



Figura 4.6: *Hospital Oncológico, ISSEMyM, Toluca, Edo. de México.*

Administrada la dosis, se sacrificaron los dos grupos de ratones a tiempos 2, 4, 8, 12, 24, 36, 48, 60 y 72 horas con una  $n= 2\pm 1$ . El sacrificio se realizó con una cámara de  $\text{CO}_2$  e inmediatamente se extrajo lo máximo de sangre por punción cardiaca directa, así como los órganos de interés: bazo, corazón, hígado, pulmón, riñones, timo, (Fig. 4.7).



Figura 4.7: *Órganos de interés, bazo, corazón, hígado, pulmón, riñones y timo.*

Al extraer el órgano se pesó en una báscula analítica y se colocaron en tubos Eppendorf (Fig. 4.8).



Figura 4.8: *Balanza analítica.*

Al finalizar, los órganos fueron llevados al departamento de Medicina Nuclear del Hospital Oncológico, donde se metieron en una campana de plomo (Fig. 4.9) y se sacó órgano por órgano para introducirlo en el contador de pozo (Fig. 4.10), dejándolo un par de minutos para cuantificar su lectura, las cantidades se dieron en  $[(\mu Ci/g)/\mu Ci]$ .



Figura 4.9: *Campana de plomo y contador de pozo del Hospital Oncológico ISEEMyM, Toluca, Edo. de México.*



Figura 4.10: *Introducción de órgano en el contador de pozo (marca: Bio-dex Medical System, modelo: Atom-Lab 100 Plus) del Hospital Oncológico ISEEMyM, Toluca, Edo. de México.*

## 4.5. Modelo biocinético

El número de cuentas obtenidas por el contador de pozo de los órganos de interés, se registraron en tablas, donde se trabajaron en Excel para hacer correcciones por órgano de: fondo, tiempo, masa y decaimiento físico. También para mayor precisión de ajuste, se descartaron los picos de dosis absorbida máxima de cada órgano y posteriormente se graficaron en: % de actividad  $[(\mu Ci/g)/\mu Ci]$  vs Tiempo  $[h]$ , ajustando con la función de distribución de actividad acumulada ec. (1.15).

$$Z_h(t) = A_{h(1)} e^{\lambda_{h(1)}t} + A_{h(2)} e^{\lambda_{h(2)}t} + \dots$$

## 4.6. Prueba estadística

Se utilizó la prueba estadística U de Mann-Whitney para comprobar si existe diferencia significativa entre los dos grupos de ratones, utilizando las ecuaciones (1.22-1.27) anteriormente mencionadas.

## 4.7. Dosimetría

En el cálculo de dosis absorbida de órganos de interés, se utilizó el método MIRD, utilizando la ecuación 19, se calculó la actividad acumulada  $\tilde{A}$  (ec. 20) y el valor S se calculó con SMC con el código PENELOPE con la geometría descrita en la Fig. 16, estos valores se muestran en la tabla 2.

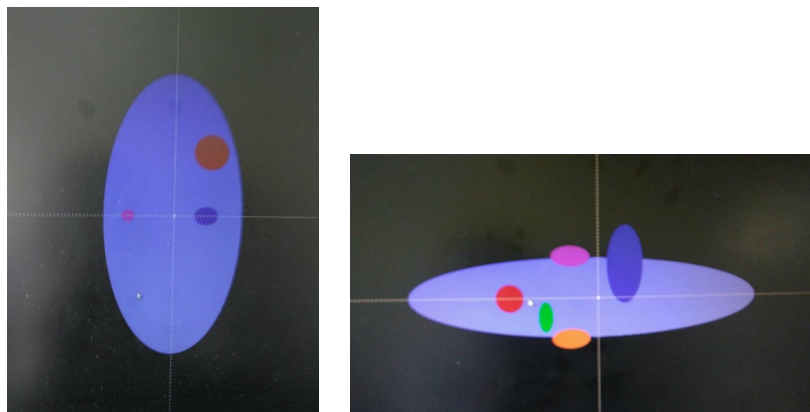


Figura 4.11: *Imágenes de simulación SMC con el código PENELOPE.*

Órgano	$S = \frac{k\Sigma_j n_j E_j \phi_j(T \leftarrow S)}{m_T}; [\frac{Gy}{Bq*s}]$ .
Bazo	$4,94x10^{06}$
Corazón	$4,98x10^{06}$
Hígado	$4,38x10^{06}$
Pulmón	N/A
Riñón	$4,38x10^{06}$
Timo	$2,47x10^{06}$

Cuadro 4.1: Valores  $S$  calculados con SMC con el código PENELOPE.

No hay valor  $S$  para el pulmón por ausencia de datos.



# Capítulo 5

## Resultados

### 5.1. Animales de experimentación

Se criaron 36 ratones macho CD1 de 30-35 gr con una edad de 10-11 semanas. Se separaron en dos grupos, 36 ratones para el grupo estrés por restricción de movimiento y 13 ratones para grupo control. Manteniendolos en cajas de acrílico con ciclo de luz-obscuridad de 12x12.

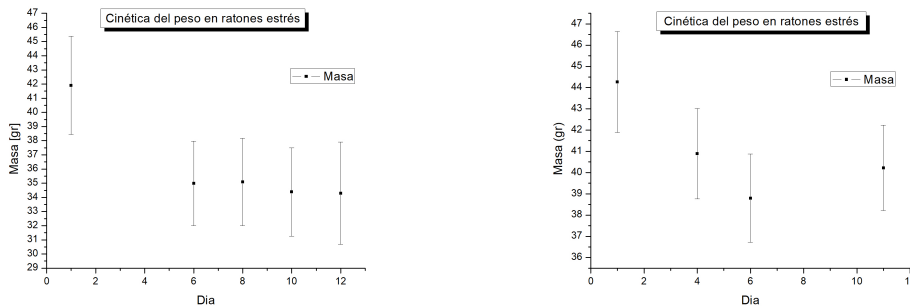
### 5.2. Modelo de estrés por inmovilización

Los ratones del grupo estrés toleraron el experimento. Sin embargo, a los 4 días pusieron resistencia al modelo, en consecuencia, hubo un incremento de estímulos impredecibles cada 10 minutos como: movimiento de la placa de sujeción, estímulo doloroso en la cola, vibración, etc. Al octavo día dejaron de poner resistencia y hubo una disminución gradual de estímulos. Durante los primeros días, al termino del periodo de estrés estipulado, los ratones tuvieron un agotamiento continuo, de manera que, durmieron y además tuvieron comportamiento agresivo. En los últimos días se detectó temblores involuntarios en todo el cuerpo anexando pérdida de pelo y peso.

Los ratones del grupo control tuvieron conductas normales.

## 5.3. Medición de peso

En las siguientes graficas se muestran la cinética de pérdida de peso en GE durante los días de experimentación, considerando el aumento en la  $n$  de experimentación.



(a) Datos obtenidos de Marzo del 2016

(b) Datos obtenidos de Septiembre del 2016

Figura 5.1: *Peso en ratones con estrés.*

## 5.4. Obtención de regiones de interés

### 5.4.1. Ratones control

#### 5.4.1.1. Modelo biocinético de ratones control

Para obtener le modelo biocinético se usaron los datos de cada órgano proporcionados por el contador de pozo, haciendo correcciones por actividad inyectada, fondo, tiempo, masa y decaimiento físico. Las cuentas se graficaron y ajustaron de forma exponencial en Origin para mayor precisión de datos, se graficó % de actividad  $[(\mu Ci/g)/\mu Ci]$  vs Tiempo  $[h]$ .

Los modelos biocinéticos de los órganos con su ecuación de ajuste se muestran en las gráficas (5.2-5.8), donde las ecuaciones del modelo biocinético de cada órgano se indican en el cuadro (5.1).

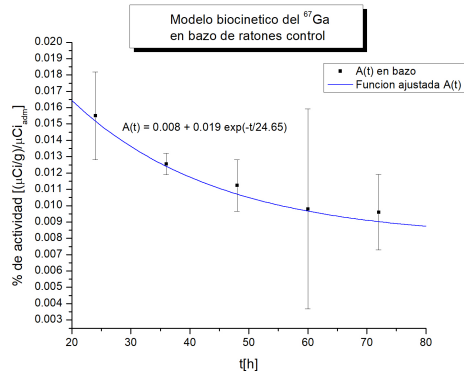


Figura 5.2: *Función ajustada del bazo en ratones control.*

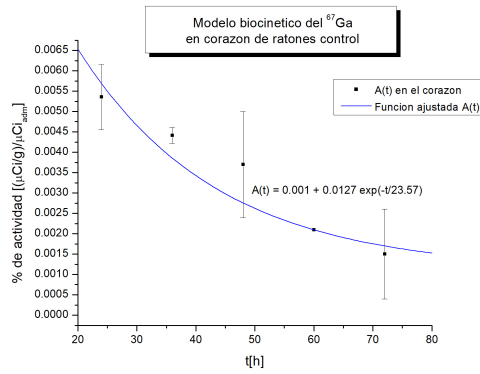


Figura 5.3: *Función ajustada del corazón en ratones control.*

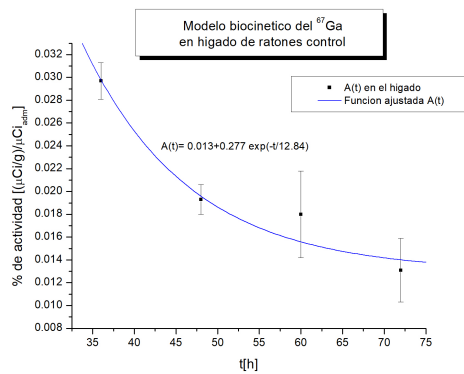


Figura 5.4: *Función ajustada del hígado en ratones control.*

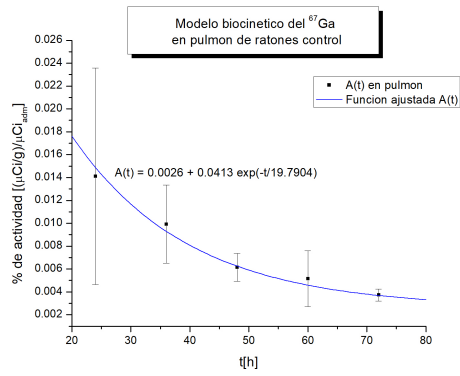


Figura 5.5: *Función ajustada del pulmón en ratones control.*

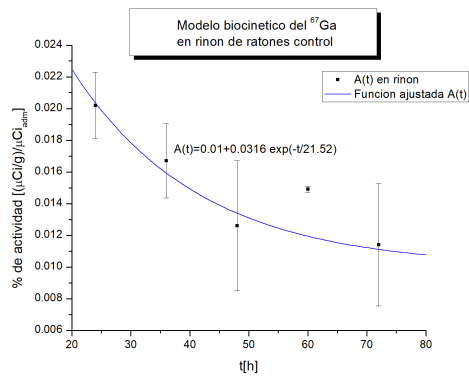


Figura 5.6: *Función ajustada del riñón en ratones control.*

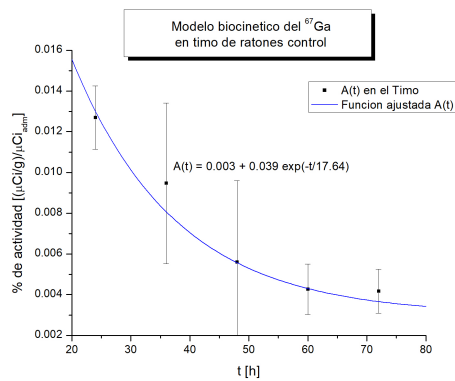


Figura 5.7: *Función ajustada del timo en ratones control.*

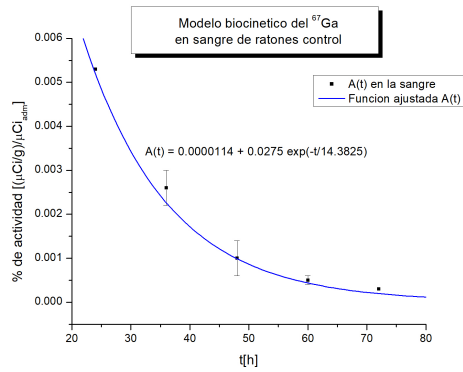


Figura 5.8: *Función ajustada de sangre en ratones control.*

Las ecuaciones de actividad acumulada de los órganos de interés se muestran en la siguiente tabla y también  $R^2$ , observando que su valor se aproxima a 1.

Órgano	Modelo biocinético	Estadística ( $R^2$ )
Bazo	$A(t) : 0,008 + 0,019e^{(-t/24,65)}$	0.9334
Corazón	$A(t) : 0,001 + 0,0127e^{(-t/23,57)}$	0.9901
Hígado	$A(t) : 0,013 + 0,277e^{(-t/12,84)}$	0.9579
Pulmón	$A(t) : 0,0026 + 0,0413e^{(-t/19,7904)}$	0.9735
Riñón	$A(t) : 0,01 + 0,0316e^{(-t/21,52)}$	0.9877
Timo	$A(t) : 0,003 + 0,039e^{(-t/17,64)}$	0.958
Sangre	$A(t) : 0,0000114 + 0,0275e^{(-t/14,3825)}$	—

Cuadro 5.1: *Ecuaciones ajustadas del modelo biocinético de ratones control y  $R^2$ .*

#### 5.4.1.2. Dosimetría en ratones control

Los resultados calculados de dosis absorbida y dosimetría se encuentran en el cuadro (5.2), tomando los valores de  $S$  del cuadro (4.1).

Órgano	$\tilde{A} = \int_{t=24}^{t=\infty} A(t)dt$	$S = \frac{k\Sigma_j n_j E_j \phi_j (T \leftarrow S)}{m_T}$	$D = \tilde{A}XS$
Unidades	[Bq * s]	[Gy/Bq * s]	[Gy]
Bazo	7,8356	$4,94x10^{-06}$	$3,8708x10^{-05}$
Corazón	3.022	$4,98x10^{-06}$	$1,5050x10^{-05}$
Hígado	0.67042	$4,38x10^{-06}$	$2,9364x10^{-06}$
Pulmón	–	N/A	–
Riñón	0.67898	$4,38x10^{-06}$	$2,9739x10^{-06}$
Timo	0.30886	$2,47x10^{-06}$	$7,6288x10^{-07}$

Cuadro 5.2: Dosimetría de ratones control.

No hay valor  $S$  para el pulmón por ausencia de datos.

## 5.4.2. Ratones con estrés

### 5.4.2.1. Modelo biocinético de ratones con estrés

Los modelos biocinéticos de los órganos con su ecuación de ajuste se muestran en las gráficas (5.9-5.15), donde las ecuaciones del modelo biocinético de cada órgano se indican en el cuadro (5.3).

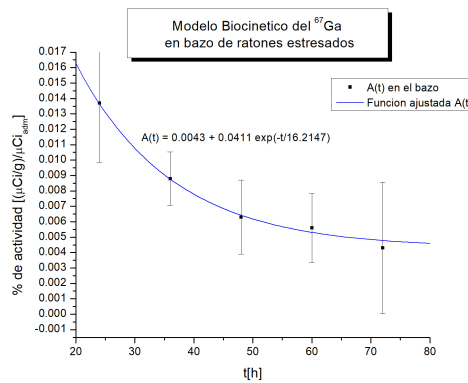


Figura 5.9: Función ajustada del bazo en ratones con estrés.

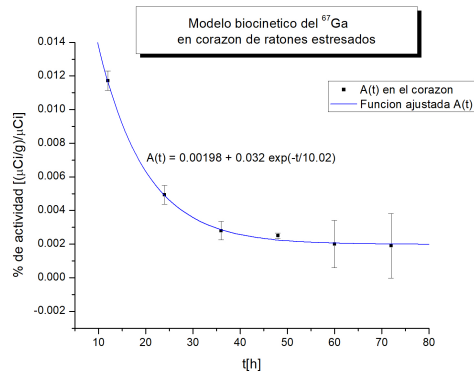


Figura 5.10: *Función ajustada del corazón en ratones con estrés.*

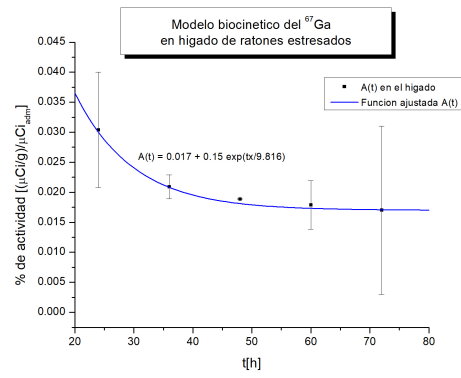


Figura 5.11: *Función ajustada del hígado en ratones con estrés.*

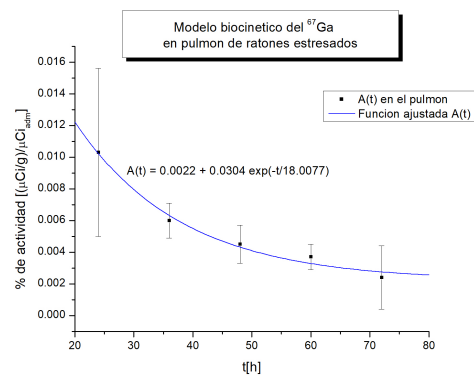


Figura 5.12: *Función ajustada del pulmón en ratones con estrés.*

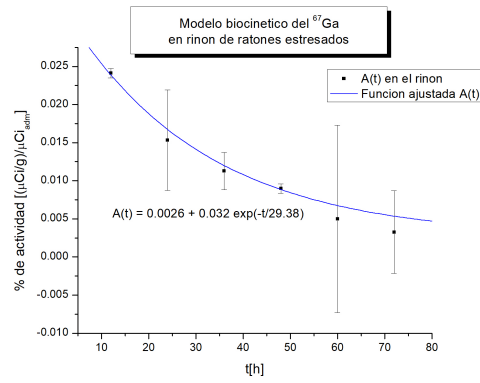


Figura 5.13: *Función ajustada del riñón en ratones con estrés.*

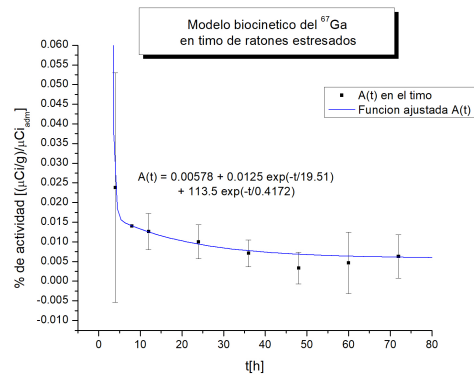


Figura 5.14: *Función ajustada del timo en ratones con estrés.*

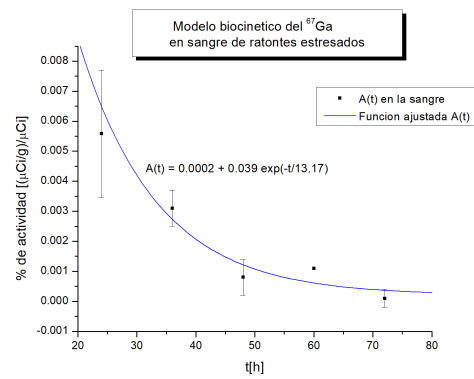


Figura 5.15: *Función ajustada de sangre en ratones con estrés.*

Las ecuaciones de actividad acumulada de los órganos de interés se muestran en la siguiente tabla y también  $R^2$ :

Órgano	Modelo biocinético	Estadística ( $R^2$ )
Bazo	$A(t) : 0,0043 + 0,0411e^{(-t/16,2147)}$	0.9864
Corazón	$A(t) : 0,00198 + 0,032e^{(-t/10,02)}$	0.9878
Hígado	$A(t) : 0,017 + 0,15e^{(-t/9,816)}$	0.9063
Pulmón	$A(t) : 0,0022 + 0,0304e^{(-t/18,0077)}$	0.9762
Riñón	$A(t) : 0,0026 + 0,032e^{(-t/29,38)}$	–
Timo	$A(t) : 0,00578 + 0,0125e^{(-t/19,51)} + e^{-t/0,4172}$	–
Sangre	$A(t) : 0,0002 + 0,39e^{(-t/13,17)}$	0.9026

Cuadro 5.3: Ecuaciones ajustadas del modelo biocinético de ratones con estrés y  $R^2$ .

#### 5.4.2.2. Dosimetría en ratones con estrés

Los resultados calculados de dosis absorbida y dosimetría se encuentran en el cuadro (5.4), tomando los valores de  $S$  del cuadro (4.1).

Órgano	$\tilde{A} = \int_{t=24}^{t=\infty} A(t)dt$	$S = \frac{k\Sigma_j n_j E_j \phi_j (T \leftarrow S)}{m_T}$	$D = \tilde{A}XS$
Unidades	[Bq * s]	[Gy/Bq * s]	[Gy]
Bazo	0.35022	$4,94x10^{-06}$	$1,7301x10^{-06}$
Corazón	0.21536	$4,98x10^{-06}$	$1,0725x10^{-06}$
Hígado	0.94274	$4,38x10^{-06}$	$4,1292x10^{-06}$
Pulmón	–	N/A	–
Riñón	0.69983	$4,38x10^{-06}$	$3,0653x10^{-06}$
Timo	0.58887	$2,47x10^{-06}$	$1,4541x10^{-06}$

Cuadro 5.4: Dosimetría de ratones con estrés.

No hay valor  $S$  para el pulmón por ausencia de datos.

## 5.5. Prueba U de Mann-Whitney

La Prueba U de Mann-Whitney se utilizó para confirmar si los datos se encuentran dentro del parámetro deseado.

En la siguiente tabla se muestran los datos del GC y GE calculados de cada órgano.

Órgano	$U$	$\mu_U = \frac{n_1 n_2}{2}$	$\sigma_U = \sqrt{\frac{n_1 n_2 (n_1 + n_2 + 1)}{12}}$	$z = \frac{U - \mu_U}{\sigma_U}$	Hipótesis
Bazo	4	12.5	4.7196	-1.8010	Se acepta $H_o$
Corazón	15	15	5.4769	0	Se acepta $H_o$
Hígado	9	10	4.0824	-0.2449	Se acepta $H_o$
Pulmón	8.5	12.5	4.7726	-0.8381	Se acepta $H_o$
Riñón	6	12	4.6898	-1.2793	Se acepta $H_o$
Timo	16	20	6.8313	-0.5855	Se acepta $H_o$
Sangre	8	10	4.0824	-0.4899	Se acepta $H_o$

Cuadro 5.5: Prueba U de Mann-Whitney, valores obtenidos para comprobar hipótesis en cada órgano.

Para hacer la prueba estadística, se compararon los rangos de las dos muestras independientes (GC y GE), usando la media y desviación estándar para verificar que la diferencia de datos no se deba al azar, trabajando con las ecuaciones (1.22-1.27).

De acuerdo a los resultados obtenidos, como se muestra en el cuadro 5.5 se acepta la hipótesis, comprobando que los resultados de  $z$  obtenidos entran en el parámetro deseado. Es decir, la cinética del radiofarmaco va a cambiar cuando exista estrés en el cuerpo.

# Capítulo 6

## Discusión

Debido a la severidad del modelo al que fueron expuestos, la pérdida de peso fue mayor durante la primera semana de estrés, presentando además; disminución de actividades locomotoras, espontáneas y sociales. Para evitar la adaptación o habituación durante el estrés, a partir de la segunda semana los ratones fueron sometidos a estímulos aleatorios e intermitentes cada 10 minutos por un intervalo de 10 segundos, como son; ruido, vibración, oscuridad, manteniendolos estresados y como consecuencia tener elevadas las hormonas del estres [Yoshifumi W y cols, 1992, Bali A y cols, 2017].

Al final de los experimento, los ratones estresados presentaron pérdida de peso de 3.4 (*gr*), el 7% en comparación con el grupo control como se muestran en la gráfica (5.1), durante el estrés por restricción hay un aumento de peso en las glandulas suprarrenales por lo que hay una reducción de peso en ratones con estrés en comparación con los de control. Aumentando la absorción y liberación de glutamato en el hipocampo, corteza frontal y el tabique, elevando la liberación de ácido láctico en el hipocampo mediante un mecanismo de receptor NMDA, como se menciona en el artículo Watanabe Y y cols, 1992.

Una vez calculados los modelos biocinéticos se observó que, a pesar de que los puntos tuvieron una dispersión grande con  $n = 2$  en distintos tiempos, al ajustar la función de sumas de exponenciales, se tuvo un comportamiento de depuración del radiofármaco en los órganos específicos. Sin embargo, cuanto más puntos de la  $A(t)$  o más muestras por tiempo se calculen ( $n = 5$ ), se reduce el incremento de incertidumbre y se tendrá un número promedio más representativo de lo que ocurre, aproximando  $R^2$  a uno.

Los argumentos que influyen los puntos esperados pueden ser por una ma-

la medida, contaminación durante el experimento, error del experimentador. Pero al descartar estos puntos se puede ver perfectamente la depuración del radiofármaco.

También se pueden comprobar los resultados recurriendo a la sangre extraída de los dos grupos de ratones, en un modelo control, al tener mayor captación de actividad, hay menor velocidad de depuración y en un modelo estrés, hay menor captación de actividad y mayor velocidad de depuración, por lo que el GE recibió menos dosis absorbida.

Los resultados de las gráficas (5.2-5.15) y los cuadros (5.1) y 5.3) de los grupos de estrés y control muestran que existe diferencia estadísticamente significativa, esto quiere decir, que el estrés es capaz de modificar la depuración y captación del radiofármaco en un organismo dañado. Teniendo mayor depuración y menor captación del radiofármaco.

Al tener una depuración más rápida en un organismo, significa que los órganos están afectados y que puede existir inflamación [Cediel G y cols, 2009, Barrios Y y cols, 2010]. En términos de salud, por ejemplo: el riñón, la regulación de ZIP14 originaría la sobrecarga de hierro en los túbulos proximales que induciría daño celular [Giorgi G, 2016]. También, en animales sometidos a deficiencia de hierro, se notó un mayor consumo de hierro en el hígado [Olivares M y cols, 2003], hipotrofia del timo y de los ganglios linfáticos [Gómez-González B y cols, 2006].

Comparando las gráficas de los dos grupos de ratones, la velocidad de depuración en GE es más rápida, esto quiere decir que el mecanismo biológico de un ratón estresado está saturado de hierro, aumentando la ferritina sérica en varios órganos, por lo tanto, al inyectar un radiofármaco análogo del hierro como el  $^{67}\text{Ga}$ , no hay unión con los órganos y el cuerpo lo depura más rápido [Cediel G y cols, 2009, Barrios Y y cols, 2010]. De acuerdo a los datos obtenidos anteriormente, se observó que, el GE recibió menos dosis absorbida, pues el mecanismo biológico rechazó al radiofármaco puesto que ya hay saturación de hierro en el órgano.

# Capítulo 7

## Conclusiones

Los ratones pierden aproximadamente el 7% de su peso corporal bajo el modelo de estrés por restricción de movimiento.

La fase de depuración del  $^{67}\text{Ga}$  comienza alrededor de las 60 h y 24 h para el grupo control y grupo estresado respectivamente. La velocidad de depuración del  $^{67}\text{Ga}$  es mayor en organismos estresados.

La actividad acumulada y dosis absorbida se reducen en ratones estresados.

El  $^{67}\text{Ga}$  tiene potencial a fin de usarse como biosensor para determinar el nivel de estrés.



# Bibliografía

- [1] **Bailey D. y cols.** 2014, *Nuclear Medicine Physics, A Handbook for Teachers and Students*. Technical Editors, Viena, Australia.
- [2] **Bali A. y cols.** 2017, *Anti-, Anti-stress effects of a GSK-3  $\beta$  inhibitor, AR-A014418, in immobilization stress of variable duration in mice*. *J Basic Clin Physiol Pharmacol*, 28(4): 315–325. DOI: <https://doi.org/10.1515/jbcpp-2016-0157>
- [3] **Barrios Y. y cols.** 2010, *Pro-hepcidin, its relation with indicators of iron metabolism and of inflammation in patients hemodialyzed treated or not with recombinant erythropoietin*. *Nutr Hosp*, 25(4): 550-60.
- [4] **Bernstein L.** 1998, *Mechanisms of Therapeutic Activity for Gallium*. *Pharmacological Reviews*, 50 (4): 665-682.
- [5] **Bunyaviroch T. y cols.** 2006, *Optimized Scintigraphic Evaluation of Infection and Inflammation: Role of Single-Photon Emission Computed Tomography/Computed Tomography Fusion Imaging*. Elsevier BV, 36(4): 295-311. DOI: <https://doi.org/10.1053/j.semnuclmed.2006.05.004>
- [6] **Cascante-Burgos V.** 1999, *El receptor soluble de la Transferrina: estudio clínico de un nuevo marcador del metabolismo del hierro*. Tesis, Universidad Complutense de Madrid, Madrid.
- [7] **Cediel G. y cols.** 2009, *Effect of subclinic inflammation on iron, copper and zinc nutrition status in adults*. *Chil Nutr*, 36(1): 8-14.
- [8] **Dronjak S. y cols.** 2004, *Different Effects of Novel Stressors on Sympathoadrenal System Activation in Rats Exposed to Long-Term Immobilization*. *Ann N Y Aca*, 1018: 113-23. DOI: <https://doi.org/10.1196/annals.1296.013>
- [9] **Dvorkin M. y cols.** 2010, *Bases Fisiológicas de la Práctica Médica*. Médica Panamericana.

- [10] **Forrellat-Barrios M. y cols.** 2000, *Metabolismo del hierro*. Cubana Hematol Inmunol Hemoter, 16(3): 149-60.
- [11] **Gagné F.** 2014, *Biochemical Ecotoxicology*, Academic Press. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-411604-7.00014-3>
- [12] **Giorgi G.** 2016, *Estudio de la movilización intracelular del hierro y su desregularización*. Tesis, Universidad Nacional del Sur, Argentina.
- [13] **Gómez-González B. y cols.** 2006, *Estrés y Sistema immune*. Mex Neuroci, 7(1): 30-38.
- [14] **Gotta H.** 1981, *Medicina nuclear, aplicaciones clínicas*. Fondo educativo interamericano, Argentina.
- [15] **Herbert-Attix F.** 1986, *Introduction to radiological physics and radiation dosimetry*. John Wiley and Sons, Inc. Madison, Wisconsin.
- [16] **Hewitt P.** 2007, *Física conceptual*. Pearson educación, México.
- [17] **Hughes D.** 2003, *Nuclear Medicine and Infection Detection: The Relative Effectiveness of Imaging with <sup>111</sup>In-Oxine-, <sup>99m</sup>Tc-HMPAO-, and <sup>99m</sup>Tc-Stannous Fluoride Colloid-Labeled Leukocytes and with <sup>67</sup>Ga-Citrate\** Reston. J Nucl Med Technology, 31(4): 196-201.
- [18] **Idzerda R. y cols.** 1986, *Rat transferrin gene expression: Tissue-specific regulation by iron deficiency*, Proc Natl Acad Sci USA, 83: 3723-3727.
- [19] **Khan F. y cols.** 1994, *The Physics of Radiation Therapy*. Li Ppincott Williams and Wilkins, Philadelphia, USA.
- [20] **Makoid M. y cols.** 1996-1999, *Basic Pharmacokinetics*. <http://kiwi.creighton.edu/pkinbook/>.
- [21] **McEwen B.** 1998, *Protective and damaging effects of stress mediators: central role of the brain*. Dialogues Clin Neurosci, 8(4): 367-381.
- [22] **Meyerhof W. y cols.** 1953, *Decay of Gallium 67*. Physical Review, 92(3). DOI: <https://doi.org/10.1103/PhysRev.92.758>
- [23] **Michael J.** 2012, *Fisiología Humana*. Manual Moderno.
- [24] **Mojica G. y cols.** 2010, *Contribuciones del Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares al avance de la Ciencia y la Tecnología en México*. Conmemorativa, 6.

- [25] **Neison D. y cols.** 2009, *Lehninger Principios de bioquímica*. W.H. Freeman and Company, New York, USA.
- [26] **Olivares M. y cols.** 2003, *Consecuencias de la deficiencia de hierro*. Chil Nutr, 30(3).
- [27] **Oros-Pantoja R.** 2004, *Efecto del estrés agudo sobre el tejido linfoide asociado a nariz en el ratón*. Tesis, Instituto Politécnico Nacional, México.
- [28] **Pérez-Gastell P. L. y cols.** 2000, *Métodos para medir el daño oxidativo*. Cubanda Med Milit 29(3): 192-8.
- [29] **Player M. y Peterson L.** 2011. *Anxiety disorders, hypertension, and cardiovascular risk: a review*. Int J Psychiatry Med, 41(4): 365-77. DOI: <https://doi.org/10.2190/PM.41.4.f>
- [30] **Powsner R. y cols.** 2006 *Essentials of Nuclear Medicine Physics*. Blackwell Publishing Ltd, Oxford, UK.
- [31] **Ramírez-Franco J.** 2011. *Efecto de la rh-TSH en la dosimetría del  $I^{131}$  con altas actividades en ablación de remanente en pacientes con cáncer diferenciado de tiroides*. Tesis, Universidad Autónoma del Estado de México, México.
- [32] **Rodríguez-Perón J. M. y cols.** 2001, *Radicales libres en la biomedicina y estrés oxidativo*. Cub Med Mil, 30(1).
- [33] **Sánchez P. y cols.** 2008, *Estrés, depresión, inflamación y dolor*. Revista electrónica de Motivación y Emoción, 11(28).
- [34] **Santos-Cuevas C. L.** 2007, *Biocinetica y dosimetría en humanos de  $99mTc$ -HYNIC-Lys3-bombesina: imágenes de receptores GRP*. Tesis, Universidad Autónoma del Estado de México, México.
- [35] **Sears F.** 1978, *Mecánica, Calor y Sonido*. Aguilar.
- [36] **Serway R. y cols.** 2009, *Física para ciencias e ingeniería con Física Moderna*. Cengage Learning.
- [37] **Siegel J. y cols.** 1999, *MIRD Pamphlet No. 16: Techniques for Quantitative Radiopharmaceutical Biodistribution Data Acquisition and Analysis for Use in Human Radiation Dose Estimates*. J Nucl Med, 40(2): 37S-61S.
- [38] **Strand S. E. y cols.** 1993, *Pharmacokinetic modeling*. Med Phys, 515-527.

- [39] **Tian R. y cols.** 2014, *A Possible Change Process of Inflammatory Cytokines in the Prolonged Chronic Stress and Its Ultimate Implications for Health*. Hindawi Publishing Corporation, 2014. DOI: <http://dx.doi.org/10.1155/2014/780616>
- [40] **Unglaub-Silverthorn D.** 2009, *Fisiología Humana*. Medica Panamericana.
- [41] **Yoshifumi W. y cols.** 1992, *Stress induces atrophy of apical dendrites of hippocamal CA3 pyramidal neurons*. Elsevier, 588(2): 341-345.