

REPUBLICA ARGENTINA
COMISION NACIONAL DE ENERGIA ATOMICA

**COMPUESTOS DE Indio 113m PARA CENTELLOGRAFIA
HEPATICA Y ESTUDIOS DEL SISTEMA CIRCULATORIO**

por

V. A. Ciscato, J. O. Nicolini, M. C. Palcos y Z. F. de Piccini

BUENOS AIRES

1969



COMISION NACIONAL DE ENERGIA ATOMICA
DEPENDIENTE DE LA PRESIDENCIA DE LA NACION

COMPUESTOS DE Indio 113m PARA CENTELLOGRAFIA
HEPATICA Y ESTUDIOS DEL SISTEMA CIRCULATORIO

V. A. Ciscato*; J. O. Nicolini**; M. C. Palcos** y Z. F. de Piccinni*

RESUMEN

Se estudia un compuesto coloidal de ^{113m}In -PVP, que inyectado por vía endovenosa se fija en el hígado en un porcentaje superior al 85 %, razón por la cual permite obtener excelentes imágenes centellográficas de dicho órgano.

La sencillez de la técnica permite obtener el preparado radiactivo en 10 minutos a partir de una solución de PVP-bicarbonato de sodio, sobre la que se agrega el volumen requerido del eluido de la columna de ^{113}Sn - ^{113m}In .

La esterilización final del preparado se puede realizar por autoclave (20 minutos a 1.5 atm) o por pasaje a través de filtro *Millipore* de 220 μ .

También se desarrolla una sencilla técnica para obtener un preparado de ^{113m}In -albúmina soluble.

Consiste esencialmente en mezclar albúmina humana al 5 % con el eluido del generador de ^{113}Sn - ^{113m}In , ajustando posteriormente el pH aproximadamente a 7.0 con bicarbonato de sodio.

La esterilización se lleva a cabo por filtración de la solución a través de filtro *Millipore* de 220 μ .

Esta preparación inyectada por vía endovenosa permite realizar estudios dinámicos y estructurales del sistema circulatorio, tales como el diagnóstico de hipertensión portal, volumen minuto cardíaco, cálculo de volemia, placentografía, etc.

* Universidad de Buenos Aires.

** Comisión Nacional de Energía Atómica

SUMMARY

An ^{113m}In -PVP compound with colloidal properties has been studied; it shows a hepatic fixation over 85 % when injected intravenously, therefore it is possible to obtain excellent liver scintiscannings using this preparation as tracer.

This simple preparation technique can be performed in 10 minutes by mixing a sterile PVP-sodium bicarbonate solution with the required volume of the eluate obtained from the ^{113}Sn - ^{113m}In generator

The final sterilization of the preparation can be made by autoclaving during 20 minutes at 1.5 atm or processing the product through a 220 μ *Millipore* filter.

A simple technique to obtain soluble ^{113m}In -albumin has been also developed.

The procedure consists essentially in mixing a sterile 5 % human albumin solution with the eluate of the ^{113}Sn - ^{113m}In generator and adjusting subsequently the pH to 7.0 with sodium bicarbonate.

The sterilization is performed processing the solution through a 220 μ *Millipore* filter.

By injecting this preparation intravenously, it is possible to carry out structural and dynamic studies of the circulatory system, such as diagnostic of portal hypertension, cardiac output, blood volume, placental scanning, etc.

INTRODUCCION

En 1966 Wagner y col. (1), (2) introducen en medicina nuclear el uso del generador de ^{113}Sn - ^{113m}In , incorporando al Indio- 113m como un nuevo nucleído que permite la visualización centellográfica de distintos órganos desarrollando para ello técnicas de marcación de diferentes compuestos.

En los últimos dos años, en nuestros laboratorios hemos desarrollado dos técnicas que permiten realizar centellogramas de hígado y bazo. La primera, que emplea el coloide de sulfuro de antimonio protegido con PVP (polivinilpirrolidona), fue objeto de una comunicación previa (3). La segunda, utiliza un sistema PVP-bicarbonato de sodio, que confiere al Indio propiedades coloidales (4).

Este método permite a la C.N.E.A. entregar a los usuarios un compuesto preformado listo para ser marcado, que se ha impuesto por su simplicidad en nuestros centros asistenciales.

También durante este período concretamos una técnica que permite realizar con albúmina humana, portadora del Indio-113m, estudios dinámicos del sistema circulatorio, tales como la determinación del volumen minuto cardíaco (5), (6), el diagnóstico de hipertensión portal (7), la determinación de la volemia (5), (6) y estudios estructurales centellográficos como la delimitación de la imagen cardíaca (8), la localización de la placenta (9), (10), etc.

En el presente trabajo se describen las técnicas empleadas para la preparación y marcación de los compuestos y los estudios biológicos realizados con los mismos.

PARTE EXPERIMENTAL

^{113m}In-PVP PARA CENTELLOGRAFIA DE HIGADO Y BAZO

A) Materiales y métodos

a) Solución "stock" de PVP-bicarbonato

Se prepara una solución de polivinilpirrolidona al 1% en agua bi-distilada. Se le agrega cantidad suficiente de bicarbonato de sodio para que resulte también al 1%. Se distribuye de a 5 ml en frascos tipo penicilina que se esterilizan en autoclave durante 30 minutos a 1 atmósfera. El pH final de la solución oscila entre 8 y 8.4.

b) Marcación del preparado

La marcación se realiza simplemente mezclando la elución del generador con la solución anterior en las siguientes proporciones: a 5 ml de la solución de PVP-bicarbonato se le agregan entre 5 y 10 ml de la elución, según la concentración de actividad deseada. El pH queda regulado entre 6.5 y 5.5 de acuerdo con la relación de volúmenes empleada.

Para llevar a cabo la marcación y esterilización del preparado se puede proceder de acuerdo con una de las siguientes técnicas:

- 1) Agregar el volumen calculado de elución sobre la solución de PVP-bicarbonato, agitar y esterilizar en autoclave 15 minutos a 1,5 atmósferas ó 30 minutos en olla a presión.

- 2) Agregar el volumen calculado de elución sobre la solución estéril de PVP-bicarbonato, a través de un filtro Millipore esterilizado de 220 μ , agitar y calentar en baño María hirviendo durante 10 minutos.

En ambos casos el coloide queda listo para ser inyectado.

c) Material utilizado

- 1) Generador de ^{113}Sn - $^{113\text{m}}\text{In}$, New England Nuclear Corp., con su correspondiente solución eluyente (clorhídrico 0.05 N).
- 2) Polivinilpirrolidona (Kollidon) 25) B.A.S.F.

B) Pruebas biológicas

a) Ensayos de distribución en ratones

Para estudiar el comportamiento biológico del coloide, se realizaron experiencias de distribución en ratones blancos, machos, de 25 a 30 g de peso, a los que se les inyectó 0.2 ml del preparado en la vena dorsal de la cola. Los animales se sacrificaron a distintos tiempos midiendo la actividad de los diversos órganos, a geometría constante sobre un cristal plano de INa (Tl) de 2" x 2". Los resultados expresados como por ciento de la actividad total recuperada se resumen en el cuadro 1.

Dada la posibilidad de esterilizar la preparación mediante los dos métodos antes mencionados, se procedió a estudiar comparativamente el comportamiento biológico del compuesto obtenido según ambas técnicas de esterilización. Para ello se inyectaron dos lotes de ratones en la misma forma explicada anteriormente; con las preparaciones obtenidas según A-b-1) y A-b-2). Los resultados obtenidos, expresados en idéntica forma que en el cuadro 1, se observan en el cuadro 2.

Como se deduce de este último, la esterilización en autoclave permitiría obtener imágenes centellográficas más limpias.

b) Ensayos de depuración plasmática

Para estudiar la depuración plasmática del compuesto, se utilizaron ratas blancas de la cepa Wistar, machos y hembras, cuyos pesos oscilaban entre 300 y 400 g. Se empleó una técnica de canulación carotídeo-carotidiana (11), mediante la cual se obtiene una circulación sanguínea extracorporal; la inyección del coloide se hizo a través de una cánula insertada en la vena yugular del animal.

La desaparición del compuesto activo de la circulación se determinó por medición continua y registro automático de la actividad remanente en sangre (Fig. 1). A partir del análisis en escala semilogarítmica se obtuvieron valores de tiempos de semidepuración, que oscilan entre 2,5 y 3,5 minutos, datos que concuerdan con los aceptados como normales para coloides (12), (13).

C) *Tamaño de las partículas*

Se trató de acotar el tamaño de las partículas del coloide por filtración diferencial a través de filtros Millipore cuyos diámetros de poro estaban comprendidos entre $10m\mu$ y 10μ , siendo los resultados obtenidos poco satisfactorios, posiblemente debido a fenómenos de adsorción sobre la superficie filtrante.

D) *Aplicación clínica*

Basándonos en los resultados de los ensayos biológicos, este preparado fue utilizado en distintos centros asistenciales como agente para gammagrafía hepática. Las actividades empleadas oscilaron entre 0.5 y 2 mCi, inyectadas por vía endovenosa. Algunas de las imágenes centellográficas obtenidas se observan en las Fig. 2,3,3a y 4.(x).

^{113m}In-ALBUMINA HUMANA PARA ESTUDIOS DEL SISTEMA CIRCULATORIO

A) *Materiales y métodos*

a) *Preparación*

A un volumen de albúmina humana al 5 %, se agregan con agitación hasta tres volúmenes de la elución del generador. Se controla el pH, que debe quedar entre 5.5 y 7.5, ajustándolo si fuera necesario con solución saturada de bicarbonato de sodio. La preparación se esteriliza por pasaje a través de un filtro Millipore esterilizado de $220m\mu$.

Se efectuaron mediciones de la actividad retenida por el filtro encontrándose que era prácticamente nula, es decir que la actividad filtraba totalmente.

(x) Las imágenes centellográficas expuestas, son cortesía de los Dres. Pecorini, Martínez Seeber y Ceriani Pángaro del Centro de Medicina Nuclear del Hospital San Martín y el Dr. E. Lanari del Hospital de Niños.

b) Material utilizado

- 1) Generador de $^{113}\text{Sn} - ^{113\text{m}}\text{In}$, New England Nuclear Corp., con su correspondiente solución eluyente (clorhídrico 0.05 N).
- 2) Solución de albúmina humana al 20%. Se empleó la albúmina humana de Behringwerke AG, Marburg Lahn.
- 3) Solución saturada de bicarbonato de sodio en agua destilada.

B) Experiencias biológicas*Distribución en ratones*

Con el objeto de estudiar la distribución del compuesto, se trabajó en ratones blancos de 25 a 30 g de peso, a los que se les inyectó 0.2 ml del compuesto en la vena dorsal de la cola. Los animales se sacrificaron a distintos tiempos, realizándose la medición de los órganos como comentáramos anteriormente. Los datos obtenidos expresados como porcentaje de la actividad total recuperada, se resumen en el cuadro 3.

C) Análisis electroforético

Se realizaron ensayos de electroforesis, en celogel, de sueros de rata y conejo, marcados con Indio-113m, para obviar el problema de inyectar proteínas heterólogas.

Se analizaron así, el compuesto a inyectar y el suero del animal ya inyectado, al que se le extrajo sangre 15 minutos después. En el primer caso, se encontró un pequeño porcentaje (aproximadamente 10%) en el lugar de siembra, mientras que el mayor porcentaje se localizó en las globulinas. En el segundo, toda la actividad se encontró en esta fracción, lo que concuerda con lo observado por Wagner y col. (2), quienes suponen al Indio unido a la transferrina.

D) Aplicaciones clínicas*a) Determinación de la volemia*

Los Dres Pecorini y Chowjnik realizaron determinaciones de la volemia de pacientes normales utilizando el método de análisis por dilución, para lo cual inyectaron aproximadamente 1 mCi de $^{113\text{m}}\text{In}$ -albúmina realizando las extracciones de sangre a los 10, 20, 30 y 40 minutos posteriores a la administración.

Con el fin de comparar el comportamiento de este compuesto con el de la Iodo-albúmina, utilizada comúnmente, administraron conjuntamente 1 mCi de ^{113m}In -albúmina y 250 μCi de ^{125}I -albúmina (5), obteniendo registros continuos de la actividad de ambos isótopos, por localización externa, procediendo además a extraer muestras de sangre a los tiempos antedichos. En la Fig. 5 se observan las curvas experimentales, que resultan paralelas al corregir el decaimiento físico del Indio-113m.

Todos los datos de volemia obtenidos quedaron comprendidos dentro de los límites de error del método. Como ejemplo, en el cuadro 4 citamos un caso, en el que se puede apreciar la estrecha correspondencia existente entre ambos agentes.

b) Confirmación del diagnóstico de hipertensión portal

El Dr. Lanari del Hospital de Niños efectuó experiencias, mediante la inyección de 300 μCi , aproximadamente, del compuesto de ^{113m}In -albúmina, en una vena del plexo hemorroidal superior. Colocando al paciente en posición decúbito dorsal y aplicando sobre él dos localizadores, uno sobre corazón y el otro en la zona hepática, unidos ambos a un registrador de doble canal, se verificó la posición relativa de los picos correspondientes al arribo de la actividad al hígado y al corazón, determinando la diferencia de tiempo que los separa. En los casos normales aparece la actividad primero en hígado y de 5 a 10 segundos después, en corazón. En los casos patológicos leves los picos pueden aparecer simultáneamente, mientras que en los graves se invierte el orden de aparición (7).

c) Centellografía de placenta

Basándonos en lo expuesto, resulta evidente que este compuesto de Indio permite delinear "pools" sanguíneos por centellografía. Con el objeto de determinar la actividad localizada en placenta, se hicieron ensayos de distribución en ratas y conejas preñadas, a término, inyectando por vía endovenosa el suero homólogo portador del ^{113m}In . Los animales fueron sacrificados a intervalos comprendidos entre 30 y 150 minutos, determinándose la actividad presente en los órganos de la madre y en los fetos. Se encontró actividad apreciable en la sangre materna y placentas, mientras que la actividad en los fetos era apenas superior al fondo. No se encontró actividad en orina.

Se realizó una centellografía de coneja preñada (Fig.6) en la que se observan claramente las imágenes placentarias.

En la Fig. 7, se observa la placentografía de una paciente embarazada normal (*), obtenida inyectando 1 mCi del compuesto ^{113m}In -albúmina donde se puede apreciar la claridad de la imagen, que permite una segura localización de la placenta (9) (10).

DISCUSION

La técnica propuesta para obtener un preparado de ^{113m}In , útil en centellografía hepática, presenta la ventaja de emplear un sistema regulador que soluciona totalmente el delicado problema del ajuste del pH (1) (14) (15), lo que otorga al método una gran seguridad operativa.

Las imágenes centellográficas obtenidas son de excelente calidad, notándose una gran concentración de actividad en el hígado, en evidente contraste con el fondo, que aparece completamente limpio aún trabajando con escasa supresión de fondo (10%).

Respecto al compuesto desarrollado para estudios dinámicos y morfológicos del sistema circulatorio, las principales ventajas desde el punto de vista químico estriban en la sencillez de la técnica, en la que el ajuste del pH no resulta de fundamental importancia (2) (8) (14) (15), y en la rapidez de la operación, cuya ejecución no excede los 5 minutos.

Desde el punto de vista clínico, este compuesto permite diversas aplicaciones en todas las cuales la dosis recibida por el paciente es muy baja.

En lo referente a su utilización para la determinación de la volemia y en placentografía, se hace evidente la ventaja del trazador empleado con respecto a otros compuestos usados con los mismos fines, como la ^{131}I -albúmina, la ^{99m}Tc -albúmina y los glóbulos rojos marcados con ^{51}Cr .

El compuesto iodado presenta el inconveniente de su acumulación en la tiroides y en el caso de pacientes embarazadas también en la tiroides del feto y en la leche materna, si se bloquea a la madre. En el caso del cromo se produce lisis de los glóbulos rojos, eliminándose el isótopo por orina al igual que el ^{99m}Tc , lo que dificulta el diagnóstico de placenta previa por la acumulación de la actividad en vejiga.

(*) El centellograma de placenta es cortesía de los Dres. S. Doctorovich y J. Cabello.

Los autores desean dejar constancia de su agradecimiento a las Sras. Yolanda Skowronski y Gladys Pazos por su valiosa colaboración en las experiencias biológicas realizadas.

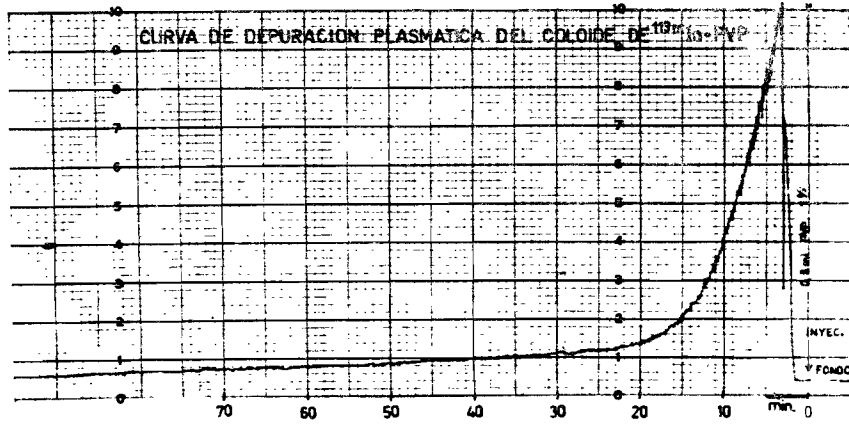


Fig. 1-Curva experimental obtenida por registro continuo de la actividad en sangre con $^{113m}\text{In-PVP}$.

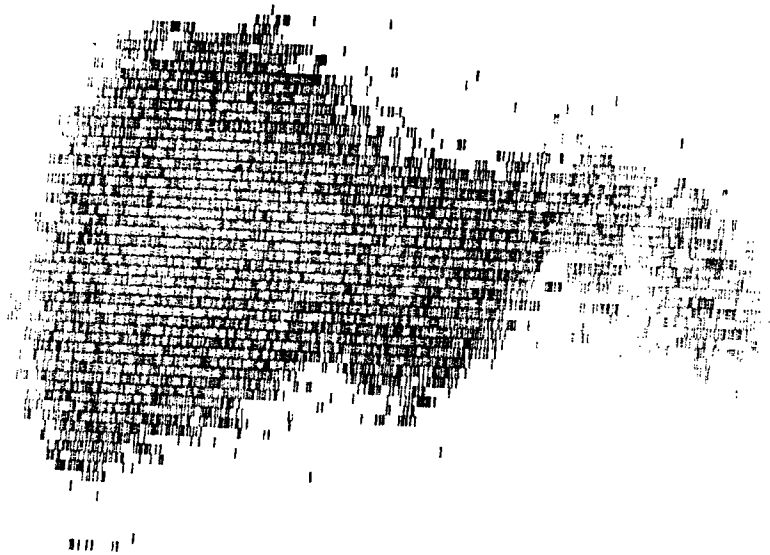


Fig. 2-Imagen centellográfica hepática de un paciente normal.



Fig. 3-Imagen centellográfica hepática sin zonas frías, paciente con carcinoma de colon.

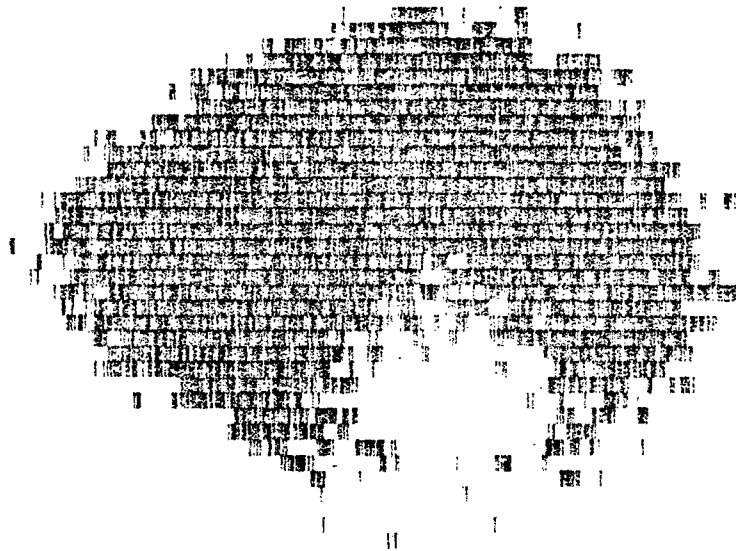


Fig. 3 a-Imagen centellográfica hepática de perfil, del mismo paciente, evidente zona fría.

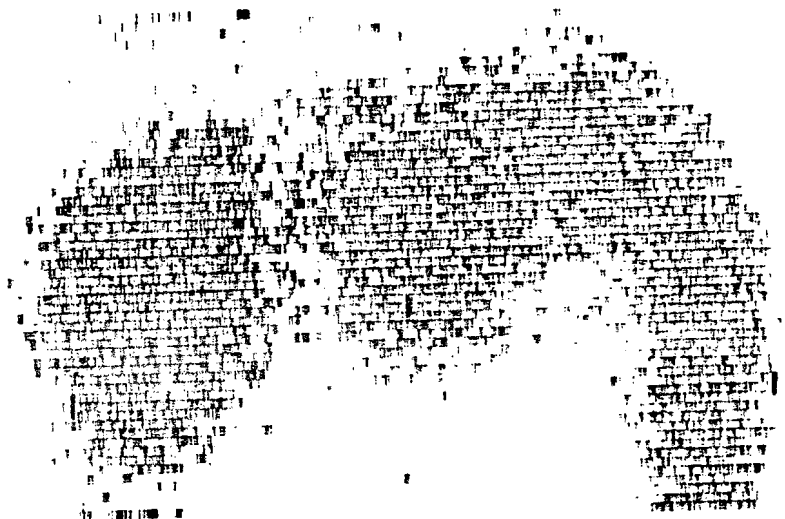


Fig. 4 - Imagen centellográfica de un paciente con metastasis hepática de un carcinoma de colon, es evidente una gran esplenomegalia.

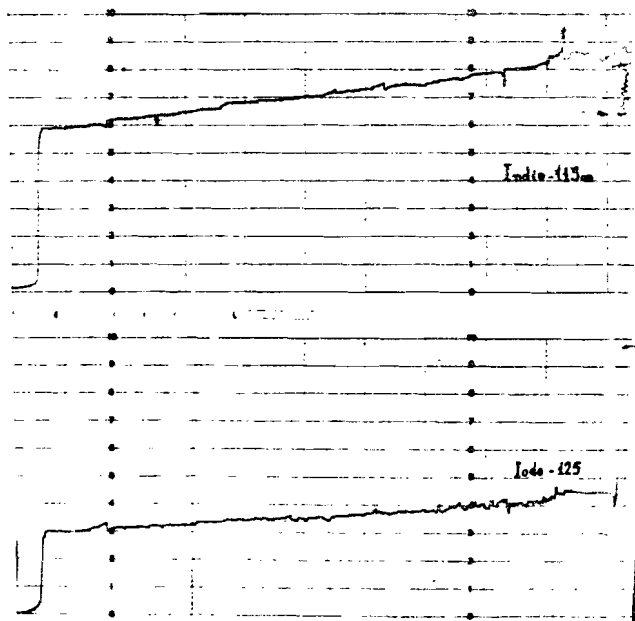


Fig. 5 - Curvas de permanencia en sangre, paciente inyectado con 1 mCi de ^{113m}In -albúmina (curva superior) y 250 μCi de ^{125}I -albúmina (curva inferior).



Fig. 6 - Centellografía de una coneja preñada, con ^{113}mIn -albúmina.

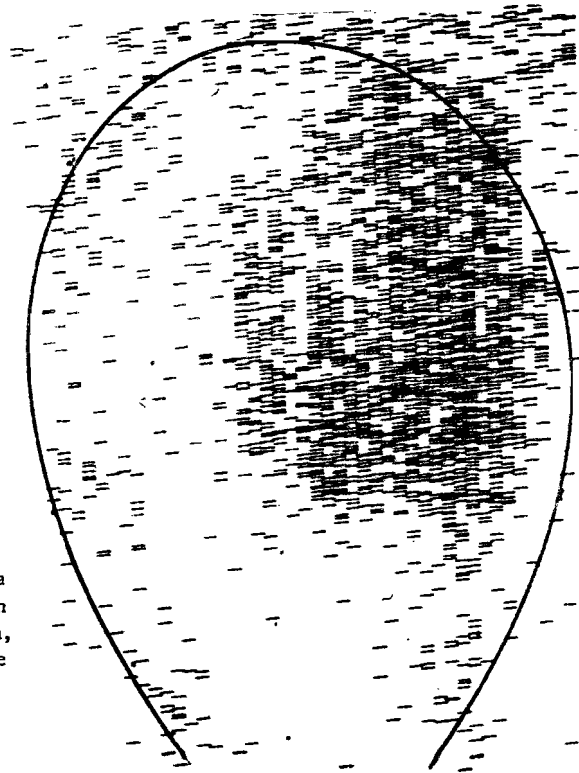


Fig. 7 - Centellografía placentaria de una paciente normal, en el octavo mes de gestación, obtenida con 1 mCi de ^{113}mIn -albúmina.

CUADRO N°1

Distribución del ^{113m}In -PVP en función del tiempo
(Compuesto esterilizado en autoclave)

ORGANO	VALORES PORCIENTO DE $\bar{X} \pm \sigma$			
	15min	30min	60min	120min
Hígado	92,8 \pm 2,7	91,4 \pm 1,77	88,6 \pm 4,3	90,9 \pm 4,0
Bazo	0,88 \pm 0,03	0,93 \pm 0,09	1,43 \pm 0,38	1,53 \pm 0,13
Sangre	1,43 \pm 1,07	1,43 \pm 0,53	1,85 \pm 0,95	1,15 \pm 1,05
Riñón	0,20 \pm —	0,30 \pm 0,15	0,45 \pm 0,35	0,53 \pm 0,38
Pulmón	0,65 \pm 0,15	1,18 \pm 0,68	0,98 \pm 0,63	0,80 \pm 0,40
Resto	4,23 \pm 1,57	4,86 \pm 1,48	7,1 \pm 1,7	5,3 \pm 2,2

CUADRO N°2

Estudio comparativo de la Distribución en ratones, del co-
loide de ^{113m}In -PVP, según el método de esterilización empleado

ORGANO	AUTOCLAVE	MILLIPORE
	20 minutos a 15 Atmósf.	Filtro de 220 m μ
	$\bar{X}\% \pm \sigma$	$\bar{X}\% \pm \sigma$
Hígado	92,8 \pm 2,7	84,4 \pm 1,1
Bazo	0,88 \pm 0,03	0,83 \pm 0,17
Sangre	1,43 \pm 1,07	6,5 \pm 0,5
Riñón	0,20 —	0,95 \pm 0,05
Pulmón	0,65 \pm 0,15	0,85 \pm 0,35
Resto	4,23 \pm 1,57	6,5 \pm 0,1

CUADRO N°3

Distribucion en ratones de ^{113m}In albumina humana
en funcion del tiempo

ORGANO	15 min	35min	60min	120 min
Hígado	7,56±1,34	8,10±0,41	6,20±0,35	5,99±2,61
Bazo	0,61±0,03	0,97±0,32	0,84±0,50	1,07±0,28
Sangre	49,51±0,99	44,71±3,30	44,07±4,30	31,49±2,30
Riñón	7,73±0,13	6,66±0,63	4,79±0,63	5,98±0,25
Pulmón	1,71±0,13	3,61±0,63	3,32±0,84	2,83±0,82
Resto	32,77±0,60	35,92±2,70	41,03±3,70	52,57±0,80

Los datos estan expresados $\bar{X}\% \pm \sigma\bar{x}$

CUADRO N°4

	Volemia con ^{125}I -Albumina	Volemia con ^{113m}In Albumina
V.S.T	4.428 cm ³	4.466 cm ³
V.P.T	2.855 cm ³	2.879 cm ³
V.G.T	1.573 cm ³	1.587 cm ³

BIBLIOGRAFIA

1. D.A. GOODWIN, N.S. STERN, H.N. WAGNER (Jr.) y H.H. KRAMER. "A new radiopharmaceutical for liver scanning". *Nucleonics*, 24, 65, (1966).
2. H.S. STERN, D.A. GOODWIN, U. SCHEFER, H.N. WAGNER (Jr.) y H.H. KRAMER. "^{113m}In for blood pool and brain scanning". *Nucleonics*, 25, 62, (1967).
3. V.A. CISCATO, J.O. NICOLINI y M.C. PALCOS. "Preparados marcados con Indio-113m para centellografía de hígado y pulmón". 42º Congreso de la P.A.M.A., Buenos Aires, 26-30 de Noviembre de 1967.
4. V.A. CISCATO, J.O. NICOLINI, M.C. PALCOS y Z. F. de PICCINNI. "Algunos compuestos de Indio-113m de interés diagnóstico". 2º Congreso Latinoamericano (ALASBIMN). Mar del Plata, 4-10 de Noviembre de 1968.
5. V. PECORINI y A. CHOWJNIK, Centro de Medicina Nuclear, Hospital San Martín, Buenos Aires. Comunicación Personal.
6. S. SILVER. "Radioactive Isotopes in Medicine and Biology (Medicine)". Lea & Fabiger, Philadelphia (1962).
7. E. LANARI, Laboratorio de Radioisótopos, Hospital de Niños. Comunicación personal.
8. M.M. WEBBER, P.L. TOBIN y L.R. BENNETT. "Cardiac Blood Pool Scanning with ^{99m}Tc - Perchnetate - Labeled Albumin". *Radiology* 87, 867 (1966)
9. J.G. MCAFEE, H.S. STERN, G.F. FUEGER, M.S. BAEGISH, G.B. HOLZMAN y I. ZOLLE. "^{99m}Tc-labeled serum albumin for Scintillation Scanning of the Placenta". *J. Nuclear Med.*, 5, 936 (1964).
- 10 J.A. CABELLO, S. DOCTOROVICH, F. DIEZ y A. PLACER. "Placentografía Radioisotópica". *Revista de la Sociedad de Ginecología y Obstetricia de Buenos Aires*, vol. XLVII, Nº 659, 197-205 (1968).
- 11 Y. COHEN, O. COSTEROUSSE y J.J. CHIVOT. "Pharmacodynamie des colloides radioactifs". *Min. Nucl.*, 8, 357-366 (1964).

- 12 N. VEALL y H. VETTER. "Radioisotope Techniques in Clinical Research and Diagnosis". Butterworth & Co. (Publishers), Ltd., London, 1961.
- 13 H.N. WAGNER (Jr.). "Principales of Nuclear Medicine". W.B. Saunders Company, Philadelphia, London, Toronto; 1968.
- 14 KIN-ICHI HISADA y TSUTOMU MISHIMA. "Clinical application of ^{113}Sn - ^{111}In cow (Second Report)". Radisotopes, vol. 6, 23-28 (1967).
- 15 M.M. ADATEPE, M. WELCH, E. ARCHER, R. STUDER y E.J. POTCHEM. "The laboratory preparation of Indium-labeled compounds". J. Nucl. Medicine, 9, 426 (1968).