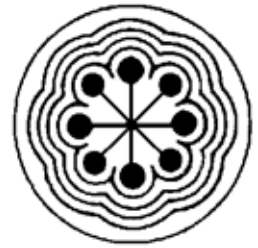




**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MÉXICO**

**INSTITUTO NACIONAL DE
INVESTIGACIONES NUCLEARES**



ININ

FACULTAD DE MEDICINA

MAESTRÍA EN FÍSICA MÉDICA

**Estudio de biodistribución, farmacocinética y
dosimetría de nanosistemas basados en lipoproteínas
de alta densidad radiomarcadas con radionúclidos
para diagnóstico y terapia**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRA EN FÍSICA MÉDICA

PRESENTA

QFB. Diana Laura Pérez Velasco

Comité de Tutores: Dra. Keila Isaac Olivé
Dra. Liliana Aranda Lara
Dra. Blanca Elí Ocampo García



TOLUCA, ESTADO DE MÉXICO

2021

EL PRESENTE PROYECTO SE FINANCIÓ CON RECURSOS
DEL PROYECTO SEP-CONACYT-2016-01-287217 OTORGADO POR
EL CONSEJO NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA (CONACYT).

ESTE SE REALIZÓ COMO PARTE DE LAS ACTIVIDADES DEL
“LABORATORIO DE INVESTIGACIÓN EN TERANÓSTICA” DE LA
FACULTAD DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MÉXICO Y DEL “LABORATORIO NACIONAL DE
INVESTIGACIÓN EN RADIOFÁRMACOS (LANIDER-CONACYT)” EN EL
INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIONES NUCLEARES. LA
REALIZACIÓN DE ESTE TRABAJO DE TESIS FORMA PARTE DE LAS
ACTIVIDADES DE LA RED DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA
“INVESTIGACIÓN EN FARMACIA Y TERANÓSTICA” DE LA UAEMEX.

Tabla de contenido

Resumen.....	7
Abstract	8
Abreviaturas	9
Índice de figuras.....	11
Índice de tablas	12
1. Introducción	13
2. Estado del arte	15
2.1. Antecedentes	15
2.2. Planteamiento del problema	18
2.3. Pregunta de investigación.....	19
2.4. Hipótesis.....	19
2.5. Objetivos	20
2.6. Justificación	21
3. Marco teórico.....	22
3.1. Radiofármacos.....	22
3.1.1. Radiofármacos de diagnóstico	22
3.1.2. Radiofármacos de terapia	23
3.1.3. Radiofármacos teranósticos.....	23
3.2. Nanopartículas teranósticas.....	24
3.3. Radiomarcado con agentes quelantes bifuncionales	25
3.3.1. HYNIC.....	25
3.3.2. DOTA	26
3.4. Lipoproteínas.....	26
3.4.1. Lipoproteínas de alta densidad (HDL).....	26
3.4.2. Radiofármacos basados en HDL.....	27
3.5. Estudios <i>in vivo</i>	28
3.5.1. Biodistribución, modelos farmacocinéticos (biocinéticos) y radiofarmacocinéticos ..	28
3.6. Dosis absorbida	33
4. Metodología.....	36
4.1. Preparación de nanopartículas de rHDL	36
4.2. Caracterización fisicoquímica de las nanopartículas	36
4.2.1. Dispersión dinámica de luz.....	36

4.3. Preparación de ^{99m}Tc -HYNIC-rHDL.....	37
4.4. Preparación de ^{177}Lu -DOTA-rHDL.....	37
4.5. Determinación de la pureza radioquímica de los sistemas radiomarcados	37
4.6. Biodistribución de los sistemas ^{99m}Tc -HYNIC-rHDL y ^{177}Lu -DOTA-rHDL en ratones sanos .	37
4.7. Obtención de los modelos biocinéticos y radiofarmacocinéticos de los órganos de interés a partir de las biodistribuciones obtenidas.....	38
4.8. Cálculo de la dosis absorbida en cada órgano de interés mediante la metodología MIRD	38
4.9. Análisis estadístico	39
5. Resultados y discusión	40
5.1. Preparación de NP basadas en HDL.....	40
5.2. Caracterización de las NP basadas en HDL	41
5.3. Rendimiento de marcaje de los nanosistemas	41
5.4. Biodistribución	43
5.5. Farmacocinética	49
5.5.1. Biocinética sanguínea de las nanopartículas basadas en HDL.....	49
5.5.2. Modelos biocinéticos de órganos de interés	54
5.5.3. Modelos radiofarmacocinéticos.....	60
5.6. Dosimetría	65
6. Conclusiones y recomendaciones	75
6.1. Conclusiones.....	75
6.2. Recomendaciones	76
Referencias bibliográficas	77
Anexos	86
I. Comprobante de recepción de artículo	86
II. Participación en congresos.....	89
III. Reporte iThenticate.....	91

Resumen

Los nanosistemas teranósticos basados en lipoproteínas de alta densidad reconstituidas (rHDL) presentan varias ventajas como capacidad de carga multimodal, biocompatibilidad y baja inmunogenicidad debido a que son similares a las HDL endógenas. Además, tienen reconocimiento específico por el receptor SR-B1, presente en el hepatocito y sobreexpresado en varias líneas celulares de cáncer. En dependencia de la sustancia a enlazar, así como de los propósitos del estudio, es posible insertar en la rHDL iones y moléculas tanto en el núcleo interior como en la membrana superficial. Las moléculas más hidrofóbicas se pueden insertar en el núcleo interior, en tanto que las moléculas más hidrofílicas pueden ser absorbidas o conjugadas a la superficie. Se han publicado pocos estudios utilizando rHDL radiomarcadas.

En este proyecto se incorporaron a la superficie de la rHDL los compuestos HYNIC-S-(CH₂)₃-S-Colesterol y p-Bn-DOTA-NCS-NH-(CH₂)₃-NH-Colesterol y se comparó su influencia en la biodistribución, farmacocinética y dosimetría de la rHDL sin modificación superficial en ratones sanos CD1 (3 ratones por cada tiempo de estudio). Se obtuvieron los modelos farmacocinéticos de los principales órganos en los que se distribuye la rHDL con y sin modificación superficial, verificándose que la presencia de agentes bifuncionales anclados en la superficie de la rHDL induce cambios en la biodistribución y farmacocinética. Finalmente, se determinó la dosis absorbida en cada órgano bajo el formalismo MIRD, utilizando el programa OLINDA/EXM, demostrándose que es posible utilizar la rHDL marcada con diferentes radionúclidos sin sobrepasar las dosis máximas toleradas para los órganos sanos.

Abstract

Theranostic nanosystems based on reconstituted high-density lipoproteins (rHDL) have several advantages such as multimodal carrying capacity, biocompatibility, and low immunogenicity because they are similar to endogenous HDL. Furthermore, they are specifically recognized by the SR-B1 receptor, present in the hepatocyte, and overexpressed in various cancer cell lines. Depending on the substance to be bound, as well as the purposes of the study, it is possible to insert ions and molecules into rHDL both in the inner nucleus and in the surface membrane. The more hydrophobic molecules can be inserted into the inner core, while the more hydrophilic molecules can be absorbed or conjugated to the surface. Few studies have been published using radiolabeled rHDL.

In this project, the compounds HYNIC-S-(CH₂)₃-S-Cholesterol y p-Bn-DOTA-NCS-NH-(CH₂)₃-NH-Cholesterol were incorporated in the rHDL surface and their influence on the biodistribution, pharmacokinetics and dosimetry were compared with rHDL without surface modification in healthy CD1 mice (3 mice for each study time). The pharmacokinetic models of the main organs in which rHDL is distributed with and without surface modification were obtained, verifying that the presence of bifunctional agents anchored on the surface of rHDL induces changes in biodistribution and pharmacokinetics. Finally, the absorbed dose in each organ was determined under the MIRD formalism, using the OLINDA/EXM program, demonstrating that it is possible to use labeled rHDL with different radionuclides without exceeding the maximum tolerated doses for healthy organs.

Abreviaturas

% A.I.	Porcentaje de actividad administrada
\tilde{A}	Actividad acumulada
ADN/DNA	Ácido desoxirribonucleico
Apo	Apoliproteína
BFC	Agente quelante bifuncional
b-HDL	Lipoproteínas de alta densidad biomiméticas
EC	Éster de colesterol
\bar{D}	Dosis absorbida promedio
DA	Dodecilamida
DCM	Diclorometano
DFO	Deferoxamina
DLS	Dispersión dinámica de luz
DMSO	Dimetilsulfóxido
DOTA	ácido 1,4,7,10-tetraazaciclododecano-N, N',N'',N'''-tetraacético
EDDA	Ácido etilendiaminodiacético
EDTA	Ácido etilendiaminotetraacético
EYPC	Fosfatidilcolina de yema de huevo
FC	Colesterol libre
HDL	Lipoproteína de alta densidad
HPLC	Cromatografía líquida de alta resolución
HYNIC	Ácido hidrazinonicotínico
ILDL	Lipoproteína de densidad intermedia
I.P.	Intraperitoneal
ITLC	Cromatografía instantánea de capa fina
I.V.	Intravenoso
LDL	Lipoproteína de baja densidad
LET	Transferencia lineal de energía
MIRD	<i>Medical Internal Radiation Dose</i>
MRT	Radioterapia molecular

NP	Nanopartícula
PBPK	Modelo farmacocinético basado en datos fisiológicos
PDI	Índice de polidispersidad
PEG	Polietilenglicol
PET	Tomografía por emisión de positrones
PL	Fosfolípidos
RF	Radiofármaco
rHDL	Lipoproteína de alta densidad reconstituida
SPECT	Tomografía Computarizada por Emisión Monofotónica
SR-B1	Receptor Scavenger tipo B1
TFA	Ácido trifluoroacético
Tg	Triglicéridos
UV-Vis	Ultravioleta-visible
VLDL	Lipoproteína de muy baja densidad
V _{ss}	Volúmenes de distribución en estado estacionario

Índice de figuras

Figura 1. Esquema general de las rHDL.....	40
Figura 2. Biodistribución HDL/ ^{99m} Tc-HYNIC-DA	44
Figura 3. Biodistribución ^{99m} Tc-HYNIC-rHDL.....	44
Figura 4. Biodistribución ¹⁷⁷ Lu-DOTA-rHDL.....	45
Figura 5. Modelos farmacocinéticos en sangre	52

Índice de tablas

Tabla 1. Tamaño de partícula de las rHDL por DLS.....	41
Tabla 2. Rendimiento de marcaje por ITLC.....	42
Tabla 3. Comparación estadística de las figuras 2 y 3 para 0.5 y 24 h	45
Tabla 4. Comparación estadística de las figuras 2 y 4 para 2 y 24 h	46
Tabla 5. Modelos biocinéticos en sangre.....	51
Tabla 6. Modelos biocinéticos para hígado, bazo, riñón, pulmón y corazón	56
Tabla 7. Modelos biocinéticos de músculo, intestino y hueso	59
Tabla 8. Modelos radiofarmacocinéticos calculados mediante integración manual y con el software OLINDA/EXM a partir de los modelos biocinéticos	61
Tabla 9. Tiempo de eliminación efectivo (h) para cada órgano y sistema calculado a partir de los modelos radiofarmacocinéticos.....	62
Tabla 10. Dosis absorbidas en ratones sanos (mGy/MBq) estimadas a partir de los modelos radiofarmacocinéticos y extrapoladas a humanos	66
Tabla 11. Constantes físicas de los radionúclidos terapéuticos empleados para la estimación de dosis absorbidas a partir del modelo radiofarmacocinético obtenido para el sistema rHDL/ ^{99m} Tc.....	67
Tabla 12. Dosis absorbidas en ratones sanos (mGy/MBq) estimadas a partir de los modelos radiofarmacocinéticos de la rHDL/ ^{99m} Tc y extrapoladas a humanos	68
Tabla 13. Constantes físicas asociadas a la desintegración de los radionúclidos para diagnóstico empleados en la estimación de dosis absorbidas a partir del modelo radiofarmacocinético obtenido para el sistema ¹⁷⁷ Lu-DOTA-rHDL.....	71
Tabla 14. Actividad acumulada (<i>A</i> , Bq h/ Bq) y dosis absorbidas (<i>D</i> , μGy/Bq) para el sistema DOTA-rHDL con diferentes radionúclidos.....	71
Tabla 15. Dosis (mGy) que recibirían los órganos evaluados en un estudio diagnóstico en el que se administren 925 MBq de rHDL/ ^{99m} Tc, ^{99m} Tc-HYNIC-rHDL o ^A X-DOTA-rHDL.....	74
Tabla 16. Dosis (mGy) que recibirían los órganos evaluados en un estudio terapéutico con 150 mCi (5500MBq) rHDL/ ^A X	74

1. Introducción

Los sistemas teranósticos son formulaciones que combinan al unísono propiedades diagnósticas y terapéuticas. Se basan, por lo general, en nanopartículas (NP) que transportan agentes terapéuticos y de imagen (1,2) a las que se enlazan ligandos y biomoléculas para mejorar sus propiedades de reconocimiento específico por parte de las células. Al impartir la terapia guiada por imagen permiten supervisar en tiempo real la respuesta terapéutica, disminuir los efectos adversos y mejorar la eficacia del tratamiento, por lo que tienen un gran potencial en la medicina personalizada, en particular en la terapia del cáncer (2,3).

Las lipoproteínas sintéticas de alta densidad (rHDL) constituyen plataformas teranósticas atractivas debido a sus propiedades fisicoquímicas y biológicas. Tienen capacidad para transportar y depositar en las células agentes de imagen y de terapia, son biocompatibles, biodegradables, manifiestan baja inmunogenicidad debido a su similar estructura con las HDL endógenas (1,4,5), son fáciles de preparar y bien toleradas por los pacientes (5-7).

La principal función de la HDL endógena es el transporte de colesterol desde los tejidos periféricos al hígado (transporte inverso del colesterol). Esta lipoproteína está compuesta por colesterol libre (FC), ésteres de colesterol (EC), triglicéridos (Tg) y proteínas, aunque su principal componente proteico es la apolipoproteína Apo-AI (1,4-6,8). La Apo-AI es la responsable de la integridad estructural y del reconocimiento específico de la HDL por el receptor de membrana denominado *Scavenger Receptor B1* (SR-B1), presente en el hepatocito y órganos esteroideogénicos y a través del cual esta libera las sustancias que acarrea sin internalizarse completamente en la célula (3,6-10).

El receptor SR-B1 también se encuentra sobreexpresado en células tumorales de hepatoma, carcinoma cervical, cáncer de mama, colorrectal, pulmón y próstata debido a la demanda de colesterol para la biogénesis de membrana que presentan estas células (11-14). El mecanismo de interacción entre la Apo-AI y el SR-B1 permite una mayor captación de HDL en la célula de cáncer con respecto a la célula normal para satisfacer la sostenida y creciente demanda de colesterol de la célula tumoral (12,15).

A pesar de que las rHDL pueden transportar iones y moléculas tanto en el núcleo interior como en la membrana superficial (1,4,12,15,16-20) y de la probada eficacia de los radioisótopos como agentes para imagen, son escasos los reportes en los que se utilizan rHDL radiomarcadas para imagen nuclear (6,16-18). Recientemente, se desarrolló un sistema rHDL/^{99m}Tc en el que se internalizó un complejo hidrofóbico en el núcleo de la NP (16), cuya afinidad por las células de cáncer confirma su utilidad para el diseño de plataformas teranósticas para imagen nuclear.

Para lograr plataformas versátiles a base de rHDL y radionúclidos conviene utilizar un quelante bifuncional (BFC) que permita acarrear radionúclidos tanto en el núcleo interior como en la superficie de la NP. Las moléculas más hidrofóbicas se insertan con facilidad en el núcleo, en tanto que las más hidrofílicas pueden ser absorbidas o conjugadas a la superficie (1,6,7,20).

En dependencia del tamaño, la forma y la composición, la rHDL se acumula habitualmente en hígado, riñones, bazo, aorta, pulmones, médula ósea y órganos esteroideogénicos debido, principalmente, a la expresión de los receptores SR-B1 en estos órganos (5,7,15-18,21,22). Sin embargo, si se inserta una molécula, como un BFC, en la superficie de la rHDL para su posterior enlace a radionúclidos, los cambios inducidos en las propiedades fisicoquímicas y funcionales de la NP pueden promover alteraciones en las propiedades farmacocinéticas y dosimétricas (5,17,23), por lo que resulta imprescindible evaluar tales alteraciones a partir de BFC y radionúclidos específicos

En este proyecto se estudió el comportamiento *in vivo* de rHDL en cuya superficie se incorporaron HYNIC y DOTA, dos BFC muy utilizados para acoplar radionúclidos de diagnóstico y terapia a biomoléculas. Para introducir ambos BFC en la membrana superficial de la rHDL se utilizaron los compuestos HYNIC-S-(CH₂)₃-S-Colesterol y p-Bn-DOTA-NH-(CH₂)₂-NH-Colesterol. Se realizaron estudios de biodistribución con los sistemas ^{99m}Tc-HYNIC-rHDL y ¹⁷⁷Lu-DOTA-rHDL, cuyos resultados se compararon con la biodistribución de la rHDL con el compuesto ^{99m}Tc-HYNIC-DA acarreado en el núcleo (rHDL/^{99m}Tc-HYNIC-DA) previamente publicados (16). A partir de los datos de biodistribución se calcularon los modelos biocinéticos y radiofarmacocinéticos de los nanosistemas ^{99m}Tc-HYNIC-rHDL, ¹⁷⁷Lu-DOTA-rHDL y rHDL/^{99m}Tc-HYNIC-DA; y se estimaron las dosis absorbidas en los principales órganos de captación para un grupo de radionúclidos de uso habitual en diagnóstico y terapia.

2. Estado del arte

2.1. Antecedentes

En los últimos años se ha incrementado el uso de NP basadas en lipoproteínas de alta densidad para el transporte y la administración de fármacos y agentes de imagen (5-7,9,12,19,20,22). Las HDL sintéticas se asemejan en composición, tamaño y propiedades a las HDL endógenas por lo que también se les llama HDL biomiméticas (b-HDL) (5,18). Las b-HDL presentan ventajas como alta biocompatibilidad, biodegradabilidad, baja inmunogenicidad y capacidad de transportar y liberar su carga en células y tejidos debido a su similar estructura con las endógenas (1,4,5,7,22). Entre estas ventajas, el reconocimiento específico por el receptor SR-B1 es importante para la administración de agentes terapéuticos. Este receptor se expresa en células involucradas en el metabolismo del colesterol, así como en diversos tipos de cáncer (9,11,13,15,21,22).

Las NP que se preparan a base de HDL pueden tener diferentes tamaños, formas, composición de lípidos y tipo de soporte (apolipoproteína o péptido mimético) (3-6,9,13,19,22). Según la forma pueden ser discoidales (5,17,23,24) o esféricas (5,16,18,24-26), con diferente composición y carga. De acuerdo con el método de preparación se clasifican en reconstituidas (preparadas a partir de sus componentes individuales) y modificadas (si se modifica la superficie para redirigirlas) (18). En el presente trabajo se utiliza el término genérico rHDL.

La capacidad de carga multimodal de las NP basadas en HDL posibilita que puedan transportar y liberar agentes para imagen y terapia, por lo que se han propuesto para el desarrollo de sistemas teranósticos (1,6,7,13,19). Se han utilizado para el transporte y liberación de fármacos lipofílicos, ácidos nucleicos, agentes de contraste, fluoróforos, NP metálicas, fosfolípidos marcados con Gd o Mn (4,15) y radionúclidos para imagen como ^{89}Zr , $^{99\text{m}}\text{Tc}$, ^{111}In , ^{59}Fe (16,17,24,27). Su estructura química proporciona diversas estrategias y métodos de radiomarcado, cuya elección depende del propósito del estudio y de las características de la NP (1,18).

El radiomarcado de la rHDL se puede realizar en el núcleo hidrofóbico (durante o después de preparada la NP), o bien, en la superficie. Para una buena incorporación en el núcleo el coeficiente de partición octanol: agua (expresado como log P) de la sustancia a incorporar debe

ser mayor que 1 (28). Un ejemplo es el nanosistema rHDL/^{99m}Tc-HYNIC-DA obtenido mediante inserción en el núcleo de la rHDL del complejo hidrofóbico ^{99m}Tc-HYNIC-DA (log P 3.85). Este sistema se desarrolló con el objetivo de visualizar células y tumores de cáncer de próstata con sobreexpresión del receptor SR-B1. Los resultados de la evaluación *in vivo* mostraron una importante acumulación en hígado y tumor con eliminación hepatobiliar (16).

Para la incorporación de un radionúclido en la membrana superficial de la rHDL existen dos rutas principales: (a) unión covalente de un agente BFC a los fosfolípidos (PL) o la Apo-AI (1,17); o, (b) intercalación no covalente de agentes anfipáticos (1,16,27) a los cuales se une posteriormente el radionúclido. La primera de estas rutas se ha utilizado para la obtención de imágenes PET de tumores asociados a macrófagos (TAMs), usando ⁸⁹Zr y el BFC deferoxamina (DFO). El radiomarcado se realizó tanto en los PL como en la Apo-AI (17), demostrándose diferencias en el comportamiento *in vivo* en función del sitio de acoplamiento de la DFO: la rHDL marcada en la Apo-AI mostró mayor acumulación en riñones, en tanto que la marcada en los PL manifestó mayor acumulación en hueso (17). En ambos casos, los nanosistemas rHDL-⁸⁹Zr se acumularon de manera significativa en hígado. La segunda ruta, utilizada en el presente trabajo, emplea agentes hidrofílicos que se unen a cadenas hidrofóbicas para poderlos insertar en la bicapa de PL (6,7).

La rHDL se ha utilizado también en modelos animales para el seguimiento de enfermedades cardiovasculares como la aterosclerosis, pues interacciona con los macrófagos de las placas ateroscleróticas mediante el mecanismo de transporte inverso del colesterol (7,19,29,30). Ejemplo de ello es el estudio de placas ateroscleróticas mediante imagen multimodal con rHDL marcadas en el núcleo con NP de óxido de hierro superparamagnéticas (PIOs) y con ⁵⁹Fe (27), utilizando como soporte la apolipoproteína E. La biodistribución de estas NP mostró acumulación en hígado, bazo y macrófagos. Cuando la administración se realizó por vía intraperitoneal (I.P.) la acumulación en las placas ateroscleróticas fue superior en comparación con la vía I.V. lo que confirma que la vía de administración puede inducir cambios en la biodistribución (5).

La transportación y entrega de agentes terapéuticos mediante rHDL exige una evaluación precisa del perfil de seguridad y de posibles efectos secundarios que pueda presentar el sistema

diseñado. En el caso de los sistemas teranósticos a base de radionúclidos es imprescindible evaluar las dosis absorbidas en los principales órganos de captación y excreción, ya que el objetivo principal es depositar una dosis citotóxica en el tumor y minimizar la exposición a la radiación en los tejidos sanos y los órganos en riesgo. Dado que el radionúclido puede incorporarse a la rHDL tanto en el núcleo como en la superficie es importante evaluar la influencia del sitio de marcaje en la biodistribución de las NP radiomarcadas. Cuando se varían los componentes de la rHDL, en particular los de la superficie, se producen cambios en el comportamiento *in vivo* (5,26,30) pues se alteran propiedades biofísicas como estabilidad en plasma, carga superficial, geometría, entre otras, que afectan la unión a receptores y alteran la biodistribución (5,7,12,18 26-33).

Para evaluar la influencia del sitio de marcaje en el diseño de nanosistemas teranósticos *rHDL-radionúclidos* es necesario obtener modelos farmacocinéticos y calcular las dosis absorbidas en los principales órganos de acumulación a partir de la biodistribución en animales de experimentación. La alta sensibilidad que proporcionan las técnicas nucleares permite evaluar tales sitios de acumulación y excreción de un potencial producto para uso en humanos con alto nivel de precisión, obtener modelos farmacocinéticos y calcular las dosis absorbidas para la estimación preclínica de la radiotoxicidad del sistema.

2.2. Planteamiento del problema

Las NP de rHDL presentan varias ventajas para el tratamiento de cáncer por sus características de biocompatibilidad, biodegradabilidad y baja inmunogenicidad, en conjunto con su capacidad de transporte agentes de imagen y de terapia. La preparación de NP de rHDL marcadas con radionúclidos que presenten características teranósticas es actualmente un campo en desarrollo.

Estudios previos han confirmado la capacidad de la rHDL para transportar radionúclidos de imagen al sitio de interés, aprovechando su afinidad por el receptor SR-B1, sobreexpresado en tumores (1,16-18,23). Esto sugiere la posibilidad de diseñar sistemas teranósticos a base de rHDL mediante combinaciones de radionúclidos terapéuticos y de imagen, así como de radionúclidos teranósticos *per se*. Tales radionúclidos pueden enlazarse tanto en el núcleo como en la superficie. Para obtener una NP versátil, que pueda unirse a radionúclidos de diferente naturaleza (para terapia, para imagen y teranósticos), lo más apropiado es utilizar BFC capaces de formar complejos de coordinación con diferentes radionúclidos. Si el complejo *radionúclido-BFC* es hidrofóbico, el radionúclido se puede encapsular en el núcleo de la rHDL (1,16); si es anfifílico, se puede insertar en la superficie (1,17,18).

Como el comportamiento de las NP de rHDL depende de su tamaño, forma y composición, la presencia de un BFC (*sobre todo en la superficie*) puede modificar sus características fisicoquímicas y en consecuencia, puede influir de manera significativa en la biodistribución, farmacocinética y dosimetría con respecto al sistema sin BFC. Resulta entonces imprescindible efectuar la biodistribución de los sistemas rHDL-BFC en animales de experimentación y obtener modelos radiofarmacocinéticos que permitan calcular las dosis absorbidas con diferentes radionúclidos y estimar así las posibles dosis en pacientes.

2.3. Pregunta de investigación

¿En qué medida cambiará la biodistribución, farmacocinética y dosimetría de nanosistemas basados en rHDL al conjugar en la superficie los quelantes bifuncionales HYNIC y DOTA para el transporte de radionúclidos?

2.4. Hipótesis

La inserción en la superficie de las rHDL de HYNIC y DOTA para su posterior coordinación a radionúclidos, cambiará significativamente su biodistribución, farmacocinética y dosimetría en los principales órganos de captación y excreción.

2.5. Objetivos

General

Estudiar la biodistribución, farmacocinética y dosimetría de nanosistemas basados en rHDL que transporten radionúclidos para diagnóstico y terapia.

Específicos

- Determinar la biodistribución de los nanosistemas ^{99m}Tc -HYNIC-rHDL y ^{177}Lu -DOTA-rHDL en ratones sanos y compararla con la biodistribución del sistema rHDL/ ^{99m}Tc -HYNIC-DA previamente publicada.
- Obtener los modelos farmacocinéticos de los principales órganos de captación de los nanosistemas ^{99m}Tc -HYNIC-rHDL, ^{177}Lu -DOTA-rHDL y rHDL/ ^{99m}Tc -HYNIC-DA en ratones sanos.
- Comparar la dosimetría de los sistemas rHDL/ ^{99m}Tc , ^{99m}Tc -HYNIC-rHDL y ^{177}Lu -DOTA-rHDL utilizando la metodología MIRD y estimarla para otros radionúclidos que puedan enlazarse a estos BFC.

2.6. Justificación

El cáncer es la tercera causa de muerte en México. Por lo que, el desarrollo de estrategias alternativas más eficaces y menos tóxicas para su diagnóstico y tratamiento temprano es una necesidad del sistema de salud. Uno de los enfoques más actuales en el tratamiento del cáncer es la medicina personalizada, que utiliza información específica, tanto del tumor como del paciente, para facilitar el diagnóstico, planificar el tratamiento y determinar su eficacia.

Especialmente valiosos con este propósito resultan los sistemas teranósticos a base de NP pues aportan ventajas con respecto a los tratamientos convencionales. A pesar de que las rHDL son una opción prometedora como plataformas teranósticas debido a su capacidad de carga multimodal y reconocimiento específico por diversas líneas de células tumorales, son relativamente escasas las publicaciones con rHDL radiomarcadas, incluyendo los estudios *ex vivo* e *in vivo* en animales de experimentación.

Para el desarrollo de sistemas teranósticos versátiles *rHDL-radionúclidos* es conveniente modificar la superficie de la rHDL con BFC que puedan formar complejos de coordinación con diferentes radionúclidos. Sin embargo, la unión de moléculas a la superficie de la rHDL induce cambios significativos en sus propiedades fisicoquímicas y su funcionamiento biológico con respecto a la rHDL sin modificación superficial. La evaluación del comportamiento farmacocinético y la dosimetría de sistemas rHDL-BFC marcados con radionúclidos que se lleva a cabo en esta investigación aporta información preclínica valiosa para estimar la eficacia y toxicidad de nuevos productos farmacéuticos basados en *rHDL-radionúclidos*. La estimación de las dosis absorbidas en los principales órganos de riesgo de los sistemas rHDL-BFC que se realiza en la presente tesis contribuye al diseño y desarrollo de nanoplataformas teranósticas versátiles para el tratamiento del cáncer.

3. Marco teórico

3.1. Radiofármacos

Un radiofármaco (RF) es un compuesto radiactivo que se utiliza con fines de diagnóstico o terapia y que, de manera general, se administra en cantidades trazas por lo que produce un mínimo efecto farmacológico (34). Los RF deben cumplir con todas las especificaciones de calidad exigidas a un fármaco común. Además, es importante que tenga un periodo de desintegración radiactiva adecuado al proceso biológico que se desea observar o estudiar (34,35).

Los RF se formulan en formas químicas tales que permitan dirigir la radiactividad a un órgano o tejido en específico (36). De acuerdo con su diseño se clasifican en:

(a) *Radiofármacos de primera generación* son especies moleculares radiomarcadas que se dirigen al sitio de interés a través de un mecanismo de localización no específico de sustrato o que utilizan los procesos fisiológicos normales en el cuerpo, como la endocitosis.

(b) *Radiofármacos de segunda generación* son compuestos de coordinación formados por el radiometal enlazado a un BFC en una estructura geométrica definida, que pueden modificarse para influir en la localización específica *in vivo*. Su distribución depende principalmente de sus propiedades fisicoquímicas como carga total, forma y lipofilidad.

(c) *Radiofármacos de tercera generación*, los cuales utilizan fragmentos bioactivos, es decir, tienen reconocimiento específico. Estos RF se conforman por el radiometal, el BFC y la biomolécula de reconocimiento específico.

3.1.1. Radiofármacos de diagnóstico

Los RF de diagnóstico utilizan radionúclidos que emiten fotones γ , preferiblemente entre 30 y 300 keV, que se detectan mediante Tomografía Computarizada por Emisión Monofotónica (SPECT) (34) o emiten positrones que, al aniquilarse con los electrones circundantes, producen radiación γ de 511 keV que se detecta mediante Tomografía por Emisión de Positrones (PET). A partir de la detección efectuada por una u otra técnica, se obtienen imágenes de la distribución tisular del RF mediante algoritmos matemáticos. Entre los radionúclidos más utilizados para imagen se encuentran ^{99m}Tc , ^{64}Cu , ^{111}In , ^{18}F , ^{68}Ga (34). El ^{99m}Tc es el más usado debido a sus propiedades

físicas como corto tiempo de vida media (6h), emisión de fotones γ de 140 keV, bajo costo y gran disponibilidad y asequibilidad (36,37).

Los RF de diagnóstico (SPECT o PET) se aplican habitualmente en la práctica clínica pues proporcionan información funcional con alta sensibilidad y penetración tisular (35,37). El uso de moléculas o sondas radiactivas específicas facilita la visualización, caracterización y medición de procesos biológicos a nivel molecular y celular antes de que aparezcan cambios morfológicos, lo que permite interpretar con mayor precisión condiciones fisiológicas y patológicas (34-37), importantes para el diagnóstico temprano no invasivo o el monitoreo del tratamiento de enfermedades. Estos RF resultan especialmente valiosos en el análisis *in vivo* de la biodistribución y eficacia de fármacos (23,38).

3.1.2. Radiofármacos de terapia

Los RF con fines terapéuticos utilizan radionúclidos que emiten electrones Auger, partículas alfa (α), partículas beta (β^-), o electrones de conversión interna. Entre los radionúclidos terapéuticos habituales están ^{90}Y , ^{131}I , ^{153}Sm , ^{177}Lu , ^{188}Re , ^{198}Au (19,21). Los RF terapéuticos se utilizan para el tratamiento de tumores neuroendocrinos, linfoma no-Hodgking, tumores de hígado, así como para otras condiciones inflamatorias como la paliación del dolor óseo y la radiosinovectomía (39,40). En los últimos años se ha introducido el término radioterapia molecular (MRT) para describir el uso de radiofármacos de terapia con reconocimiento específico (40).

3.1.3. Radiofármacos teranósticos

El término *teranóstico* se refiere a la administración de agentes terapéuticos y de imagen en una sola formulación (1,2,6,18,31,41). Los agentes teranósticos permiten la visualización no invasiva en tiempo real del destino del fármaco, incluidos los perfiles farmacocinéticos y de biodistribución, así como la acumulación intratumoral. De esta forma, se puede evaluar, de forma sencilla, la eficacia terapéutica (31,38,41).

Los radionúclidos ^{131}I , ^{177}Lu , ^{186}Re y ^{188}Re se consideran teranósticos debido a que presentan simultáneamente emisión γ y β^- . El ^{177}Lu emite radiación β^- ($E_{\beta\text{prom}} = 134$ keV), fotones γ con energías de 112.9 y 208.4 keV y electrones de conversión interna, con un período de semidesintegración ($T_{1/2}$) de 6.7 días (42). Los fotones γ se usan para estudios de imagen por

SPECT (42,43), en tanto que por su emisión β^- se ha utilizado en terapia con radionúclidos receptores de péptidos (PRRT) para el tratamiento de tumores neuroendocrinos (NET) (44,45) como el RF ^{177}Lu -DOTA-TOC (46), o bien para el tratamiento de cáncer de próstata como el ^{177}Lu -iPSMA (47,48).

Otra modalidad teranóstica interesante es el uso de los denominados *pares teranósticos*. Consiste en enlazar un radionúclido de terapia y otro de diagnóstico, químicamente similares, a un mismo agente o molécula bifuncional. Primeramente, se administra el compuesto enlazado al radionúclido de diagnóstico, se obtiene información sobre la captación y farmacocinética de la molécula y, posteriormente, se administra el compuesto enlazado al radionúclido de terapia (36). De esta forma, se incrementa la precisión y eficacia del tratamiento terapéutico. Algunos ejemplos de pares teranósticos son $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -/ ^{177}Lu -iPSMA (48), $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -/ ^{177}Lu -CXCR4-L (49).

3.2. Nanopartículas teranósticas

Las NP son sistemas que cuentan con una o más dimensiones en el orden de nm (generalmente 1-100 nm) (3,37,50). Se clasifican de acuerdo con diferentes criterios (forma, tamaño, composición). Según su composición, pueden ser metálicas, cerámicas, semiconductoras, poliméricas y lipídicas (liposomas y lipoproteínas) (18,37,50-52). Por su capacidad de carga y la posibilidad de modificar sus componentes son muy convenientes para el transporte y entrega de radionúclidos y fármacos (2,3,18,23,37,38,50,51).

En los últimos años se ha difundido el uso de NP denominadas teranósticas, capaces de transportar al unísono un agente terapéutico y uno de imagen. Estas NP teranósticas presentan un grupo de ventajas atractivas para aplicaciones médicas, como son capacidad multimodal de carga; farmacocinética controlada; posibilidad de modificar su composición, estructura y superficie para que respondan a su microambiente o a estímulos externos, a fin de proporcionar terapia y contraste en el sitio de interés, así como también dirigir las, de forma pasiva o específica, a tejidos concretos o a tumores (1,2,6,12,38,53). Estas propiedades proporcionan una herramienta útil para la terapia personalizada y para el monitoreo de propiedades clave de varias enfermedades, incluido el cáncer (2,3,37,38).

3.3. Radiomarcado con agentes quelantes bifuncionales

Los métodos de radiomarcado de biomoléculas se clasifican en directos e indirectos. El método directo consiste en la unión directa del radionúclido a la biomolécula mediante interacciones específicas (18,23). El método indirecto consiste en el uso de BFC que actúan como intermediarios entre la biomolécula y el radionúclido (1,18,37), proporcionando un enlace más estable.

Un agente bifuncional (BFC) es una molécula que contiene una unidad quelante que puede unirse fuertemente a un ion metálico (radionúclido) mediante un enlace de coordinación y un grupo funcional reactivo que puede formar enlaces covalentes estables con una molécula bioactiva o específica a receptor sin afectar su integridad (34,36).

El enlace de BFC a la superficie de las NP puede inducir cambios en la carga superficial, la geometría, la polaridad y el grado de hidrofobicidad de éstas y, por tanto, alterar el comportamiento biológico como la biodistribución o las propiedades farmacocinéticas en comparación con la misma NP no funcionalizada (5,7,12,19,26,32,33). A esto se agrega que, durante la circulación *in vivo* el radionúclido enlazado a la superficie de la NP, a través del BFC, puede desprenderse y ser sustituido por sustancias biológicas (5,23,30) lo que contribuye, aún más, a perturbar su biodistribución y farmacocinética.

3.3.1. HYNIC

El ácido 6-hidrazinonotínico (HYNIC), es un BFC que forma complejos de alta estabilidad con el ^{99m}Tc , por lo que ha sido muy utilizado como quelante de este radioisótopo. Para el radiomarcado se reduce el ^{99m}Tc con SnCl_2 y se utilizan coligandos, como N-[2-hydroxy-1,1-bis(hydroxymethyl)ethyl]glycine (tricina), el ácido etilendiaminodiacético (EDDA) y otros agentes que posibilitan completar la esfera de coordinación del radionúclido (54). Varios complejos del tipo ^{99m}Tc -HYNIC se han conjugado con análogos de somatostatina, bombesina, liposomas (18,54-56). Recientemente se utilizó el complejo hidrofóbico ^{99m}Tc -HYNIC-dodecilamida para el radiomarcado de rHDL (16). Además del ^{99m}Tc , el ^{186}Re y ^{188}Re son radiometales que también forman complejos de coordinación estables con el HYNIC debido a sus similares propiedades químicas.

3.3.2. DOTA

El ácido 1,4,7,10-tetraazaciclododecano-N,N',N'',N'''-tetraacético (DOTA) es una molécula que forma complejos muy estables con radionúclidos trivalentes como el $^{66/67/68}\text{Ga}$, ^{90}Y , ^{177}Lu , ^{153}Sm y ^{225}Ac (57-59); también puede formar complejos con radiometales divalentes como el ^{64}Cu (58,59). El DOTA se puede conjugar a biomoléculas por enlaces amida entre uno de sus grupos carboxilo y los grupos amina de biomoléculas, como los péptidos. De esta forma se han obtenido compuestos como DOTA-iPSMA (47) y DOTA-TATE (44).

3.4. Lipoproteínas

Las lipoproteínas son complejos supramoleculares que tienen un núcleo hidrofóbico central compuesto principalmente por triglicéridos (Tg) y ésteres de colesterol (EC), rodeado por una membrana hidrofílica formada por fosfolípidos (PL), colesterol libre (FC) y proteínas anfipáticas llamadas apolipoproteínas. Las lipoproteínas difieren en tamaño, composición lipídica, tipo de apolipoproteínas, función y densidad. Se clasifican en quilomicrones, lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), lipoproteínas de densidad intermedia (IDL), lipoproteínas de baja densidad (LDL) y lipoproteínas de alta densidad (HDL) (1,7,9,18). La función general de las lipoproteínas es el transporte de lípidos en el cuerpo por lo que juegan un importante rol en el metabolismo.

Las lipoproteínas son ideales para el transporte de fármacos, medios de contraste, ácidos nucleicos, entre otros agentes, pues se acumulan de forma natural en varios blancos importantes. Además, presentan una alta biocompatibilidad, biodegradabilidad y baja inmunogenicidad (1,4,5,9,18,19,20).

3.4.1. Lipoproteínas de alta densidad (HDL)

Las lipoproteínas de alta densidad (HDL) tienen diferentes proporciones de moléculas lipídicas; su principal componente proteico es la Apo-AI. Tienen un tamaño de 7.5 nm - 15 nm; el rango de densidad se encuentra entre 1.063 g/mL - 1.25 g/mL (6,7,17,30,60,61). La principal función de la HDL es el transporte reverso de colesterol por lo que juega un importante papel en enfermedades cardiovasculares (7,30,61).

En el organismo, la síntesis de HDL se realiza en el hígado y en el intestino. Primero se sintetizan las proteínas estructurales, las apolipoproteínas, y posteriormente los hepatocitos o

los enterocitos adicionan PL y FC. Las HDL nacientes así formadas van recolectando PL y FC de los tejidos periféricos, quilomicrones y VLDL. Adicionalmente, el núcleo de EC completa su formación por vía enzimática a partir del FC, formando HDL maduras, las cuales entregan selectivamente el EC en el hepatocito vía SR-B1. La lipólisis de lipoproteínas ricas en Tg también transfiere apolipoproteínas hacia la HDL. En el hígado, las HDL se eliminan de la circulación por diversas vías (7,10,18).

Las HDL tienen gran afinidad por el receptor SR-B1, expresado en hígado, glándulas adrenales y en macrófagos, controla el metabolismo y flujo de HDL en las células (1,4,7,9,13,21,60) por lo que se considera un blanco molecular específico de esta lipoproteína (62). Es el responsable de la absorción del colesterol-HDL en el hígado. Después que la HDL libera colesterol en el hígado su tamaño disminuye y la partícula vuelve nuevamente a la circulación (10). Estas partículas más pequeñas de HDL, así como las apolipoproteínas se excretan también por vía renal (30,63).

Las funciones de la HDL dependen de la heterogeneidad de sus componentes. Variaciones en la estructura y la composición de los componentes pueden inducir cambios apreciables en la interacción de la HDL con los receptores celulares y los microdominios de membrana, alterando sus funciones (4,5,8,12,30,33).

3.4.2. Radiofármacos basados en HDL

Las NP lipídicas, como los liposomas y las lipoproteínas, pueden enlazar varios componentes de manera simultánea con una función específica cada uno; es decir, están diseñadas con el paradigma “todo en uno” (41). NP lipídicas radiomarcadas, se han utilizado como agentes de imagen y terapia por sus propiedades fisicoquímicas, biológicas y capacidad de manipulación para obtener propiedades deseadas, como es el direccionamiento mediante modificación superficial (5,9,17,18,20,30,33,37,51,52).

El reconocimiento específico de las HDL por el receptor SR-B1 se produce a través de la apolipoproteína Apo-AI (5,9,12,18,62). El receptor SR-B1 se sobreexpresa en varias células de cáncer, que incluyen adenocarcinoma de próstata, carcinoma cervical, cáncer de mama, cáncer de pulmón y hepatoma (11-14). Esta sobreexpresión se debe a la alta demanda de colesterol que

tiene la célula tumoral para sintetizar la membrana celular (1). Debido a sus capacidades de direccionamiento, carga molecular diversa y funciones naturales, las HDL son esenciales en la progresión del cáncer, lo que ha permitido desarrollar terapias dirigidas, biocompatibles y eficientes para combatir esta enfermedad mediante NP basadas en HDL (1,3,8,9,11-15,19,20,22,23,28,31,38,61). Esto ha posibilitado el empleo de NP basadas en HDL para el transporte de fármacos, ácidos nucleicos, agentes de imagen, terapia fotodinámica, entre otros (4,15,16,17,24,27).

Un ejemplo interesante son las NP de rHDL-⁸⁹Zr para imágenes PET de tumores asociados a macrófagos (17,29). El enlace del ⁸⁹Zr a la rHDL se realizó en la membrana mediante el BFC deferoxamina (DFO) previamente unida a los PL o la Apo-AI, demostrándose que la rHDL-⁸⁹Zr se distribuye de manera diferente en dependencia de si la DFO se enlaza a los PL o a la Apo-AI.

También, se ha usado ^{99m}Tc-HYNIC-DA para el radiomarcaje de HDL con una adecuada eficiencia y estabilidad, y con afinidad por células de cáncer de próstata (16). A diferencia del estudio realizado con el ⁸⁹Zr, como el complejo ^{99m}Tc-HYNIC-DA es hidrofóbico (log P = 3.85) se internaliza en el núcleo de la rHDL sin modificar la superficie de la NP. Este nanosistema muestra eliminación hepatobiliar y acumulación de actividad en hígado y tumor, característicos de la rHDL, mediados por la sobreexpresión del receptor SR-B1 (16).

3.5. Estudios *in vivo*

El desarrollo de cualquier producto farmacéutico, incluidos los RF, exige estudios preclínicos para determinar la distribución en tejidos, el aclaramiento sanguíneo y la eliminación del producto después de la administración (34,39). Al evaluar nuevos RF, diagnósticos o terapéuticos, resulta esencial determinar con precisión la dosis absorbida en los principales órganos de excreción y en los órganos o tejidos con alta acumulación, para poder estimar el riesgo/beneficio del producto (34,57,64,65). En el caso de los RF terapéuticos, el cálculo de las dosis absorbidas resulta imprescindible para ajustar las dosis a administrar a los pacientes (65).

3.5.1. Biodistribución, modelos farmacocinéticos (biocinéticos) y radiofarmacocinéticos

La biodistribución es la fracción de la actividad administrada que se localiza en los diferentes tejidos, órganos o sistemas del organismo. La biodistribución de un RF después de su

administración en un modelo animal se puede realizar por dos métodos: (a) imágenes cuantitativas *in vivo* (b) disección *ex vivo* (5,17,34,66,67).

En la disección *ex vivo* se estudia la distribución del RF en diferentes tejidos. Para ello se administra el RF a un grupo de animales y posteriormente se sacrifican subgrupos en puntos de tiempo específicos. Seguidamente, se extraen los órganos y tejidos y se mide la radiactividad presente en cada uno (5,16,17,34,66,67). La ventaja del método es que permite la escisión clara de muchos órganos y tejidos para analizar el contenido radiactivo.

La biodistribución *in vivo* utiliza equipos de imágenes cuantitativas PET o SPECT, para la recolección de datos, por lo que no requiere el sacrificio de los animales. Sin embargo, en ocasiones la medición de la actividad puede ser menos precisa que en la disección *ex vivo* debido a efectos de volumen parcial, correcciones de dispersión y fondo. Tiene la ventaja de que es posible detectar distribución no uniforme dentro de un órgano (65). Ambos métodos tienen una alta correlación entre sí y brindan datos valiosos para extrapolar al comportamiento en humanos (5,17,65,67).

Después de administrar un RF la biodistribución permite evaluar su tránsito por el organismo (absorción, distribución, metabolismo y excreción) mediante la evolución temporal de sus concentraciones en los diferentes fluidos, tejidos y órganos y obtener modelos matemáticos que describan su comportamiento hasta la eliminación. En dependencia de las variables a considerar existen diferentes modelos para describir el tránsito de un RF por el organismo, aunque el modelo compartimental es el más usado en la modelación matemática (64,67-69) En este modelo el organismo se divide en sectores o compartimentos en los que el RF se distribuye de forma homogénea (67-70). Un compartimento no es una región fisiológica o anatómica real, sino un tejido o grupo de tejidos con similar flujo sanguíneo o afinidad por un RF (64,65,69) útiles para describir su cinética mediante de un modelo matemático. El número de compartimentos factibles depende del intervalo de tiempo en el cual se toman las mediciones de captación sanguínea y el número de puntos disponibles para modelar (68,69). La transferencia entre los compartimentos está gobernada por una cinética de primer orden similar a la cinética química

(64,67-69). El modelo compartimental, que se utiliza habitualmente para el cálculo de las dosis internas de un órgano o tejidos colindantes, parte de las siguientes consideraciones (64,67,70):

(a) Al efectuar la biodistribución de un RF la actividad encontrada en cada órgano a diferentes tiempos postinyección depende de la actividad inicial inyectada (A_0), de la velocidad de desintegración del radionúclido con el que se preparó el RF (λ_f) y de la velocidad de eliminación biológica del RF (λ_b), según la ecuación 1:

$$A_h(t)_{\text{órgano}} = A_0 e^{-(\lambda_f + \lambda_b)t} \quad (1)$$

Donde:

$A_h(t)_{\text{órgano}}$: Actividad del órgano al tiempo t postinyección

A_0 : Actividad inicial del RF inyectada al animal

λ_f : Velocidad de desintegración física del radionúclido contenido en el RF

λ_b : Velocidad de eliminación biológica del RF

Si la actividad del órgano se normaliza en función de la actividad inicial inyectada (A_0), previamente corregida por el tiempo transcurrido de decaimiento del radionúclido, entonces se elimina la contribución del periodo de semidesintegración física del radionúclido ($T_{1/2}^f$) y se obtiene el comportamiento biológico del RF:

$$q_h(t)_{\text{órgano}} = \frac{A_h(t)_{\text{órgano}}}{A_0 e^{-(\lambda_f)t}} = \frac{A_0 e^{-(\lambda_f + \lambda_b)t}}{A_0 e^{-(\lambda_f)t}} = \frac{A_0 e^{-(\lambda_f)t} \times A_0 e^{-(\lambda_b)t}}{A_0 e^{-(\lambda_f)t}} = A_0 e^{-(\lambda_b)t} \quad (2)$$

Donde:

$q_h(t)_{\text{órgano}}$: Actividad del órgano al tiempo t postinyección considerando solamente la eliminación biológica

$A_h(t)_{\text{órgano}}$: Actividad del órgano al tiempo t postinyección

A_0 : Actividad inicial inyectada del RF en el animal

λ_f : Velocidad de desintegración del radionúclido

λ_b : Velocidad de eliminación biológica del RF

Los diferentes valores obtenidos de $q_h(t)_{\text{organo}}$ se ajustan a una curva triexponencial que representan la captación, eliminación rápida y eliminación lenta del RF en el órgano, teniendo en cuenta únicamente la eliminación biológica. Cada curva exponencial se considera un compartimento diferente del RF en el órgano y se conoce como *modelo biocinético* del compuesto en estudio (*ecuación 2.1*), que en los productos farmacéuticos comunes se le denomina modelo farmacocinético:

$$q_h(t)_{\text{organo}} = A_0 e^{-(\lambda_b)t} = A_1 e^{-(\lambda_{b1})t} + A_2 e^{-(\lambda_{b2})t} + A_3 e^{-(\lambda_{b3})t} \quad (2.1)$$

Donde:

$q_h(t)_{\text{organo}}$: Actividad del órgano al tiempo t postinyección considerando solamente la eliminación biológica

A_0 : Actividad inicial inyectada del RF en el animal

A_1, A_2, A_3 : Coeficientes adimensionales

$\lambda_{b1}, \lambda_{b2}, \lambda_{b3}$: Constantes de eliminación biológica (λ_b) del RF en cada compartimento

(b) Una vez conocido el modelo biocinético del RF ($q_h(t)_{\text{organo}}$) obtenido a partir del producto marcado con un radionúclido en particular, es posible describir el *modelo radiofarmacocinético* (*ecuación 3*) el cual contempla tanto la eliminación biológica del RF, como la eliminación física. Para esto se incluye en los exponentes de la curva $q_h(t)_{\text{organo}}$ la componente de eliminación física $e^{-(\lambda_f)t}$ que sólo depende de la velocidad de desintegración física del radionúclido que contiene el RF:

$$A_h(t)_{\text{organo}} = A_0 e^{-(\lambda_f + \lambda_b)t} = A_1 e^{-(\lambda_f + \lambda_{b1})t} + A_2 e^{-(\lambda_f + \lambda_{b2})t} + A_3 e^{-(\lambda_f + \lambda_{b3})t} \quad (3)$$

Donde:

$A_h(t)_{\text{organo}}$: Actividad del órgano al tiempo t de sacrificio postinyección,

A_0 : Actividad inicial inyectada del RF en el animal,

A_1, A_2, A_3 : Coeficientes adimensionales,

$\lambda_{b1}, \lambda_{b2}, \lambda_{b3}$: Constantes de eliminación biológica del RF en cada compartimento,

λ_f : Velocidad de desintegración del radionúclido.

El modelo radiofarmacocinético estudia, por tanto, los cambios de actividad en función del tiempo debido a los procesos de distribución, biotransformación y eliminación teniendo en cuenta el tiempo de vida media efectivo ($T_{1/2}^{eff}$) que es el tiempo que debe transcurrir para que la mitad del RF desaparezca del organismo (64,65,67) y que depende del $T_{1/2}^f$ del radionúclido, (tiempo para que la mitad del radionúclido desaparezca por desintegración radiactiva), y del tiempo de vida media biológico ($T_{1/2}^b$), del producto (tiempo para que la mitad del RF desaparezca del sistema biológico por excreción). El $T_{1/2}^f$ y el $T_{1/2}^b$ se describen mediante leyes exponenciales por lo que el T_{eff} se representa por una suma de exponenciales con diferentes constantes efectivas de eliminación (λ_{eff}).

El modelo biocinético es único para cada RF, de la misma manera que el modelo farmacocinético es único para cada fármaco no radiactivo. Sin embargo, en el caso de los RF existen tantos modelos radiofarmacocinéticos como posibles radionúclidos puedan utilizarse en su preparación. Si una molécula M se marca con un radionúclido R_1 , se prepara el RF R_1 -M. A partir de la biodistribución de R_1 -M se determina el modelo biocinético del RF y el radiofarmacocinético de R_1 -M marcado con R_1 . Utilizando las velocidades de desintegración de otros radionúclidos ($\lambda_2, \lambda_3, \dots, \lambda_n$), es posible encontrar el modelo radiofarmacocinético para cada uno de estos radionúclidos (R_2, R_3, \dots, R_n), sin necesidad de hacer nuevamente la biodistribución con cada uno.

La principal ventaja de estos modelos es que pueden usarse para predecir la conducta de un producto (radiactivo o no) en compartimentos donde no es posible realizar mediciones directas, pero se dispone de conocimiento sobre la fisiología del compartimento (67). Así, es posible establecer su interrelación con otros compartimentos u órganos en los que la captación y la retención se pueden medir directamente a partir de la biodistribución (64,68).

En el caso de las rHDL, la biodistribución depende principalmente del tipo de apolipoproteína o péptido mimético que contenga la NP, por lo que es importante estudiar su acumulación no sólo en hígado, bazo, riñón y pulmón (blanco natural) sino en otros órganos en los cuales tiende a acumularse habitualmente, ya que el diseño y composición de la NP pueden modificar su comportamiento (4,5,30,32,33).

3.6. Dosis absorbida

En medicina nuclear no existen procedimientos estandarizados que permitan obtener distribuciones de dosis exactas. Por tal motivo se realizan *estimaciones* de las dosis absorbidas utilizando diferentes métodos de acuerdo con la radiofarmacocinética de cada producto específico.

La dosis absorbida $D(r_T)$ describe la energía promedio impartida a un tejido (o región) blanco por unidad de masa de tejido (67,70). La unidad de medición de dosis absorbida es J/kg y se denomina gray (Gy). La velocidad en función del tiempo a la cual la dosis absorbida se distribuye en un tejido blanco de un paciente (en nuestro caso en un animal de experimentación) a partir de un material radiactivo distribuido uniformemente en función del tiempo postadministración se expresa como (67,70):

$$D(r_T, t) = \sum_{r_S} A(r_S, t) S(r_T \leftarrow r_S, t) \quad (4)$$

Donde:

$A(r_S, t)$: Actividad en dependencia del tiempo del RF en el tejido fuente

$S(r_T \leftarrow r_S, t)$: Cantidad específica de radionúclido que representa la velocidad promedio de dosis absorbida en el tejido blanco, al tiempo t postadministración, por unidad de actividad presente en el tejido fuente

S es característico del radionúclido, la edad y el sexo del modelo anatómico específico escogido para representar el paciente o el tejido de interés. Se basa, por lo general, en fantomas matemáticos virtuales que representan el cuerpo entero de individuos de referencia con edad, sexo, masa corporal y altura predeterminadas y teniendo en cuenta distribuciones uniformes de actividad en todo el órgano fuente (67,70-72). Alternativamente, se puede basar en imágenes segmentadas de la anatomía del sujeto a partir de imágenes CT o MRI (71).

Según el formalismo MIRD la dosis promedio absorbida en un órgano blanco en un periodo definido de integración de dosis después de la administración de un material radiactivo al sujeto, está dada por (67,70):

$$D(r_T, T_D) = \int_0^{T_D} \dot{D}(r_T, t) dt = \sum_{r_S} \int_0^{T_D} A(r_S, t) S(r_T \leftarrow r_S, t) dt \quad (5)$$

Donde T_D se asume generalmente como infinito para los radionúclidos que se utilizan comúnmente en medicina nuclear.

Si $A(r_S, t)$ se normaliza a una unidad de actividad administrada A_0 , denotada como $a(r_S, t)$, entonces el coeficiente de dosis absorbida $d(r_T, T_D)$ en el tejido blanco r_T viene dado como:

$$d(r_T, T_D) = \sum_{r_S} \int_0^{T_D} a(r_S, t) S(r_T \leftarrow r_S, t) dt \quad (5.1)$$

Donde:

$a(r_S, t)$: Fracción de la actividad administrada que está presente en los tejidos fuente r_S , en el tiempo t postadministración

La actividad $a(r_S, t)$ se obtiene mediante la solución de un conjunto de ecuaciones diferenciales de primer orden definidas por modelos compartimentales para todos los órganos y tejidos de interés. Alternativamente, la actividad en dependencia del tiempo en los tejidos fuente se puede obtener a partir de imágenes *in vivo* o (como en nuestro caso) mediante biodistribución *ex vivo*. Por su parte, el parámetro S es específico para cada radionúclido y para cada fantoma matemático virtual. Define la relación espacial y las composiciones tisulares de r_S y r_T en los tejidos de interés en el modelo de individuo o de tejido de referencia. (71-73).

En la práctica, la dosis absorbida se calcula utilizando diferentes softwares, entre ellos el OLINDA/EXM (*Organ Level Internal Dose Assessment/Exponential Modelling*) (67,73), el cual se alimenta con los valores del %Actividad administrada/masa del órgano y el tiempo. El % Actividad administrada/masa del órgano se calcula según:

$$\frac{\% \text{ Actividad administrada}}{\text{masa del órgano}} = \frac{q_h(t)_{\text{órgano}} \times 100}{\text{masa del órgano}} = \frac{A_h(t)_{\text{órgano}} \times 100}{A_0 e^{-(\lambda_{fis})t} \times \text{masa del órgano}} \quad (6)$$

El software OLINDA/EXM tiene incorporada la biblioteca de valores S , y proporciona directamente el valor de la dosis absorbida (67,73). En caso de no contar con el software, entonces los valores de % Actividad administrada/masa del órgano y tiempo se ajustan a una función triexponencial:

$$q_h(t)_{\text{órgano}} = A_1 e^{-(\lambda_{b1})t} + A_2 e^{-(\lambda_{b2})t} + A_3 e^{-(\lambda_{b3})t} \quad (2.1)$$

a la que posteriormente se le incluye el parámetro correspondiente a la desintegración del radionúclido evaluado, y se convierte entonces en la función:

$$A_h(t)_{\text{órgano}} = A_1 e^{-(\lambda_f + \lambda_{b1})t} + A_2 e^{-(\lambda_f + \lambda_{b2})t} + A_3 e^{-(\lambda_f + \lambda_{b3})t} \quad (3)$$

Dicha ecuación se integra de 0 a ∞ para encontrar el número de desintegraciones totales en el órgano y finalmente, la dosis absorbida se calcula multiplicando por los valores de S reportados para cada radionúclido.

Para las estimaciones de dosimetría, se deben recolectar y medir el contenido radiactivo de tantas regiones de origen y excretas especificadas por MIRD como sea posible. También es aconsejable analizar órganos y tejidos adicionales específicos que tengan una alta captación del radiofármaco en estudio (67,73).

4. Metodología

4.1. Preparación de nanopartículas de rHDL

Las lipoproteínas de alta densidad reconstituidas (rHDL) se prepararon de acuerdo con la metodología descrita por Isaac-Olivé y cols., (16) ligeramente modificada, ya que además de colesterol se utilizó colesterol-modificado (HYNIC-S-(CH₂)₃-S-Colesterol y p-Bn-DOTA-NH-(CH₂)₂-NH-Colesterol; previamente sintetizados en el laboratorio) en una proporción colesterol: colesterol-modificado de 70:30, según el siguiente procedimiento:

En un vial de vidrio se mezclaron los siguientes compuestos disueltos en cloroformo: 300 µL de fosfatidilcolina de yema de huevo (EYPC, 10 mg/mL), 4.9 µL de colesterol libre (FC, 10 mg/mL), 21 µg de colesterol modificado disuelto en cloroformo y 7.5 µL de éster de colesterol (CE, 4 mg/mL). Seguidamente se homogenizó y el solvente se evaporó al vacío en baño ultrasónico a 4°C o bajo flujo de N₂(g). Se formó una película de lípidos adheridos a la superficie del vial que se dispersó por adición de 60 µL de DMSO. Posteriormente, se adicionó 1 mg de Apo-AI, 140 µL de colato de sodio (100 mg/mL en tris buffer) y se completó el volumen a 2 mL con buffer compuesto por 10 mM Tris buffer, 0.1 M KCl, 1 mM EDTA ajustado a pH 8. El vial se cerró, se selló con Parafilm y se homogenizó en vórtex por 15 segundos. La mezcla se dializó a 4°C (en agitador de balanceo) durante 48 horas, con una membrana de celulosa de 14 kDa, con 3 a 4 cambios de solución dializadora. Una vez terminada la diálisis el contenido de la membrana se filtró utilizando primeramente un filtro Millipore de 0.45 µm y luego uno de 0.22 µm. El filtrado final se almacenó en un frasco de vidrio oscuro.

4.2. Caracterización fisicoquímica de las nanopartículas

4.2.1. Dispersión dinámica de luz

El diámetro hidrodinámico de los nanosistemas rHDL en solución se determinó con el analizador Nanotracs (Nanotracs Wave, modelo MN401, Microtracs, FL, EE. UU). Como diluyente se utilizó agua grado inyectable. Todas las mediciones se efectuaron a longitud de onda de 657 nm, temperatura de 20° C, corriente de 15.79 mA, campo eléctrico de 14.35 V/cm y tiempo de muestreo de 128 µs.

4.3. Preparación de ^{99m}Tc -HYNIC-rHDL

A 1 mL de la suspensión de HYNIC-rHDL se adicionaron 100 μL de solución $^{99m}\text{TcO}_4^-$ (1-3 GBq) y se incubó a 90°C por 40 minutos en presencia de 25 μL SnCl_2 (1 mg/mL en 0.012 M HCl) y 500 μL de una solución de EDDA/tricina (30 mg de EDDA en 1.5 mL de 0.1 M NaOH y 60 mg de tricina en 1.5 mL de 0.2 M PBS, pH 7.0). Las NP de ^{99m}Tc -HYNIC-rHDL se separaron por centrifugación con membranas de *cut off* 100 000 MWCO (*Molecular Cut-Off*). Una vez colocada la mezcla radiactiva en la membrana, el tubo se centrifugó a 2500 rpm por 20 minutos. El rendimiento de marcado se calculó como la relación de la actividad en la membrana y la actividad inicial añadida.

4.4. Preparación de ^{177}Lu -DOTA-rHDL

En un vial de vidrio se mezclaron 1 mL de la suspensión DOTA-rHDL, 500 μL de buffer acetato 0.2 mol/L, pH 5.0, y 10 μL de una solución de $^{177}\text{LuCl}_3$ (15 – 18 MBq). La mezcla se incubó por 1 h a 37 °C. A continuación, se traspasó a un tubo de centrifuga con membrana (MWCO 100 000 Da) y se centrifugó por 15 min a 500 g. El rendimiento de reacción se calculó como la relación de la actividad en la membrana y la actividad inicial añadida.

4.5. Determinación de la pureza radioquímica de los sistemas radiomarcados

La pureza radioquímica de las NP radiomarcadas se determinó por ITLC-SG, utilizando NaCl al 0.9% como fase móvil. Las NP se mantienen en el origen, en tanto que el $^{99m}\text{TcO}_4^-$ y el $^{177}\text{Lu}^{3+}$ migran con el frente del solvente. El conteo de la mitad inferior e la tira de ITLC dividido entre el conteo total permite calcular la pureza radioquímica de los sistemas.

4.6. Biodistribución de los sistemas ^{99m}Tc -HYNIC-rHDL y ^{177}Lu -DOTA-rHDL en ratones sanos

Los estudios de biodistribución se realizaron de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999 (74). Se utilizaron ratones sanos (20-22 gramos), que se mantuvieron en cajas de acrílico, estériles, a temperatura, humedad y ruido constantes, con periodos de 12/12 horas de luz/obscuridad (75). A los ratones se les administró 100 μL de los nanosistemas preparados por vía intravenosa (sistema ^{99m}Tc -HYNIC-rHDL) o intraperitoneal (sistema ^{177}Lu -DOTA-rHDL). Los ratones inyectados con ^{99m}Tc se sacrificaron a diferentes tiempos entre 0.5 y 24 h; los inyectados con ^{177}Lu se sacrificaron a las 2, 48, 72 y 120 h. En todos los casos se consideraron 3 ratones por tiempo. Se extrajeron los órganos de interés (corazón, bazo, páncreas, hígado, pulmones, riñones)

o una muestra de los mismos (sangre, intestino, hueso y músculo) y se determinó la actividad asociada a cada uno. Con este valor, y el peso del órgano, se determinó el % de actividad inyectada (% A.I.) / g de tejido (o peso de órgano) para cada tiempo.

4.7. Obtención de los modelos biocinéticos y radiofarmacocinéticos de los órganos de interés a partir de las biodistribuciones obtenidas

El porcentaje de actividad administrada en cada órgano de interés (% A.I.) a partir de la biodistribución *ex vivo* de los sistemas para cada uno de los tiempos estudiados se calculó teniendo en cuenta un estándar radiactivo, correspondiente a una alícuota del radiofármaco administrado en cada biodistribución. La corrección se realizó usando el promedio de la actividad del estándar en cada tiempo como el 100 %. De esta forma, se obtuvo únicamente el valor de la interacción biológica del nanosistema.

Modelo biocinético: Para cada órgano de interés se construyó la curva porcentaje de actividad administrada (% I.A.) vs tiempo postinyección, utilizando el programa OLINDA/EXM. La curva fue ajustada según el modelo triexponencial descrito en el *epígrafe 3.5.1*. Los cálculos se realizaron de dos formas teniendo en cuenta el peso específico de las dispersiones estándar obtenidas en cada punto (ajuste ponderado) y sin tener en cuenta las dispersiones estándar (ajuste no ponderado).

Modelo radiofarmacocinético: A partir de los modelos biocinéticos se calcularon los modelos radiofarmacocinéticos para los tres sistemas radiomarcados: rHDL/^{99m}Tc-HYNIC-DA (rHDL/^{99m}Tc), ^{99m}Tc-HYNIC-rHDL (^{99m}Tc-rHDL) y ¹⁷⁷Lu-DOTA-rHDL (¹⁷⁷Lu-rHDL), incorporando la constante de decaimiento físico como se menciona en la *ecuación 3* del *epígrafe 3.5.1*.

4.8. Cálculo de la dosis absorbida en cada órgano de interés mediante la metodología MIRD

Las dosis absorbidas en cada órgano de interés se determinaron mediante el formalismo MIRD (70) utilizando el programa OLINDA/EXM. Este programa sólo requiere que se seleccione el modelo humano, el radionúclido y se introduzcan los valores de los tiempos de residencia del RF en los diferentes órganos fuentes. Para los radionúclidos terapéuticos se empleó el modelo

radiofarmacocinético obtenido para el sistema rHDL/^{99m}Tc en tanto que para los radionúclidos de diagnóstico se utilizó el modelo radiofarmacocinético obtenido para el sistema ¹⁷⁷Lu-rHDL.

4.9. Análisis estadístico

Se utilizó el análisis ANOVA, para comparar los tres nanosistemas a las 24 h postinyección. La comparación de los nanosistemas rHDL vs HYNIC-rHDL y rHDL vs DOTA-rHDL a diferentes tiempos se efectuó mediante la prueba de t de Student. Se consideraron significativos los valores de $p < 0.05$ para la prueba de dos colas o una cola, según la hipótesis a comprobar.

5. Resultados y discusión

5.1. Preparación de NP basadas en HDL

Para insertar moléculas en la membrana superficial de la rHDL, las vías más empleadas son: (a) enlace covalente a los grupos fosfato de los PL (1,4,6,18) o a los residuos lisina, arginina, tirosina o cisteína de la Apo-AI (1,4,17,19,29); (b) intercalación no covalente en los PL de agentes que puedan interactuar mediante fuerzas iónicas o puentes de hidrógeno con las moléculas que se pretende insertar (1,7,17,18,29). La inserción en la superficie de la rHDL de colesterol modificado con un BFC, utilizada en la presente tesis, ha sido poco aplicada en estudios previos.

Para enlazar el HYNIC y el DOTA a la superficie de la rHDL se utilizaron los derivados HYNIC-S-(CH₂)₃-S-Colesterol y p-Bn-DOTA-NCS-NH-(CH₂)₃-NH-Colesterol. Como el colesterol se puede introducir en altas proporciones en la monocapa superficial durante la preparación de la rHDL (26), hipotetizamos que al preparar NP rHDL con un derivado de colesterol, al que previamente se hubiera unido el BFC, la parte hidrofóbica de la molécula quedaría “incrustada” en el interior de la membrana superficial, en tanto que parte hidrofílica quedaría expuesta hacia el exterior para coordinarse con el radionúclido, tal como se muestra en la *figura 1*, que representa el sitio de inserción a la superficie de los derivados de colesterol-HYNIC y de colesterol-DOTA empleados y se comparan con el sistema rHDL/^{99m}Tc-HYNIC-DA que contiene el compuesto hidrofóbico ^{99m}Tc-HYNIC-DA en el núcleo (16).

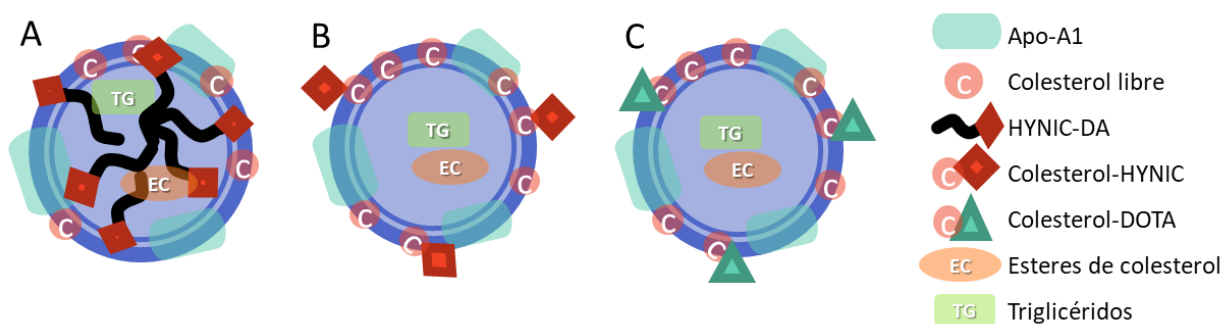


Figura 1. Esquema general de las rHDL
A. Nanosistema rHDL/^{99m}Tc-HYNIC-DA. **B.** Nanosistema ^{99m}Tc-HYNIC-rHDL.
C. Nanosistema ¹⁷⁷Lu-DOTA-rHDL.

5.2. Caracterización de las NP basadas en HDL

Las NP preparadas se obtuvieron con un tamaño promedio adecuado para estudios *in vivo* (*tabla 1*). El tamaño de las NP HYNIC-rHDL es menor que el reportado para las NP rHDL (16), mientras que el tamaño de las NP DOTA-rHDL resultó mayor. Estos tamaños de partícula tuvieron una variación dentro del $\pm 5\%$ durante las siguientes 24 h, demostrando la estabilidad de las suspensiones coloidales. Las diferencias de tamaño inducidas en la rHDL por HYNIC-S-(CH₂)₃-S-Colesterol y DOTA-NCS-NH-(CH₂)₂-NH-Colesterol no fueron significativas ($p > 0.05$) y se deben, probablemente, al diferente empaquetamiento de la Apo-AI alrededor de la NP, que depende fuertemente de los componentes de la superficie (12,32). Los tamaños obtenidos son adecuados para atravesar la débil vasculatura de los tumores y penetrar su densa matriz extracelular de fibrillas de colágeno (5), por lo que resultan adecuados para la MRT.

Tabla 1. Tamaño de partícula de las rHDL por DLS

Nanosistema	Diámetro hidrodinámico (nm)	Índice de polidispersidad
rHDL*	36.60 \pm 10	0.28
HYNIC-rHDL	20.69 \pm 14	1.227
DOTA-rHDL	43.12	0.896

*Tomado de (16)

El sistema rHDL sin modificación superficial resultó más homogéneo (*tabla 1*) de acuerdo con el índice de polidispersidad (PDI). La homogeneidad de las NP de rHDL depende fuertemente de la composición lipídica de la membrana (26,76), lo que explica la menor homogeneidad de las NP modificadas superficialmente.

5.3. Rendimiento de marcaje de los nanosistemas

La *tabla 2* muestra el rendimiento del marcaje de las NP de ^{99m}Tc-HYNIC-rHDL y ¹⁷⁷Lu-DOTA-rHDL. A modo de comparación, se reflejan también los resultados publicados con el sistema rHDL/^{99m}Tc-HYNIC-DA (16).

Una vez purificadas por centrifugación, en tubo de membrana de 100 000 MWCO, la pureza radioquímica del producto final en ambas preparaciones fue superior a 95 %.

Tabla 2. Rendimiento de marcaje por ITLC

Nanosistema	Eficiencia de radiomarcaje
rHDL/ ^{99m} Tc-HYNIC-DA *	86 %
^{99m} Tc-HYNIC-rHDL	55 %
¹⁷⁷ Lu-DOTA-rHDL	85 %

*Tomado de (16)

La diferencia de rendimiento de marcaje entre los sistemas ^{99m}Tc-HYNIC-rHDL y ¹⁷⁷Lu-DOTA-rHDL se explica por la diferente interacción de los derivados de colesterol empleados con los componentes de la membrana:

(a) El HYNIC solo puede coordinar a través del nitrógeno del anillo piridina y del grupo -NH₂ de la hidracina. Los grupos fosfato de la fosfatidilcolina de la rHDL interactúan fuertemente con los grupos amino, tanto por interacciones electrostáticas como por la formación de puentes de -H (77,78). Resulta altamente probable que una parte de los grupos -NH₂ del residuo hidracina del HYNIC-S-(CH₂)₃-S-Colesterol reaccione con los fosfatos de la fosfatidilcolina, quedando disponible entonces una menor proporción de ellos para la coordinación con el ^{99m}Tc. Los grupos -NH del DOTA-NCS-NH-(CH₂)₂-NH-Colesterol también pueden reaccionar con los fosfatos de la fosfatidilcolina, pero no están comprometidos con la coordinación del ¹⁷⁷Lu, por lo que su interacción con el PL influye menos en el posterior radiomarcado. Además, la probabilidad de formar puentes de -H es mayor en los grupos -NH₂ del HYNIC-S-(CH₂)₃-S-Colesterol que en los grupos -NH del DOTA-NCS-NH-(CH₂)₂-NH-Colesterol (77,78).

(b) Los grupos N-terminal y C-terminal de la Apo-AI también pueden interactuar con los grupos funcionales del HYNIC-S-(CH₂)₃-S-Colesterol y del DOTA-NCS-NH-(CH₂)₂-NH-Colesterol, lo que contribuye a disminuir el área superficial total disponible para la coordinación con los radionúclidos. En el caso del HYNIC, como ya se describió, la interacción de estos grupos es mayor que en el DOTA.

(c) Los lípidos de la superficie de la rHDL pueden difundir hacia el núcleo interno en función de parámetros entre los cuales el tamaño, la geometría y la hidrofobicidad de la molécula juegan un importante rol (32). Los coeficientes de partición octanol: agua calculados teóricamente muestran que el HYNIC-S-(CH₂)₃-S-Colesterol es más hidrofóbico (log P = 8.85) que el DOTA-

NCS-NH-(CH₂)₂-NH-Colesterol (log P = 6.48). Esto facilita que el HYNIC-S-(CH₂)₃-S-Colesterol pueda difundirse mejor a través de la capa lipídica de la rHDL, y quedar menos expuesto al medio acuoso que rodea la NP, que el DOTA-NCS-NH-(CH₂)₂-NH-Colesterol. Como la parte hidrofílica de la molécula es la que se enlaza al radionúclido, presente en el medio acuoso, mientras más “enterrado” esté el BFC en la capa lipídica, menor será la posibilidad de coordinación con el radionúclido.

5.4. Biodistribución

La biodistribución de la rHDL depende de la configuración particular de cada NP. La rHDL se acumula en los tejidos tanto de manera no específica como específica a través de receptores (5,7,9,18). Variables como el tamaño, la composición lipídica de la superficie y el tipo de apolipoproteína que la conforman influyen significativamente en su biodistribución (5,7,30). La biodistribución de los sistemas ^{99m}Tc-HYNIC-rHDL y ¹⁷⁷Lu-DOTA-rHDL se comparó con la del sistema rHDL/^{99m}Tc-HYNIC-DA previamente reportada (16). Los tres nanosistemas muestran acumulación en hígado, bazo, riñones, pulmones y hueso (*figuras 2-4*) en correspondencia con la biodistribución en ratones normales reportada por otros autores (5,16,17,30).

La acumulación máxima en hígado de los sistemas fue similar, pero el tiempo al que se alcanzó fue diferente, reflejando diferencias en la biocinética de los 3 nanosistemas (ver más adelante los *epígrafes* 5.5.1 y 5.5.2.). La mayor acumulación (36.23 ± 19.45 % A.I./ g de tejido) del nanosistema rHDL/^{99m}Tc-HYNIC-DA (*figura 2*) ocurrió a los 30 min, mientras que los nanosistemas ^{99m}Tc-HYNIC-rHDL (35.12 ± 3.04 % A.I./ g de tejido, *figura 3*) y ¹⁷⁷Lu-DOTA-rHDL (28.31 ± 17.65 % A.I./ g de tejido, *figura 4*) mostraron la mayor acumulación a 1h y 2h postinyección, respectivamente, aunque en el caso del sistema ¹⁷⁷Lu-DOTA-rHDL es posible que haya podido acumularse en hígado en un tiempo menor, pero no se dispone del dato, ya que el primer tiempo se tomó a las 2 h postadministración.

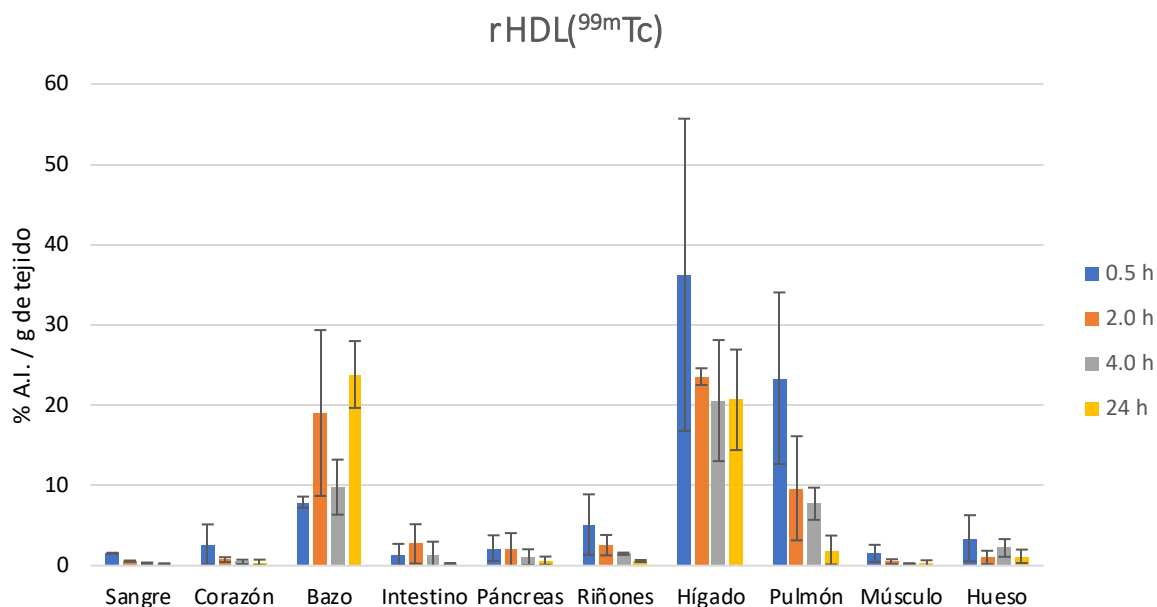


Figura 2. Biodistribución HDL/^{99m}Tc-HYNIC-DA (Tomada de (16))

A las 24 h postinyección, mientras que los sistemas ^{99m}Tc-HYNIC-rHDL y rHDL/^{99m}Tc-HYNIC-DA muestran una misma captación (20.12 ± 10.75 y 20.66 ± 6.26 % A.I./ g de tejido, respectivamente), ocurre un cambio significativo ($p < 0.05$) en la captación hepática del sistema ¹⁷⁷Lu-DOTA-rHDL (7.39 ± 1.28 % A.I./ g de tejido).

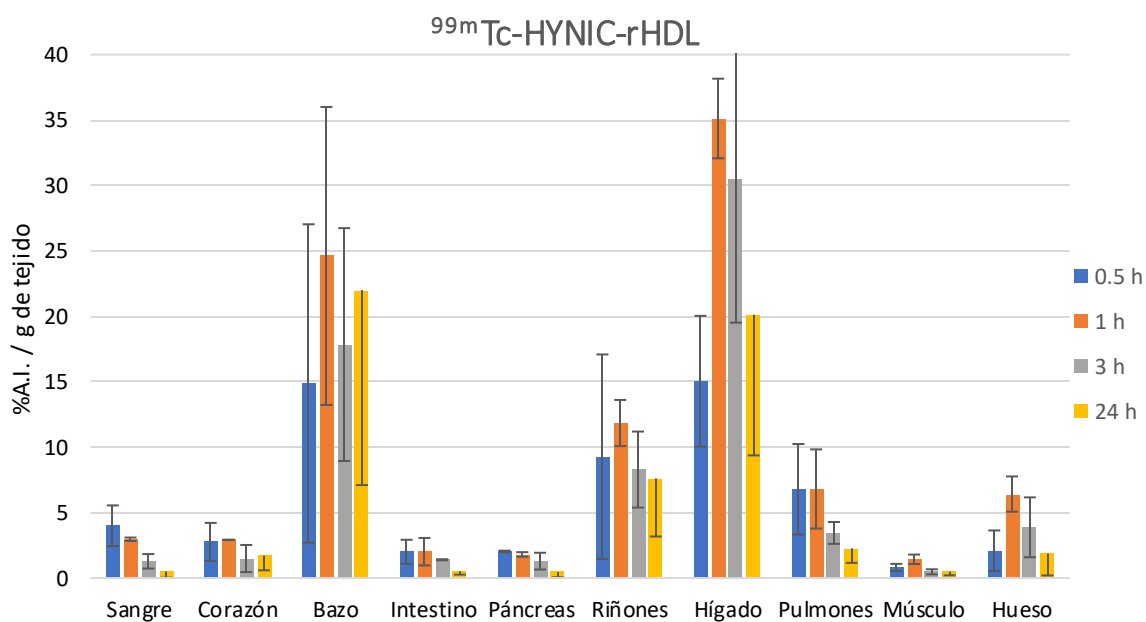


Figura 3. Biodistribución ^{99m}Tc-HYNIC-rHDL

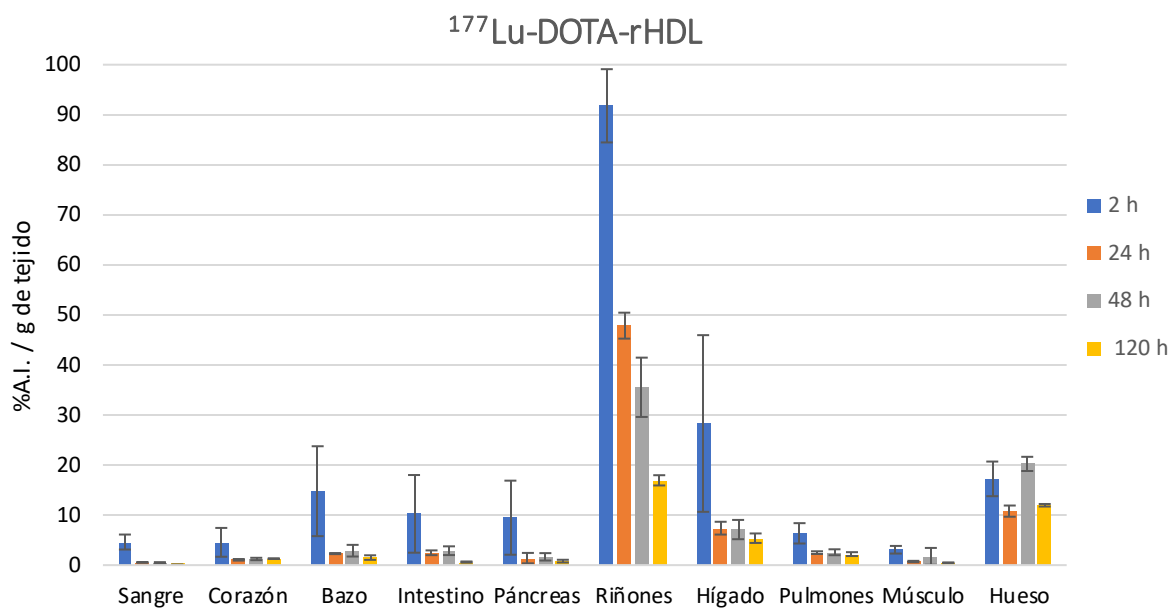


Figura 4. Biodistribución ¹⁷⁷Lu-DOHA-rHDL

El análisis estadístico detallado de la biodistribución del sistema ^{99m}Tc-HYNIC-rHDL (figura 3) con respecto al sistema rHDL/^{99m}Tc-HYNIC-DA (figura 2) a 0.5 h y 24 h (tabla 3) muestra que los patrones de biodistribución tienen diferencias en los principales órganos de captación, pero debido a las dispersiones éstas no resultaron estadísticamente significativas ($p > 0.05$), con excepción de la captación renal a las 24 h postinyección.

Tabla 3. Comparación estadística de las figuras 2 y 3 para 0.5 y 24 h

Órgano	% A.I./g tejido (0.5 h)			% A.I./g tejido (24 h)		
	rHDL/HYNIC*	HYNIC-rHDL	Valor de p	rHDL/HYNIC*	HYNIC-rHDL	Valor de p
Sangre	1.55±0.07	3.71±2.08	0.06	0.19±0.10	0.49±0.47	0.34
Corazón	2.64±2.50	2.92±2.02	0.80	0.39±0.36	1.72±1.12	0.12
Pulmones	23.34±10.69	8.56±2.26	0.08	1.95±1.80	2.28±1.12	0.80
Hígado	36.23±19.45	15.04±5.00	0.14	20.66±6.26	20.12±10.75	0.94
Páncreas	2.18±1.60	2.08±0.41	0.88	0.62±0.51	0.46±0.41	0.69
Bazo	7.91±0.70	20.43±10.50	0.04	23.82±4.16	22.00±14.90	0.85
Riñones	5.12±3.77	11.32±9.85	0.25	0.58±0.13	7.62±4.44	0.05
Intestino	1.41±1.31	2.18±1.23	0.44	0.21±0.12	0.52±0.26	0.13
Músculo	1.53±1.07	0.81±0.38	0.62	0.31±0.36	0.49±0.28	0.54
Hueso	3.42±2.87	2.58±1.83	0.66	1.17±0.84	1.87±1.67	0.55

*Tomado de (16). Los valores reflejados corresponden a la media ± DE.

En el caso del DOTA-NCS-NH-(CH₂)₂-NH-Colesterol, sin embargo, se pueden apreciar variaciones en el comportamiento *in vivo* de las NP. La comparación de la captación a las 2 h y 24 h postinyección revela que a las 2 h hay diferencias significativas entre las NP rHDL/^{99m}Tc-HYNIC-DA y ¹⁷⁷Lu-DOTA-rHDL en sangre, riñones, músculo y huesos; en tanto que a las 24 h postinyección las diferencias se aprecian prácticamente en todos los órganos excepto en pulmones, páncreas y músculo (*tabla 4*). Estas variaciones indican una biocinética diferente entre ambos sistemas, que se analiza posteriormente (*epígrafes 5.5.1 y 5.5.2*).

Existe una comprensión limitada acerca de la influencia de la composición de la rHDL en su biodistribución (5,32), aunque se sabe que la proteína y el componente lipídico de la superficie son importantes en su funcionalidad (5,7,12,19,26,30,32,79). La inserción de moléculas en la superficie de las NP puede inducir cambios en sus propiedades intrínsecas como la carga superficial, la polaridad y el grado de hidrofobicidad y por tanto, alterar su biodistribución y farmacocinética (5,18,23,30,32,76). Se sabe que la interacción entre el colesterol y los PL de la membrana tiene una influencia notable en el comportamiento *in vivo* de la rHDL (5,12,30), particularmente en hígado y riñones, siendo especialmente apreciable en estos últimos (5,7,17), lo que explica las variaciones observadas en los nanosistemas ^{99m}Tc-HYNIC-rHDL y ¹⁷⁷Lu-DOTA-rHDL con respecto al sistema rHDL/^{99m}Tc-HYNIC-DA, ya que en los dos primeros se modificó una parte del colesterol de la membrana. La diferente vía de administración también ha sido reportada que influye en la biodistribución (5,30).

Tabla 4. Comparación estadística de las figuras 2 y 4 para 2 y 24 h

Órgano	% A.I./g tejido (2 h)			% A.I./g tejido (24 h)		
	rHDL/HYNIC*	DOTA-rHDL	Valor de p	rHDL/HYNIC*	DOTA-rHDL	Valor de p
Sangre	0.57±0.08	4.62±1.50	0.006	0.19±0.10	0.55±0.07	0.007
Corazón	0.75±0.30	4.55±2.88	0.077	0.39±0.36	1.06±0.15	0.041
Pulmones	9.64±6.49	6.36±2.03	0.373	1.95±1.80	2.50±0.27	0.629
Hígado	23.55±1.04	28.31±17.65	0.609	20.66±6.26	7.39±1.28	0.023
Páncreas	1.98±2.07	9.48±7.40	0.064	0.62±0.51	1.40±1.04	0.311
Bazo	19.01±10.33	14.78±8.98	0.550	0.58±0.13	2.31±0.11	1.5E-5
Riñones	2.55±1.27	91.79±7.32	2.03E-6	0.58±0.13	47.86±2.59	6.01E-6
Intestino	2.72±2.45	10.24±7.75	0.173	0.21±0.12	2.47±0.48	0.001
Músculo	0.50±0.30	3.08±0.76	7.53E-4	0.31±0.36	0.72±0.14	0.145
Hueso	1.02±0.84	17.24±3.46	9.81E-5	1.17±0.84	10.79±1.12	2.82E-4

*Tomados de (16). Los valores reflejados corresponden a la media ± DE

Si bien el tamaño de las NP influye en su biodistribución (5,79), las diferencias de tamaño de los tres nanosistemas (*tabla 1*) no resultó significativa ($p > 0.05$). Suponemos entonces que los cambios en el comportamiento *in vivo* observados se deben, fundamentalmente, a los cambios en las propiedades fisicoquímicas provocados por los derivados de colesterol empleados al interactuar con los PL y con la Apo-AI presentes en la superficie de la rHDL, y que la influencia del tamaño es menor.

Los derivados de colesterol utilizados en la preparación de las rHDL pueden influir en las conformaciones que la Apo-AI, ya que se ha demostrado que la composición lipídica de la rHDL (incluyendo los lípidos del núcleo) afecta las interacciones lípido-proteína y proteína-proteína de la Apo-AI en la que están involucrados los residuos -N y -C terminales, así como la región central de la hélice (12,26,32,76). Estos cambios en la conformación de la Apo-AI forman diferentes puentes salinos e interacciones hidrofóbicas que, si bien no perturban la estructura global de la partícula (32), modifican su funcionamiento (26,32,76) y afectan la capacidad de unión de la rHDL a los receptores celulares y otros ligandos (4,12,30,32,76), alterando, por tanto, la biodistribución.

La modificación superficial efectuada al insertar en la superficie de la rHDL los derivados HYNIC-S-(CH₂)₃-S-Colesterol y DOTA-NCS-NH-(CH₂)₂-NH-Colesterol alteró el % A.I. en sangre de los nanosistemas ^{99m}Tc-HYNIC-rHDL y ¹⁷⁷Lu-DOTA-rHDL con respecto al sistema rHDL/^{99m}Tc-HYNIC-DA, aunque sólo fue significativa en el caso del ¹⁷⁷Lu-DOTA-rHDL (*tablas 3 y 4*). Los mecanismos por los cuales varía el aclaramiento sanguíneo de la rHDL en función de su composición tampoco se conocen totalmente (5,79), aunque se piensa que el hígado es el principal responsable (5,12).

La mayor captación renal del sistema ^{99m}Tc-HYNIC-rHDL y en particular, del ¹⁷⁷Lu-DOTA-rHDL en comparación con el sistema rHDL/^{99m}Tc-HYNIC-DA se atribuye a las modificaciones efectuadas en la superficie. Otros autores también han reportado un aumento significativo de la captación renal al modificar la superficie de la rHDL (5,17,29). Habitualmente el hígado, músculo esquelético, tejido adiposo y macrófagos se consideran los sitios primarios del metabolismo de las lipoproteínas (5,39,63,77,80,81). El hígado es el principal sitio de captación y degradación de la HDL, pero los riñones tienen un importante papel en su catabolismo (5,12,17,29,78-82), que en los roedores puede ser incluso, más activo que el hepático (80). Algunos autores consideran que

la alta captación renal observada en la rHDL puede estar relacionada con el desprendimiento del lípido marcado de la NP debido a la dinámica existente entre la HDL y los lípidos (5,17). Por otro lado, las NP menores de 60 nm tienen fácil acceso a tejidos con endotelio fenestrado como el presente en tejido renal (83).

El metabolismo de la HDL es más complejo que el de otras lipoproteínas y no es posible explicarlo mediante un solo mecanismo. Existen evidencias de que la mayoría de los componentes de la HDL (en particular la Apo-AI) pueden filtrarse, degradarse, reabsorberse y eliminarse en el riñón de forma independiente (5,12,17,63,80-82) y que el aclaramiento de las partículas intactas es mínimo (63,81,82). En el hígado, por ejemplo, cuando la HDL se une al receptor SR-B1 presente en el hepatocito, los EC se eliminan de la HDL (10,81,82,84). También pueden transferirse a otras partículas lipídicas a través de los inhibidores de la proteína de transferencia de ésteres de colestirilo (CETP) (81,82) o reaccionar con algunas lipasas hepáticas (82,84). Cuando esto sucede, la rHDL se remodela y puede disminuir su tamaño (5,10,81,84). También puede ocurrir que la Apo-AI se desprenda de la partícula y se devuelva a la circulación, regulando entonces los niveles plasmáticos de HDL (5,7,79). Tanto las partículas más pequeñas de HDL como la Apo-AI pueden cruzar la barrera de filtración glomerular y ser captadas por los tubos proximales renales (12,29,30,63,81,82), donde sufren endocitosis y degradación (63) por mecanismos no totalmente elucidados. Se presume que los receptores megalina y cubilina expresados en estas células forman un multireceptor complejo (megalina/cubilina) con alta afinidad por la Apo-AI/rHDL que contribuye a su catabolismo renal (63,80-82). También se han reportado otros mecanismos de degradación renal independientes del señalado, más ligados a la HDL endógena (4,22,63,84).

Mientras más pequeña es la partícula de rHDL, mayor es el empaquetamiento de la Apo-AI a su alrededor (12,26,32). Estimamos que en las partículas de ^{177}Lu -DOTA-rHDL, más grandes que las de $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -HYNIC-rHDL y rHDL/ $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -HYNIC-DA (*tabla 1*), la Apo-AI está menos empaquetada que en las dos restantes, por lo que puede desprenderse más fácilmente y contribuir a una mayor captación renal. Por otro lado, las diferentes estructuras terciarias que puede adoptar la Apo-AI en función de la composición lipídica, modulada también por las interacciones entre los PL y el colesterol, alteran la interacción de la rHDL con las proteínas plasmáticas (7,12,17,79,82) cuya presencia en riñones es alta. A esto se une el hecho de que las partículas más hidrófobas se

aclaran menos por el riñón (76,81). La sinergia de estos mecanismos explica la mayor captación renal del nanosistema ^{177}Lu -DOTA-rHDL *versus* rHDL/ $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -HYNIC-DA, en comparación con el nanosistema $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -HYNIC-rHDL *versus* rHDL/ $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -HYNIC-DA.

Las NP de ^{177}Lu -DOTA-rHDL se captaron más en huesos que las de $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -HYNIC-rHDL y las de rHDL/ $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -HYNIC-DA, en particular a las 2 h postinyección. El aumento en la captación ósea cuando se marcan los lípidos de la superficie también ha sido observado por otros autores (17,29), quienes han demostrado que la fracción principal de actividad ósea (96%) está asociada al hueso mineral, en tanto que una pequeña fracción (4%) está asociada con la médula ósea (17). Estudios recientes han demostrado que existe una conexión no dilucidada entre la HDL endógena y el metabolismo óseo que, al parecer, depende de la influencia de la relación contenido de Apo-AI/contenido de lípidos (85-89). Algunos datos sugieren que existe relación entre la HDL endógena, la médula ósea y el nicho osteoblástico (85,87). Las células osteoblásticas pueden unirse, internalizar y degradar la HDL a través de los receptores SR-B1 que expresan, al parecer con el objetivo de captar colesterol (88,89), aunque se presume también que la relación entre la HDL endógena y el metabolismo óseo puede estar relacionada con la interacción de la HDL con el tallo hematopoyético y células progenitoras multipotentes que expresan el transportador ABCG1, implicado también en el flujo de colesterol mediado por HDL (81,87). Los resultados obtenidos sugieren que la preparación futura de nanosistemas con radionúclidos y el derivado DOTA-NCS-NH-(CH₂)₂-NH-Colesterol adsorbido en la superficie de la rHDL puede contribuir al esclarecimiento de patologías óseas. Otro mecanismo que explica la captación en hueso de ^{177}Lu es la liberación de ^{177}Lu del DOTA-NCS-NH-(CH₂)₂-NH-Colesterol, pues el $^{177}\text{Lu}^{3+}$ tiende a acumularse en hueso (5,17,42).

5.5. Farmacocinética

5.5.1. Biocinética sanguínea de las nanopartículas basadas en HDL

Aunque la biodistribución es esencial para conocer el comportamiento biológico de un producto farmacéutico, en la metodología *ex vivo* no se extraen todos los órganos para su cuantificación y en algunos de ellos sólo se extrae una pequeña muestra. A esto se añade que la distribución del producto en el organismo no es un proceso instantáneo; está relacionada, entre otros factores, con el flujo sanguíneo, por lo que depende del aporte y la irrigación sanguínea de cada tejido en

particular. La biocinética sanguínea es relevante para evaluar la depuración en el compartimento central por eliminación y por distribución a los compartimentos periféricos. Aunque algunos RF se administran por vía oral (Na^{131}I), subcutánea ($^{99\text{m}}\text{Tc-S}$ coloide) o por inhalación ($^{99\text{m}}\text{Tc-DTPA}$ aerosol), la gran mayoría se administra por vía I.V. El RF primero se distribuye uniformemente en sangre y luego se capta selectivamente en los diferentes órganos y tejidos (67,69,72). La distribución se realiza tanto en los tejidos donde se metaboliza como en los tejidos donde se excreta. En los compartimentos periféricos el producto desaparece sólo por eliminación. En el caso de los RF que se introducen por vía I.P. el producto tarda más tiempo en alcanzar los diferentes órganos ya que primero se distribuye en el sistema linfático antes de dirigirse a la circulación (5,90)

Existen diferentes modelos para describir el comportamiento *in vivo* de un RF según la farmacocinética clásica. Generalmente estos modelos asumen que la biocinética del producto sigue una cinética de primer orden (67-70,91) y se aproxima a la suma de diferentes velocidades discretas, por lo que la concentración en sangre a diferentes tiempos (aclaramiento sanguíneo) es un parámetro relevante. El aclaramiento sanguíneo se mide en términos de vida media en circulación $T_{1/2}^b$, como se describe en el marco teórico (*epígrafe 3.5.1.*).

A partir de los resultados de biodistribución (*figuras 2-4*), se calcularon los modelos biocinéticos sanguíneos de los 3 sistemas evaluados utilizando (a) ajuste no ponderado y (b) ajuste ponderado. Para cada nanosistema se obtuvieron dos ecuaciones que se muestran en la *tabla 5*. Los sistemas rHDL/ $^{99\text{m}}\text{Tc-HYNIC-DA}$ (rHDL/ $^{99\text{m}}\text{Tc}$) y $^{177}\text{Lu-DOTA-rHDL}$ ($^{177}\text{Lu-rHDL}$) se ajustan a un modelo tricompartmental, ya que el tercer factor de la ecuación de ajuste obtenida por ambos métodos no es lo suficientemente pequeño para despreciarlo. El sistema $^{99\text{m}}\text{Tc-HYNIC-rHDL}$ ($^{99\text{m}}\text{Tc-rHDL}$), según el ajuste ponderado, se ajusta más a un modelo bicompartmental.

Para evaluar la farmacocinética de las NP se utiliza también el denominado modelo farmacocinético basado en datos fisiológicos (PBPK) (83,90,92), aceptado por las agencias reguladoras (83). Este modelo considera que cada órgano es un compartimento, por lo que el análisis de los datos resulta más complejo que el modelo clásico y requiere una mayor cantidad de información de entrada (83,90,92). En el caso específico de los RF, existen diferentes modelos

compartimentales que describen la biocinética y que abarcan desde algunos muy simples hasta otros muy complejos (67,69). De ellos, el modelo tricompartmental es muy utilizado, pues brinda resultados aceptables. Asume que los RF se distribuyen desde el compartimento central (C_1) a uno o dos compartimentos periféricos (C_2 y C_3) compuestos por diferentes órganos y tejidos. El compartimento central (C_1) incluye la sangre, el fluido intersticial y los tejidos de los órganos más vascularizados (corazón, pulmón, hígado, bazo, riñón y cerebro). Los compartimentos periféricos incluyen los depósitos no acuosos y los tejidos con poco flujo sanguíneo. Por ejemplo, el compartimento periférico C_2 , denominado también compartimento rápido, incluye el músculo esquelético, en tanto que el compartimento C_3 , denominado compartimento de liberación lenta, incluye el tejido adiposo y los huesos (69,93). La eliminación del RF se lleva a cabo desde C_1 y se describe por una microconstante denominada k_{10} que es la suma de todas las constantes de eliminación (69). Los volúmenes del compartimento central y de los compartimentos periféricos pueden calcularse a partir de las constantes que describen la velocidad de transferencia entre los compartimentos (69,93).

Tabla 5. Modelos biocinéticos en sangre

Sistema	Ajuste	Ecuación	R ²
rHDL/ ^{99m} Tc	No Ponderado	$q(h) = 10.8e^{-6.73t} + 1.33e^{-0.671t} + 0.226e^{-0.0072t}$	1.00
	Ponderado	$q(h) = 10.5e^{-6.73t} + 1.35e^{-0.683t} + 0.229e^{-0.0078t}$	1.00
^{99m} Tc-rHDL	No ponderado	$q(h) = 4.36e^{-6.1t} + 4.34e^{-0.611t} + 0.601e^{-0.0085t}$	1.00
	Ponderado	$q(h) = 2.71e^{-1.17t} + 2.47e^{-0.416t} + 0.49e^{-1.2E-08t}$	1.00
¹⁷⁷ Lu-rHDL	No ponderado	$q(h) = 77.4e^{-1.95t} + 4.82e^{-0.385t} + 0.849e^{-0.0158t}$	0.999
	Ponderado	$q(h) = 83e^{-1.70t} + 2.93e^{-0.55t} + 0.91e^{-0.02t}$	0.999

*En el ajuste no ponderado el sistema ^{99m}Tc-rHDL también muestra una cinética tricompartmental

Las ecuaciones de la *tabla 5* muestran que la concentración de los 3 sistemas en el compartimento C_1 disminuye rápidamente después de la administración hasta obtener el estado de equilibrio de distribución. Este estado se alcanza a diferentes tiempos (0.1-0.6 h), luego comienza una fase de eliminación que se describe por el segundo y tercer miembros de las ecuaciones y que se aprecia en la *figura 5*.

A partir de la *tabla 5* se pueden deducir algunos aspectos del comportamiento cinético de los sistemas evaluados. Por ejemplo, el sistema rHDL/^{99m}Tc es el que más rápido se distribuye

(0.103 h) en correspondencia con su mayor carácter lipofílico, en tanto que las NP modificadas superficialmente muestran un tiempo de distribución mayor debido, entre otras variables, a su mayor hidrofiliicidad. El mayor tiempo de distribución se observó en el sistema ^{177}Lu -DOTA-rHDL (0.4 h); es posible que la administración I.P. haya influido en este parámetro.

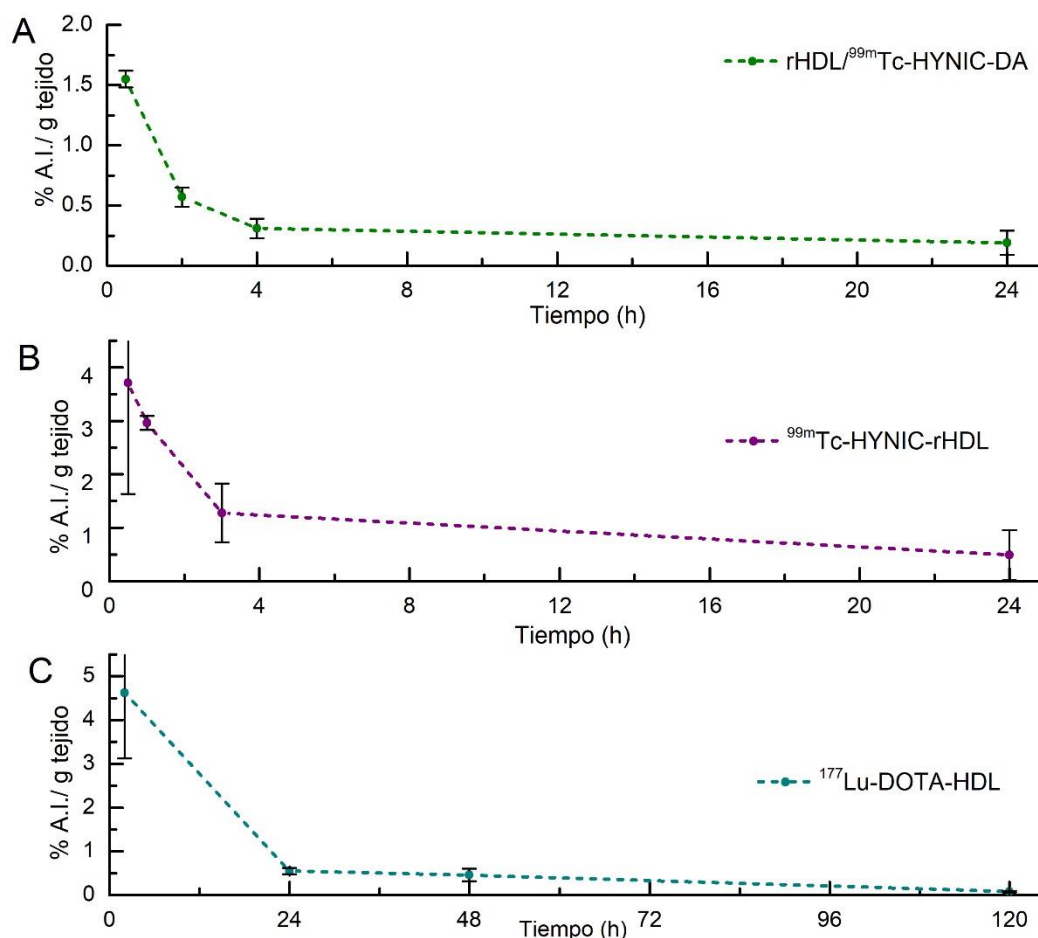


Figura 5. Modelos farmacocinéticos en sangre

A. Modelo farmacocinético del nanosistema rHDL/ ^{99m}Tc -HYNIC-DA. **B.** Modelo farmacocinético del nanosistema ^{99m}Tc -HYNIC-rHDL. **C.** Modelo farmacocinético del nanosistema ^{177}Lu -DOTA-rHDL

Se ha demostrado que en ratones sanos el aclaramiento sanguíneo de la rHDL está directamente relacionado con la captación selectiva de lípidos en los diferentes órganos, a través del receptor SR-B1, comprobándose que está directamente asociado con la captación hepática (94). Sin embargo, hay que tener en cuenta otros factores que también influyen en la distribución de la rHDL desde la sangre a los tejidos entre los que destacan: (a) interacciones con las proteínas

sanguíneas; (b) interacciones con el sistema fagocítico mononuclear (MPS); (c) características del endotelio de los diferentes órganos y tejidos.

(a) *Interacciones con las proteínas sanguíneas.* Una vez que la rHDL ingresa a la circulación interactúa con las proteínas sanguíneas y con la HDL endógena (5,7). Esta interacción está íntimamente relacionada con la composición lipídica de la superficie y con las variaciones conformacionales de la Apo-AI de la rHDL, que provocan alteraciones en sus propiedades fisicoquímicas (5,7,9,12,17,18,29,30,80,82). Cuando el marcaje de la rHDL se realiza en los lípidos, como en este caso, el lípido marcado tiende a desprenderse de la rHDL y unirse a proteínas endógenas como la LDL (5,7), lo que altera el aclaramiento sanguíneo (5,7,9). No existe consenso en cuanto a la influencia de los lípidos y la Apo-AI en el tiempo de circulación sanguínea de la rHDL. Algunos autores consideran que está controlado por los lípidos de la superficie (9), en tanto que otros apuntan hacia la Apo-AI (12). El sistema ^{89}Zr -AI-HDL reportado por Pérez Medina y cols., presenta un $T_{1/2}^b$ casi 6 veces mayor que el del sistema ^{89}Zr -PL-HDL (17), lo que los autores atribuyen a las diferentes interacciones de estos componentes con las proteínas sanguíneas. No obstante, las interacciones de la rHDL con las proteínas sanguíneas son menores que en otras NP (7,9), lo cual constituye una ventaja. Por otro lado, su largo tiempo de circulación no produce toxicidad (7).

(b) *Interacciones con el sistema MPS.* Aunque la rHDL es capaz de evadir el MPS en mayor proporción que otras NP y circular en sangre durante largo tiempo al igual que la HDL endógena (7,9,15,18), en dependencia del tamaño y características de la superficie, puede ser captada por los macrófagos residentes en los vasos sanguíneos y en tejidos como el hígado, bazo, pulmón, riñón y médula ósea (5,9,30), lo que influye en la biodistribución.

(c) *Características del endotelio.* Los vasos sanguíneos son los responsables de transportar las NP hacia los diferentes tejidos. Para que la rHDL pueda distribuirse a los diferentes órganos y tejidos, debe adherirse a las células endoteliales y extravasarse. La composición del endotelio de los vasos sanguíneos en los diferentes tejidos es, entonces, un factor importante en la velocidad de distribución. En las arterias, venas y pulmones, el endotelio es continuo; en hígado y médula ósea es discontinuo, con poros de 50-100 nm; en tanto que en riñones

presenta fenestraciones con poros de aproximadamente 60 nm (83,90). Las NP de pequeño tamaño como las evaluadas (20-40 nm) pueden distribuirse muy rápidamente a estos tejidos altamente perfundidos, ya que pueden atravesar fácilmente el endotelio.

Otro factor que influye en el tiempo de residencia en sangre de la rHDL es la presencia de receptores celulares en la superficie de los tejidos y células. El SR-B1 es el principal receptor de la rHDL, expresado en varios tejidos sanos, particularmente en los hepatocitos (5,6,12,13,21). Sin embargo, otros receptores como ABCA1 y ABCG1, presentes en los macrófagos (7,30), así como la cubilina presente en pulmones y riñones (12) también pueden captar la rHDL influyendo en sus tiempos de residencia en sangre.

Los $T_{1/2}^b$ en sangre calculados a partir de la *tabla 5* arrojaron valores entre 1 h y 1.7 h similar al del sistema $^{89}\text{Zr-PL-HDL}$ (2h) reportado por Pérez-Medina y cols., (17). En ratones el $T_{1/2}^b$ en sangre de la rHDL varía entre 0.67 h y 10.5 h (5,30), según el diseño de la NP, y es más sensible que la biodistribución a los cambios en el diseño (5).

Los volúmenes de distribución en estado estacionario (V_{ss}) de los tres nanosistemas dieron valores entre 20 mL- 25mL, mucho mayores que el volumen de sangre de un ratón (~ 2mL), lo que indica que se distribuyen ampliamente en el tejido extravascular almacenándose en algún compartimento (69,93). El V_{ss} es un parámetro sin significado fisiológico real, representa el tamaño de un compartimento hipotético necesario para contener la cantidad de producto existente en el organismo si todo él presentase la misma concentración que se encuentra en sangre (93).

La biocinética sanguínea, sin embargo, resulta insuficiente para los cálculos de dosis interna. Debe complementarse con la biocinética en órganos para poder estimar los principales órganos de acumulación, metabolismo y excreción.

5.5.2. Modelos biocinéticos de órganos de interés

Como los RF se administran al interior del cuerpo las dosis internas debidas a los radionúclidos no se pueden medir directamente (65,67,68,70). Esta dificultad se soluciona mediante la modelación de la cinética metabólica a partir de los estudios de biodistribución en el tiempo. De esta manera,

se puede conocer dónde y por cuánto tiempo se concentra la actividad en un órgano determinado y cuál es la vía excretora fundamental. Si bien un órgano determinado puede mostrar una alta captación, si su eliminación es muy rápida puede contribuir menos a la dosis interna total que otro órgano con menor captación y lenta eliminación. Las vías excretoras, por ejemplo, reciben en ocasiones más actividad que el órgano de mayor captación (67,69).

Para la obtención de los modelos biocinéticos de cada órgano los valores de % A.I. vs tiempo (*epígrafe 5.4*) se ajustaron a un modelo exponencial del tipo $q(t) = A_1e^{-\lambda_{b1}t} + A_2e^{-\lambda_{b2}t} + A_3e^{-\lambda_{b3}t}$. Los valores λ_{b1} , λ_{b2} y λ_{b3} corresponden a las constantes de eliminación biológica de los compartimentos con los que se puede describir al órgano (*ver ecuación 2.1, epígrafe 3.5.1*). De tal forma que $\ln 2/\lambda_{bi}$ corresponde con el $T_{1/2}^b$ de cada compartimento. Los resultados obtenidos para cada nanosistema se dividieron en dos grupos de órganos. En el primer grupo se evaluaron el hígado, bazo, riñón, pulmón y corazón (*tabla 6*). Los 4 primeros son órganos blanco de la rHDL (5,30,92) y el corazón se seleccionó por su importancia fisiológica y porque algunos quimioterapéuticos, como la doxorubicina, muestran alta cardiotoxicidad (95). Estos órganos, junto con el cerebro, forman parte del compartimento C_1 del modelo cinético clásico por su alta perfusión sanguínea (93) y son de gran relevancia clínica desde el punto de vista de la toxicidad inducida por radiaciones (67,91). El cerebro, sin embargo, no se tuvo en cuenta en los cálculos biocinéticos porque la biodistribución del sistema rHDL/ ^{99m}Tc (el más lipofílico) efectuada previamente (16) arrojó una captación ínfima. En el segundo grupo de órganos se incluyeron músculo, intestino, hueso y páncreas (*tabla 7*), que forman parte de los compartimentos C_2 y C_3 del modelo biocinético sanguíneo previamente obtenido. Intestino y hueso también constituyen órganos en los que se ha reportado acumulación de rHDL (5,16,17,29). Los órganos del primer grupo se pesaron directamente, por lo que los cálculos dosimétricos posteriores son más exactos en este grupo que en el segundo, cuyo peso se tomó a partir de estimaciones que se utilizan habitualmente con estos propósitos (67).

Tabla 6. Modelos biocinéticos para hígado, bazo, riñón, pulmón y corazón

Sistema	Ajuste	Modelo biocinético	R ²
Hígado			
rHDL/ ^{99m} Tc	No ponderado	$q(h) = 101e^{-4.24t} + 34.5e^{-1.6E-08t} + 1.06e^{-2.4E-07t}$	0.988
	Ponderado	$q(h) = 114e^{-4.47t} + 34.5e^{-2.1E-08t} + 1.05e^{-2.6E-07t}$	0.988
^{99m} Tc-rHDL	No ponderado	$q(h) = -943e^{-6.32t} + 35.8e^{-0.251t} + 38.9e^{-2.3E-08t}$	1.000
	Ponderado	$q(h) = -855e^{-6.11t} + 36.2e^{-0.254t} + 38.9e^{-2.1E-08t}$	1.000
¹⁷⁷ Lu-rHDL	No ponderado	$q(h) = 155e^{-0.59t} + 9.46e^{-0.0294t} + 14.3e^{-2.8E-09t}$	1.000
	Ponderado	$q(h) = 188e^{-0.65t} + 16.7e^{-3.02E-03t} + 2.95e^{-1.8E-09t}$	1.000
Bazo			
rHDL/ ^{99m} Tc	No ponderado	$q(h) = -15.8e^{-3.45t} + 4.540e^{-0.427t} + 0.378e^{-0.0595t}$	1.000
	Ponderado	$q(h) = -9.8e^{-1.81t} + 4.170e^{-0.709t} + 0.258e^{-0.269t}$	1.000
^{99m} Tc-rHDL	No ponderado	$q(h) = -2.82e^{-1.72t} + 4.09e^{-0.185t} + 0.296e^{-(1.1E-6)t}$	1.000
	Ponderado	$q(h) = -2.74e^{-1.98t} + 4.14e^{-0.152t} + 0.0131e^{-(2.9E-6)t}$	1.000
¹⁷⁷ Lu-rHDL	No ponderado	$q(h) = 43.8e^{-2.27t} + 3.1e^{-0.428t} + 0.448e^{-2.08E-03t}$	0.989
	Ponderado	$q(h) = 68.9e^{-2.29t} + 3.23e^{-0.5t} + 0.336e^{-5.7E-04t}$	0.982
Riñón			
rHDL/ ^{99m} Tc	No ponderado	$q(h) = 17.7e^{-6.46t} + 0.877e^{-0.123t} + 0.285e^{-2.4E-08t}$	1.000
	Ponderado	$q(h) = 16.5e^{-6.33t} + 0.757e^{-0.141t} + 0.409e^{-0.0132t}$	1.000
^{99m} Tc-rHDL	No ponderado	$q(h) = 4.42e^{-0.255t} + 3.09e^{-(8.3E-7)t} + (2E-6)e^{-(3.9E-7)t}$	0.961
	Ponderado	$q(h) = 4.13e^{-0.726t} + 5.09e^{-0.0212t} + 0.0165e^{-(2.8E-8)t}$	0.820
¹⁷⁷ Lu-rHDL	No ponderado	$q(h) = 66.5e^{-0.705t} + 38.7e^{-0.0223t} + 8.54e^{-7.0E-09t}$	1.000
	Ponderado	$q(h) = 66.3e^{-0.703t} + 38.7e^{-0.0223t} + 8.54e^{-4.2E-06t}$	1.000
Pulmón			
rHDL/ ^{99m} Tc	No ponderado	$q(h) = 17.5e^{-4.59t} + 2.08e^{-0.0815t} + 0.154e^{-8.3E-03t}$	1.000
	Ponderado	$q(h) = 21.7e^{-5.05t} + 2.11e^{-0.0855t} + 0.15e^{-3.1E-04t}$	1.000
^{99m} Tc-rHDL	No ponderado	$q(h) = 1.60e^{-38.9t} + 1.99e^{-0.557t} + 0.464e^{-(7.2E-8)t}$	0.999
	Ponderado	$q(h) = 1.75e^{-36.4t} + 1.97e^{-0.560t} + 0.467e^{-(2.6E-7)t}$	0.999
¹⁷⁷ Lu-rHDL	No ponderado	$q(h) = 28.9e^{-3.58t} + 1.87e^{-0.416t} + 0.665e^{-9.3E-04t}$	0.992
	Ponderado	$q(h) = 9.97e^{-9.3t} + 2.18e^{-0.469t} + 0.649e^{-9.2E-04t}$	0.991
Corazón			
rHDL/ ^{99m} Tc	No ponderado	$q(h) = 13.9e^{-12.1t} + 0.523e^{-1.42t} + 0.0791e^{-3.4E-08t}$	1.000
	Ponderado	$q(h) = 1.95e^{-45.3t} + 0.614e^{-1.49t} + 0.0789e^{-2.4E-08t}$	1.000
^{99m} Tc-rHDL	No ponderado	$q(h) = 1.49e^{-44.7t} + 0.845e^{-1.09t} + 0.280e^{-(3.3E-8)t}$	0.979
	Ponderado	$q(h) = 1.39e^{-38.6t} + 1.01e^{-1.21t} + 0.281e^{-(2.9E-8)t}$	0.954
¹⁷⁷ Lu-rHDL	No ponderado	$q(h) = 29.3e^{-2.99t} + 2.06e^{-0.459t} + 0.253e^{-5.6E-09t}$	1.000
	Ponderado	$q(h) = 48.3e^{-2.69t} + 1.86e^{-0.513t} + 0.261e^{-3.5E-05t}$	0.999

Los modelos calculados para hígado, bazo, riñón, pulmón y corazón (*tabla 6*) muestran diferencias en el comportamiento biocinético de los tres nanosistemas. La acumulación de un RF en un órgano específico, como ya se ha mencionado, depende de numerosos procesos como transporte y eliminación desde la circulación, interacciones enzimáticas, características del endotelio, unión a receptores, entre otros.

Cuando la rHDL llega a los tejidos, puede (a) residir en el espacio extracelular; (b) adherirse a la superficie de los macrófagos o de las células que conforman el tejido; (c) entrar al interior de las células. Aunque, la interacción de la rHDL con los tejidos es fundamentalmente a través de los receptores de la membrana celular (7, 9,12,13,18,21,30,60,62), lo cual es una de sus ventajas con respecto a otras NP (5,9), la superficie y el tamaño juegan un rol importante en la captación en los diferentes órganos, como ya se ha destacado.

Las NP de ^{99m}Tc -rHDL muestran una fase de absorción en hígado que no se observa en las NP de rHDL/ ^{99m}Tc , cuya absorción en hígado es, al parecer, instantánea, como ocurre en órganos de alta perfusión cuando el RF se administran por vía I.V. (69,91). El hepatocito es el órgano de mayor expresión del receptor SR-B1 (5,9,12,13,21,30), en particular en los roedores, en correspondencia con su importante rol en el metabolismo de los lípidos. Una vez que las NP de rHDL llegan a la superficie del hepatocito y se unen al SR-B1, la internalización celular de las moléculas acarreadas en el núcleo ocurre por un mecanismo diferente al mecanismo de internalización de las moléculas acarreadas en la superficie (96,97). Cuando la Apo-AI de las NP de rHDL/ ^{99m}Tc se une al receptor SR-B1 libera directamente al citosol el ^{99m}Tc -HYNIC-DA acarreado en el núcleo, pero el ^{99m}Tc -HYNIC-colesterol acarreado en la superficie ingresa a la célula, al parecer, por otro mecanismo (96,97) que hace más lento el proceso de internalización. Suponemos las NP de ^{177}Lu -rHDL podrían tener un comportamiento similar a las de ^{99m}Tc -rHDL, pero no fue posible observarlo debido a que el ajuste del modelo se realizó a partir de 2 h postinyección. Por este motivo, se comparan sólo los modelos obtenidos para los nanosistemas marcados con ^{99m}Tc . En la biocinética del hígado, además de la sobreexpresión de los receptores SR-B1 hay que considerar que las células Kupffer residentes en las sinusoides y las células del endotelio hepático (83,90) también pueden contribuir al diferente comportamiento entre las NP de rHDL modificadas superficialmente con respecto a las no modificadas.

En bazo el comportamiento de los sistemas rHDL/^{99m}Tc y ^{99m}Tc-rHDL es similar. Los tiempos de absorción son de 0.38 h y 0.34 h respectivamente, en tanto que la eliminación es de 3.5 h y 2.6 h respectivamente. Esto indica que en el bazo la captación de estos nanosistemas no está directamente asociada a la captación selectiva de la carga transportada en el interior. Al parecer, está más asociada al secuestro por parte de los macrófagos residentes en la zona marginal y en la pulpa roja del bazo (5,83,90) y depende, principalmente, del tamaño de la NP (5),

En riñón y pulmón, los nanosistemas rHDL/^{99m}Tc y ^{99m}Tc-rHDL mostraron una absorción muy rápida. La eliminación se corresponde con la vía de excreción. Mientras que el sistema rHDL/^{99m}Tc se elimina con un tiempo de 5 h el sistema ^{99m}Tc-rHDL tiene un tiempo de eliminación renal de 33 h en correspondencia con su mayor tropismo renal debido a la modificación efectuada en la superficie. La eliminación del ¹⁷⁷Lu-rHDL es de 32 h muy similar a la de ^{99m}Tc-rHDL lo que confirma nuestra suposición de que el comportamiento de estos sistemas modificados en la superficie, debe ser similar. La eliminación pulmonar, por su parte, se comportó de la siguiente manera: rHDL/^{99m}Tc-8.2h; ^{99m}Tc-rHDL-1.26 h y ¹⁷⁷Lu-rHDL-1.86 h. Nuevamente las NP modificadas se eliminan más rápidamente del pulmón que las no modificadas.

En corazón no se observa absorción de ninguno de los nanosistemas. Suponemos que esto se debe a que la rHDL no se internaliza en las células cardíacas (98) debido a la baja expresión del receptor SR-B1 en los cardiomiocitos (99). La captación en corazón, al parecer, está más ligada a la perfusión sanguínea del órgano por lo que la eliminación (rHDL/^{99m}Tc: 0.5 h y ^{99m}Tc-rHDL: 0.8 h) es proporcional al tiempo de eliminación sanguínea (rHDL/^{99m}Tc: 1 h y ^{99m}Tc-rHDL: 1.6 h).

El modelo biocinético del resto de los órganos evaluados se muestra en la *tabla 7*. Estos órganos no fueron considerados en el compartimento C₁ pues su perfusión sanguínea es menor que la perfusión de los órganos de la *tabla 6*. De ellos, los más importantes son intestino y hueso. El intestino es una de las vías excretoras de la rHDL, en particular cuando no está modificada superficialmente, en tanto que el hueso se seleccionó debido a la captación observada en los estudios de biodistribución (*figuras 2-4*), particularmente en el sistema ¹⁷⁷Lu-rHDL.

Tabla 7. Modelos biocinéticos de músculo, intestino y hueso

Sistema	Ajuste	Modelo biocinético	R ²
Músculo			
rHDL/ ^{99m} Tc	No ponderado	$q(h) = 1.78e^{-37.0t} + 2.26e^{-1.17t} + 0.274e^{-2.5E-08t}$	0.997
	Ponderado	$q(h) = 2.06e^{-35.7t} + 2.31e^{-1.10t} + 0.225e^{-1.3E-08t}$	0.992
^{99m} Tc-rHDL	No ponderado	$q(h) = -31.2e^{-4.47t} + 10.3e^{-2.06t} + 0.475e^{-5.9E-09t}$	0.999
	Ponderado	$q(h) = -33.8e^{-4.55t} + 11.1e^{-2.14t} + 0.476e^{-6.9E-09t}$	0.999
¹⁷⁷ Lu-rHDL	No ponderado	$q(h) = 9.85e^{-8.86t} + 4.08e^{-0.425t} + 1.35e^{-0.0054t}$	0.816
	Ponderado	$q(h) = 74.7e^{-2.31t} + 3.51e^{-0.413t} + 0.816e^{-0.0049t}$	0.713
Intestino			
rHDL/ ^{99m} Tc	No ponderado	$q(h) = -9.67e^{-3.45t} + 2.58e^{-0.884t} + 0.558e^{-0.0865t}$	1.000
	Ponderado	$q(h) = -9.38e^{-2.59t} + 4.34e^{-1.140t} + 0.61e^{-0.0962t}$	1.000
^{99m} Tc-rHDL	No ponderado	$q(h) = 2.25e^{-49.8t} + 0.631e^{-0.255t} + 0.168e^{-(6.5E-8)t}$	0.999
	Ponderado	$q(h) = 2.25e^{-45.3t} + 0.645e^{-0.265t} + 0.169e^{-(1.8E-8)t}$	0.999
¹⁷⁷ Lu-rHDL	No ponderado	$q(h) = 85e^{-3.26t} + 4.69e^{-0.411t} + 1.24e^{-0.0111t}$	0.985
	Ponderado	$q(h) = 51.3e^{-2.09t} + 4.33e^{-0.566t} + 1.26e^{-0.0151t}$	0.979
Hueso			
rHDL/ ^{99m} Tc	No ponderado	$q(h) = 18.7e^{-8.91t} + 0.62e^{-5.35t} + 0.12e^{-2.0E-08t}$	0.996
	Ponderado	$q(h) = 15.5e^{-8.43t} + 0.62e^{-5.35t} + 0.128e^{-2.4E-08t}$	0.993
^{99m} Tc-rHDL	No ponderado	$q(h) = -4.22e^{-2.98t} + 1.36e^{-0.825t} + 0.335e^{-0.0195t}$	1.000
	Ponderado	$q(h) = -3.84e^{-2.26t} + 1.86e^{-0.79t} + 0.269e^{-0.0103t}$	1.000
¹⁷⁷ Lu-rHDL	No ponderado	$q(h) = 8.86e^{-9.85t} + 1.27e^{-0.34t} + 1.25e^{-1.8E-08t}$	0.970
	Ponderado	$q(h) = 24.7e^{-2.03t} + 3.65e^{-1.55t} + 1.31e^{-6.0E-09t}$	0.949
Páncreas			
rHDL/ ^{99m} Tc	No ponderado	$q(h) = 2.03e^{-47t} + 0.201e^{-0.279t} + 0.0661e^{-5.5E-07t}$	0.919
	Ponderado	$q(h) = 1.65e^{-48t} + 0.202e^{-0.359t} + 0.0695e^{-9.1E-08t}$	0.894
^{99m} Tc-rHDL	No ponderado	$q(h) = 6.56e^{-13.3t} + 0.103e^{-0.546t} + 0.136e^{-0.0417t}$	1.000
	Ponderado	$q(h) = 5.53e^{-12.2t} + 0.133e^{-0.311t} + 0.095e^{-0.0268t}$	1.000
¹⁷⁷ Lu-rHDL	No ponderado	$q(h) = 64.6e^{-3.35t} + 1.67e^{-0.415t} + 0.195e^{-0.0064t}$	0.998
	Ponderado	$q(h) = 9.31e^{-9.85t} + 2.21e^{-0.516t} + 0.216e^{-0.0081t}$	0.998

Los modelos biocinéticos de la *tabla 7* muestran también diferencias en la velocidad de absorción y eliminación en músculo, intestino y hueso de los sistemas rHDL/^{99m}Tc y ^{99m}Tc-rHDL, en tanto que en páncreas el comportamiento fue similar. Mientras que en músculo y hueso el sistema ^{99m}Tc-rHDL presenta una fase de absorción de 0.15 h y 0.31 h respectivamente, no observada en rHDL/^{99m}Tc, este último muestra absorción en intestino (0.27 h) en correspondencia con su mayor excreción hepatobiliar. Tal patrón está enlazado con el patrón observado en riñones (*tabla 6*), donde se aprecia que los sistemas modificados en la superficie presentan mayor captación y más lenta eliminación renal. Como ya se ha mencionado, cuando la rHDL se marca en la superficie, bien sea en los PL o en la Apo-AI, tiende a excretarse por vía renal (17,29) debido,

probablemente, a la influencia de la hidrofiliidad del BFC anclado en la superficie. A mayor hidrofiliidad mayor es la reabsorción a la circulación y mayor tiempo de permanencia en riñón. Otras biomoléculas radiomarcadas con ^{99m}Tc -HYNIC y con ^{177}Lu -DOTA también se excretan vía renal (100,101).

5.5.3. Modelos radiofarmacocinéticos

Los modelos farmacocinéticos de un RF, denominados radiofarmacocinéticos, son un caso especial de los modelos farmacocinéticos de las drogas comunes en los que se tiene en cuenta no sólo el comportamiento biológico del fármaco, sino también la desintegración física del radionúclido (67,69,70,72,102). Estos modelos permiten obtener el área bajo la curva de Actividad-tiempo de los principales órganos de captación del RF, que constituye la principal fuente de información para el posterior cálculo de las dosis internas, proporcionales a las dosis acumuladas que reciben estos órganos (67,102).

Como se mencionó anteriormente, existen diversos modelos multicompartimentales para describir el comportamiento farmacocinético de los RF en órganos específicos, pero el modelo tricompartmental utilizado en este trabajo es suficiente para producir resultados consistentes (102). Asume que en una primera fase el RF se distribuye en el órgano/tejido y en la segunda y tercera fases se elimina de acuerdo con la excreción biológica sumada a la desintegración física radiactiva del radionúclido (67,69,70,91).

Al incorporar a los modelos biocinéticos de las *tablas 6 y 7*, las constantes físicas de semidesintegración del ^{99m}Tc y el ^{177}Lu se obtuvo la siguiente ecuación:

$$A_h(t)_{\text{órgano}} = A_1 e^{-(\lambda_f + \lambda_{b1})t} + A_2 e^{-(\lambda_f + \lambda_{b2})t} + A_3 e^{-(\lambda_f + \lambda_{b3})t} \quad (3)$$

Como cada órgano difiere en tamaño, perfusión sanguínea, presencia de receptores y otros factores específicos, para realizar el cálculo de la actividad total incorporada (\tilde{A}) en cada órgano de interés se integró desde 0 hasta infinito la $A(t)$ de cada modelo radiofarmacocinético. Esto permitió obtener una ecuación específica para cada órgano y cada nanosistema como se aprecia en la *tabla 8*, que muestra los valores de \tilde{A} calculados manualmente y mediante el software OLINDA/EXM.

Tabla 8. Modelos radiofarmacocinéticos calculados mediante integración manual y con el software OLINDA/EXM a partir de los modelos biocinéticos

Sistema	Ajuste	Modelo radiofarmacocinético	Integral manual	Integral OLINDA
Hígado				
rHDL/ ^{99m} Tc	No ponderado	$A(h) = 101e^{-4.3551t} + 34.5e^{-0.1151t} + 1.06e^{-0.1151t}$	3.32	3.32
	Ponderado	$A(h) = 114e^{-4.5851t} + 34.5e^{-0.1151t} + 1.05e^{-0.1151t}$	3.34	3.33
^{99m} Tc-rHDL	No ponderado	$A(h) = -943e^{-6.4351t} + 35.8e^{-0.3661t} + 38.9e^{-0.1151t}$	2.89	2.88
	Ponderado	$A(h) = -855e^{-6.2251t} + 36.2e^{-0.3691t} + 38.9e^{-0.1151t}$	2.99	2.98
¹⁷⁷ Lu-HDL	No ponderado	$A(h) = 155e^{-0.5943t} + 9.46e^{-0.0337t} + 14.3e^{-0.0043t}$	38.34	38.80
	Ponderado	$A(h) = 188e^{-0.6543t} + 16.7e^{-0.0074t} + 2.95e^{-0.0043t}$	32.35	32.60
Bazo				
rHDL/ ^{99m} Tc	No ponderado	$(h) = -15.8e^{-3.5651t} + 4.540e^{-0.5421t} + 0.378e^{-0.1746t}$	0.061	0.061
	Ponderado	$A(h) = -9.8e^{-1.9251t} + 4.170e^{-0.8241t} + 2.58e^{-0.3841t}$	0.067	0.061
^{99m} Tc-rHDL	No ponderado	$A(h) = -2.82e^{-1.8351t} + 4.09e^{-0.3001t} + 0.296e^{-0.1151t}$	0.147	0.146
	Ponderado	$A(h) = -2.74e^{-2.0951t} + 4.14e^{-0.2671t} + 0.0131e^{-0.1151t}$	0.143	0.143
¹⁷⁷ Lu-HDL	No ponderado	$43.8e^{-2.2743t} + 3.1e^{-0.4323t} + 0.448e^{-0.0064t}$	0.962	0.969
	Ponderado	$68.9e^{-2.2943t} + 3.23e^{-0.5043t} + 0.336e^{-0.0049t}$	1.048	1.060
Riñón				
rHDL/ ^{99m} Tc	No ponderado	$A(h) = 17.7e^{-6.5751t} + 0.877e^{-0.2381t} + 0.285e^{-0.1151t}$	0.088	0.088
	Ponderado	$A(h) = 16.5e^{-6.4451t} + 0.757e^{-0.2561t} + 0.409e^{-0.1274t}$	0.087	0.087
^{99m} Tc-rHDL	No ponderado	$A(h) = 4.42e^{-0.3701t} + 3.09e^{-0.1151t} + (2E - 6)e^{-0.1151t}$	0.388	0.387
	Ponderado	$A(h) = 4.13e^{-0.8411t} + 5.09e^{-0.1363t} + 0.0165e^{-0.1151t}$	0.424	0.423
¹⁷⁷ Lu-HDL	No ponderado	$A(h) = 66.5e^{-0.7093t} + 38.7e^{-0.0266t} + 8.54e^{-0.0043t}$	35.1	35.4
	Ponderado	$A(h) = 66.3e^{-0.7073t} + 38.7e^{-0.0266t} + 8.54e^{-0.0043t}$	35.1	35.4
Pulmón				
rHDL/ ^{99m} Tc	No ponderado	$A(h) = 17.5e^{-4.7051t} + 2.08e^{-0.1966t} + 0.154e^{-0.1234t}$	0.155	0.155
	Ponderado	$A(h) = 21.7e^{-5.1651t} + 2.11e^{-0.2006t} + 0.15e^{-0.1151t}$	0.160	0.160
^{99m} Tc-rHDL	No ponderado	$A(h) = 1.60e^{-39.0151t} + 1.99e^{-0.6721t} + 0.464e^{-0.1151t}$	0.070	0.070
	Ponderado	$A(h) = 1.75e^{-36.5151t} + 1.97e^{-0.6751t} + 0.467e^{-0.1151t}$	0.070	0.070
¹⁷⁷ Lu-HDL	No ponderado	$A(h) = 28.9e^{-3.5843t} + 1.87e^{-0.4203t} + 0.665e^{-0.0053t}$	1.386	1.400
	Ponderado	$A(h) = 9.97e^{-9.3043t} + 2.18e^{-0.4733t} + 0.649e^{-0.0053t}$	1.290	1.310
Corazón				
rHDL/ ^{99m} Tc	No ponderado	$A(h) = 13.9e^{-12.2151t} + 0.523e^{-1.5351t} + 0.0791e^{-0.1151t}$	0.022	0.022
	Ponderado	$A(h) = 1.95e^{-45.4151t} + 0.614e^{-1.6051t} + 0.0789e^{-0.1151t}$	0.011	0.011
^{99m} Tc-rHDL	No ponderado	$A(h) = 1.49e^{-44.8151t} + 0.845e^{-1.2051t} + 0.280e^{-0.1151t}$	0.032	0.032
	Ponderado	$A(h) = 1.39e^{-38.7151t} + 1.01e^{-1.3251t} + 0.281e^{-0.1151t}$	0.032	0.032
¹⁷⁷ Lu-HDL	No ponderado	$A(h) = 29.3e^{-2.9943t} + 2.06e^{-0.4633t} + 0.253e^{-0.0043t}$	0.725	0.734
	Ponderado	$A(h) = 29.3e^{-2.9943t} + 2.06e^{-0.4633t} + 0.253e^{-0.0043t}$	0.811	0.820
Intestino				
rHDL/ ^{99m} Tc	No ponderado	$A(h) = -9.67e^{-3.5651t} + 2.58e^{-0.9991t} + 0.558e^{-0.2016t}$	0.264	0.263
	Ponderado	$A(h) = -9.38e^{-2.7051t} + 4.34e^{-1.2551t} + 0.61e^{-0.2113t}$	0.288	0.296
^{99m} Tc-rHDL	No ponderado	$A(h) = 2.25e^{-49.9151t} + 0.631e^{-0.3701t} + 0.168e^{-0.1151t}$	0.0321	0.0322
	Ponderado	$A(h) = 2.25e^{-45.4151t} + 0.645e^{-0.3801t} + 0.169e^{-0.1151t}$	0.0321	0.0321
¹⁷⁷ Lu-rHDL	No ponderado	$A(h) = 85e^{-3.2643t} + 4.69e^{-0.4153t} + 1.24e^{-0.0154t}$	1.176	1.180
	Ponderado	$A(h) = 51.3e^{-2.0943t} + 4.33e^{-0.5703t} + 1.26e^{-0.0194t}$	0.969	0.971

Hueso					
rHDL/ ^{99m} Tc	No ponderado	$A(h) = 18.7e^{-9.0251t} + 0.62e^{-5.4651t} + 0.12e^{-0.1151t}$	0.0323	0.0323	
	Ponderado	$A(h) = 15.5e^{-8.5451t} + 0.62e^{-5.4651t} + 0.128e^{-0.1151t}$	0.0304	0.0300	
^{99m} Tc-rHDL	No ponderado	$A(h) = -4.22e^{-3.0951t} + 1.36e^{-0.9401t} + 0.335e^{-0.1346t}$	0.0257	0.0257	
	Ponderado	$A(h) = -3.84e^{-2.3751t} + 1.86e^{-0.9051t} + 0.269e^{-0.1254t}$	0.0258	0.0258	
¹⁷⁷ Lu-rHDL	No ponderado	$q(h) = 8.86e^{-9.8543t} + 1.27e^{-0.3443t} + 1.25e^{-0.0043t}$	2.92	2.97	
	Ponderado	$q(h) = 24.7e^{-2.0343t} + 3.65e^{-1.5543t} + 1.31e^{-0.0043t}$	3.11	3.21	
Páncreas					
rHDL/ ^{99m} Tc	No ponderado	$A(h) = 2.03e^{-47.1151t} + 0.201e^{-0.3941t} + 0.0661e^{-0.1151t}$	0.0113	0.0113	
	Ponderado	$A(h) = 1.65e^{-48.1115t} + 0.202e^{-0.4741t} + 0.0695e^{-0.1151t}$	0.0106	0.0107	
^{99m} Tc-rHDL	No ponderado	$A(h) = 6.56e^{-13.4151t} + 0.103e^{-0.6611t} + 0.136e^{-0.1568t}$	0.0151	0.0151	
	Ponderado	$A(h) = 5.53e^{-12.3151t} + 0.133e^{-0.4261t} + 0.095e^{-0.1419t}$	0.0143	0.0143	
¹⁷⁷ Lu-rHDL	No ponderado	$A(h) = 64.6e^{-3.3543t} + 1.67e^{-0.4193t} + 0.195e^{-0.0107t}$	0.414	0.415	
	Ponderado	$A(h) = 9.31e^{-9.8543t} + 2.21e^{-0.5203t} + 0.216e^{-0.0125t}$	0.225	0.226	

* No se incluyó el músculo porque no fue posible encontrar el dato sobre su peso estimado en los ratones empleados

A partir de las ecuaciones obtenidas se calcularon los *tiempos de eliminación efectivos* (o tiempo de semivida efectivo, $T_{1/2}^{eff}$) para cada órgano y sistema evaluado (tabla 9). El $T_{1/2}^{eff}$ permite estimar la dosis que se acumula en un órgano. Algunos RF se concentran en unos pocos órganos y tejidos importantes y se aclaran rápidamente (uno o dos $T_{1/2}^{eff}$) mientras que el resto de la actividad se distribuye más o menos uniformemente en otros tejidos y se elimina por excreción hepatobiliar o urinaria (67-69). Por lo general, el $T_{1/2}^{eff}$ es menor que el $T_{1/2}^b$ o que el $T_{1/2}^f$ del radionúclido debido a que la acción conjunta de ambos procesos es más rápida que la acción de cada uno por separado (67).

Tabla 9. Tiempo de eliminación efectivo (h) para cada órgano y sistema calculado a partir de los modelos radiofarmacocinéticos

Sistema	Ajuste	$\lambda_1(h^{-1})$	$\tau_1(h)$	$\lambda_2(h^{-1})$	$\tau_2(h)$	$\lambda_3(h^{-1})$	$\tau_3(h)$
Hígado							
rHDL/ ^{99m} Tc	No ponderado	4.3551	0.159	0.1151	6.022	0.1151	6.022
	Ponderado	4.5851	0.151	0.1151	6.022	0.1151	6.022
^{99m} Tc-rHDL	No ponderado	6.4351	0.108	0.3661	1.893	0.1151	6.022
	Ponderado	6.2251	0.111	0.3691	1.878	0.1151	6.022
¹⁷⁷ Lu-rHDL	No ponderado	0.5943	1.166	0.0337	20.568	0.0043	161.197
	Ponderado	0.6543	1.059	0.0074	93.669	0.0043	161.197
Bazo							
rHDL/ ^{99m} Tc	No ponderado	3.5651	0.194	0.5421	1.279	0.1746	3.970
	Ponderado	1.9251	0.360	0.8241	0.841	0.3841	1.805
^{99m} Tc-rHDL	No ponderado	1.8351	0.378	0.3001	2.310	0.1151	6.022
	Ponderado	2.0951	0.331	0.2671	2.595	0.1151	6.022
¹⁷⁷ Lu-rHDL	No ponderado	2.2743	0.305	0.4323	1.603	0.0064	108.304
	Ponderado	2.2943	0.302	0.5043	1.374	0.0049	141.459

Riñón							
rHDL/ ^{99m} Tc	<i>No ponderado</i>	6.5751	0.105	0.2381	2.911	0.1151	6.022
	<i>Ponderado</i>	6.4451	0.108	0.2561	2.707	0.1274	5.441
^{99m} Tc-rHDL	<i>No ponderado</i>	0.3701	1.873	0.1151	6.022	0.1151	6.022
	<i>Ponderado</i>	0.8411	0.824	0.1363	5.085	0.1151	6.022
¹⁷⁷ Lu-rHDL	<i>No ponderado</i>	0.7093	0.977	0.0266	26.058	0.0043	161.197
	<i>Ponderado</i>	0.7073	0.980	0.0266	26.058	0.0043	161.197
Pulmón							
rHDL/ ^{99m} Tc	<i>No ponderado</i>	4.7051	0.147	0.1966	3.526	0.1234	5.617
	<i>Ponderado</i>	5.1651	0.134	0.2006	3.455	0.1151	6.022
^{99m} Tc-rHDL	<i>No ponderado</i>	39.0151	0.018	0.6721	1.031	0.1151	6.022
	<i>Ponderado</i>	36.5151	0.019	0.6751	1.027	0.1151	6.022
¹⁷⁷ Lu-rHDL	<i>No ponderado</i>	3.5843	0.193	0.4203	1.649	0.0053	130.782
	<i>Ponderado</i>	9.3043	0.074	0.4733	1.464	0.0053	130.782
Corazón							
rHDL/ ^{99m} Tc	<i>No ponderado</i>	12.2151	0.057	1.5351	0.452	0.1151	6.022
	<i>Ponderado</i>	45.4151	0.015	1.6051	0.432	0.1151	6.022
^{99m} Tc-rHDL	<i>No ponderado</i>	47.6151	0.015	0.9111	0.761	0.1151	6.022
	<i>Ponderado</i>	47.6151	0.015	1.0501	0.660	0.1151	6.022
¹⁷⁷ Lu-rHDL	<i>No ponderado</i>	2.9943	0.231	0.4633	1.496	0.0043	161.197
	<i>Ponderado</i>	2.6943	0.257	0.5173	1.340	0.0043	161.197
Intestino							
rHDL/ ^{99m} Tc	<i>No ponderado</i>	3.5651	0.194	0.9991	0.694	0.2016	3.438
	<i>Ponderado</i>	2.7051	0.256	1.2551	0.552	0.2113	3.280
^{99m} Tc-rHDL	<i>No ponderado</i>	49.9151	0.014	0.3701	1.873	0.1151	6.022
	<i>Ponderado</i>	45.5151	0.015	0.3801	1.824	0.1151	6.022
¹⁷⁷ Lu-rHDL	<i>No ponderado</i>	3.2646	0.212	0.4153	1.669	0.0154	45.010
	<i>Ponderado</i>	2.0943	0.331	0.5703	1.215	0.0194	35.729
Hueso							
rHDL/ ^{99m} Tc	<i>No ponderado</i>	9.0251	0.077	5.4651	0.127	0.1151	6.022
	<i>Ponderado</i>	8.5451	0.081	5.4651	0.127	0.1151	6.022
^{99m} Tc-rHDL	<i>No ponderado</i>	3.0951	0.224	0.9401	0.737	0.1346	5.150
	<i>Ponderado</i>	2.3751	0.292	0.9051	0.766	0.1254	5.527
¹⁷⁷ Lu-rHDL	<i>No ponderado</i>	9.8543	0.070	0.3443	2.013	0.0043	161.197
	<i>Ponderado</i>	2.0343	0.341	1.5543	0.446	0.0043	161.197
Páncreas							
rHDL/ ^{99m} Tc	<i>No ponderado</i>	47.1151	0.015	0.3941	1.759	0.1151	6.022
	<i>Ponderado</i>	48.1151	0.014	0.4741	1.462	0.1151	6.022
^{99m} Tc-rHDL	<i>No ponderado</i>	13.4151	0.052	0.6611	1.048	0.1568	4.421
	<i>Ponderado</i>	12.3151	0.056	0.4261	1.623	0.1419	4.885
¹⁷⁷ Lu-rHDL	<i>No ponderado</i>	3.3543	0.207	0.4193	1.653	0.0107	64.780
	<i>Ponderado</i>	9.8543	0.070	0.5203	1.332	0.0125	55.452

Los $T_{1/2}^{eff}$ para los sistemas rHDL/^{99m}Tc y ^{99m}Tc-rHDL calculados a partir de la *tabla 9* son similares en corazón (~7 h en ambos) y hueso (~6 h en ambos) lo que indica que no existe una

captación selectiva del radionúclido transportado en el interior de la NP con relación al transportado en la superficie. Por otro lado, el hecho de que el $T_{1/2}^{eff}$ sea similar al $T_{1/2}^f$ del ^{99m}Tc (6.02 h), indica que desaparece de ambos órganos, principalmente por la desintegración física del radionúclido. En hígado, pulmón y páncreas el $T_{1/2}^{eff}$ de la rHDL/ ^{99m}Tc fue ligeramente mayor (1.5, 1.4 y 1.1 veces respectivamente) que en el sistema ^{99m}Tc -rHDL, en tanto que en bazo, riñón e intestinos resultó ligeramente menor (0.3, 0.7 y 0.5 veces respectivamente). El mayor $T_{1/2}^{eff}$ del rHDL/ ^{99m}Tc es en hígado ($2 T_{1/2}^f$); en el resto de los órganos el $T_{1/2}^{eff}$ es menor. El sistema ^{99m}Tc -rHDL presenta el patrón contrario, el mayor $T_{1/2}^{eff}$ es en riñones ($2 T_{1/2}^f$), en tanto que en el resto de los órganos es menor. El sistema ^{177}Lu -rHDL muestra también $T_{1/2}^{eff}$ relativamente rápidos, de acuerdo con su $T_{1/2}^f$ (159.6 h). Estos $T_{1/2}^{eff}$ son menores a un $T_{1/2}^f$ en bazo, pulmón, intestino y páncreas, cercanos a un $T_{1/2}^f$ en corazón y hueso y solo fue mayor a $1 T_{1/2}^f$ en riñón e hígado.

En conclusión, el hígado y los riñones son los órganos con mayor $T_{1/2}^{eff}$ lo cual es esperable debido a que ambos son los principales sitios de absorción y metabolismo de la rHDL. Mientras que las NP de rHDL/ ^{99m}Tc , más hidrofóbicas permanecen en hígado durante más tiempo, las NP ^{99m}Tc -rHDL permanecen más tiempo en riñones, en correspondencia con su mayor hidrofiliidad. En el resto de los órganos tanto el tamaño de la NP como las variaciones de la superficie influyen en los $T_{1/2}^{eff}$ de acuerdo con las velocidades de acumulación y eliminación.

Estos resultados se basan en un modelo simplificado de la realidad. El comportamiento de cualquier NP marcada con radionúclidos es bastante más complejo; requiere tener en cuenta no solo las características fisicoquímicas del radionúclido y las características biológicas intrínsecas de la NP, sino también la estabilidad de la unión NP-radionúclido y otras variables no contempladas en el presente trabajo y que son objeto de trabajos posteriores. Sin embargo, resultan útiles, en primera aproximación, para estimar las principales regiones fuentes y el tiempo de residencia de la radiactividad en los órganos de interés en individuos sanos ya que en condiciones patológicas estos patrones varían. Por ejemplo, la biodistribución de rHDL/ ^{99m}Tc en ratones portadores de tumores constata que se acumula más en el tumor que en el resto de los órganos, con excepción del hígado y el bazo (16) lo cual es una ventaja para su uso como agente teranóstico.

El hecho de que en animales sanos los principales órganos-fuente de la rHDL con y sin modificación superficial sean los mismos es particularmente importante pues muestra que la modificación superficial no impide el reconocimiento específico de los receptores presentes en la superficie de estos órganos, aunque influye en los tiempos de acumulación y permanencia en ellos.

5.6. Dosimetría

Para evaluar los riesgos y complicaciones que los diferentes órganos y tejidos pueden presentar debido al depósito de un RF es necesario calcular las dosis internas en los principales órganos donde el producto se distribuye pues los efectos biológicos de las radiaciones ionizantes son proporcionales a las dosis absorbidas. A partir de los modelos radiofarmacocinéticos de los nanosistemas rHDL/^{99m}Tc, ^{99m}Tc-rHDL y ¹⁷⁷Lu-rHDL en ratones sanos se determinaron las dosis absorbidas en los órganos de interés mediante el formalismo MIRD, utilizando los valores de S incorporados en el programa OLINDA/EXM.

Para el cálculo de las dosis se partió de las siguientes consideraciones: (a) distribución uniforme de la actividad en los diferentes órganos; (b) el órgano fuente es el mismo que el órgano blanco (autodosis) y por tanto no hay irradiación cruzada a los órganos vecinos. Aunque tales consideraciones no reflejan con precisión la realidad y no son adecuados para estimar los efectos biológicos estocásticos (103), proporcionan una clara separación entre los aspectos físicos tales como los valores S del radionúclido y los aspectos biológicos como la actividad acumulada y el tiempo de residencia del RF, que facilita el análisis.

Los cálculos de dosis se realizaron en tres etapas. Primero se calcularon las dosis absorbidas para los sistemas rHDL/^{99m}Tc y ^{99m}Tc-rHDL con el propósito de apreciar las diferencias que se producen en las dosis cuando un mismo radionúclido se acarrea en el núcleo de la rHDL o en su superficie. Los resultados de las dosis en ratón se extrapolaron a humanos utilizando el criterio de escalación por masa (67), que considera que el comportamiento biocinético humano es similar al observado en el modelo animal, de modo tal que los tiempos de residencia determinados para los diferentes órganos del ratón se consideran iguales a los tiempos de residencia de los órganos equivalentes en humanos. En la *tabla 10* se muestran los resultados obtenidos.

Tabla 10. Dosis absorbidas en ratones sanos (mGy/MBq) estimadas a partir de los modelos radiofarmacocinéticos y extrapoladas a humanos

Sistema	Ajuste	Ã del modelo RFC (Bq-h/Bq)	Ã del Modelo RFC (MBq-s/MBq)	Valor S OLINDA/EXM (mGy/MBq-s)	Dosis absorbida (mGy/MBq)	Dosis extrapolada a humanos (mGy/MBq)	% Diferencia entre las dosis
Hígado							
rHDL/ ^{99m} Tc	No ponderado	3.32	11953.1	3.16E-06	3.777E-02	1.619E-05	0
	Ponderado	3.34	12010.2		3.795E-02	1.627E-05	
^{99m} Tc-rHDL	No ponderado	2.88	10407.1	3.396E-02	3.289E-02	1.409E-05	3
	Ponderado	2.98	10748.4		3.396E-02	1.456E-05	
Bazo							
rHDL/ ^{99m} Tc	No ponderado	0.061	219.8	2.25E-05	4.95E-03	2.120E-06	9
	Ponderado	0.067	240.7		5.42E-03	2.321E-06	
^{99m} Tc-rHDL	No ponderado	0.146	527.8	1.159E-02	1.188E-02	5.089E-06	2
	Ponderado	0.143	514.9		1.159E-02	4.965E-06	
Riñón							
rHDL/ ^{99m} Tc	No ponderado	0.088	318.6	1.32E-05	4.21E-03	1.802E-06	1
	Ponderado	0.087	314.1		4.15E-03	1.777E-06	
^{99m} Tc-rHDL	No ponderado	0.387	1396.0	2.014E-02	1.843E-02	7.897E-06	9
	Ponderado	0.423	1525.9		2.014E-02	8.632E-06	
Pulmón							
rHDL/ ^{99m} Tc	No ponderado	0.155	559.6	3.57E-06	2.00E-03	8.562E-07	3
	Ponderado	0.160	576.6		2.06E-03	8.822E-07	
^{99m} Tc-rHDL	No ponderado	0.070	253.1	9.024E-04	9.037E-04	3.873E-07	0
	Ponderado	0.070	252.8		9.024E-04	3.868E-07	
Corazón							
rHDL/ ^{99m} Tc	No ponderado	0.022	78.0	1.19E-05	9.28E-04	3.976E-07	49
	Ponderado	0.011	40.0		4.76E-04	2.039E-07	
^{99m} Tc-rHDL	No ponderado	0.032	114.0	1.387E-03	1.356E-03	5.813E-07	2
	Ponderado	0.032	116.6		1.387E-03	5.946E-07	
Intestino							
rHDL/ ^{99m} Tc	No ponderado	0.0264	94.9	4.22E-06	4.01E-04	1.717E-07	8
	Ponderado	0.0288	103.6		4.37E-04	1.873E-07	
^{99m} Tc-rHDL	No ponderado	0.0322	115.5	4.88E-04	4.87E-04	2.09E-07	0
	Ponderado	0.0321	115.7		4.88E-04	2.09E-07	
Hueso							
rHDL/ ^{99m} Tc	No ponderado	0.0323	116.2	3.15E-06	3.66E-04	1.569E-07	8
	Ponderado	0.0297	109.4		3.45E-04	1.477E-07	
^{99m} Tc-rHDL	No ponderado	0.0257	92.6	2.929E-04	2.916E-04	1.250E-07	0
	Ponderado	0.0258	93.0		2.929E-04	1.255E-07	
Páncreas							
rHDL/ ^{99m} Tc	No ponderado	0.0113	40.6	3.74E-05	1.52E-03	6.504E-07	16
	Ponderado	0.0106	38.3		1.43E-03	6.139E-07	
^{99m} Tc-rHDL	No ponderado	0.0151	54.4	1.926E-03	2.036E-03	8.724E-07	5
	Ponderado	0.0143	51.5		1.926E-03	8.254E-07	

Ã es la actividad acumulada (MBq-h/Bq) en el tiempo calculada a partir del modelo radiofarmacocinético (tabla 8).

El hígado, pulmón y huesos el sistema rHDL/^{99m}Tc induce mayores dosis que el ^{99m}Tc-rHDL, en tanto que en el resto de los órganos las dosis que imparte son menores en concordancia con los modelos radiofarmacocinéticos ya analizados.

La segunda etapa consistió en calcular las dosis absorbidas para un grupo de radionúclidos utilizados habitualmente en terapia (*tabla 11*). Se partió de los mismos criterios de uniformidad y autodosis ya mencionados. Como base de cálculo se empleó el modelo radiofarmacocinético del sistema rHDL/^{99m}Tc debido a que cuando se desea transportar radionúclidos terapéuticos con rHDL es más conveniente colocar el radionúclido en el núcleo de la NP para garantizar que la carga se deposite directamente al citosol y obtener mayor efectividad terapéutica. El empleo de este modelo es válido pues el ¹⁸⁶Re y el ¹⁸⁸Re son químicamente análogos del ^{99m}Tc por lo que se pueden conjugar al HYNIC-DA de la misma forma que se conjugó el ^{99m}Tc (16). De esta forma se pueden obtener complejos hidrofóbicos ¹⁸⁶Re-HYNIC-DA y ¹⁸⁸Re-HYNIC-DA e introducirlos en el núcleo de la rHDL. El resto de los radionúclidos de la tabla son análogos químicos del ¹⁷⁷Lu por lo que pueden introducir en el núcleo de la rHDL si se enlazan al derivado hidrofóbico p-SCN-Bn-DOTA, introducido exitosamente por nuestro grupo en el núcleo de la rHDL (98).

Tabla 11. Constantes físicas de los radionúclidos terapéuticos empleados para la estimación de dosis absorbidas a partir del modelo radiofarmacocinético obtenido para el sistema rHDL/^{99m}Tc

Radionúclido	T _{1/2} (h)	Energía β ⁻ máxima (MeV) y % de emisión	Recorrido máximo en el tejido (mm)	Energía rayos γ (keV) y % de emisión
¹⁷⁷ Lu	159.6	0.479 (79.4%)	1.8	112.9 (6.17%) 208.4 (10.36%);
¹⁸⁸ Re	16.9	2.12	3.5	155 (15%)
¹⁸⁶ Re	88.8	1.08 (71.6%)	1.1	137.2 (9.42%)
¹⁵³ Sm	46.3	0.81 (49%)	0.6	103 (29%)
⁹⁰ Y	64.6	2.28 (100%)	2.5	-----
¹⁶⁶ Ho	26.8	1.85 (100%)	9	80.6 (6.55%)
²²⁵ Ac*	240	Partículas α 6.83 (MeV)	0.006	-----

*Datos obtenidos de la tabla de núclidos DOI: [10.1016/s0969-8043\(99\)00209-2](https://doi.org/10.1016/s0969-8043(99)00209-2)

De los radionúclidos que muestra la *tabla 11*, excepto el ⁹⁰Y que es un emisor β⁻ puro, el resto emite también radiación γ por lo que son radionúclidos teranósticos. Los resultados de la estimación de las dosis absorbidas en cada órgano y para cada radionúclido en los ratones sanos, así como la extrapolación a humanos, se muestran en la *tabla 12*. Las mayores dosis, están

vinculadas al ^{225}Ac en correspondencia con su mayor radiotoxicidad debido a que es un emisor α . Las menores dosis están asociadas al ^{153}Sm que tiene una energía β^- máxima relativamente pequeña y un limitado recorrido en el tejido.

Tabla 12. Dosis absorbidas en ratones sanos (mGy/MBq) estimadas a partir de los modelos radiofarmacocinéticos de la rHDL/ ^{99m}Tc y extrapoladas a humanos

Sistema	Ajuste	Ñ del modelo RFC (Bq-h/Bq)	Ñ del Modelo RFC (MBq-s/MBq)	Valor S OLINDA/EXM (mGy/MBq-s)	Dosis absorbida (mGy/MBq)	Dosis extrapolada a humanos (mGy/MBq)	% diferencia entre las dosis
Hígado							
rHDL(^{177}Lu)	No ponderado	82.1	295617.3		3.81E+00	1.63E-03	
	Ponderado	82.1	295594.6	1.29E-05	3.81E+00	1.63E-03	0
rHDL(^{188}Re)	No ponderado	8.906	32061.6	6.62E-05	2.12E+00	9.10E-04	0
	Ponderado	8.920	32113.3		2.13E+00	9.11E-04	
rHDL(^{186}Re)	No ponderado	47.025	169291.0	2.85E-05	4.82E+00	2.07E-03	0
	Ponderado	47.029	169304.1		4.83E+00	2.07E-03	
rHDL(^{153}Sm)	No ponderado	23.990	86365.0	2.39E-05	2.06E+00	8.85E-04	0
	Ponderado	24.000	86401.4		2.06E+00	8.85E-04	
rHDL(^{90}Y)	No ponderado	33.4	120163.6	7.83E-05	9.41E+00	4.03E-03	0
	Ponderado	33.4	120190.5		9.41E+00	4.03E-03	
rHDL(^{166}Ho)	No ponderado	13.986	50348.7	5.87E-05	2.96E+00	1.27E-03	0
	Ponderado	13.999	50395.3		2.96E+00	1.27E-03	
rHDL(^{225}Ac)	No ponderado	123.362	444104.8	2.42E-03	1.07E+03	4.61E-01	0
	Ponderado	123.344	444039.9		1.07E+03	4.61E-01	
Bazo							
rHDL(^{177}Lu)	No ponderado	0.119	427.4	1.31E-04	5.60E-02	2.40E-05	17
	Ponderado	0.099	355.8		4.66E-02	2.00E-05	
rHDL(^{188}Re)	No ponderado	0.089	321.7	6.73E-04	2.16E-01	9.28E-05	4
	Ponderado	0.086	309.2		2.08E-01	8.92E-05	
rHDL(^{186}Re)	No ponderado	0.115	414.4	2.94E-04	1.22E-01	5.22E-05	15
	Ponderado	0.098	351.2		1.03E-01	4.42E-05	
rHDL(^{153}Sm)	No ponderado	0.108	388.4	2.41E-04	9.36E-02	4.01E-05	12
	Ponderado	0.095	341.1		8.22E-02	3.52E-05	
rHDL(^{90}Y)	No ponderado	0.112	402.8	7.93E-04	3.19E-01	1.37E-04	14
	Ponderado	0.096	346.8		2.75E-01	1.18E-04	
rHDL(^{166}Ho)	No ponderado	0.099	356.7	6.02E-04	2.15E-01	9.20E-05	8
	Ponderado	0.091	327.1		1.97E-01	8.44E-05	
rHDL(^{225}Ac)	No ponderado	0.120	433.6	2.53E-02	1.10E+01	4.70E-03	17
	Ponderado	0.099	357.9		9.05E+00	3.88E-03	

Riñón							
rHDL(¹⁷⁷ Lu)	No ponderado	0.752	2708.9	8.03E-05	2.18E-01	9.32E-05	57
	Ponderado	0.324	1166.0		9.36E-02	4.01E-05	
rHDL(¹⁸⁸ Re)	No ponderado	0.150	540.7	4.13E-04	2.23E-01	9.57E-05	4
	Ponderado	0.144	519.1		2.14E-01	9.19E-05	
rHDL(¹⁸⁶ Re)	No ponderado	0.470	1690.2	2.94E-04	4.97E-01	2.13E-04	40
	Ponderado	0.283	1017.0		2.99E-01	1.28E-04	
rHDL(¹⁵³ Sm)	No ponderado	0.281	1012.6	1.47E-04	1.49E-01	6.38E-05	20
	Ponderado	0.225	808.3		1.19E-01	5.09E-05	
rHDL(⁹⁰ Y)	No ponderado	0.359	1290.8	4.88E-04	6.30E-01	2.70E-04	29
	Ponderado	0.254	912.6		4.45E-01	1.91E-04	
rHDL(¹⁶⁶ Ho)	No ponderado	0.196	707.0	3.69E-04	2.61E-01	1.12E-04	9
	Ponderado	0.178	642.6		2.37E-01	1.02E-04	
rHDL(²²⁵ Ac)	No ponderado	1.084	3901.9	1.55E-02	6.05E+01	2.59E-02	68
	Ponderado	0.348	1252.6		1.94E+01	8.32E-03	
Pulmón							
rHDL(¹⁷⁷ Lu)	No ponderado	0.402	1447.9	2.39E-05	3.46E-02	1.48E-05	33
	Ponderado	0.600	2160.6		5.16E-02	2.21E-05	
rHDL(¹⁸⁸ Re)	No ponderado	0.239	859.7	1.25E-04	1.07E-01	4.61E-05	3
	Ponderado	0.246	884.5		1.11E-01	4.74E-05	
rHDL(¹⁸⁶ Re)	No ponderado	0.368	1326.1	5.40E-05	7.16E-02	3.07E-05	20
	Ponderado	0.459	1653.0		8.93E-02	3.83E-05	
rHDL(¹⁵³ Sm)	No ponderado	0.320	1151.2	4.39E-05	5.05E-02	2.17E-05	9
	Ponderado	0.351	1263.7		5.55E-02	2.38E-05	
rHDL(⁹⁰ Y)	No ponderado	0.344	1240.2	1.50E-04	1.86E-01	7.97E-05	13
	Ponderado	0.398	1432.9		2.15E-01	9.21E-05	
rHDL(¹⁶⁶ Ho)	No ponderado	0.277	996.2	1.12E-04	1.12E-01	4.78E-05	4
	Ponderado	0.290	1042.3		1.17E-01	5.00E-05	
rHDL(²²⁵ Ac)	No ponderado	0.422	1520.0	4.63E-03	7.04E+00	3.02E-03	44
	Ponderado	0.751	2702.5		1.25E+01	5.36E-03	
Corazón							
rHDL(¹⁷⁷ Lu)	No ponderado	0.197	710.2	7.58E-05	5.38E-02	2.31E-05	6
	Ponderado	0.186	670.4		5.08E-02	2.18E-05	
rHDL(¹⁸⁸ Re)	No ponderado	0.034	123.5	3.97E-04	4.90E-02	2.10E-05	31
	Ponderado	0.024	85.2		3.38E-02	1.45E-05	
rHDL(¹⁸⁶ Re)	No ponderado	0.119	429.2	1.71E-04	7.34E-02	3.15E-05	9
	Ponderado	0.108	390.0		6.67E-02	2.86E-05	
rHDL(¹⁵³ Sm)	No ponderado	0.068	244.6	1.39E-04	3.40E-02	1.46E-05	16
	Ponderado	0.057	206.0		2.86E-02	1.23E-05	
rHDL(⁹⁰ Y)	No ponderado	0.089	319.9	4.73E-04	1.51E-01	6.48E-05	12
	Ponderado	0.078	281.0		1.33E-01	5.70E-05	
rHDL(¹⁶⁶ Ho)	No ponderado	0.046	164.4	3.53E-04	5.80E-02	2.49E-05	23
	Ponderado	0.035	126.0		4.45E-02	1.91E-05	
rHDL(²²⁵ Ac)	No ponderado	0.289	1040.5	1.46E-02	1.52E+01	6.51E-03	4
	Ponderado	0.278	999.8		1.46E+01	6.26E-03	

Intestino							
rHDL(¹⁷⁷ Lu)	No ponderado	0.062	224.9	2.82E-05	6.34E-03	2.72E-06	0
	Ponderado	0.062	224.8		6.34E-03	2.72E-06	
rHDL(¹⁸⁸ Re)	No ponderado	0.044	158.2	1.46E-04	2.31E-02	9.90E-06	4
	Ponderado	0.046	164.0		2.39E-02	1.03E-05	
rHDL(¹⁸⁶ Re)	No ponderado	0.060	217.0	6.36E-05	1.38E-02	5.91E-06	0
	Ponderado	0.060	217.7		1.38E-02	5.93E-06	
rHDL(¹⁵³ Sm)	No ponderado	0.056	200.8	5.17E-05	1.04E-02	4.45E-06	1
	Ponderado	0.056	203.2		1.05E-02	4.50E-06	
rHDL(⁹⁰ Y)	No ponderado	0.058	209.8	1.73E-04	3.63E-02	1.56E-05	1
	Ponderado	0.059	211.3		3.66E-02	1.57E-05	
rHDL(¹⁶⁶ Ho)	No ponderado	0.050	180.7	1.31E-04	2.37E-02	1.01E-05	2
	Ponderado	0.051	184.8		2.42E-02	1.04E-05	
rHDL(²²⁵ Ac)	No ponderado	0.064	228.6	5.47E-03	1.25E+00	5.36E-04	0
	Ponderado	0.063	228.1		1.25E+00	5.35E-04	
Hueso							
rHDL(¹⁷⁷ Lu)	No ponderado	0.298	1074.4	1.70E-05	1.83E-02	7.83E-06	5
	Ponderado	0.314	1131.3		1.92E-02	8.24E-06	
rHDL(¹⁸⁸ Re)	No ponderado	0.051	184.7	3.70E-05	6.83E-03	2.93E-06	1
	Ponderado	0.051	182.4		6.75E-03	2.89E-06	
rHDL(¹⁸⁶ Re)	No ponderado	0.180	648.1	2.12E-05	1.37E-02	5.89E-06	4
	Ponderado	0.188	676.6		1.43E-02	6.15E-06	
rHDL(¹⁵³ Sm)	No ponderado	0.102	368.2	3.20E-05	1.18E-02	5.05E-06	3
	Ponderado	0.105	378.0		1.21E-02	5.18E-06	
rHDL(⁹⁰ Y)	No ponderado	0.134	482.2	4.10E-05	1.98E-02	8.47E-06	3
	Ponderado	0.139	499.7		2.05E-02	8.78E-06	
rHDL(¹⁶⁶ Ho)	No ponderado	0.068	246.5	3.91E-05	9.64E-03	4.13E-06	1
	Ponderado	0.069	248.3		9.71E-03	4.16E-06	
rHDL(²²⁵ Ac)	No ponderado	0.438	1575.5	1.74E-02	2.74E+01	1.17E-02	5
	Ponderado	0.463	1665.8		2.90E+01	1.24E-02	
Páncreas							
rHDL(¹⁷⁷ Lu)	No ponderado	0.160	574.9	2.53E-04	1.45E-01	6.23E-05	4
	Ponderado	0.166	597.3		1.51E-01	6.48E-05	
rHDL(¹⁸⁸ Re)	No ponderado	0.023	82.2	1.30E-03	1.07E-01	4.58E-05	2
	Ponderado	0.022	80.4		1.05E-01	4.48E-05	
rHDL(¹⁸⁶ Re)	No ponderado	0.094	339.9	5.69E-04	1.93E-01	8.29E-05	3
	Ponderado	0.097	350.3		1.99E-01	8.54E-05	
rHDL(¹⁵³ Sm)	No ponderado	0.051	185.1	4.64E-04	8.59E-02	3.68E-05	1
	Ponderado	0.052	187.8		8.71E-02	3.73E-05	
rHDL(⁹⁰ Y)	No ponderado	0.069	248.3	1.53E-03	3.80E-01	1.63E-04	2
	Ponderado	0.071	254.1		3.89E-01	1.67E-04	
rHDL(¹⁶⁶ Ho)	No ponderado	0.033	117.3	1.16E-03	1.36E-01	5.83E-05	0
	Ponderado	0.032	116.9		1.36E-01	5.81E-05	
rHDL(²²⁵ Ac)	No ponderado	0.236	851.0	4.91E-02	4.18E+01	1.79E-02	4
	Ponderado	0.247	887.6		4.36E+01	1.87E-02	

La tercera y última etapa consistió en estimar las dosis absorbidas en los mismos órganos, para un grupo de radionúclidos muy usados en diagnóstico y cuyas propiedades principales se muestran en la *tabla 13*. En este caso, como base de cálculo se adoptó el modelo radiofarmacocinético obtenido para el sistema DOTA-rHDL.

Tabla 13. Constantes físicas asociadas a la desintegración de los radionúclidos para diagnóstico empleados en la estimación de dosis absorbidas a partir del modelo radiofarmacocinético obtenido para el sistema ^{177}Lu -DOTA-rHDL

Radionúclido	$T_{1/2}$ (h)	Radiación	% de emisión	Energía $\beta_{\text{máx}}$ o γ (KeV)
^{64}Cu	12.7	β^-	39	578
		β^+	18	653.1
		CE (2 transiciones γ)	43	329.3 - 1675
		γ (procedente del ^{64}Ni)	10	1346
^{67}Ga	78.24	CE (10 emisiones γ)	100	91.3–887.7
		Auger		
^{68}Ga	1.13	β^+ ,	88.9	
		CE (5 emisiones γ)	11.1	99.3-2921
^{89}Zr	78.48	β^+	23	902
		CE (5 emisiones γ)	76	211-1924
^{111}In	67.2	CE (3 emisiones γ)	99.9	150.8-245.4
		Auger		860

*Datos obtenidos de la tabla de núclidos DOI: [10.1016/s0969-8043\(99\)00209-2](https://doi.org/10.1016/s0969-8043(99)00209-2)

Los radionúclidos de la *tabla 13* son agentes de imagen por lo que pueden acarrear en la superficie de la rHDL ya que su objetivo es mostrar solamente el sitio de captación, por lo que no es imprescindible que se internalicen en la célula. No obstante, el ^{67}Ga y el ^{111}In emiten electrones Auger, por lo que pudieran utilizarse también como agentes terapéuticos, así como el ^{64}Cu cuya radiación β^- pudiera ser útil para impartir terapia. Las dosis absorbidas y extrapoladas a humanos se muestran en la *tabla 14*.

Tabla 14. Actividad acumulada (\bar{A} , Bq-h/Bq) y dosis absorbidas (\bar{D} , $\mu\text{Gy/Bq}$) para el sistema DOTA-rHDL con diferentes radionúclidos

Sistema	Ajuste	Å del modelo RFC (Bq-h/Bq)	Å del Modelo RFC (MBq-s/MBq)	Valor S OLINDA/EXM (mGy/MBq-s)	Dosis absorbida (mGy/MBq)	Dosis extrapolada a humanos (mGy/MBq)	% diferencia entre las dosis
Hígado							
^{67}Ga -DOTA-rHDL	No ponderado	21.202	76327.9	5.23E-06	3.99E-01	1.71E-04	5
	Ponderado	20.241	72869.1		3.81E-01	1.63E-04	
^{68}Ga -DOTA-rHDL	No ponderado	1.665	5994.9	7.52E-05	4.51E-01	1.93E-04	8
	Ponderado	1.804	6494.3		4.88E-01	2.09E-04	
^{64}Cu -DOTA-rHDL	No ponderado	6.151	22144.4	1.30E-05	2.88E-01	1.23E-04	1
	Ponderado	6.108	21989.3		2.86E-01	1.23E-04	
^{111}In -DOTA-rHDL	No ponderado	18.828	67779.7	9.24E-06	6.26E-01	2.68E-04	3
	Ponderado	18.231	65631.1		6.06E-01	2.60E-04	
^{89}Zr -DOTA-rHDL	No ponderado	21.236	76451.2	2.37E-05	1.81E+00	7.77E-04	5
	Ponderado	20.270	72971.0		1.73E+00	7.41E-04	

Bazo							
⁶⁷ Ga-DOTA-rHDL	No ponderado	0.673	2421.7	4.21E-05	1.02E-01	4.37E-05	7
	Ponderado	0.720	2590.3		1.09E-01	4.67E-05	
⁶⁸ Ga-DOTA-rHDL	No ponderado	0.189	679.6	7.00E-04	4.76E-01	2.04E-04	30
	Ponderado	0.272	977.7		6.84E-01	2.93E-04	
⁶⁴ Cu-DOTA-rHDL	No ponderado	0.332	1194.2	1.22E-04	1.46E-01	6.24E-05	20
	Ponderado	0.413	1486.9		1.81E-01	7.77E-05	
¹¹¹ In-DOTA-rHDL	No ponderado	0.624	2247.3	6.35E-05	1.43E-01	6.12E-05	7
	Ponderado	0.672	2417.4		1.54E-01	6.58E-05	
⁸⁹ Zr-DOTA-rHDL	No ponderado	0.673	2424.2	1.65E-04	4.00E-01	1.71E-04	7
	Ponderado	0.720	2592.8		4.28E-01	1.83E-04	
Riñones							
⁶⁷ Ga-DOTA-rHDL	No ponderado	22.991	82768.6	2.51E-05	2.08E+00	8.90E-04	0
	Ponderado	22.987	82751.5		2.08E+00	8.90E-04	
⁶⁸ Ga-DOTA-rHDL	No ponderado	1.250	4498.4	4.26E-04	1.92E+00	8.21E-04	0
	Ponderado	1.249	4495.7		1.92E+00	8.21E-04	
⁶⁴ Cu-DOTA-rHDL	No ponderado	7.474	26906.8	7.40E-05	1.99E+00	8.53E-04	0
	Ponderado	7.474	26905.2		1.99E+00	8.53E-04	
¹¹¹ In-DOTA-rHDL	No ponderado	21.075	75869.7	3.71E-05	2.81E+00	1.21E-03	0
	Ponderado	21.071	75856.9		2.81E+00	1.21E-03	
⁸⁹ Zr-DOTA-rHDL	No ponderado	23.018	82865.6	9.67E-05	8.01E+00	3.43E-03	0
	Ponderado	23.013	82848.4		8.01E+00	3.43E-03	
Pulmones							
⁶⁷ Ga-DOTA-rHDL	No ponderado	0.804	2893.9	7.01E-06	2.03E-02	8.69E-06	10
	Ponderado	0.720	2591.9		1.82E-02	7.79E-06	
⁶⁸ Ga-DOTA-rHDL	No ponderado	0.098	352.1	1.26E-04	4.44E-02	1.90E-05	58
	Ponderado	0.041	146.5		1.85E-02	7.91E-06	
⁶⁴ Cu-DOTA-rHDL	No ponderado	0.239	860.6	2.15E-05	1.85E-02	7.93E-06	29
	Ponderado	0.169	609.2		1.31E-02	5.61E-06	
¹¹¹ In-DOTA-rHDL	No ponderado	0.716	2576.7	9.55E-06	2.46E-02	1.05E-05	11
	Ponderado	0.634	2281.9		2.18E-02	9.34E-06	
⁸⁹ Zr-DOTA-rHDL	No ponderado	0.805	2898.4	2.48E-05	7.19E-02	3.08E-05	10
	Ponderado	0.721	2596.4		6.44E-02	2.76E-05	
Corazón							
⁶⁷ Ga-DOTA-rHDL	No ponderado	0.427	1538.3	2.30E-05	3.54E-02	1.52E-05	16
	Ponderado	0.508	1829.0		4.21E-02	1.80E-05	
⁶⁸ Ga-DOTA-rHDL	No ponderado	0.105	376.4	4.05E-04	1.52E-01	6.53E-05	37
	Ponderado	0.167	600.7		2.43E-01	1.04E-04	
⁶⁴ Cu-DOTA-rHDL	No ponderado	0.183	657.7	6.90E-05	4.54E-02	1.94E-05	29
	Ponderado	0.257	923.6		6.37E-02	2.73E-05	
¹¹¹ In-DOTA-rHDL	No ponderado	0.387	1392.6	3.18E-05	4.43E-02	1.90E-05	17
	Ponderado	0.467	1679.7		5.34E-02	2.29E-05	
⁸⁹ Zr-DOTA-rHDL	No ponderado	0.428	1540.4	8.55E-05	1.32E-01	5.64E-05	16
	Ponderado	0.509	1831.2		1.57E-01	6.71E-05	
Intestino							
⁶⁷ Ga-DOTA-rHDL	No ponderado	0.993	3574.8	8.34E-06	2.98E-02	1.28E-05	15
	Ponderado	0.846	3044.3		2.54E-02	1.09E-05	
⁶⁸ Ga-DOTA-rHDL	No ponderado	0.285	1025.4	1.47E-04	1.51E-01	6.46E-05	14
	Ponderado	0.246	886.6		1.30E-01	5.59E-05	
⁶⁴ Cu-DOTA-rHDL	No ponderado	0.546	1965.5	2.53E-05	4.97E-02	2.13E-05	10
	Ponderado	0.490	1763.3		4.46E-02	1.91E-05	
¹¹¹ In-DOTA-rHDL	No ponderado	0.950	3421.0	1.06E-05	3.63E-02	1.55E-05	14
	Ponderado	0.815	2934.6		3.11E-02	1.33E-05	
⁸⁹ Zr-DOTA-rHDL	No ponderado	0.994	3576.8	2.79E-05	9.98E-02	4.28E-05	15
	Ponderado	0.846	3045.7		8.50E-02	3.64E-05	

Hueso							
⁶⁷ Ga-DOTA-rHDL	No ponderado	1.456	5242.8	9.46E-06	4.96E-02	2.13E-05	10
	Ponderado	1.623	5843.7		5.53E-02	2.37E-05	
⁶⁸ Ga-DOTA-rHDL	No ponderado	0.042	151.5	3.56E-05	5.39E-03	2.31E-06	68
	Ponderado	0.132	473.5		1.69E-02	7.22E-06	
⁶⁴ Cu-DOTA-rHDL	No ponderado	0.270	972.6	1.13E-05	1.10E-02	4.71E-06	29
	Ponderado	0.381	1372.5		1.55E-02	6.65E-06	
¹¹¹ In-DOTA-rHDL	No ponderado	1.257	4525.6	7.51E-06	3.40E-02	1.46E-05	11
	Ponderado	1.414	5092.1		3.82E-02	1.64E-05	
⁸⁹ Zr-DOTA-rHDL	No ponderado	1.459	5253.2	1.01E-05	5.31E-02	2.27E-05	10
	Ponderado	1.626	5854.6		5.91E-02	2.53E-05	
Páncreas							
⁶⁷ Ga-DOTA-rHDL	No ponderado	0.360	1294.6	7.42E-05	9.61E-02	4.12E-05	50
	Ponderado	0.179	643.6		4.78E-02	2.05E-05	
⁶⁸ Ga-DOTA-rHDL	No ponderado	0.182	656.1	1.31E-03	8.60E-01	3.68E-04	82
	Ponderado	0.032	114.8		1.50E-01	6.45E-05	
⁶⁴ Cu-DOTA-rHDL	No ponderado	0.257	926.3	2.28E-04	2.11E-01	9.05E-05	68
	Ponderado	0.083	297.3		6.78E-02	2.91E-05	
¹¹¹ In-DOTA-rHDL	No ponderado	0.348	1253.7	1.01E-04	1.27E-01	5.43E-05	52
	Ponderado	0.169	607.0		6.13E-02	2.63E-05	
⁸⁹ Zr-DOTA-rHDL	No ponderado	0.360	1295.1	2.67E-04	3.46E-01	1.48E-04	50
	Ponderado	0.179	644.0		1.72E-01	7.37E-05	

Estos cálculos de las dosis internas son una aproximación y no una evaluación exacta de la posible dosimetría en humanos. La premisa asumida de distribución uniforme de la radiactividad en todo el órgano no se cumple para todos los órganos evaluados. El riñón, por ejemplo, uno de los principales órganos de captación de la rHDL, y el principal órgano de acumulación del sistema ¹⁷⁷Lu-DOTA-rHDL (*figura 4*) tiene subestructuras que captan de modo diferente los RF (104). Tanto los electrones Auger que emiten el ⁶⁷Ga y el ¹¹¹In, como la radiación de frenado generada por la interacción de las partículas β^- del ¹⁷⁷Lu (24), pueden depositar su energía sobre dimensiones subcelulares y producir distribuciones de dosis no uniformes (104,105). Algunos órganos se sobrelapan como riñón derecho-hígado, bazo-riñón izquierdo. En el caso de los radionúclidos que se utilizan en terapia la distribución de actividad depende del recorrido en el tejido. A mayor recorrido mayor radiación cruzada y mayor distribución no uniforme de la dosis. Estos aspectos, como ya se mencionó, no se tuvieron en cuenta. No obstante, a favor de los datos obtenidos está el hecho de que OLINDA/EXM es un software aceptado por la comunidad dosimétrica y la FDA (67), por lo que pueden emplearse con confianza para estimar la actividad máxima a inyectar sin sobrepasar los límites de dosis establecidos para los diferentes órganos.

El cálculo de las dosis que recibirían los órganos evaluados en un estudio habitual de diagnóstico o en un tratamiento terapéutico se muestra en las *tablas 15 y 16*. En el primer caso (*tabla 15*) se utilizó como referencia la administración de una actividad de 25 mCi (925 MBq) y en el segundo (*tabla 16*), se utilizó como referencia la administración de una actividad de 150 mCi (5 500 MBq). Como se aprecia en ambas tablas, en ningún órgano se sobrepasa la dosis máxima tolerada (MTD) para cada órgano, lo que muestra la seguridad, desde el punto de vista radiológico, de nanosistemas teranósticos a base de rHDL con estos radionúclidos, tanto si el radionúclido se inserta en el núcleo, como si se inserta en la superficie.

Tabla 15. Dosis (mGy) que recibirían los órganos evaluados en un estudio diagnóstico en el que se administran 925 MBq de rHDL/^{99m}Tc, ^{99m}Tc-HYNIC-rHDL o ^AX-DOTA-rHDL

Órgano	rHDL(^A X)	^A X-HYNIC-rHDL		^A X-DOTA-rHDL				MDT (mGy)
	^{99m} Tc	^{99m} Tc	⁶⁷ Ga	⁶⁸ Ga	⁶⁴ Cu	¹¹¹ In	⁸⁹ Zr	
Corazón	3.68E-04	5.50E-04	1.67E-02	9.64E-02	2.53E-02	2.12E-02	6.21E-02	26000
Hígado	1.50E-02	1.35E-02	1.58E-01	1.94E-01	1.14E-01	2.48E-01	7.18E-01	30000
Pulmones	8.16E-04	3.58E-04	8.04E-03	1.76E-02	7.34E-03	9.76E-03	2.85E-02	20000
Bazo	2.15E-03	4.71E-03	4.32E-02	2.71E-01	7.19E-02	6.09E-02	1.70E-01	24000
Riñones	1.67E-03	7.98E-03	8.24E-01	7.60E-01	7.89E-01	1.12E+00	3.18E+00	15000
Intestino	1.73E-04	1.93E-04	1.18E-02	5.98E-02	1.97E-02	1.44E-02	3.96E-02	40000
Páncreas	6.02E-04	8.07E-04	3.81E-02	3.41E-01	8.37E-02	5.02E-02	1.37E-01	10000
Hueso	1.45E-04	1.16E-04	2.19E-02	6.68E-03	6.15E-03	1.52E-02	2.34E-02	

MDT: Máxima dosis tolerada

Tabla 16. Dosis (mGy) que recibirían los órganos evaluados en un estudio terapéutico con 150 mCi (5500MBq) rHDL/^AX

Órgano	rHDL(^A X)							MDT (mGy)
	¹⁷⁷ Lu	¹⁸⁸ Re	¹⁸⁶ Re	¹⁵³ Sm	⁹⁰ Y	¹⁶⁶ Ho	²²³ Ac	
Corazón	1.27E-01	1.16E-01	1.73E-01	8.02E-02	3.57E-01	1.37E-01	3.58E+01	26000
Hígado	8.99E+00	5.01E+00	1.14E+01	4.87E+00	2.22E+01	6.97E+00	2.53E+03	30000
Pulmones	1.22E-01	2.61E-01	2.10E-01	1.31E-01	5.07E-01	2.75E-01	2.95E+01	20000
Bazo	1.32E-01	5.10E-01	2.87E-01	2.21E-01	7.53E-01	5.06E-01	2.59E+01	24000
Riñones	5.13E-01	5.26E-01	1.17E+00	3.51E-01	1.48E+00	6.15E-01	1.43E+02	15000
Intestino	1.49E-02	5.64E-02	3.26E-02	2.48E-02	8.62E-02	5.71E-02	2.95E+00	40000
Páncreas	3.56E-01	2.52E-01	4.70E-01	2.05E-01	9.16E-01	3.21E-01	1.03E+02	10000
Hueso	4.53E-02	1.61E-02	3.38E-02	2.85E-02	4.83E-02	2.29E-02	6.83E+01	

MDT: Máxima dosis tolerada

6. Conclusiones y recomendaciones

6.1. Conclusiones

Al comparar la biodistribución en ratones sanos del sistema rHDL/^{99m}Tc-HYNIC-DA, previamente publicada, con la biodistribución de la rHDL cuya superficie se ha modificado con los derivados HYNIC-S-(CH₂)₃-S-Colesterol y DOTA-NCS-NH-(CH₂)₂-NH-Colesterol, se demuestra que, aunque las NP mantienen el reconocimiento específico por los receptores SR-B1, al captarse en los mismos órganos que expresan este receptor, la modificación superficial influye en los porcentajes de acumulación en los diferentes órganos. Mientras que las partículas de rHDL/^{99m}Tc-HYNIC-DA se acumulan principalmente en hígado, pulmón y bazo las de ^{99m}Tc-HYNIC-rHDL se acumulan preferentemente en hígado, riñones y bazo en tanto que las de ¹⁷⁷Lu-DOTA-rHDL se acumulan principalmente en riñones, hígado y huesos.

Los modelos biocinéticos en los principales órganos de captación de los nanosistemas ^{99m}Tc-HYNIC-rHDL, ¹⁷⁷Lu-DOTA-rHDL y rHDL/^{99m}Tc-HYNIC-DA en ratones sanos, confirman que los cambios en la superficie de la rHDL tienen una influencia mayor en la farmacocinética que en la biodistribución, pues los tiempos de absorción, acumulación y aclaramiento varían de manera apreciable al variar la composición de la superficie. El nanosistema ^{99m}Tc-rHDL muestra una fase de absorción en hígado, músculo y hueso que no se observa en rHDL/^{99m}Tc, el cual muestra una fase de absorción en intestino no observada en ^{99m}Tc-rHDL.

La rHDL/^{99m}Tc muestra su mayor $T_{1/2}^{eff}$ en hígado ($2 T_{1/2}^f$), y el sistema ^{99m}Tc-rHDL en riñones ($2 T_{1/2}^f$); en el resto de los órganos el $T_{1/2}^{eff}$ de ambos nanosistemas es menor. El sistema ¹⁷⁷Lu-rHDL muestra también $T_{1/2}^{eff}$ relativamente rápidos, de acuerdo con su $T_{1/2}^f$ (159.6 h). Estos $T_{1/2}^{eff}$ son menores a un $T_{1/2}^f$ en casi todos los órganos excepto riñón en hígado donde son mayores a un $T_{1/2}^f$.

Los sistemas teranósticos con radionúclidos a base de rHDL son seguros desde el punto de vista radiológico. Utilizando como modelo el sistema DOTA-rHDL para los radionúclidos de diagnóstico y el sistema rHDL/^AX y para los radionúclidos terapéuticos se demostró que al administrar 25 mCi (925 MBq) de rHDL marcada con un radionúclido para diagnóstico acarreado en la superficie, o 150 mCi (5 500 MBq) de rHDL marcada con un radionúclido para terapia acarreado en el núcleo, en ningún caso se sobrepasan las dosis máximas toleradas para los órganos evaluados

6.2. Recomendaciones

Los cálculos de dosis internas inducidas por los radiofármacos no son estáticos, varían a medida que se acumulan nuevas evidencias y se perfeccionan los datos de entrada. En este caso, el siguiente paso es realizar la biodistribución de estos sistemas modificados superficialmente en ratones con tumores inducidos, compararla con la efectuada con el sistema rHDL/^{99m}Tc, y evaluar nuevamente las dosis en los tejidos sanos, así como la relación dosis tumor/dosis tejido sano.

Referencias bibliográficas

1. Ng KK, Lovell JF, Zheng G. Lipoprotein-inspired nanoparticles for cancer theranostics. *Acc Chem Res.* 2011;44(10):1105–13.
2. Theek B, Rizzo LY, Ehling J, Kiessling F, Lammers T. 2014. The theranostic path to personalized nanomedicine. *Clin Transl Imaging.* 2014;2(1):66–76. [10.1007/s40336-014-0051-5](https://doi.org/10.1007/s40336-014-0051-5).
3. Qorri, V., De Carlo, A., Mellon, M., Szewczuk, M.R., 2021. Drug Delivery systems in Cancer Therapy Chapter 20. In: *Drug Delivery Devices and Therapeutic Systems*. Ed Chappel E 2021 423- 454
4. Thaxton CS, Rink JS, Naha PC, Cormode DP. Lipoproteins and lipoprotein mimetics for imaging and drug delivery. *Adv Drug Deliv Rev.* 2016;106:116–31.
5. Pedersbæk D, Simonsen JB. A systematic review of the biodistribution of biomimetic high-density lipoproteins in mice. *J Control Release [Internet].* 2020 Dec;328(August):792–804. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S016836592030554X>
6. Almer, G., Mangge, H., Zimmer, A., Prassl, R., 2015. Lipoprotein-related and apolipoprotein-mediated delivery systems for drug targeting and imaging. *Curr. Med. Chem* 22(31):3631–3651.
7. Kuai, R., Li, D., Chen, Y.E., Moon, J.J., Schwendeman, A. 2016. High-Density Lipoproteins: Nature's Multifunctional Nanoparticles. *ACS Nano* 10(3): 3015-3041 doi: 10.1021/acsnano.5b07522.
8. Liu X, Suo R, Xiong SL, Zhang QH, Yi GH. 2013 HDL drug carriers for targeted therapy. *Clin Chim Acta* 415:94-100. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cca.2012.10.008>
9. Raut, S., Mooberry, L., Sabnis, N., Garud, A., Dossou, A.S., Lacko, A., 2018. Reconstituted HDL Drug Delivery Platform for Overcoming Biological Barriers to Cancer Therapy. *Front Pharmacol* 15 Oct <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.01154>
10. Bailey A, Mohiuddin SS. *Biochemistry, High Density Lipoprotein (HDL) [Internet]. StatPearls.* 2020. 1–5 p. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31747209>
11. Cedó L, Reddy ST, Mato E, Blanco-Vaca F, Escolà-Gil JC. HDL and LDL: Potential New Players in Breast Cancer Development. *J Clin Med [Internet].* 2019 Jun 14;8(6):853. Available from: <https://www.mdpi.com/2077-0383/8/6/853>
12. Simonsen, J.B. 2016. Evaluation of reconstituted high-density lipoprotein (rHDL) as a drug delivery platform – a detailed survey of rHDL particles ranging from biophysical properties to clinical implications. *Nanomedicine* 12 (7): 2161–2179 doi: 10.1016/j.nano.2016.05.009
13. Mooberry, L.K., Sabni, N.A., Panchoo, M., Nagarajan. B., Lacko. A.G. 2016. Targeting the SR-B1 receptor as a gateway for cancer therapy and imaging. *Front Pharmacol.* 7: 1–11. <https://doi.org/10.3389/fphar.2016.00466>

14. Feng, H., Wang, M., Wu, Ch., Yu, J., Wang, D., Ma, J., Han, J. 2018. High scavenger receptor class B type I expression is related to tumor aggressiveness and poor prognosis in lung adenocarcinoma. A STROBE compliant article. *Medicine (Baltimore)* 97 (13):e0203 doi: 10.1097/MD.00000000000010203
15. Lacko AG, Sabnis NA, Nagarajan B, McConathy WJ. HDL as a drug and nucleic acid delivery vehicle. *Front Pharmacol.* 2015;6(OCT):247.
16. Isaac-Olivé K, Ocampo-García BE, Aranda-Lara L, Santos-Cuevas CL, Jiménez-Mancilla NP, Luna-Gutiérrez MA, et al. [^{99m}Tc-HYNIC-N-dodecylamide]: a new hydrophobic tracer for labelling reconstituted high-density lipoproteins (rHDL) for radioimaging. *Nanoscale [Internet].* 2019;11(2):541–51. Available from: <http://dx.doi.org/10.1039/c8nr07484d>
17. Pérez-Medina C, Tang J, Abdel-Atti D, Hogstad B, Merad M, Fisher EA, et al. PET imaging of tumor-associated macrophages with ⁸⁹Zr-labeled high-density lipoprotein nanoparticles. *J Nucl Med.* 2015;56(8):1272–7.
18. Aranda-Lara L, Morales-Avila E, Luna-Gutiérrez MA, Olivé-Alvarez E, Isaac-Olivé K. Radiolabeled liposomes and lipoproteins as lipidic nanoparticles for imaging and therapy. *Chem Phys Lipids.* 2020;230(March).
19. Chuang, S.T., Cruz, S., Narayanaswami, V., 2020 Reconfiguring Nature's Cholesterol Accepting Lipoproteins as Nanoparticle Platforms for Transport and Delivery of Therapeutic and Imaging Agents. *Nanomaterials* 10(5): 906, doi:10.3390/nano10050906
20. Chaudhary, J., Bower, J., Corbin, I.R. 2019 Lipoprotein Drug Delivery Vehicles for Cancer: Rationale and Reason. *Int J Mol Sci.* 2019 Dec; 20(24): 6327. doi: 10.3390/ijms20246327
21. Shen, W.J., Azhar, S., Kraemer, F.B., 2018. SR-B1: A Unique Multifunctional Receptor for Cholesterol Influx and Efflux. *Annu Rev Physiol* 80(1): 95-116.
22. Mei, Y., Tang, L., Xiao, Q., Zhang, Z., Zhang, Z., Zang, J., Zhou, J., Wang Y. 2021. Reconstituted high density lipoprotein (rHDL), a versatile drug delivery nanoplatform for tumor targeted therapy. *J Mater Chem B* 9(3): 612-633
23. Rhim W-K, Kim M, Hartman KL, Kang KW, Nam J-M. Radionuclide-labeled nanostructures for In Vivo imaging of cancer. *Nano Converg.* 2015;2(1):1–13.
24. Tanaka M, Hosotani A, Mukai T. Indium-111 labeling of high-density lipoprotein-mimicking phospholipid-styrene maleic acid copolymer complexes and its biodistribution in mice. *J Label Compd Radiopharm.* 2018;61(11):857–63.

25. Navdaev, A.V., Sborgi, L., Wright, S.D., Didichenko, S.A. 2020. Nascent HDL (High-Density Lipoprotein) Discs Carry Cholesterol to HDL Spheres. Effects of HDL Particle Remodeling on Cholesterol Efflux. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 40(5):1182-1194.
26. Kontush, A., Lindahl, M., Lhomme, M., Calabresi, L., Chapman, M.J., Davidson, W.S. 2015 Structure of HDL: Particle Subclasses and Molecular Components *Handb Exp Pharmacol* 224:3-51
27. Jung C, Kaul MG, Bruns OT, Ducic T, Freund B, Heine M, et al. Intraperitoneal injection improves the uptake of nanoparticle-labeled high-density lipoprotein to atherosclerotic plaques compared with intravenous injection: A multimodal imaging study in apoe knockout mice. *Circ Cardiovasc Imaging*. 2014;7(2):303–11.
28. Lacko, A.G., Nair, M., Prokaj, L., McConathy, W.J., 2007. Prospects and challenges of the development of lipoprotein-based formulations for anti-cancer drugs. *Expert Opin. Drug Deliv.* 4(6):665-675,
29. Pérez-Medina C, Binderup T, Lobatto ME, Tang J, Calcagno C, Giesen L, et al. In Vivo PET Imaging of HDL in Multiple Atherosclerosis Models. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2016;9(8):950–61. .
30. Tang J, Baxter S, Menon A, Alaarga A, Sanchez-Gaytana BL, Faya F, Zhao Y, et al. 2016. Immune cell screening of a nanoparticle library improves atherosclerosis therapy. *PNAS* 2016, 113(44):E6731-E6740 <https://doi.org/10.1073/pnas.1609629113>
31. Onaciu, A., Jurj, A., Moldovan, C., Berindan-Neagoe, I. 2019 Theranostic Nanoparticles and Their Spectrum in Cancer DOI: 10.5772/intechopen.88097
32. Malajczuk, Ch.J., Gandhi, N.S., Mancera, R.L. 2021. Structure and intermolecular interactions in spheroidal high-density lipoprotein subpopulations. *J Struct Biol*: X 5: 100042 <https://doi.org/10.1016/j.yjsbx.2020.100042>
33. Darabi, M., Guillas-Baudouin, I., Le Goff, W., Chapman, M.J., Kontush A. 2016. Therapeutic applications of reconstituted HDL: When structure meets function. *Pharmacol Ther* 157:28-42. doi: 10.1016/j.pharmthera.2015.10.010.
34. Saha GB. Fundamentals of Nuclear Pharmacy [Internet]. Vol. 53, *Journal of Chemical Information and Modeling*. New York, NY: Springer New York; 2010. 1689–1699 p. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/978-1-4419-5860-0>
35. Vallabhajosula S. *Molecular Imaging* [Internet]. Vol. 50. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2009. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/978-3-540-76735-0>
36. Ferro-Flores G, Arteaga de Murphy C, Melendez-Alafort L. Third Generation Radiopharmaceuticals for Imaging and Targeted Therapy. *Curr Pharm Anal*. 2006;2(4):339–52.

37. Varani M, Galli F, Auletta S, Signore A. Radiolabelled nanoparticles for cancer diagnosis. *Clin Transl Imaging* [Internet]. 2018;6(4):271–92. Available from: <https://doi.org/10.1007/s40336-018-0283-x>
38. Wang D, Lin B, Ai H. 2014 Theranostic nanoparticles for cancer and cardiovascular applications. *Pharm Res*. 2014;31(6):1390–406.
39. Baum R. Therapeutic Nuclear Medicine [Internet]. Baum RP, editor. Springer. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2014. (Medical Radiology; vol. 1). Available from: <http://link.springer.com/10.1007/978-3-540-36719-2>
40. Stokke C, Gabiña PM, Solný P, Cicone F, Sandström M, Gleisner KS, et al. Dosimetry-based treatment planning for molecular radiotherapy: a summary of the 2017 report from the Internal Dosimetry Task Force. *EJNMMI Phys* [Internet]. 2017 Dec 21;4(1):27. Available from: <https://ejnmiphys.springeropen.com/articles/10.1186/s40658-017-0194-3>
41. Charron D, Chen J, Zheng G. Nanotechnology-Based Precision Tools for the Detection and Treatment of Cancer. 2015;166:129–50. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-16555-4>
42. Ljungberg M, Celler A, Konijnenberg MW, Eckerman KF, Dewaraja YK, Sjögren-Gleisner K. MIRD pamphlet no. 26: Joint EANM/MIRD guidelines for quantitative ¹⁷⁷Lu SPECT applied for dosimetry of radiopharmaceutical therapy. *J Nucl Med*. 2016;57(1):151–62.
43. Gupta A, Kim KY, Hwang D, Lee MS, Lee DS, Lee JS. Performance Evaluation and Quantitative Accuracy of Multipinhole NanoSPECT/CT Scanner for Theranostic Lu-177 Imaging. *J Korean Phys Soc*. 2018;72(11):1379–86.
44. Kim K, Kim SJ. Lu-177-Based Peptide Receptor Radionuclide Therapy for Advanced Neuroendocrine Tumors. *Nucl Med Mol Imaging* (2010). 2018;52(3):208–15.
45. Ling X, Latoche JD, Choy CJ, Kurland BF, Laymon CM, Wu Y, et al. Preclinical Dosimetry, Imaging, and Targeted Radionuclide Therapy Studies of Lu-177-Labeled Albumin-Binding, PSMA-Targeted CTT1403. *Mol Imaging Biol* [Internet]. 2020 Apr 18;22(2):274–84. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s11307-019-01404-8>
46. Graf J, Pape UF, Jann H, Denecke T, Arsenic R, Brenner W, et al. Prognostic Significance of Somatostatin Receptor Heterogeneity in Progressive Neuroendocrine Tumor Treated with Lu-177 DOTATOC or Lu-177 DOTATATE. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2020;47(4):881–94.
47. Hernández-Jiménez T, Ferro-Flores G, Ocampo-García B, Morales-Avila E, Escudero-Castellanos A, Azorín-Vega E, et al. ¹⁷⁷Lu-DOTA-HYNIC-Lys(Nal)-Urea-Glu: synthesis and assessment of the ability to target the prostate specific membrane antigen. *J Radioanal Nucl Chem*. 2018;318(3):2059–66.

48. Santos-Cuevas C, Ferro-Flores G, García-Pérez FO, Jiménez-Mancilla N, Ramírez-Nava G, Ocampo-García B, et al. 177 Lu-DOTA-HYNIC-Lys(Nal)-Urea-Glu: Biokinetics, Dosimetry, and Evaluation in Patients with Advanced Prostate Cancer. *Contrast Media Mol Imaging*. 2018;2018.
49. Ávila-Sánchez M, Ferro-Flores G, Jiménez-Mancilla N, Ocampo-García B, Bravo-Villegas G, Luna-Gutiérrez M, et al. Synthesis and preclinical evaluation of the 99mTc-/177Lu-CXCR4-L theranostic pair for in vivo chemokine-4 receptor-specific targeting. *J Radioanal Nucl Chem* [Internet]. 2020;324(1):21–32. Available from: <https://doi.org/10.1007/s10967-020-07043-6>
50. Khan, I., Saeed, K., Khan, I. 2017 Nanoparticles: Properties, applications and toxicities *Arabian J Chem*. 12(7):908-931 <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2017.05.011>
51. Bhatia, S. 2017. Nanoparticles Types, Classification, Characterization, Fabrication Methods and Drug Delivery Applications. *Natural Polymer Drug Delivery Systems* pp 33-93 DOI: 10.1007/978-3-319-41129-3_2
52. Sema Calis S, Atar KO, Arslan FB, Eroglu H, Capan Y. 2019 Nanopharmaceuticals as Drug-Delivery Systems: For, Against, and Current Applications. *Nanocarriers for Drug Delivery*. 132-134 <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814033-8.00004>
53. Andreou C, Pal S, Rotter L, Yang J, Kircher MF. Molecular Imaging in Nanotechnology and Theranostics. *Mol Imaging Biol*. 2017;19(3):363–72.
54. Decristoforo C, Mather SJ. Technetium-99m somatostatin analogues: Effect of labelling methods and peptide sequence. *Eur J Nucl Med*. 1999;26(8):869–76.
55. Behera A, De K, Chandra S, Chattopadhyay S, Misra M. Synthesis, radiolabelling and biodistribution of HYNIC-Tyr3 octreotide: A somatostatin receptor positive tumour imaging agent. *J Radioanal Nucl Chem*. 2011;290(1):123–9.
56. Mohammadgholi M, Rezazadeh F, Abediankenari S, Abedi SM, Emrarian I, Jafari N, et al. Evaluation of new 99mTc-labeled HYNIC-bombesin analogue for prostate cancer imaging. *J Radioanal Nucl Chem* [Internet]. 2018;316(2):595–607. Available from: <https://doi.org/10.1007/s10967-018-5819-z>
57. Guhlke S, Verbruggen AM, Vallabhajosula S. Radiochemistry and radiopharmacy. *Clin Nucl Med*. 2007;34–76.
58. Liu Y, Liu G, Hnatowich DJ 2010. A Brief Review of Chelators for Radiolabeling Oligomers. *Materials*. 2010;3(5):3204–17.
59. Liu, Sh. 2008 Bifunctional coupling agents for radiolabeling of biomolecules and target-specific delivery of metallic radionuclides. *Adv Drug Deliv Rev*. 60(12):1347-1370

60. Trajkovska KT. High-density lipoprotein metabolism and reverse cholesterol transport: strategies for raising HDL cholesterol. *Anatol J Cardiol* [Internet]. 2017; Available from: <https://www.journalagent.com/anatoljcardiol/pdfs/AJC-47640-EDUCATION-TRAJKOVSKA.pdf>
61. McMahon KM, Foit L, Angeloni NL, Giles FJ, Gordon LI, Thaxton CS. Nanotechnology-Based Precision Tools for the Detection and Treatment of Cancer. 2015;166:129–50. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-16555-4>
62. Lin Q, Chen J, Ng KK, Cao W, Zhang Z, Zheng G. Imaging the cytosolic drug delivery mechanism of HDL-like nanoparticles. *Pharm Res*. 2014;31(6):1438–49.
63. Yang H, Fogo AB, Kon V. 2016. Kidneys: Key Modulators of HDL Levels and Function. *Curr Opin Nephrol Hypertens* [Internet]. 2016 May;25(3):174–9. Available from: <http://journals.lww.com/00041552-201605000-00005>
64. Berman M. MIRD Pamphlet 12: Kinetic models for absorbed dose calculations [Internet]. Society of Nuclear Medicine. 1977. p. 1–14. Available from: http://s3.amazonaws.com/rdcms-snm/production/public/docs/MIRD_Pamphlet_12.pdf
65. McParland BJ. Nuclear Medicine Radiation Dosimetry [Internet]. Nuclear Medicine Radiation Dosimetry. London: Springer London; 2010. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/978-1-84882-126-2>
66. Zhou X, Elsinga PH, Khanapur S, Dierck RAJO, de Vries EFJ, de Jong JR. 2017. Radiation Dosimetry of a Novel Adenosine A2A Receptor Radioligand [¹¹C]Preladenant Based on PET/CT Imaging and Ex Vivo Biodistribution in Rats. *Mol Imaging Biol* (2017) 19:289Y297
DOI: 10.1007/s11307-016-0992-3
67. Stabin MG. 2008. Fundamentals of Nuclear Medicine Dosimetry. Edited by Springer Science+Business Media, LLC. DOI: 10.1007/978-0-387-74579-4
68. Noßke D. 2013 Special Requirements in the Development of Biokinetic Models for Radiopharmaceuticals. 5 th MELODI Workshop, Brussels, 09.10.2013 https://melodi-online.eu/wp-content/uploads/2021/04/Nosske_Special-requirements-in-the-development-of-biokinetic-models.pdf
69. Reilly RM 2013. The Fundamental Principles of Compartmental Pharmacokinetics Illustrated by Radiopharmaceuticals Commonly Used in Nuclear Medicine. En https://pharmacyce.unm.edu/nuclear_program/freelessonfiles/vol17lesson3.pdf
70. Bolch WE, Eckerman KF, Sgouros G, Thomas SR. 2009. MIRD Pamphlet No. 21: A Generalized Schema for Radiopharmaceutical Dosimetry—Standardization of Nomenclature. *J Nucl Med* 2009; 50:477–484 DOI: 10.2967/jnumed.108.056036

71. Zaidi H, Xu XG. 2007 Computational anthropomorphic models of the human the human anatomy: the path to realistic Monte Carlo modeling in radiological sciences. *Annu. Rev. Biomed. Eng.* 2007. 9:471–500
72. Wessels VW. Radiopharmaceutical dosimetry. <https://www.aapm.org/meetings/2001AM/pdf/7196-9326.pdf>
73. James SSt, Bednarz B, Benedict S, Buchsbaum JC, Dewaraja Y, Frey E, Hobbs R, Grudzinski J, Roncali E, Sgouros G, Capala J, Xiao Y. 2020. Current Status of Radiopharmaceutical Therapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2021 ;109(4):891-901
74. Norma Oficial Mexicana -NOM-062-ZOO-1999. Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. *Gac Méd Méx* Vol. 138 No. 3, 2002, 295-298
75. The National Academies Press (US). Guide for the Care and Use of Laboratory Animals of the National Institutes of Health 8th Ed. 2011. DOI: 10.17226/12910
76. Kono, M., Okumura, Y., Tanaka, M., Nguyen, D., Dhanasekaran, P., Lund-Katz S., Phillips, M.C., Saito H. 2008. Conformational Flexibility of the N-Terminal Domain of Apolipoprotein A-I Bound to Spherical Lipid Particles. *Biochemistry* 2008, 47(43): 11340–11347
77. Kooijman, E.E., Tieleman, D. P., Testerink, C., Munnik, T., Rijkers, D.T.S. 2007. An Electrostatic/Hydrogen Bond Switch as the Basis for the Specific Interaction of Phosphatidic Acid with Proteins *J Biol Chem.* 282(15): 11356–11364,
78. Laucirica, G., Pérez-Mitta, G., Toimil-Molares, M.E., Trautmann C., 2019. Amine-Phosphate Specific Interactions within Nanochannels: Binding Behavior and Nanoconfinement Effects. *J. Phys Chem. C* 123, 28997–29007, doi: 10.1021/acs.jpcc.9b07977.
79. Murphy AJ, Funt S, Gorman D, Tall AR, Wang N. 2013, Pegylation of High-Density Lipoprotein Decreases Plasma Clearance and Enhances Antiatherogenic Activity. *Circ Res* 2013, 113(1): e1-e9 doi: 10.1161/CIRCRESAHA.113.301112
80. Graversen, J.H., Castro, G., Kandoussi, A., Nielse, H., Christensen, E.I., Norden, A., Moestrup, S.K. 2008. A Pivotal Role of the Human Kidney in Catabolism of HDL Protein Components Apolipoprotein A-I and A-IV but not of A-II. *Lipids* 43(5):467–470
81. Zhong, J., Yang, H., Kon, V. 2019. Kidney as modulator and target of "good/bad" HDL *Pediatr Nephrol* 34(10):1683-1695
82. Rye KA, Barter PJ. 2014. Regulation of High-Density Lipoprotein Metabolism. *Circ Res.* 2014; 114:143-156 doi: 10.1161/CIRCRESAHA.114.300632

83. Yuan D, He H, Wu Y, Fan J, Cao Y. 2019. Physiologically Based Pharmacokinetic Modeling of Nanoparticles. *J Pharm Sci* 2019 108(1):58-72
84. Röhrli, C., Stangl, H. 2013. HDL endocytosis and resecretion. *Biochim Biophys Acta.* 1831(11): 1626–1633.
85. Blair, H.C., Kalyvoti, E., Papachristou, N.I., Tourkova I.L., Syggelos, S.A., Deligianni, D., Orkoula, M.G., Kontoyannis, Ch.G., Karavia, E.A., Kypreos, K.E., Papachristou D.J. Apolipoprotein A-1 regulates osteoblast and lipoblast precursor cells in mice. *Lab Invest* 96(7):763-772
86. Filou, S., Lhomme, M., Karavia, E.A., Kalogeropoulou, C., Theodoropoulos, V., Zvintzou, E., Sakellaropoulos, G.C., Petropoulou, P-I., Constantinou, C., Kontush, A., Kypreos, K.E. 2016. Distinct roles of apolipoproteins A-I and E in the modulation of High-Density Lipoprotein composition and function. *Biochemistry* 55(27):3752-3762
87. Papachristou, N.I., Blair, H.C., Kypreos, K.E., Papachristou, D.J. 2017. High-Density Lipoprotein (HDL) metabolism 1 and bone mass. *J Endocrinol* 233(2): R95-R107
88. Yang, Y., Liu, G., Zhang, Y., Xu, G., Yi, X., Liang, J., Zhao, Ch., Liang, J., Ma, Ch., Ye, Y., Yu, M., Qu, X. 2018. Association Between Bone Mineral Density, Bone Turnover Markers, and Serum Cholesterol Levels in Type 2 Diabetes. *Front. Endocrinol* 9: 646 doi: 10.3389/fendo.2018.00646
89. Brodeur, M.R., Brisette, L., Falstra, L., Luangrath, V., Moreau, R. 2008. Scavenger Receptor of Class B Expressed by Osteoblastic Cells Are Implicated in the Uptake of Cholesteryl Ester and Estradiol. From LDL and HDL3. *J Bone Miner Res* 23(3):326-37.
90. Li M, Al-Jamal K.T, Kostarelos K, Reineke J. 2010. Physiologically Based Pharmacokinetic Modeling of Nanoparticles. *ACS Nano* 4(11):6303-6317
91. Shuryak I, Dadachova E. 2015 New Approaches for Modeling Radiopharmaceutical Pharmacokinetics Using Continuous Distributions of Rates. *J Nuc Med* 2015 56 (10) 1622-1628.
92. Yang RSH, Chang LW, Yang CS, Lin P. 2010. Pharmacokinetics and Physiologically-Based Pharmacokinetic Modeling of Nanoparticles. *J Nanosci Nanotech* 10(12):8482-90. doi: 10.1166/jnn.2010.2687.
93. Alvariza S, Betancur C, Eiraldi R, Fagiolino P. 2010. Guía de Farmacocinética. Udelar CSE <https://hdl.handle.net/20.500.12008/9492>
94. Brundert M, Ewert A, Heeren J, Behrendt B, Ramakrishnan R, Greten H, Merkel M, Rinninger F. 2005. Scavenger Receptor Class B Type I Mediates the Selective Uptake of High-Density Lipoprotein-Associated Cholesteryl Ester by the Liver in Mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 25(1):143-148

95. Pugazhendhi A, Edison TNJI, Velmurugan BK, Jacob JA, Karuppusamy I. Toxicity of Doxorubicin (Dox) to different experimental organ systems. *Life Sci.* 2018; May 1;200:26-30.
96. Lin, Q., Chen, J., Ng, K.K., Cao, W., Zhang, Z., Zheng, G. 2013. Imaging the Cytosolic Drug Delivery Mechanism of HDL-Like Nanoparticles *Pharm Res* 31(6):1438-1449
97. Lin, Q., Chen, J., Hin, H., Ng, K.K., Yang, M., Cao, W., Ding, L., Zhang, Z., Zheng, G. 2012. Efficient systemic delivery of siRNA by using high-density lipoprotein-mimicking peptide lipid nanoparticles. *Nanomedicine* 7(12): 1813–1825.
98. Quintos-Meneses HA, Aranda-Lara L, Morales-Ávila E, Ocampo-García BE, Contreras I, Ramírez-Nava GJ, Santos-Cuevas CL y cols. 2021 A Multimodal Theranostic System Prepared from High-Density Lipoprotein Carrier of Doxorubicin and 177Lu. *J Biomed Nanotech* 17: 1-17 doi:10.1166/jbn.2021.3179
99. Johnson R, Sabnis N, Sun X, Ahluwalia R, Lacko AG. SR-B1-targeted nanodelivery of anti-cancer agents: a promising new approach to treat triple-negative breast cancer. *Breast Cancer Targets and Therapy* 2017; 9: 383-392
100. Kemerink GJ, Liu X, Kieffer D, Ceysens S, Mortelmans L, Verbruggen AM, Steinmetz ND, Vanderheyden JL, Green AM, Verbeke K. 2003. Safety, Biodistribution, and Dosimetry of 99mTc-HYNIC-Annexin V, a Novel Human Recombinant Annexin V for Human Application. *J Nucl Med* 2003; 44:947–952.
101. Hanscheid H, Lapa C, Buck AK, Lassmann M, Werner RA. 2018. Dose Mapping After Endoradiotherapy with 177Lu-DOTATATE/DOTATOC by a Single Measurement After 4 Days. *J Nucl Med* 2018; 59 (1):75–81
102. Vicini P, Bertrand AB, Stabin MG, Rescigno A. 2008. Kinetic Modeling in Support of Radionuclide Dose Assessment. *Semin Nucl Med* 38(5):335-346.
103. Dewaraja YK, Frey EC, Sgouros G, Brill AB, Roberson P, Zanzonico PB, Ljungberg M. 2012. MIRD Pamphlet No. 23: Quantitative SPECT for Patient-Specific 3-Dimensional Dosimetry in Internal Radionuclide Therapy. *J Nucl Med* 2012; 53 (8):1310–1325
104. Vaziri B, Wu H, Dhawan AP, Du P, Howell RW. 2014. MIRD Pamphlet No. 25: MIRDcell V2.0 Software Tool for Dosimetric Analysis of Biologic Response of Multicellular Populations. *J Nucl Med* 2014; 55(9):1557–1564
105. Goddu SM, Rao DV, Howell RW. 1994. Multicellular dosimetry for micrometastases: dependence of self-dose versus cross-dose to cell nuclei on type and energy of radiation and subcellular distribution of radionuclides. *J Nucl Med.* 1994;35(3):521–530.