



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA SALUD Y LA
PRODUCCIÓN ANIMAL

**“Evaluación de metabolismo glucolítico en el
miocardio de rata mediante ^{18}F -FDG y micro PET”**

T E S I S

PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA

RAFAEL OJEDA FLORES

Tutor: Erick Alexánderson Rosas
Comité tutorial: Sara del Carmen Caballero Chacón
Eugenio Quiroz Rothe

México, D.F.

2009



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Tutor: **Dr. Erick Alexánderson Rosas**
Comité tutorial: **Dra. Sara del Carmen Caballero Chacón**
Dr. Eugenio Quiroz Rothe

Jurado: **Dr. Luis Ocampo Cambreros**
Dr. Francisco Montiel Sosa
Dr. Erick Alexánderson Rosas
Dra. Mercedes Rodríguez Villafuerte
Dr. Alejandro Villa Godoy

LISTA DE FIGURAS	VII
ABREVIATURAS	VIII
RESUMEN	X
ABSTRACT	XI
1.0 INTRODUCCIÓN	1
1.1 Ventajas de la imagenología molecular	2
1.2 Tomografía por emisión de positrones	4
1.3 Aplicaciones de PET en el campo de la cardiología	5
1.3.1 <i>Metabolismo glucolítico cardiaco y su evaluación con ¹⁸F-FDG</i>	6
1.3.1.1 Transporte de Glucosa	7
1.3.1.2 Fosforilación	8
1.3.1.3 Oxidación de los ácidos grasos	
1.3.1.4 Glucólisis	9
1.3.1.5 Oxidación de carbohidratos (Glucosa, Lactato)	
1.3.1.6 Ciclo de los ácidos tricarboxílicos (Ciclo de Krebs)	10
1.3.2 <i>Flujo sanguíneo miocárdico</i>	11
2.0 ANTECEDENTES	12
3.0 JUSTIFICACIÓN	15
4.0 OBJETIVO	
5.0 HIPÓTESIS	

6.0 MATERIALES Y MÉTODOS	16
6.1 Animales	
6.2 Diseño de grupos	
6.3 Adquisición de estudios	
6.4 Análisis	17
7.0 RESULTADOS	20
7.1 Análisis cualitativo	
7.1.1 Comparación por tiempos de distribución del radiotrazador	
7.1.2 Comparación de las imágenes por tipo de protocolo	
7.2 Análisis semi-cuantitativo	
8.0 DISCUSIÓN	23
9.0 CONCLUSIONES	26
10.0 FIGURAS	27
11.0 APÉNDICES	34
11.1 ¹⁸F-2-DEOXI-2-FLUORO-D-GLUCOSA	
11.2 ARTÍCULO PUBLICADO	36
12.0 REFERENCIAS	44

Objetivos: Estandarizar un protocolo de adquisición con la técnica de Tomografía por Emisión de Positrones para el estudio del metabolismo glucolítico miocárdico en ratas adultas. **Material y método:** Se estudiaron 5 ratas Wistar macho adultas en tres diferentes protocolos: el primero con acceso a libre demanda de comida y agua; el segundo con ayuno de 8 horas y el tercero con ayuno de 8 horas más la administración de una carga oral de glucosa al 50%. Se adquirieron imágenes del área torácica durante 30 minutos mediante el microPET; a los 30 y 60 minutos después de la administración de una dosis de 37-55 MBq de ^{18}F -FDG por vía intraperitoneal. Se realizó un análisis comparativo y cualitativo de las imágenes obtenidas por dos médicos especialistas en el área, así como un análisis semi-cuantitativo mediante reconstrucciones 3D y selección de ROIs con el programa AMIDE. **Resultados:** Se obtuvieron en total 30 estudios cardíacos; 10 para cada protocolo, donde se determinó que las mejores imágenes para fines de evaluación metabólica del miocardio fueron las correspondientes a los 60 minutos postadministración de la ^{18}F -FDG del protocolo sin ayuno. **Conclusiones:** Es factible establecer un protocolo válido para la valoración del metabolismo glucolítico, con el fin de utilizarlo en el estudio de viabilidad miocárdica en la cardiopatía isquémica, y como punto de referencia para la evaluación de terapias génica, farmacológica o quirúrgica a nivel experimental.

Palabras clave: ^{18}F -FDG, microPET, Metabolismo glucolítico miocárdico.

Purpose: To standardize an acquisition protocol using Positron Emission Tomography for the study of myocardial metabolism in adult rats. **Material and methods:** 5 Wistar adult male rats were studied under 5 different protocols: no fasting group, fasting group over a period of 8 hr before the study with only water *ad libitum*, and fasting group by the same time receiving an oral 50% glucose solution. Thirty-minute acquisition images were obtained with a microPET, thirty and sixty minutes after the administration of 37-55 MBq ^{18}F -FDG. Comparative and visual analyses were performed by two experts in the field. A semi-quantitative analyze based on 3D reconstructions was performed using AMIDE software. **Results:** 30 studies were analyzed; 10 per group. The best images were those of the first group, especially those taken at 60 minutes after the ^{18}F -FDG administration. **Conclusion:** It is possible to establish the non-fasting protocol for the assessment of myocardial metabolism to be used in the future for the myocardial viability evaluation in ischemic cardiopathy. This study can be used as a reference point for further experimental genetic, pharmacological or surgical evaluations.

Key words: ^{18}F -FDG, microPET, myocardial metabolism.

Desde la fabricación del primer microscopio a finales del siglo XVI, las observaciones morfológicas han dirigido el curso de las investigaciones en el área de la biología. La imagenología molecular se ha convertido en una disciplina de rápido desarrollo que ha permitido ampliar dichas observaciones en individuos llevándolas a un nivel más trascendental. La imagenología molecular puede ser definida como la representación visual, caracterización y cuantificación de procesos biológicos a niveles celular y subcelular en organismos vivos intactos. (Heath et al., 2003, Hoffman and Gambhir, 2007) Es un campo emergente de carácter multidisciplinario en el que las imágenes obtenidas representan las vías celulares y moleculares, así como los mecanismos de enfermedad *in vivo* presentes en un ambiente fisiológicamente auténtico. El término imagenología molecular involucra la coincidencia de técnicas novedosas de adquisición de imágenes, biología molecular y celular, química, medicina, farmacología, física médica, biomatemáticas y bioinformática hacia el surgimiento de un nuevo paradigma.

Las técnicas tradicionales de imagenología confían principalmente en la visualización de cambios morfológicos macroscópicos, fisiológicos o metabólicos que permitan diferenciar tejidos patológicos de tejidos normales, más que en identificar eventos moleculares específicos responsables de enfermedad. La imagenología molecular se basa esencialmente en pruebas moleculares específicas como la fuente de contraste de las imágenes. Ésta especificidad constituye la base de un nuevo paradigma, en el que la imagenología es ahora capaz de proporcionar el potencial para la comprensión de la biología integrativa, la detección temprana y la caracterización de enfermedades y evaluación de tratamientos.

El adelanto en las estrategias de imagenología molecular se debe principalmente a los avances recientes en técnicas de biología celular y molecular, el uso de modelos en animales transgénicos, la disponibilidad de nuevos fármacos y pruebas altamente específicas y al desarrollo de instrumentación necesaria para la obtención de imágenes en animales pequeños. (Pakzad et al., 2005, Sossi, 2005)

La imagenología molecular tiene su origen en la medicina nuclear y de cierta forma es una extensión de esta disciplina. Misma que se enfoca en el manejo de pacientes mediante la inyección de radiotrazadores en conjunto con técnicas de adquisición de imágenes. Actualmente es posible adaptar los principios de imagenología molecular a otras modalidades, como la resonancia magnética o la imagenología óptica. Las pruebas de imagenología molecular se han desarrollado gracias al avance del conocimiento a niveles celular y molecular. (Dobrucki and Sinusas, 2005) El desarrollo, validación y aplicación de estas técnicas novedosas de obtención de imágenes en individuos vivos incrementará el entendimiento de los mecanismos de enfermedades. (Phelps, 2002)

1.1 Ventajas de la imagenología molecular

Mediante imagenología molecular es posible determinar la distribución espacial y temporal de pruebas moleculares, así como los procesos biológicos asociados; de una forma significativa a través de un individuo vivo. La visualización de funciones e interacciones de un gen en particular resulta más sencilla al contar con una evaluación realista que respeta la dinámica de las complejas redes biológicas presentes en órganos y sistemas completos en un animal vivo intacto. (Reader and Zweit, 2001)

Dentro de la ciencia farmacológica la aplicación de pruebas de imagenología molecular en animales vivos intactos permite avanzar en el entendimiento de los fenómenos biológicos relacionados a la molécula estudiada y su interacción con el organismo. La utilización de animales transgénicos resulta muy útil para el desarrollo de nuevos fármacos ya que permite la validación de la proteína blanco y la evaluación de los compuestos bajo prueba, además de determinar la relación del blanco con efectos toxicológicos, evaluar la eficacia de los componentes y así asegurar que el comportamiento de los compuestos será el esperado en el hombre. La aproximación mediante imágenes moleculares dentro del proceso de desarrollo de nuevos fármacos ofrece la importante ventaja de estudiar un fármaco potencial marcado mediante un modelo animal, usualmente antes de que los cambios fenotípicos sean evidentes y sea trasladado rápidamente a estudios en humanos. Es probable que los ensayos preclínicos se puedan acelerar para eliminar fármacos con

biodistribución y/o farmacocinética desfavorables antes de la realización de estudios en humanos. (Livingston, 1999)

Una ventaja sobre la experimentación *in vitro* y en cultivos celulares se puede lograr mediante la realización de estudios repetidos en el mismo animal, usando ensayos de imágenes biológicas en distintos tiempos. Esto revela un cuadro dinámico y más significativo de los cambios progresivos en parámetros biológicos bajo estudio, así mismo es posible la valoración temporal de las respuestas terapéuticas; todo en el mismo animal y sin la necesidad de sacrificarlo. Con lo que se obtienen resultados de mejor calidad usando menos animales de experimentación. Al utilizar una menor cantidad de sujetos de investigación mediante técnicas de imagen molecular se atiende a cuestiones morales relacionadas con el uso adecuado de animales de laboratorio. Es más viable la aprobación por parte de los comités de ética de aquellos proyectos de investigación en los que se reduce significativamente el número de animales experimentales necesarios.

Otro beneficio de los estudios de imagenología molecular es su naturaleza cuantitativa. Las imágenes adquiridas regularmente no son sólo subjetivas o cualitativas, como es el caso de las imágenes obtenidas mediante modalidades médicas convencionales, en cambio, proveen mediciones numéricas de fenómenos biológicos. Dicha información cuantitativa suele ser considerada más útil en comparación a la información similar obtenida *in vitro* o *ex vivo*, teniendo en cuenta que se preserva intacta la fisiología del sujeto experimental. Sin embargo, puede existir una excepción a esta cualidad en los casos en los que la anestesia general resulte en una alteración de la función biológica bajo investigación, por ejemplo, en estudios de imagenología molecular cerebral. (Matsumura et al., 2003)

La posibilidad de realizar pruebas mediante imagenología tomográfica en sujetos sanos intactos ligada a la reconstrucción tridimensional de las imágenes tras su adquisición y la cuantificación simultánea de dichas mediciones biológicas permite la obtención de información volumétrica relacionada con la distribución espacial del fenómeno biológico en un órgano en particular o en el organismo completo, que a su vez puede complementarse

con la evaluación de cambios temporales y así generar información en 4 dimensiones de algún fenómeno biológico de interés.

Recientemente los descubrimientos científicos en materia biológica se han encaminado hacia la transición de modelos *in vitro* a modelos *in vivo*. Hoy, los esfuerzos se dirigen a desarrollar tecnologías de imagen no invasivas y con alta resolución específicas para animales pequeños. (Bergmann and Pietzsch, 2005) El objetivo principal de la imagenología molecular en roedores es obtener una señal lo más intensa posible, factible de ser localizada de la manera más exacta mediante el marcaje de blancos específicos y con la menor cantidad de radiotrazador posible. Así mismo desarrollar un dispositivo capaz de producir imágenes tridimensionales de información anatómica y funcional fusionada con una alta resolución temporal. (Laforest et al., 2005, Weber and Bauer, 2004)

1.2 Tomografía por emisión de positrones

La tomografía por emisión de positrones (PET) detecta rayos γ de alta energía que son emitidos desde el interior del individuo. Es posible marcar moléculas de interés biológico utilizando algún isótopo radiactivo que sea capaz de producir dos rayos γ mediante la emisión de un positrón desde el núcleo, que eventualmente se aniquilará con un electrón del medio para producir 2 rayos γ de 511 keV en la misma dirección pero en sentido contrario. (Tamaki, 2002) Dentro de los isotopos emisores de positrones más comúnmente utilizados se encuentran: ^{15}O , ^{13}N , ^{11}C y ^{18}F utilizado en sustitución del hidrógeno o grupos hidroxilos (OH). Existen otros emisores de positrones menos comunes como ^{14}O , ^{64}Cu , ^{62}Cu , ^{124}I , ^{76}Br , ^{82}Rb , y ^{68}Ga . (Chen et al., 1996) La mayoría de estos isótopos son producidos en un ciclotrón. Los trazadores ya marcados se introducen en el sujeto y mediante el equipo PET se puede observar la distribución y concentración de las moléculas inyectadas. Muchos de los emisores de positrones tienen vidas medias relativamente cortas (^{18}F $t_{1/2} = 110$ min) por lo que las reacciones químicas necesarias para la incorporación del isótopo en la molécula de interés deben hacerse con rapidez.

La detección de los rayos γ se realiza a través del registro de la interacción de éstos con cristales centelladores. Los cristales transforman la energía de los rayos γ en luz visible que

es convertida en una señal eléctrica, multiplicada y registrada para luego ser utilizada en datos de proyección. La detección en coincidencia de un par de rayos γ dentro de una ventana temporal de pocos nanosegundos define la línea de respuesta. Estas líneas son registradas, almacenadas y transformadas en datos crudos. Tras la corrección de datos se puede obtener información cuantitativa sobre la concentración y distribución del radiotrazador en cuestión. La sensibilidad del PET es relativamente alta, oscila entre las 10^{11} y 10^{12} moles/L, y es independiente de la localización de la molécula de interés. (Chatziioannou, 2002b, Chatziioannou, 2002a) A pesar de que las imágenes PET usualmente se despliegan en color, representan eventos de interacción de rayos γ idénticos, y la escala de color refleja la concentración del isótopo en las distintas zonas del organismo. La resolución espacial de la mayoría de los equipos comerciales de PET es de ~ 5 -8 mm en el caso de estudios cerebrales y ~ 8 -15 mm para el resto del cuerpo. Éstas resoluciones se traducen en elementos de resolución volumétrica (que pueden ser interpretados como el volumen de tejido del cual se puede extraer información independiente) de 0.5 a 2 cc. En años recientes se han desarrollado equipos microPET dedicados a roedores con una resolución espacial promedio de ~ 1 -2.5 mm cuya resolución volumétrica se encuentra entre 0.001 y 0.015 cc. (Cherry and Gambhir, 2001) Los sistemas de última generación alcanzan una resolución de ~ 1 mm. (Chatziioannou, 2005) Estos equipos miniatura permiten validar pruebas biológicas de una amplia gama de procesos y facilitan la transición de pruebas en cultivos celulares a estudios preclínicos con animales pequeños, hasta llegar a estudios clínicos en seres humanos. (Cherry, 2001) Esta es una de las características únicas y más valiosas de la tecnología PET.

1.3 Aplicaciones de PET en el campo de la cardiología

La tomografía por emisión de positrones es una herramienta bien validada para la evaluación de la perfusión miocárdica, la función ventricular izquierda y la viabilidad. (Machac et al., 2006) Ofrece la capacidad única de medir en forma no invasiva el flujo de substratos miocárdicos regionales y el índice de reacciones bioquímicas en mmol por minuto por gramo de miocardio. Mientras que este aspecto es verdaderamente único, la

PET ofrece otras capacidades adicionales, como por ejemplo la evaluación o cuantificación del flujo sanguíneo miocárdico regional. (Alexánder et al., 2002)

En el miocardio normalmente oxigenado, la contracción muscular constituye el principal requerimiento de energía en forma de trifosfato de adenosina (ATP) esencialmente sintetizado mediante el metabolismo oxidativo en la mitocondria. El oxígeno necesario proviene del flujo sanguíneo coronario. Por lo tanto, existe una estrecha relación entre el metabolismo y ambos: perfusión y contracción. En la isquemia miocárdica, dicha relación se altera, por lo que es difícil predecir el estado metabólico del tejido a partir del estado de contracción o de la anatomía coronaria. El uso de PET y radiotrazadores específicos permite la evaluación de los cambios metabólicos producto de la isquemia miocárdica. (Opie and Hesse, 1997)

1.3.1 Metabolismo glucolítico cardiaco y su evaluación con ^{18}F -FDG

El corazón es un órgano “omnívoro” que funciona mejor cuando éste oxida diferentes sustratos simultáneamente. (Taegtmeyer, 1994) La fuente energética puede cambiar en relación a diversos factores, tales como la disponibilidad de los sustratos, las demandas energéticas, el suplemento de oxígeno y las condiciones metabólicas del individuo. (Carvajal and Moreno, 2003) La disponibilidad de los sustratos de energía depende de varios factores, entre ellos: flujo sanguíneo, influencias hormonales, concentración en los vasos aferentes, demanda de oxígeno y carga de trabajo.

El mantenimiento homeostático de los niveles de glucosa sanguínea es fundamental para la vida de los organismos mamíferos. La glucosa es el sustrato más confiable para la producción energética en el corazón debido a que su concentración plasmática se mantiene dentro de un estrecho rango. La importancia del metabolismo de la glucosa vía glicolisis ha sido considerada al evaluar el miocardio isquémico e hipertrofiado, (Opie, 1968, Lopaschuk, 1992, Depre et al., 1995, Taegtmeyer and Overturf, 1988) pero el metabolismo aeróbico de la glucosa para el mantenimiento de la función contráctil normal ha recibido menos atención, principalmente debido al hecho bien conocido de que los ácidos grasos

son, en condiciones normales, el principal sustrato para la producción energética del corazón. (Lopaschuk, 1992, Randle et al., 1963, Lopaschuk, 1994)

El azúcar simple D-glucosa es la molécula orgánica más abundante en la naturaleza. La glucosa que es utilizada por el corazón, proviene ya sea de la circulación sanguínea o de los almacenes intracelulares de glucógeno. El transporte de la glucosa hacia el interior de la célula miocárdica es regulado por transportadores específicos. La glucosa intracelular es rápidamente fosforilada y se convierte en sustrato adecuado para la glucólisis, la síntesis de glucógeno o la síntesis de ribosa. Tras incorporarse a la vía glucolítica, la glucosa es transformada en última instancia en piruvato, el cual, es sustrato de vías metabólicas posteriores. (Figura 1)

La captación de glucosa, definida como el transporte y fosforilación de la misma, es medible mediante el análogo ^{18}F -2-deoxi-2-fluoro-D-glucosa (^{18}F -FDG) (Apéndice) y PET. La PET con ^{18}F -FDG se considera el estudio más sensible para el diagnóstico de viabilidad miocárdica debido a que detecta la actividad metabólica de la célula miocárdica. (Alexánder, 2004) La ^{18}F -FDG se inyecta por vía intravenosa y se incorpora a la célula cardiaca metabólicamente activa (células miocárdicas vivas) que preservan integridad de membrana y persistencia de los procesos bioquímicos. Comparado con las técnicas tradicionales de Cardiología Nuclear es aún más sensible, debido a que estas últimas exploran la perfusión de la célula miocárdica y no su actividad metabólica. Se ha demostrado que un 40 a 50% de los pacientes considerados con necrosis sin tejido viable residual, por los estudios de medicina nuclear (ecocardiografía, angiotomografía coronaria, resonancia magnética, tomografía por emisión de fotón único), poseen viabilidad cuando se les efectúa un estudio de PET con ^{18}F -FDG. (Akinboboye et al., 1999)

1.3.1.1 Transporte de Glucosa

Tras su administración, el transporte de la ^{18}F -FDG se lleva a cabo por proteínas transportadoras de la familia GLUT, un sistema saturable estereo-específico de transportadores. (Pessin and Bell, 1992, Gould and Holman, 1993, Mueckler, 1994) La GLUT-4 es la principal isoforma que se expresa en la superficie del miocardio adulto, es

dependiente de insulina y se puede encontrar también en tejido adiposo. (Pessin and Bell, 1992) Además, la célula miocárdica expresa el transportador GLUT-1, que predomina en el miocardio fetal y presumiblemente es independiente de la acción de la insulina. (Gould and Holman, 1993)

1.3.1.2 Fosforilación

La fosforilación de la glucosa por parte de la hexocinasa, es el primer paso regulatorio dentro del metabolismo glucolítico. El corazón presenta dos isoenzimas: la hexocinasa I que predomina en el corazón fetal y de recién nacido, y la hexocinasa II, regulada por insulina y predominante en el corazón adulto. (Printz et al., 1993) (Figura 2)

Además de ingresar a la vía glucolítica, una fracción de la glucosa-6-fosfato es sustrato para la síntesis de glucógeno. El glucógeno ocupa cerca del 2% del volumen celular del miocardio adulto y aproximadamente 30% del miocito cardiaco fetal y del recién nacido. (Shelley, 1961) Contrario a lo que ocurre en hígado y músculo esquelético, el músculo cardiaco aumenta su contenido de glucógeno con el ayuno. (Schneider et al., 1991) Esto concuerda con el principio de que los ácidos grasos, principal sustrato energético miocárdico, inhiben la glucólisis en mayor medida que a la captación de glucosa, redirigiendo así a la glucosa hacia la síntesis de glucógeno. El almacenamiento de glucógeno se incrementa también por influencia de la insulina, debido a la estimulación simultánea del transporte de glucosa y la síntesis de glucógeno. (Moule and Denton, 1997) Así mismo, la glucogenogénesis se incrementa cuando el lactato actúa como principal sustrato energético del corazón. (Depre et al., 1993, Laughlin et al., 1994)

1.3.1.3 Oxidación de los ácidos grasos

Los ácidos grasos libres son considerados como el sustrato preferido del metabolismo miocárdico. Los ácidos grasos requeridos provienen de moléculas de ácidos grasos libres unidos a albúmina, ésteres de colesterol dentro de quilomicrones y lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) circulantes. Dentro de la célula miocárdica, los ácidos grasos son metabolizados a una acil-CoA (ácido graso activado) la cual es transferida a la mitocondria

a través de diversas enzimas, tales como la carnitina palmitoil transferasa-1 (CPT-1). Dentro de la matriz mitocondrial la acil-CoA ingresa a la vía de la β -oxidación, cuyo producto final es la acetil-CoA, la cual se incorpora al ciclo de los ácidos tricarbónicos. (Figura 2) (Alexánder, 2004)

1.3.1.4 Glucólisis

La glucólisis es la vía por la que la glucosa se transforma a piruvato, con la producción neta de 2 moles de ATP por mol de glucosa. Dentro de la glucólisis existen varios sistemas enzimáticos con función reguladora, tales como la 6-fosfofructocinasa, (Figura 2) la cual es inhibida por concentraciones elevadas de ATP, de citrato y de ácidos grasos de cadena larga, pero es estimulada por el ADP o por el AMP. La glucólisis desempeña un papel de mecanismo de emergencia capaz de producir energía durante períodos cortos en los que no se dispone de oxígeno. (Alexánder, 2004)

1.3.1.5 Oxidación de carbohidratos (Glucosa, Lactato)

Además de los ácidos grasos, la otra fuente de acetil-CoA para el ciclo de los ácidos tricarbónicos es la oxidación de los carbohidratos, particularmente glucosa y lactato. Cuando el organismo es alimentado por carbohidratos, la lipólisis es inhibida por la insulina y subsecuentemente la oxidación de los carbohidratos se incrementa. En este caso los carbohidratos pueden utilizar el 100% del oxígeno miocárdico (glucosa 70% y lactato 30%). Durante el ejercicio intenso (65% de la captación máxima de oxígeno de un individuo), la producción de lactato se convierte en el mayor combustible del corazón, respondiendo por el 60 al 70% del consumo miocárdico de oxígeno. (Alexánder, 2004)

Bajo condiciones aeróbicas, la mayoría del piruvato es convertido a acetil-CoA, el cual entra al ciclo de los ácidos tricarbónicos. (Depre et al., 1999) La oxidación de carbohidratos constituye la vía metabólica que une a la glucólisis con el ciclo de los ácidos tricarbónicos. (Esquema 1) El acoplamiento entre la glucólisis y la oxidación de carbohidratos es de gran importancia para mantener de manera adecuada el metabolismo energético miocárdico. (Figura 2) (Calvani et al., 2000)

1.3.1.6 Ciclo de los ácidos tricarboxílicos (Ciclo de Krebs)

Una molécula de acetil-CoA que entra a este ciclo, produce tres moléculas de NADH, una de FADH₂, y una de GTP, el cual es también un compuesto de alta energía. El NADH y el FADH₂ son oxidados en la cadena respiratoria de electrones produciendo 11 moléculas de ATP. (Alexánder et al., 2004) En este ciclo, confluyen la glucólisis, la oxidación de carbohidratos y la β -oxidación. (Figura 2)

La inhibición de la oxidación de glucosa por los ácidos grasos es un fenómeno bien conocido del metabolismo de los mamíferos. Los mecanismos implicados se definieron en estudios con corazones perfundidos, que llevaron a la formulación del “ciclo glucosa-ácidos grasos”. (Randle et al., 1963)

Por otro lado, la glucosa también es capaz de inhibir la oxidación de ácidos grasos. La transferencia de los ácidos grasos activados hacia el interior de la mitocondria, donde ocurre la β -oxidación, es catalizada por la carnitina palmitoil transferasa-1 (CPT-1 y CPT-2). (Calvani et al., 2000) La tasa de oxidación de ácidos grasos es controlada por su tasa de transferencia hacia el interior mitocondrial a través de la CPT-1. (Lopaschuk, 1994) Este último paso es inhibido por la malonil-CoA, (McGarry et al., 1983, Lysiak et al., 1988) formada a partir de acetil-CoA por la acetil-CoA carboxilasa. (Awan and Saggerson, 1993, Saddik et al., 1993) Condiciones como un aumento en la concentración de glucosa o lactato, o la adición de insulina, que incrementan la producción de acetil-CoA a partir de piruvato estimulan la producción de malonil-CoA, inhibiendo así la β -oxidación. (Ruderman et al., 1999)

Los productos de la glucólisis ingresan posteriormente al ciclo de los ácidos tricarboxílicos, donde convergen las vías metabólicas encaminadas a la oxidación de las moléculas combustibles para la producción de ATP a partir de acetil-CoA e incluyendo el reciclaje de CO₂ y H₂O. (Figura 2)

1.3.2 Flujo sanguíneo miocárdico

Los trazadores como el agua marcada con oxígeno-15 (H_2^{15}O) y amoníaco marcado con nitrógeno-13 ($^{13}\text{NH}_3$) son los radiotrazadores más utilizados por PET para la cuantificación regional y absoluta del flujo sanguíneo. Los estudios comparativos realizados en flujo sanguíneo miocárdico utilizando cualquiera de estos trazadores tanto en reposo como durante vasodilatación coronaria inducida farmacológicamente son similares. El H_2^{15}O tiene una extracción miocárdica completa que es independiente de flujo y del estado metabólico del miocardio; por otro lado, las imágenes obtenidas con $^{13}\text{NH}_3$ son de mejor calidad. (De Silva and Camici, 1994) Ambos tienen vidas medias muy cortas, lo cual hace posible la medición repetitiva de diferentes parámetros durante una misma sesión de PET.

En las últimas décadas la incidencia de enfermedades cardiovasculares ha aumentado de manera drástica, especialmente en los países en vías de desarrollo, donde el estilo de vida está presentando una tendencia de comportamiento similar al de los países de primer mundo, tanto en hábitos dietéticos (mayor prevalencia de obesidad en gente joven) como el sedentarismo. Estadísticas del INEGI reportaron para fines del 2006 como la principal causa de muerte en México a la Cardiopatía Isquémica (CI) y en éste rubro el infarto al miocardio (IAM), con un promedio de 40 a 60 mil defunciones al año, especialmente en personas mayores de 65 años, seguida de padecimientos crónico-degenerativos como la Diabetes Mellitus y después los padecimientos oncológicos. En muchas ocasiones la enfermedad se manifiesta de manera inesperada, ya sea por infarto agudo de miocardio o bien por muerte súbita sin antecedentes clínicos relevantes, sin embargo, en otros casos, puede pasar inadvertido especialmente en pacientes diabéticos. Con base en lo anterior, el diagnóstico se ha dirigido hacia una detección precoz con el fin de intervenir la enfermedad en fases tempranas. (Alexánder et al., 2008)

Actualmente se cuenta con una amplia gama de estudios tanto no invasivos como invasivos para el diagnóstico de la CI, entre los más importantes se cuenta con la Ecocardiografía, la Tomografía Vascular Contrastada, la Resonancia Magnética (RM), la Tomografía por Emisión de Fotón Único (SPECT), la Angiografía Coronaria y la Tomografía por Emisión de Positrones. La utilidad de los métodos diagnósticos anteriormente mencionados ha sido reportada por múltiples estudios. (Chartrand et al., 2007, Lombardo et al., 2006, Klein et al., 2006, Ropers, 2006, Nikolaou et al., 2004)

Con el fin de evaluar la viabilidad miocárdica en un modelo animal de manera precisa y reproducible, que posteriormente permita la evaluación de tratamientos farmacológicos, quirúrgicos y/o genéticos; y teniendo presente que el corazón utiliza distintos sustratos energéticos de forma simultánea, nosotros evaluamos el metabolismo de la glucosa a nivel cardiaco mediante el análisis de la distribución y concentración del análogo radiactivo ^{18}F -

FDG. Para obtener una buena evaluación es necesario incrementar la captación miocárdica de ^{18}F -FDG y elevar su concentración en el miocardio, lo que permitirá obtener mejores datos cuantitativos e imágenes de alta calidad. Actualmente, existen diversas posibilidades para lograrlo: modificar el aporte alimenticio, incrementar la afinidad del músculo cardíaco por la glucosa mediante insulina o disminuir el metabolismo lipídico miocárdico. Kasalicky y colaboradores determinaron la influencia de agentes antilipídicos, así como la administración de glucosa-insulina sobre la concentración de ^{18}F -FDG en el corazón de rata. Administraron 5.5 MBq de ^{18}F -FDG y sacrificaron grupos de 5 animales a los 15, 30, 45 y 60 minutos post-administración, determinando así un tiempo óptimo de biodistribución de 45 minutos. Reportaron elevación de la concentración miocárdica de ^{18}F -FDG 45 minutos después de la administración intravenosa (tyloxapol +37% y acipimox +48%), no así tras la administración de glucosa-insulina. (Kasalicky et al., 2001)

Fine y colaboradores midieron los efectos de la variación de carbohidratos en la dieta de roedores sobre la captación de ^{18}F -FDG en estudios PET. Compararon los valores SUV máximos a nivel miocárdico obtenidos tras la administración de 37 MBq de ^{18}F -FDG de 3 grupos de 5 ratas alimentadas con dietas con niveles bajo, medio y alto de carbohidratos (0.1%, 52% y 78%, respectivamente). Concluyeron que una dieta con restricción de carbohidratos sostenida resulta en una captación cardíaca de ^{18}F -FDG disminuida. (Fine et al., 2009)

Handa y colaboradores evaluaron la correlación entre la captación miocárdica de ^{18}F -FDG mediante PET y el nivel de radiactividad del tejido medido directamente por un contador gamma. Concluyeron que el estudio cuantitativo de ^{18}F -FDG y PET en corazón de rata es una aproximación adecuada para la evaluación del metabolismo de la glucosa *in vivo* tras las la aplicación de las correcciones necesarias. (Handa et al., 2002)

En otro estudio, Handa y colaboradores estudiaron la progresión de hipertrofia cardíaca mediante la medición de la captación de glucosa a través de un estudio longitudinal en ratas mediante PET y ^{18}F -FDG. Compararon valores SUV en animales con diferentes pesos y diferentes dosis de ^{18}F -FDG. Encontraron diferencias en la masa correspondiente al

ventrículo izquierdo entre los grupos control, estado inicial y estado avanzado, así mismo diferencias en SUVs entre animales de estado inicial y animales del grupo control. (Handa et al., 2007)

Peñuelas y colaboradores evaluaron de manera no invasiva un modelo crónico de IAM en ratas mediante ^{18}F -FDG y un análisis semi-cuantitativo usando mapas polares de 17 segmentos. Administraron 75 MBq de ^{18}F -FDG por animal en cada estudio, sin privación de alimento ni agua, esperaron 120 minutos de biodistribución y 60 minutos de adquisición. Reportaron imágenes de excelente calidad diagnóstica, con alta captación de ^{18}F -FDG a nivel miocárdico y baja actividad de fondo. La captación de ^{18}F -FDG fue determinada como no uniforme en todos los segmentos estudiados. Concluyeron que el análisis permitió la evaluación del metabolismo cardiaco, así como la valoración y cuantificación de defectos cardiacos asociados al IAM. (Peñuelas et al., 2007)

Shoghi y colaboradores evaluaron el metabolismo miocárdico de la glucosa utilizando un modelo de diabetes tipo 2 en rata, y validaron mediciones de captación de ^{18}F -FDG usando un MicroPET, además de la expresión de genes y proteínas de transportadores de glucosa. El protocolo consistió en una adquisición dinámica tras la administración de 18.5-29.6 MBq de ^{18}F -FDG. Los animales fueron sometidos a 6 horas de ayuno previas a la realización de los estudios. (Shoghi et al., 2008)

La notable variabilidad en los protocolos con ^{18}F -FDG y MicroPET de los distintos grupos de investigación, tanto en la dosis administrada, tiempo de biodistribución, tiempo de adquisición y estandarización metabólica; evidencian la necesidad de establecer un protocolo propio, viable, reproducible y eficaz para la valoración de la viabilidad miocárdica a través de la evaluación del metabolismo glucolítico.

3.0 JUSTIFICACIÓN

La reciente puesta en operación del sistema de microPET en la unidad PET-CT de la UNAM, primer equipo en su tipo en América Latina permitirá la realización de estudios de imagenología nuclear en animales de experimentación, facilitando así la profundización en el conocimiento científico a varios niveles.

Es fundamental la realización de evaluaciones miocárdicas en modelos animales que fijen las bases para el posterior estudio de fisiopatologías específicas, así como sus posibles tratamientos.

4.0 OBJETIVO

Comparar el metabolismo glucolítico miocárdico evaluando las distintas vías metabólicas asociadas a los distintos sustratos energéticos a través de la variación en el aporte alimenticio utilizando diferentes protocolos de adquisición de imágenes cardíacas en ratas adultas con ^{18}F -FDG y microPET.

Obtener información de la distribución y concentración del compuesto radiactivo más importante para el estudio de metabolismo cardíaco no invasivo utilizando tomografía por emisión de positrones en un modelo animal que permita establecer los parámetros ideales para realizar diversos estudios experimentales mediante imágenes funcionales obtenidas con microPET.

5.0 HIPÓTESIS

Tras el análisis de las imágenes funcionales del metabolismo glucolítico en el miocardio de rata y la variación en el aporte energético se obtendrán diferencias significativas en los tres protocolos de adquisición utilizando un escáner de tomografía por emisión de positrones miniatura.

6.1 Animales.

Se utilizaron 5 ratas Wistar macho adulto sanas, con un peso de 300 a 350 g. Los animales fueron proporcionados por el bioterio central de la Facultad de Medicina, tras la aprobación de La Comisión de Investigación del microPET y La Comisión de Ética, ambas de la Facultad de Medicina de la UNAM. El manejo óptimo de los sujetos de experimentación se llevó a cabo con base en la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999 “Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de animales de laboratorio”. (NOM-062-ZOO-1999, 1999)

6.2 Diseño de grupos.

Para el estudio de metabolismo glucolítico los animales se estudiaron en tres diferentes protocolos, realizados en distintos tiempos, (con al menos un día de diferencia entre cada uno) con el fin de establecerlos como sus propios controles.

El diseño de los protocolos fue el siguiente:

- 1.- Sin ayuno (libre acceso de comida y agua inmediatamente antes del estudio)
- 2.- Con ayuno (se restringió el acceso de comida 8 horas antes del estudio, sólo con acceso de agua a libre demanda)
- 3.- Con ayuno más carga oral de glucosa (ayuno de 8 horas, con administración de glucosa al 50% vía oral, a dosis de 0.4 mg de glucosa por gramo de peso corporal, 30 minutos antes de la administración de la ^{18}F -FDG).

6.3 Adquisición de estudios.

En cada protocolo se adquirieron dos rastreos PET de 30 minutos; el primero a los 30 minutos después de la administración de una dosis intraperitoneal de 37-55 MBq de ^{18}F -FDG y el segundo rastreo a los 60 minutos, esto con el fin de determinar cuál de las dos

adquisiciones presenta una mejor relación blanco-fondo, para la adecuada definición del miocardio ventricular.

Después de ser anestesiados, los animales se colocaron en posición supina con fijación externa de las cuatro extremidades. La cama fue centrada a la altura del corazón para obtener imágenes de tórax utilizando un indicador láser. Se registró constantemente la frecuencia respiratoria y se monitoreó el estado anestésico durante el periodo de adquisición.

El estudio de microPET se llevó a cabo con los animales bajo condiciones de anestesia a dosis de 50 mg/kg de pentobarbital vía intraperitoneal.

Se utilizó un equipo microPET Focus 120 de tipo Concorde Microsystems LLC (SIEMENS Inc, Knoxville, TN) para la adquisición de las imágenes. (Figuras 3 y 4) El microPET cuenta con un anillo detector de 17.2 cm de diámetro, con un campo de visión (FOV, por sus siglas en inglés) transaxial de 112 mm y 18 mm en el eje axial. El equipo se encuentra conformado por un total de 13,384 cristales detectores de LSO (Ortosilicato de Lutecio) de 1.5 x 1.5 x 1.0 mm cada uno. (Chatziioannou et al., 1999) La resolución espacial intrínseca de los cristales en promedio es de 1.68 mm, con una resolución energética entre el 15 y 25% resolución temporal de 2.4 ns (nanosegundos) para fotones de 511 keV. Este equipo opera en modo 3D. La resolución espacial del equipo es de 1.3 mm al centro del escáner para imágenes reconstruidas y su resolución volumétrica es de 0.00781 cc, el pico absoluto de sensibilidad es de 7.1%. La tasa de conteo está en el orden de las 800 kcps (kilocuentas por segundo) a una dosis de 88 MBq de radiotrazador. (Tai et al., 2005, Kim et al., 2007) La reconstrucción de las imágenes se realizó con el algoritmo FBP utilizando un filtro tipo Rampa. Se obtuvieron imágenes en cortes axial, coronal y sagital en todos los estudios.

6.4 Análisis

Tras la adquisición de las imágenes, se realizaron dos tipos de análisis: cualitativo y semi-cuantitativo. El análisis cualitativo se realizó por dos médicos con el fin de evaluar la calidad de las imágenes, comparando los dos tiempos de adquisición (30 o 60 minutos) y

determinar así el más conveniente para el análisis de metabolismo miocárdico de la ^{18}F -FDG.

Para el análisis semi-cuantitativo se realizó el renderizado volumétrico de todos los estudios (reconstrucción tridimensional de las imágenes) utilizando el programa AMIDE. (Loening and Gambhir, 2003) Se determinaron 3 ROIs (regiones de interés, por sus siglas en inglés) igualmente volumétricos (esferas 3D de 1900 voxeles en promedio, con dimensiones 12 x 12 x 12 mm cada uno, lo que se traduce en aproximadamente 904 mm^3 por cada ROI) (Figura 5)

Las regiones de interés seleccionadas fueron:

- Corazón
- Pulmón
- Músculo esquelético

Se determinó al tejido pulmonar como región de interés importante para la valoración visual. Ya que es el órgano contiguo al corazón, el contraste entre estos dos tipos de tejido debe ser elevado para permitir una correcta definición de la silueta cardiaca.

Se determinó al músculo esquelético (bíceps derecho) como región de interés para evaluar la competencia por el sustrato energético, en este caso ^{18}F -FDG mediante la variación del aporte alimenticio de cada grupo.

Se obtuvieron los siguientes valores de los 3 ROIs de cada estudio (90 en total):

- Mediana
- Media
- Varianza
- Desviación estándar
- Valor mínimo
- Valor máximo
- Rango
- Tamaño en voxeles y en mm.

Con los valores medios de los ROIs se realizó el cálculo de distribución con base en los distintos grupos.

Tomando la suma de los valores de los tres ROIs como total, se calcularon porcentajes de cada órgano de interés por grupo experimental, así mismo se calcularon contrastes: Contraste visual, definido como la relación entre el valor promedio de la región correspondiente al tejido miocárdico y al tejido pulmonar; y contraste metabólico-visual correspondiente a la relación entre el valor promedio del músculo cardíaco y el músculo esquelético.

Con los valores medios y utilizando el programa SPSS (Statistic Program for Social Sciences), se compararon estadísticamente los resultados de los tres grupos y los tres tejidos de interés mediante análisis de varianza y la prueba de Tukey. Para la comparación entre los tiempos de adquisición se utilizó la prueba *t student* para muestras pareadas. Un valor de P menor a 0.05 se consideró como significativo.

7.1 Análisis cualitativo

7.1.1 Comparación por tiempos de distribución del radiotrazador

Se obtuvo una mejor definición del área miocárdica en la imagen de 60 minutos en la mayoría de los casos. Especialmente para las imágenes de los protocolos 1 y 3; ya que en la imagen de 30 minutos aún se encuentra parte del radiotrazador por circulación sistémica, dando como resultado cierta distribución de la ^{18}F -FDG en tejidos blandos como son grasa parda, músculos torácicos (paravertebrales e intercostales), mediastino y área pulmonar; en la imagen de 60 minutos dicha captación disminuye lo que permite mayor definición de las paredes ventriculares para su adecuada valoración.

7.1.2 Comparación de las imágenes por tipo de protocolo

Con el protocolo sin ayuno (grupo 1) se obtuvieron las imágenes de mayor captación y definición de las paredes ventriculares izquierdas, especialmente con la imagen de 60 minutos en la mayoría de los casos. Se puede definir perfectamente el ventrículo izquierdo, parte del ventrículo derecho, con escasa captación del radiotrazador por tejidos blandos del tórax. (Figura 6) La calidad de imagen observada en el protocolo sin ayuno se obtuvo sólo en un 60% de las imágenes del protocolo 3 (ayuno con carga de glucosa oral) pues en el resto, el grado de captación miocárdica fue menor, con distribución de la ^{18}F -FDG de manera importante a nivel muscular y grasa parda. (Figura 7). En el caso de las imágenes del protocolo con ayuno, la captación del radiotrazador tanto por miocardio como en tejidos blandos del tórax es casi nula, lo que impide definir completamente la silueta cardíaca en muchos casos. (Figura 8).

7.2 Análisis semi-cuantitativo

Se obtuvieron 90 ROIs correspondientes a tejidos miocárdico, pulmonar y músculo esquelético; de los 5 animales, en cada 1 de los 3 protocolos y los 2 tiempos de adquisición.

Las tablas 1, 2 y 3 presentan los valores de captación de los órganos de interés promediados por grupo, los porcentajes de captación y la relación de captación entre tejidos para los distintos protocolos. (Tablas y gráficas al final del texto)

Para el caso del contraste visual, es decir la relación entre la captación de ^{18}F -FDG en tejido miocárdico vs. tejido pulmonar del protocolo de ayuno se encontró entre 2 y 2.5:1. Para el protocolo de ayuno + glucosa, el contraste resultó cercano a 3 y 3.5:1 a los 30 y 60 minutos respectivamente. El mayor contraste visual se encontró en el protocolo sin ayuno, 6.8:1 en el periodo de 30 minutos de biodistribución y 9:1 a los 60 minutos post administración. Estas cifras concuerdan con la calidad de imágenes obtenidas para la evaluación cualitativa, misma que se realizó sin problemas al definir la silueta cardiaca en todos los casos del protocolo 1.

A la relación entre la captación del radiotrazador por músculo cardiaco y la captación en músculo esquelético se le denominó contraste metabólico-visual. Dicho contraste es el resultado de la distribución de glucosa radiomarcada. Es dependiente de los requerimientos energéticos de los tejidos a evaluar, en este caso músculo cardiaco y esquelético. Tanto en el protocolo de ayuno como en el de ayuno + glucosa, esta proporción de captación se encontró muy cercana a una relación 1:1 bajo los dos periodos de biodistribución evaluados, es decir; la ^{18}F -FDG se concentró casi en la misma cantidad en el músculo cardiaco que en el músculo esquelético, lo que dificultó su evaluación debido al bajo contraste. En cambio, en el protocolo 1 la relación de actividad registrada en el miocardio fue en promedio 4.25 veces mayor que en el músculo esquelético, lo que se traduce en un alto contraste metabólico-visual que permitió una adecuada valoración del tejido miocárdico.

El protocolo sin ayuno presentó en ambos tipos de contraste valores muy superiores a los obtenidos con los otros dos protocolos. Después de 30 minutos de biodistribución se alcanzó el mayor contraste metabólico-visual (4.81:1) y 1 hora post-inyección se presentó el mayor contraste visual (9.01:1). Por lo que el protocolo sin ayuno resultó el más

adecuado para la definición de las paredes ventriculares mediante la evaluación del metabolismo glucolítico cardiaco.

Tras el análisis de varianza no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre tejido pulmonar y muscular; se encontraron diferencias ($p < 0.05$) entre corazón y los tejidos de comparación mediante análisis de Tukey.

Mediante análisis de varianza no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los protocolos de ayuno y ayuno + glucosa; se encontraron diferencias ($P < 0.05$) entre el protocolo sin ayuno y los otros 2 al realizar análisis de Tukey.

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los 30 y los 60 minutos post administración.

El objetivo principal de la imagenología molecular mediante PET desarrollada en animales de experimentación como modelos de enfermedad es obtener información anatómica, fisiológica o bioquímica la cual comparte mucha similitud a la obtenida en los humanos; facilitando con esto, la correlación de los hallazgos obtenidos entre el área básica y la clínica. (Balaban and Hampshire, 2001) Además, la capacidad no invasiva de esta técnica imagenológica permite múltiples adquisiciones de un proceso en particular, facilitando así el estudio a través del tiempo de la progresión de la enfermedad o bien, de la respuesta terapéutica en el mismo animal. Así pues, la fisiopatología de la cardiopatía isquémica se ha trasladado al área de la investigación básica no sólo *in vitro*, sino también *in vivo*, donde resulta más factible la realización de investigaciones para la intervención temprana del evento isquémico con resultados favorables. (Inubushi et al., 2003, Wu et al., 2002, Kudo et al., 2002)

Como es sabido en condiciones normales, el flujo coronario aporta la suficiente cantidad de sustratos y oxígeno para los requerimientos de energía necesarios, cumpliendo así el adecuado funcionamiento y excreción celular. Cuando aumenta la demanda miocárdica, el flujo coronario puede llegar a aumentar entre 4 ó 6 veces, gracias a la vasodilatación secundaria a múltiples respuestas en el organismo: en condiciones no patológicas se puede mencionar el ejercicio físico, como ejemplo. El aumento se presenta de manera uniforme en los diferentes vasos coronarios y dicha capacidad de respuesta se denomina reserva funcional o reserva de flujo coronario. (Rodgers, 1998, Sidossis, 1998)

En condiciones fisiológicas, los metabolitos llegan por la microcirculación y son extraídos por los miocitos mediante diversos mecanismos, incluyendo procesos pasivos o por medio de transporte activo. El miocardio normal utiliza un 80% aproximadamente de ácidos grasos de cadena larga como fuente de energía, la glucosa es un sustrato adicional en estas circunstancias. (Alexánderon et al., 2004) En algunas ocasiones, el lactato puede llegar a ser fuente de energía. Estos metabolitos son metabolizados en el Ciclo de Krebs, obteniendo así ATP, H₂O y CO₂. (Wolfe, 1998)

La cantidad y la calidad del aporte de sustratos cardiacos están determinadas por el estado dietético y la actividad física del organismo en conjunto. Los ácidos grasos de cadena larga son el principal sustrato para el corazón. Durante el ayuno, los ácidos grasos y los triglicéridos son liberados del tejido adiposo incorporándose a la circulación. Los ácidos grasos son incorporados al miocito cardiaco para ser degradados a acetil-CoA. La oxidación de acetil-CoA comienza con la formación de citrato, el primer intermediario del ciclo de ácido cítrico. Mediante un mecanismo de retroalimentación alostérica, el citrato inhibe la glucólisis a nivel de la fosfofructinasa. (Garland et al., 1963) La inhibición del metabolismo glucolítico por parte de la oxidación de ácidos grasos se caracterizó inicialmente en corazones perfundidos (Randle et al., 1963) y posteriormente *in vivo*. (Nuutila et al., 1992) Los ácidos grasos inhiben la oxidación de glucosa más que a la glucólisis y a la glucólisis más que a la captación de glucosa. (Depre et al., 1998, Garland and Randle, 1964) La glucosa es el principal sustrato metabólico en el corazón cuando el nivel de ácidos grasos es bajo y las concentraciones de glucosa e insulina altas, tal como ocurre en el posprandio. (Taegtmeyer, 1994) Dicho aumento en los niveles de insulina producen un aumento significativo de dicho metabolito en el miocardio, aumentando por consiguiente el uso de glucosa a través de proteínas transportadoras de glucosa GLUT, dependientes de insulina. (Santalucía et al., 1992, Alexánderson, 2004) La glucosa disminuye la tasa de oxidación de ácidos grasos de cadena larga a nivel de la CPT-1. (Taegtmeyer et al., 1980) La utilización de otros sustratos como lactato y cuerpos cetónicos a nivel miocárdico, está en función de su concentración sanguínea. (Taegtmeyer, 1994)

El adecuado acoplamiento entre trabajo cardiaco, flujo coronario, y oxidación de sustratos constituye una característica central de la fisiología cardiaca. (Ménard et al., 2009)

Entendiendo este fenómeno fisiológico, se pueden explicar las características de las imágenes obtenidas en el protocolo 1 y 2, respectivamente; pues con la administración a libre demanda de alimento, se presentó una mayor captación del radiotrazador por el miocardio desde las imágenes tempranas, permitiendo una mejor definición de las paredes ventriculares en las imágenes tardías, asociado con menor captación de la ^{18}F -FDG por tejidos blandos. En el caso de las imágenes de ayuno, se puede explicar la dificultad para

visualizar la silueta cardíaca, pues bajo esas condiciones, el mayor aporte metabólico a nivel miocárdico está dado por los ácidos grasos, por lo que la ^{18}F -FDG administrada se distribuye preferentemente a órganos vitales como es el cerebro, que en condiciones de ayuno, requiere glucosa como principal sustrato energético. (Issad et al., 1987, Bax et al., 1997)

Únicamente en la mitad de las imágenes obtenidas en el protocolo 3 se pudo valorar adecuadamente el corazón, dado que la absorción de la glucosa por vía oral puede variar de un animal a otro, además se deben tener en cuenta otros factores tales como la velocidad de absorción por la mucosa gástrica y duodenal, la velocidad de vaciamiento gástrico y el tránsito intestinal; lo que hace de esta técnica un método inespecífico con el cual se pueda lograr un estado metabólico ideal para la adecuada captación de la ^{18}F -FDG por el miocardio.

La primera etapa en la utilización de microPET para estudiar modelos de enfermedades cardíacas en roedores, consiste en la validación de las técnicas y métodos de análisis utilizados. (Herrero et al., 2006, Kreissl et al., 2006) Una medición adecuada de la función miocárdica es esencial para estudiar la fisiología y el metabolismo cardíacos. La determinación del metabolismo cardíaco requiere de mediciones precisas del flujo sanguíneo miocárdico. El microPET ha sido utilizado para obtener evaluaciones secuenciales de tasas metabólicas cardíacas en un mismo animal. (Lecomte et al., 2003, Bentourkia et al., 2002, Kudo et al., 2002) Existe un amplio interés en trasladar estas metodologías a modelos animales de enfermedades cardíacas, (Welch et al., 2006) para entender mejor cómo los mecanismos asociados a alteraciones metabólicas en patologías - tales como obesidad, diabetes, y cardiomiopatías- contribuyen a las disfunciones cardíacas. Para lograr esta transición, es necesario validar con roedores y microPET, dichas metodologías utilizadas rutinariamente con PET en humanos.

9.0 CONCLUSIONES

Se obtuvieron de manera reproducible, imágenes de alta calidad, con los contrastes metabólico y visual deseados y se determinó que el protocolo sin ayuno con 60 minutos de biodistribución permite analizar y cuantificar el metabolismo de la glucosa en el corazón de rata en un modelo metabólicamente estandarizado mediante microPET.

Este estudio permitió la estandarización de protocolos de adquisición de imágenes del radiotrazador principal utilizado en la práctica clínica para el estudio del metabolismo cardiaco, en un modelo animal, utilizando un equipo PET especializado para tal efecto.

Los estudios no invasivos del metabolismo miocárdico pueden proveer información valiosa respecto al estado metabólico del corazón. En particular, el microPET ofrece una plataforma única para la validación de nuevas pruebas de imagen, así como intervenciones terapéuticas novedosas para su traslado a humanos. Actualmente los resultados obtenidos en roedores permiten evaluar alteraciones tanto perfusorias como metabólicas a nivel miocárdico, jugando un importante papel en el estudio de múltiples estados patológicos y no patológicos, como son la edad, obesidad, hipertensión arterial, hipertrofia ventricular, diabetes, e infarto al miocardio, entre otros.

El diseño de un protocolo adecuado en investigación básica para el estudio de estos y otros estados patológicos es de suma importancia dado la trascendencia que puede tener en el entendimiento y por consiguiente la intervención terapéutica precoz en el área clínica.

El uso del microPET puede ser muy útil para el análisis molecular del metabolismo del corazón y puede usarse para generar un modelo adecuado para el estudio de la cardiopatía isquémica.

El contar con un modelo animal, y métodos de obtención de imágenes moleculares que reflejen fielmente la fisiología normal del corazón, así como sus alteraciones, constituye un gran paso dentro de la investigación básica en el campo de la cardiología de nuestro país, colocándolo a la vanguardia de los países de Latinoamérica.

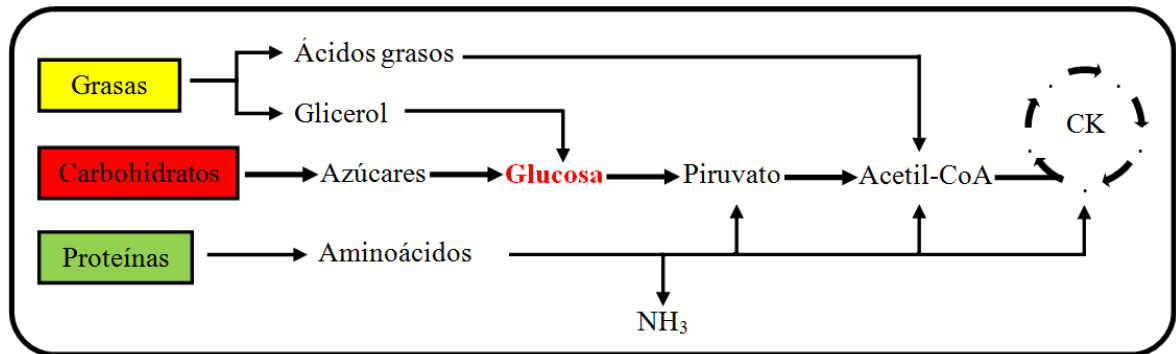


Figura 1.- Rutas metabólicas encaminadas a la producción de energía. Transformación de glucosa en piruvato e incorporación del acetil-CoA al ciclo de Krebs.

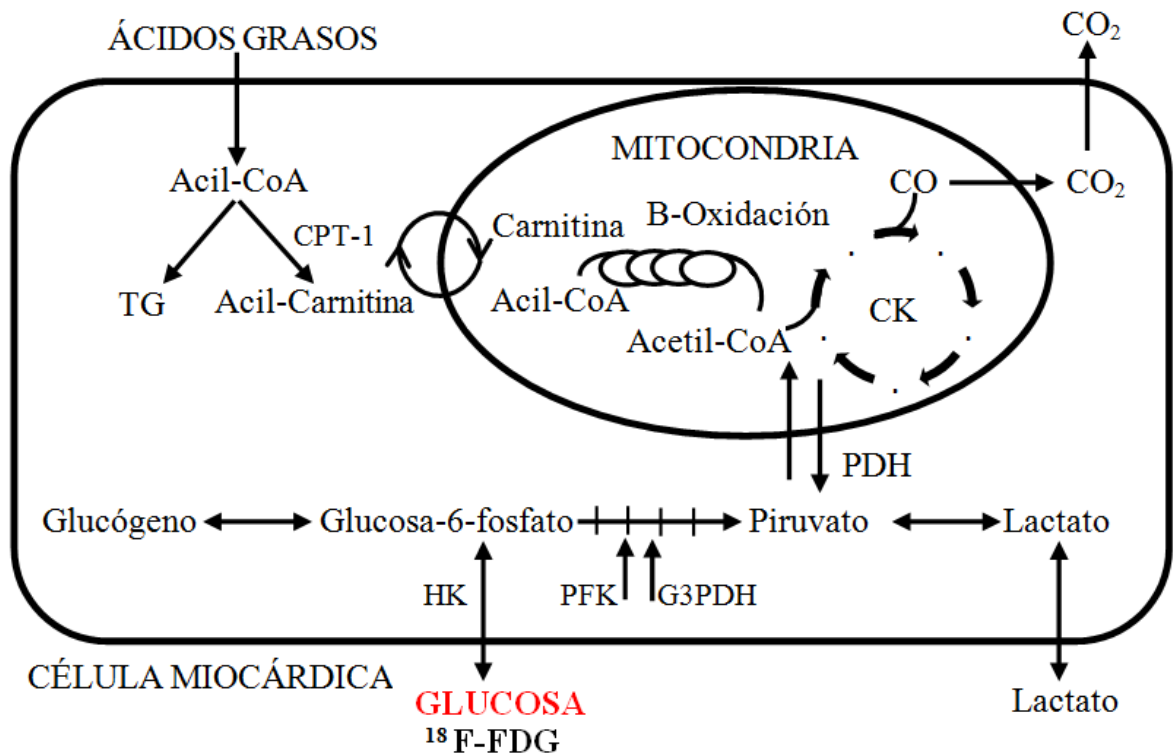


Figura 2.- Representación esquemática de las vías metabólicas del metabolismo energético miocárdico. Mediante ¹⁸F-FDG y PET es posible evaluar el metabolismo glucolítico cardiaco. El ciclo de los ácidos tricarboxílicos (CK) es la vía final común del metabolismo oxidativo. La tasa de glucólisis es controlada por varios sistemas enzimáticos que incluyen a la hexocinasa (HK), la fosfofructocinasa (PFK), la gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa (G3PDH) y la piruvato deshidrogenasa (PDH). De manera similar, el metabolismo de los ácidos grasos libres es controlado por la actividad de la carnitina palmitoil transferasa-1(CPT-1).

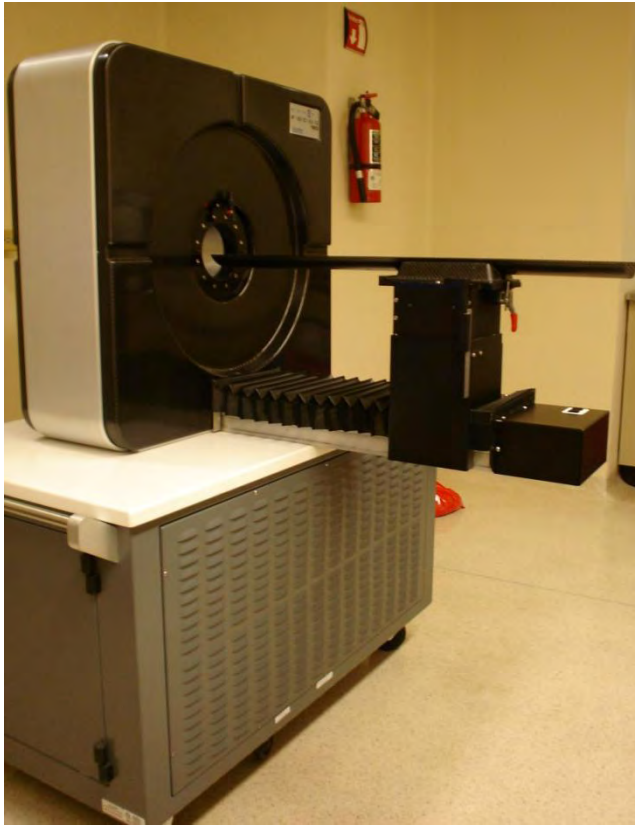


Figura 3.- Equipo microPET. Focus 120, Concorde Microsystems

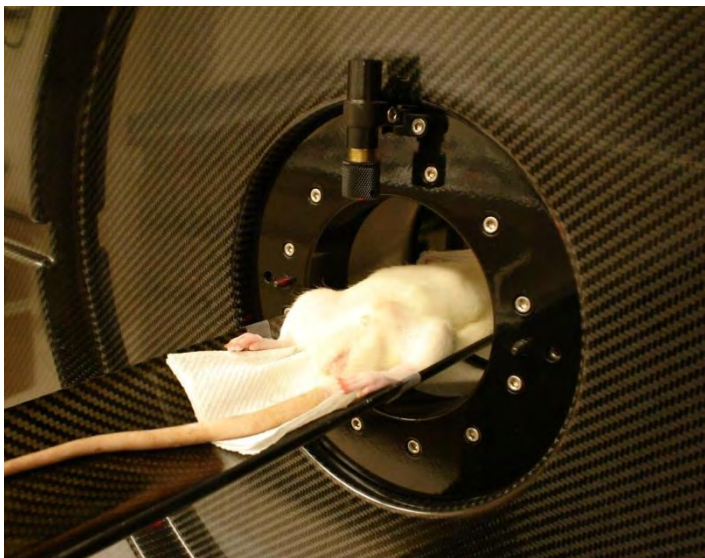


Figura 4.- Adquisición de estudio.

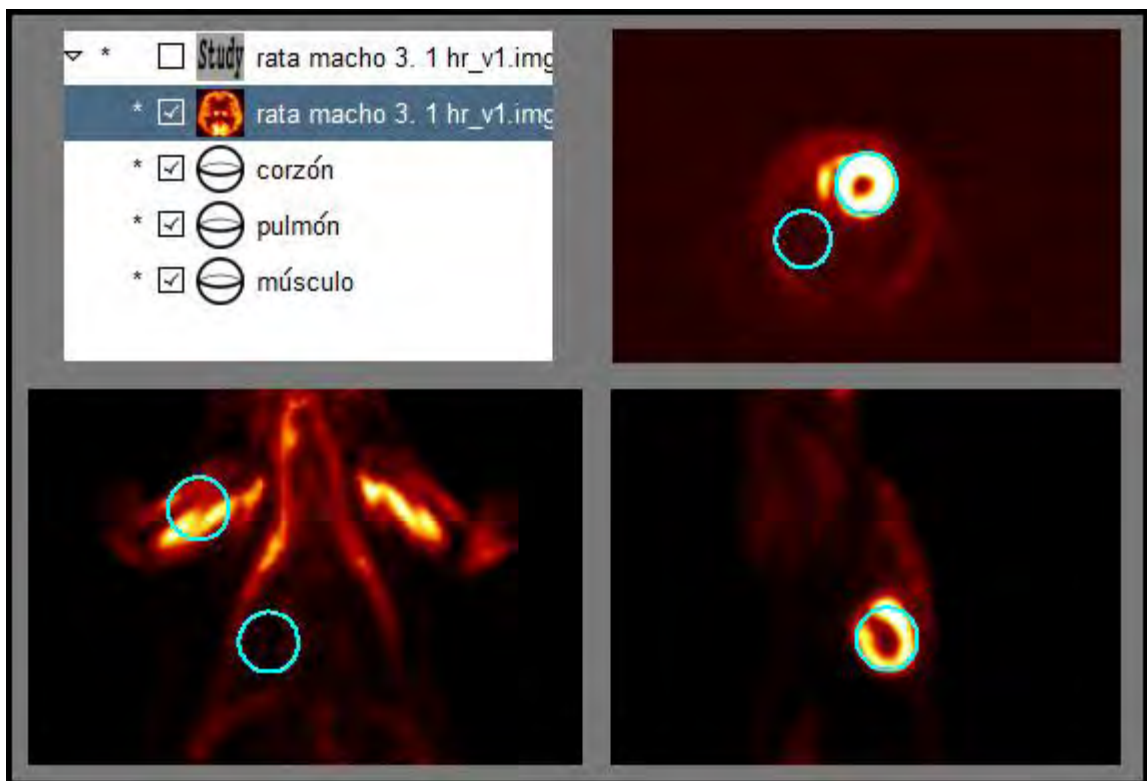


Figura 5.– Determinación de regiones de interés mediante el programa AMIDE.

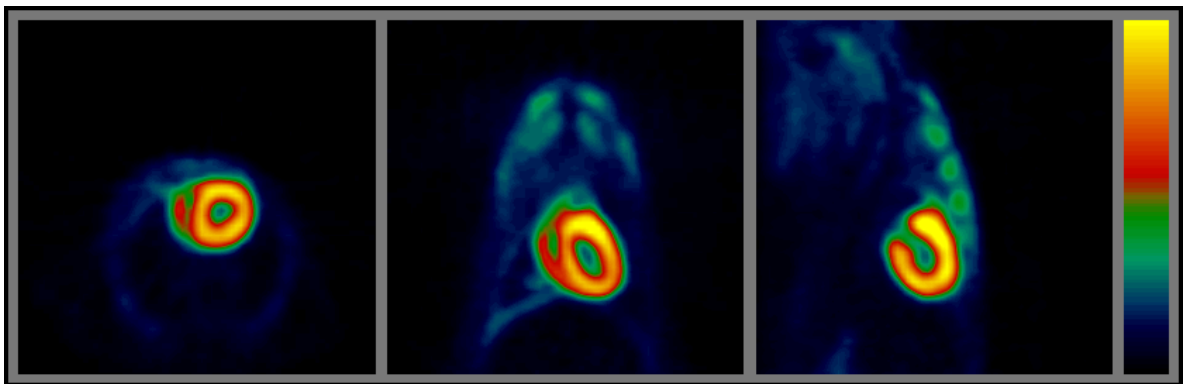


Figura 6- Rata macho 3 sin ayuno, adquisición a los 60 min. a) corte axial, b) corte coronal, c) corte sagital.

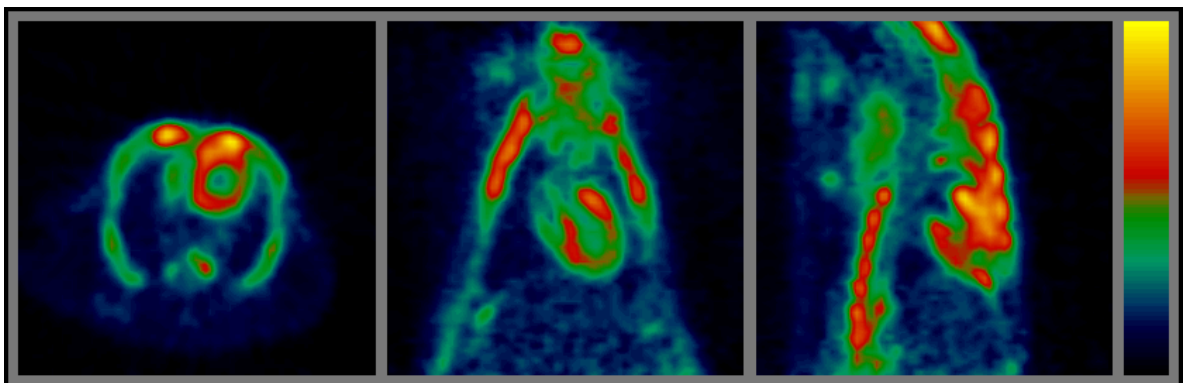


Figura 7- Rata macho 3 con ayuno + glucosa oral, adquisición a los 60 min. a) corte axial, b) corte coronal, c) corte sagital.

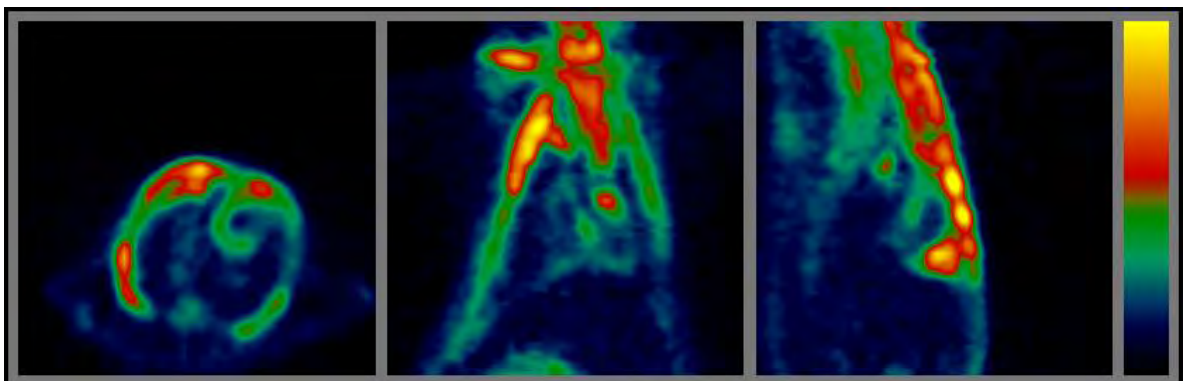


Figura 8- Rata macho 3 con ayuno, adquisición a los 60 min. a) corte axial, b) corte coronal, c) corte sagital.

Protocolo	Ayuno		Ayuno+Glucosa		Sin Ayuno	
	30 min	60 min	30 min	60 min	30 min	60 min
Corazón	3.63 ±0.143	2.77 ±0.214	5.19 ±0.307	4.11 ±0.245	8.11 ±0.528	7.42 ±0.41
Pulmón	1.84 ±0.088	1.12 ±0.072	1.68 ±0.15	1.19 ±0.091	1.19 ±0.039	0.82 ±0.033
Músculo	3.52 ±0.461	2.83 ±0.314	4.38 ±0.34	3.56 ±0.321	1.69 ±0.15	2.02 ±0.085

Tabla 1. Valores medios de captación expresados como 1000 x unidades promedio de imagen ± DE.

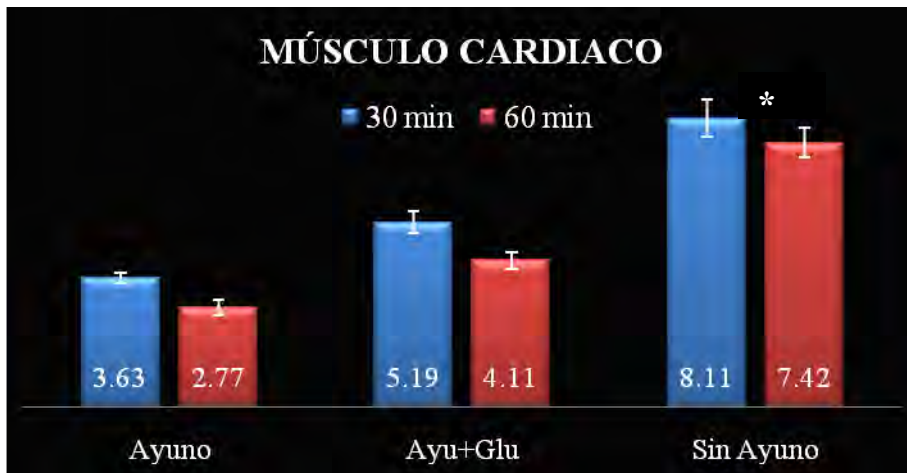


Figura 9.- Grafica de comparación por tipo de protocolo. Valores medios de captación expresados como 1000 x unidades promedio de imagen ± DE. *P<0.05.

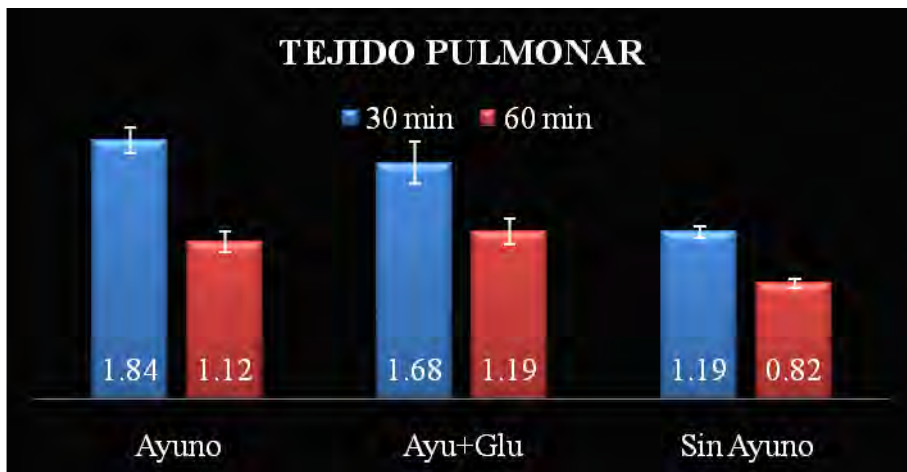


Figura 10.- Grafica de comparación por tipo de protocolo. Valores medios de captación expresados como 1000 x unidades promedio de imagen ± DE.

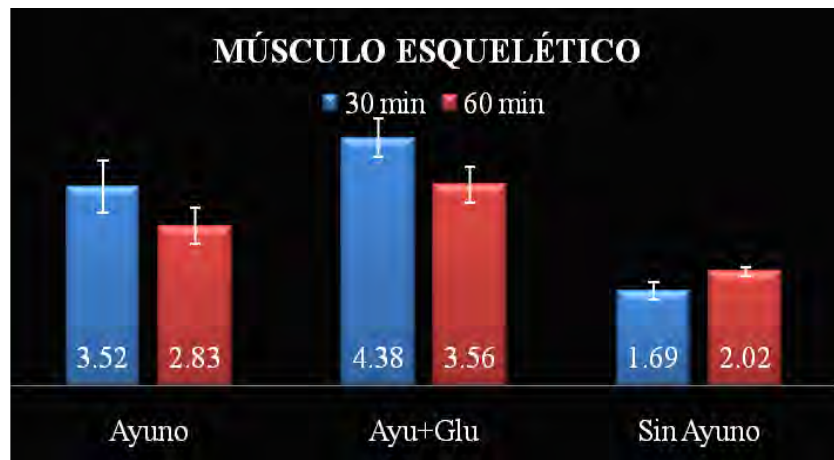


Figura 11.- Grafica de comparación por tipo de protocolo. Valores medios de captación expresados como 1000 x unidades promedio de imagen ± DE. *P<0.05.

Protocolo	Ayuno (%)		Ayuno+Glucosa (%)		Sin Ayuno (%)	
	30 min	60 min	30 min	60 min	30 min	60 min
Corazón	40.35	41.26	46.08	46.34	73.8	72.27
Pulmón	20.49	16.62	14.94	13.46	10.83	8.024
Músculo	39.15	42.1	38.96	40.18	15.34	19.7

Tabla 2. Porcentajes de captación de los órganos de interés en los distintos protocolos respecto al total de regiones de interés estudiadas por animal

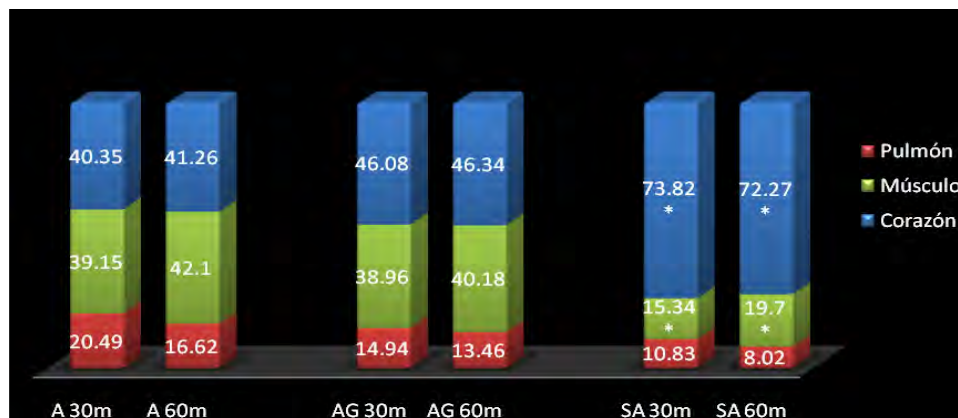


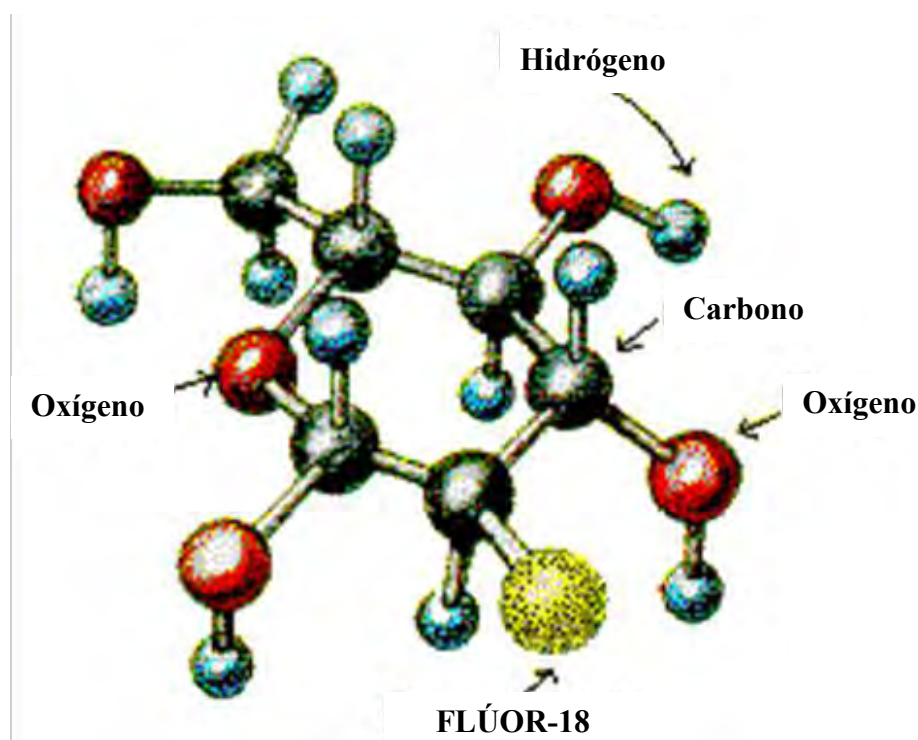
Figura 12.- Gráfica de comparación de porcentajes de captación de las regiones de interés por tipo de protocolo y tiempo de biodistribución (30 y 60 min). *P<0.05.

Protocolo	Ayuno		Ayuno+Glucosa		Sin Ayuno	
Contraste	30 min	60 min	30 min	60 min	30 min	60 min
Metabólico						
Corazón/Músculo	1.03 :1	0.98 :1	1.18 :1	1.15 :1	4.81 :1	3.67 :1
Visual						
Corazón/Pulmón	1.97 :1	2.48 :1	3.08 :1	3.44 :1	6.82 :1	9.01 :1

Tabla 3. Relación de captación entre tejidos.

11.1 ^{18}F -2-DEOXI-2-FLUORO-D-GLUCOSA

La ^{18}F -FDG es un análogo de glucosa, en el que el grupo hidroxilo del carbono-2 de la molécula de glucosa es remplazado por un átomo de flúor. Al igual que la glucosa, el ^{18}F -FDG es incorporado al interior de las células vivas mediante transporte facilitado y posteriormente fosforilado por la hexocinasa. A diferencia de la glucosa, la ^{18}F -FDG no continúa con el metabolismo en la vía de la glucólisis o en la síntesis de glucógeno debido a que el grupo hidroxilo del carbono-2 es necesario para el proceso. Al ser relativamente impermeable a la membrana del miocito, la ^{18}F -FDG permanece en altas concentraciones en el interior del miocardio, (Alexánderon et al., 2004) por lo que es un buen indicador de la captación de glucosa y la viabilidad celular. (Lopaschuk, 1994)



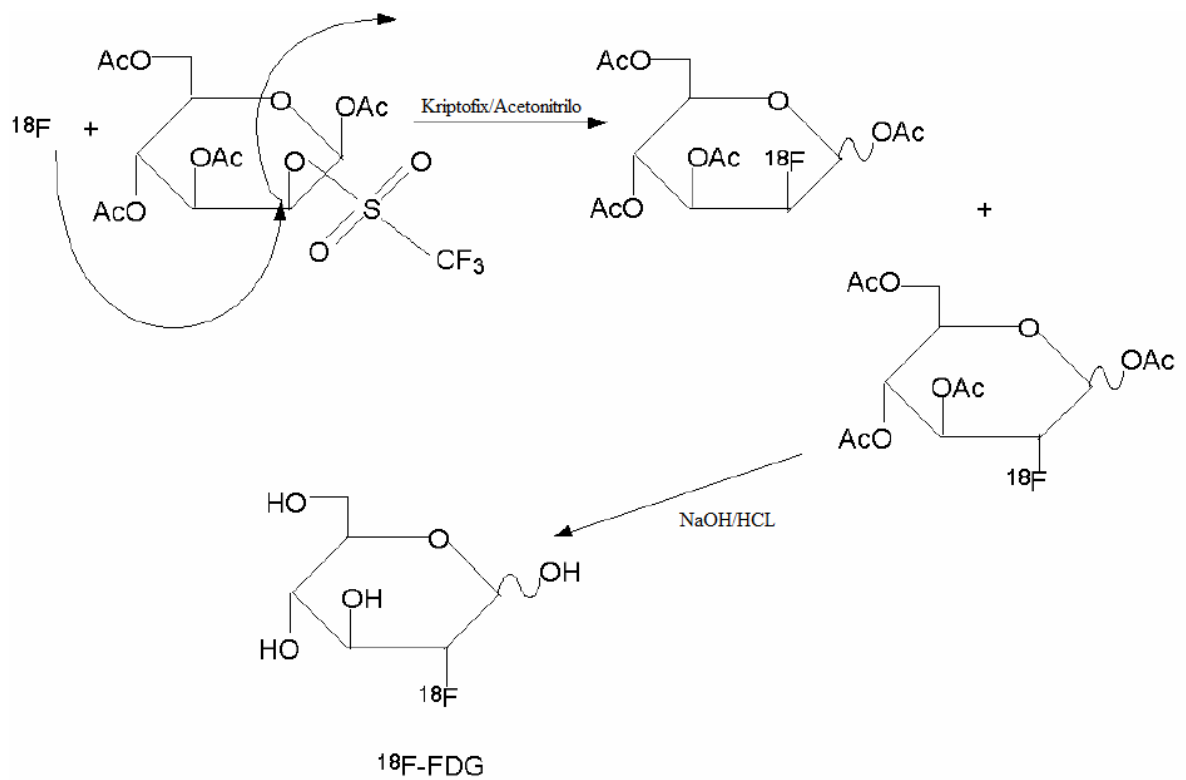
Molécula de ^{18}F -FDG

La ^{18}F -FDG fue sintetizada en el Departamento de Radiofarmacia de la Unidad “PET/CT-Ciclotrón”, UNAM mediante sustitución nucleofílica ($\text{S}_{\text{N}}2$).

La sustitución nucleofílica es una reacción química que involucra la adición de una molécula nucleofílica (molécula negativa altamente cargada) dentro de una molécula con

un grupo saliente (grupo unido a la molécula padre a través de un enlace químico débil). La molécula nucleofílica tiene alta afinidad debido a la relativa deficiencia de electrones del centro de la molécula padre creada por el grupo saliente. Como resultado la molécula nucleofílica forma un enlace covalente con la molécula padre y desplaza al grupo saliente.

En la síntesis de ^{18}F -FDG, el ion ^{18}F es el nucleófilo. El precursor es el triflato de manosa, cuyos carbonos en las posiciones 1, 3, 4 y 6 de la molécula de manosa están protegidos con un grupo acetilo, y el triflato es el grupo saliente en el carbono-2. En presencia de Kriptofix como catalizador y acetonitrilo como solvente, el ion ^{18}F se aproxima al triflato de manosa en el carbono-2, mientras que el grupo triflato deja la molécula de manosa protegida, formándose así ^{18}F -FDG. (Su, 2006)



Síntesis de ^{18}F -FDG mediante sustitución nucleofílica.

INVESTIGACIÓN BÁSICA*Modelo de estudio mediante microPET para la evaluación del metabolismo glucolítico en el miocardio de rata con ¹⁸F-FDG. Experiencia inicial en México*

Erick Alexánderson Rosas,*^{***} Nayelli Ortega López,* Rafael Ojeda Flores,* Guillermo Mendoza Vázquez,* Gloria Adame Ocampo,* Aloha Meave González,*^{***} Yolanda Saldaña Domínguez,* Pedro A Lamothe Molina,* Mónica Rodríguez Valero,* Leonardo García Rojas Castillo,* José Narro Robles*

Resumen

Objetivos: Estandarizar un protocolo de adquisición para el estudio del metabolismo glucolítico miocárdico en ratas adultas. **Material y métodos:** Se estudiaron 3 ratas macho adultas de la cepa Wistar en tres diferentes protocolos: el primero con acceso a libre demanda de comida y agua; el segundo con ayuno de 12 horas y el tercero con ayuno de 12 horas más la administración de una carga oral de glucosa al 50%. Se adquirieron imágenes del área torácica durante 30 minutos mediante el microPET; a los 30 y 60 minutos después de la administración de una dosis de 370 - 555 MBq de ¹⁸F-FDG por vía intraperitoneal. Se realizó un análisis comparativo y cualitativo de las imágenes obtenidas por dos médicos especialistas en el área. **Resultados:** Se obtuvieron en total 18 estudios cardíacos; 6 para cada protocolo, donde se determinó que las mejores imágenes para fines de evaluación metabólica del miocardio fueron las correspondientes a los 60 minutos postadministración de la ¹⁸F-FDG del protocolo sin ayuno. **Conclusiones:** Es factible establecer en nuestro servicio un protocolo válido para la valoración del metabolismo glucolítico, con el fin de utilizarlo en el estudio de viabilidad miocárdica en la cardiopatía isquémica.

Palabras clave: ¹⁸F-FDG. MicroPET. Viabilidad miocárdica.

Key words: ¹⁸F-FDG. MicroPET. Myocardial viability.

Summary

A METHOD DESIGNED FOR THE ASSESSMENT OF MYOCARDIAL METABOLISM IN RATS WITH ¹⁸F-FDG USING SMALL-ANIMAL-PET. INITIAL EXPERIENCE IN MEXICO

Purpose: To standardize an acquisition protocol for the study of myocardial metabolism in adult rats. **Material and methods:** Three Wistar adult male rats were studied in three different protocols: no fasting group, fasting group over a period of 12 hr before the study with only water provided ad libitum, and fasting group by the same time receiving an oral 50% glucose solution. Thirty-minute acquisition images were obtained with a micro-PET, thirty and sixty minutes after the administration of 370 - 555 MBq ¹⁸F-FDG. Comparative and visual analysis were performed by two experts in the field. **Results:** Eighteen studies were analyzed, six per group. The best images were those of the fast group, especially those taken at 60 minutes after the ¹⁸F-FDG administration. **Conclusion:** It is possible to establish the non-fasting protocol for the assessment of myocardial metabolism to be used in the future for the myocardial viability evaluation in ischemic cardiopathy. (Arch Cardiol Mex 2008; 78: 11-18)

* Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM).

** Instituto Nacional de Cardiología "Ignacio Chávez".

Correspondencia: Dr. Erick Alexánderson Rosas. Unidad PET/CT-Ciclotrón, Edificio de Investigación, Planta Baja. Facultad de Medicina, UNAM, Ciudad Universitaria, México, D.F. 04510. Tel: 56232299/Fax: 56232115/E-mail: alexanderick@yahoo.com.mx

Recibido: 8 de enero de 2008

Aceptado: 18 de enero de 2008

Introducción

En las últimas décadas la incidencia de las enfermedades cardiovasculares ha aumentado de manera drástica a nivel mundial,¹ especialmente en los países en vías de desarrollo, donde el estilo de vida se asemeja cada vez más a la observada en los países desarrollados, tanto por los hábitos higiénico-dietéticos (lo que conlleva a una mayor incidencia de obesidad y otras enfermedades crónico-degenerativas en el adulto joven) como un mayor número de personas sedentarias. Estadísticas del INEGI reportaron para fines del 2006 que la principal causa de muerte en nuestro país es la cardiopatía isquémica (CI) y entre ésta el infarto agudo del miocardio (IAM), con un promedio de 40 a 60 mil defunciones al año, especialmente en personas mayores de 65 años, seguida de padecimientos crónico-degenerativos como la diabetes mellitus y después los padecimientos oncológicos.²

En muchas ocasiones la enfermedad se manifiesta de manera inesperada, ya sea por infarto agudo de miocardio o bien por muerte súbita sin antecedentes clínicos relevantes, sin embargo, en otros casos, puede pasar inadvertido especialmente en los pacientes diabéticos.

Dado estos antecedentes, se ha dirigido el diagnóstico hacia su detección precoz con el fin de intervenir la enfermedad en fases tempranas, evitando así repercusiones en la calidad de vida del paciente.

Actualmente se cuenta con una amplia gama de estudios tanto no invasivos como invasivos para el diagnóstico de la CI, por mencionar los más importantes están la ecocardiografía, la angiografía coronaria, la resonancia magnética (RM), la tomografía por emisión de fotón único (SPECT), la tomografía por emisión de positrones (PET) y la angiografía coronaria invasiva. Esto propicia la necesidad de definir la intervención más apropiada para cada paciente y evaluar su eficacia una vez que se elige el tratamiento. La utilidad en el diagnóstico de la isquemia miocárdica por las diferentes técnicas de imagen anteriormente mencionadas, ha sido reportada anteriormente en múltiples estudios,³⁻⁷ compitiendo por tener la mayor certeza diagnóstica en la determinación del tejido viable tras un evento de infarto miocárdico; donde se ha comprobado que los principales métodos diagnósticos utilizados para este fin son derivados de la medicina nuclear mediante el uso del SPECT utilizando clo-

ruro de ²⁰¹Talio con reinyección o bien, por medio del PET con un análogo de la glucosa como la desoxiglucosa marcada con ¹⁸Flúor (¹⁸F-FDG).⁸⁻¹¹ Por el lado de la radiología la RM está demostrando ser tan efectiva como los estudios metabólicos con radiotrazadores prometiendo resultados alentadores en el diagnóstico de viabilidad miocárdica (VM).¹²⁻¹⁴

Actualmente el PET es uno de los métodos no invasivos que ofrece mayor precisión y por lo tanto certeza en el estudio de las diferentes vías metabólicas del corazón. Las aplicaciones clínicas más importantes en cardiología consisten en la evaluación de la viabilidad, metabolismo y perfusión miocárdica. Los trazadores frecuentemente usados para estudios del metabolismo son ¹⁸F-Flúor-2-desoxiglucosa (FDG), ¹¹C-palmitato y ¹¹C-acetato,^{15,16} y en el caso de perfusión el ¹³N-Amonio.

En humanos se han empleado distintos protocolos de PET con el fin de determinar VM, siendo hasta ahora el estudio de ¹⁸F-FDG el de mayor validez diagnóstica. Esto se puede explicar en base a que el miocardio en condiciones aeróbicas utiliza ácidos grasos en un 80% para sus requerimientos energéticos, sin embargo, durante un evento isquémico el miocardio cambia su metabolismo normal a ser dependiente de carbohidratos; siendo de esta manera el principio básico del uso del PET con un análogo de la glucosa como lo es la FDG.¹⁷

El estudio de la VM por PET en el área clínica está bien establecido, realizando el mismo en estado de ayuno mínimo de 8 horas, donde se determina el nivel de glucemia capilar, y en base al resultado se administra o no una carga oral de glucosa según los lineamientos establecidos por Schelbert y cols.¹⁸ Treinta minutos después, se administra una dosis de 10 mCi de ¹⁸F-FDG por vía intravenosa, dejando pasar entre 40 y 45 minutos después de administrar el trazador para la adquisición de las imágenes en el tomógrafo. Por tal motivo, el PET con ¹⁸F-FDG asociado a un estudio de perfusión (que puede ser con ¹³N-Amonio) permite la identificación, caracterización (miocardio hibernante) y cuantificación de la VM mediante la determinación de dos patrones: el patrón concordante («match»), caracterizado por la ausencia tanto de perfusión como de metabolismo (FDG), y el patrón discordante («mismatch»), que se caracteriza por la presencia de actividad metabólica (FDG) en ausencia de perfusión miocárdica. El valor predictivo

positivo y predictivo negativo con la utilización de este método corresponde a un 83% y 84% respectivamente.^{17,19}

Con el advenimiento de la imagenología molecular en los últimos 10 años, se ha fomentado la investigación básica como modelo de estudio de múltiples procesos fisiopatológicos en animales de experimentación (especialmente roedores pequeños), entre ellos la CI. A través del uso del microPET se han podido comprender múltiples vías patológicas; resultado de ello es la aplicación de nuevas terapias incluyendo genéticas, para la prevención y/o tratamiento de la isquemia miocárdica.²⁰⁻²⁷

El equipo de microPET es un tomógrafo en pequeña escala, diseñado especialmente para su uso en animales de experimentación, como son roedores de pequeño tamaño (ratas y ratones), conejos, reptiles y monos pequeños (en estos últimos especialmente para investigación neurológica), donde a través de la administración de fármacos, metabolitos, receptores o genes marcados con radiotrazadores se pueden estudiar múltiples vías metabólicas, fisiológicas o bien, procesos patológicos, para la investigación en el área de cardiología, neurología y oncología. Este equipo, presenta los mismos fundamentos físicos que un equipo PET de uso en humanos; consta de un anillo detector con cristales centelladores de germanato de bismuto (BGO) o de ortosilicato de lutecio (LSO), siendo estos últimos los más utilizados por su alta resolución espacial y otras características físicas que los hacen ideales.²⁸

El equipo de microPET con el que cuenta la Unidad PET/CT Ciclotrón de la UNAM es el primero en su tipo en México y el resto de América Latina, por tal motivo, es de suma importancia establecer protocolos válidos con los que se permita proponer modelos experimentales para la realización de investigación básica relevante en el área de cardiología, dado que no existe la experiencia en nuestro país con el uso del microPET en corazón.

Objetivo

Demostrar cuál es el modelo de estudio más adecuado para el análisis del metabolismo cardíaco en ratas adultas.

Material y métodos

Animales

Se estudiaron 3 ratas macho adulto de la cepa Wistar, aparentemente sanas, con un peso pro-

medio de 300 a 350 gramos. El manejo óptimo de los sujetos de experimentación se llevó a cabo bajo lineamientos de guías previamente establecidas.²⁹

Los animales fueron estudiados en tres diferentes protocolos, todos ellos realizados en distintos tiempos (con al menos un día de diferencia entre cada uno), con el fin de utilizarlos como sus propios controles.

El diseño de los protocolos fue el siguiente: (1) sin ayuno (se les permitió libre acceso de comida y agua todo el tiempo, inclusive antes del estudio), (2) con ayuno (se restringió el acceso de comida 12 horas antes del estudio, sólo con acceso de agua a libre demanda) y (3) con ayuno con carga oral de glucosa (ayuno de 12 horas, con administración de una carga oral de glucosa al 50%, a una dosis de 0.4 mg de glucosa por gramo de peso corporal, 30 minutos antes de la administración de la ¹⁸F-FDG).

Estudio de microPET

Para cada protocolo se adquirieron dos rastreos de PET; el primero 30 minutos después de la administración de una dosis vía intraperitoneal de 370 - 555 MBq de ¹⁸F-FDG (como radiotrazador) y el segundo rastreo a los 60 minutos; esto con la finalidad de determinar cuál de las dos imágenes presentaba una mejor definición del miocardio ventricular.

El estudio de ¹⁸F-FDG se llevó a cabo bajo condiciones de anestesia a una dosis intramuscular de 10 mg/kg de ketamina aunada a una dosis intraperitoneal de 50 mg/kg de pentobarbital. Los sujetos de experimentación se mantuvieron a temperatura ambiente, durante todo el desarrollo del trabajo.

Una vez anestesiados, los animales se colocaron en posición supina, con fijación externa de las cuatro extremidades; centrando el láser de posición a la altura del corazón para obtener imágenes de tórax. Se registró constantemente la frecuencia respiratoria así como el estado de sedación durante todo el tiempo de adquisición de las imágenes (Figs. 1a y 1b).

La adquisición de las imágenes se realizó en un equipo microPET Focus 120 de del tipo Concorde Microsystems LLC (SIEMENS Inc, Knoxville, TN), el cual cuenta con un anillo detector de 17.2 cm de diámetro, con un campo de visión (FOV, por sus siglas en inglés) transaxial de 112 mm y 18 mm en el eje axial. El equipo se encuentra conformado por un total de 13,384 cris-



Fig. 1a. Equipo microPET Focus 120 (Concorde, SIEMENS Inc, Knoxville, TN) de la Unidad PET/CT-Ciclotrón, UNAM, 1b. Acercamiento del equipo mostrando la región abdominal de una rata macho colocada en posición supina, durante la adquisición de uno de los estudios.

tales detectores de LSO (Ortosilicato de Lutecio) de 1.5 x 1.5 x 1.0 mm cada uno.

La resolución intrínseca de los cristales en promedio es de 1.68 mm, con una resolución energética entre el 15 y 25% y un tiempo de resolución de 2.4 ns (nanosegundos) para fotones de 511 keV. Este equipo opera en modo 3D.

La resolución espacial del equipo es de 0.5 a 1.3 mm al centro de la cama para imágenes reconstruidas y su resolución volumétrica es de 8 mm³, el pico absoluto de sensibilidad es de 7.1%. La tasa de conteo está en el orden de las 800 kcps (kilocuentas por segundo) a una dosis de 88 MBq de radiotrazador.²⁹

La reconstrucción de las imágenes se llevó a cabo con el algoritmo FBP utilizando un filtro de Rampa.

Resultados

El análisis de las imágenes se realizó de manera cualitativa por dos médicos, con el fin de evaluar la calidad de las imágenes y determinar cuál de las dos adquisiciones (30 o 60 minutos) resultaba más conveniente para el análisis de metabolismo miocárdico de la ¹⁸F-FDG.

Se obtuvieron imágenes en cortes axial, coronal y sagital en todos los estudios.

Comparación de las imágenes de 30 y 60 minutos

Se obtuvieron un total de 9 estudios por cada tiempo de adquisición, observando una mejor definición del área miocárdica en la imagen de 60 minutos en la mayoría de los casos (Fig. 2)

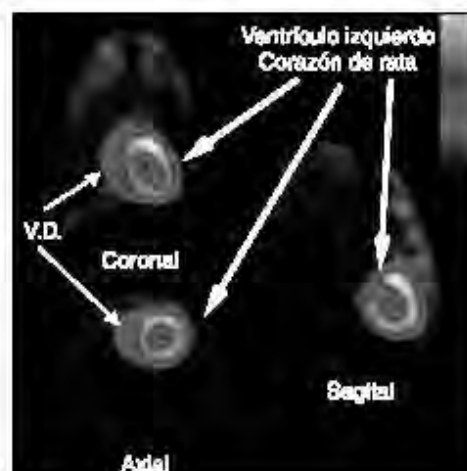


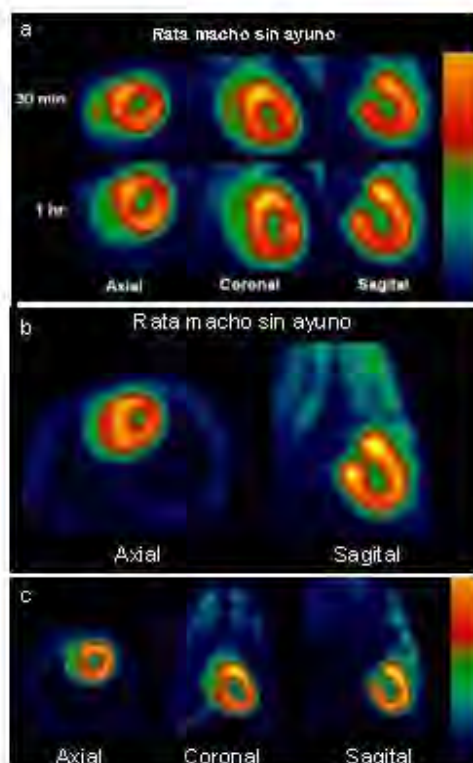
Fig. 2. Ejes coronal, axial y sagital de corazón a los 60 min. p. i. de ¹⁸F-FDG del protocolo 1, donde se muestra la importante captación del radiotrazador por el ventrículo izquierdo, con escasa concentración a nivel del ventrículo derecho (V.D.) y en tejidos blandos.

especialmente para las imágenes de los protocolos 1 y 3; ya que en la imagen de 30 minutos aún se encuentra parte del radiotrazador por circulación sistémica, dando como resultado una cierta distribución de la ¹⁸F-FDG en tejidos blandos como son grasa parda, músculos torácicos (paravertebrales e intercostales), mediastino y área pulmonar; en la imagen de 60 minutos dicha captación disminuye permitiendo una mayor definición de las paredes ventriculares para su adecuada valoración.

Comparación de las imágenes por tipo de protocolo

Tras la adquisición de los 3 protocolos, los 18 estudios obtenidos fueron analizados bajo las mismas condiciones de ventana de color, intensidad de gammas (máx. y mín.), esto con el fin de evitar la inadecuada manipulación de las mismas interpretando erróneamente las imágenes.

Con el protocolo 1 se obtuvieron las imágenes de mayor captación y definición de las paredes ventriculares izquierdas, especialmente con la imagen de 60 minutos. Como se muestra en las



Figuras 3a y 3b se puede definir perfectamente el ventrículo izquierdo, parte del ventrículo derecho, con escasa captación del radiotrazador por tejidos blandos del tórax (Fig. 3c). La calidad de imagen observada en el protocolo 1 se obtuvo sólo en un 50% de las imágenes del protocolo 3 (ayuno con carga de glucosa oral) pues en el resto, el grado de captación miocárdica fue menor, encontrando distribución de la ^{18}F -FDG de manera importante a nivel muscular y grasa parda (Figs. 4a y b). En el caso de las imágenes del protocolo 2, la captación del radiotrazador tanto por miocardio como en tejidos blandos del tórax es casi nula, sin poder definir completamente la silueta cardíaca en muchos casos (Figs. 5a y b).

Figuras 3a y 3b se puede definir perfectamente el ventrículo izquierdo, parte del ventrículo derecho, con escasa captación del radiotrazador por tejidos blandos del tórax (Fig. 3c).

La calidad de imagen observada en el protocolo 1 se obtuvo sólo en un 50% de las imágenes del protocolo 3 (ayuno con carga de glucosa oral) pues en el resto, el grado de captación miocárdica fue menor, encontrando distribución de la ^{18}F -FDG de manera importante a nivel muscular y grasa parda (Figs. 4a y b).

En el caso de las imágenes del protocolo 2, la captación del radiotrazador tanto por miocardio como en tejidos blandos del tórax es casi nula, sin poder definir completamente la silueta cardíaca en muchos casos (Figs. 5a y b).

Discusión

El objetivo principal de la imagenología molecular mediante PET desarrollada en animales de experimentación como modelos de enfermedad es obtener información anatómica, fisiológica o bioquímica la cual comparte mucha similitud a la obtenida en los humanos; facilitando con esto, la correlación de los hallazgos obtenidos entre el área básica y la clínica. Además, la capacidad no invasiva de esta técnica imagenológica per-

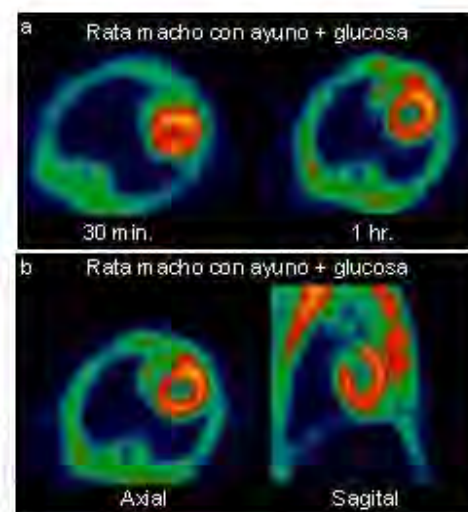
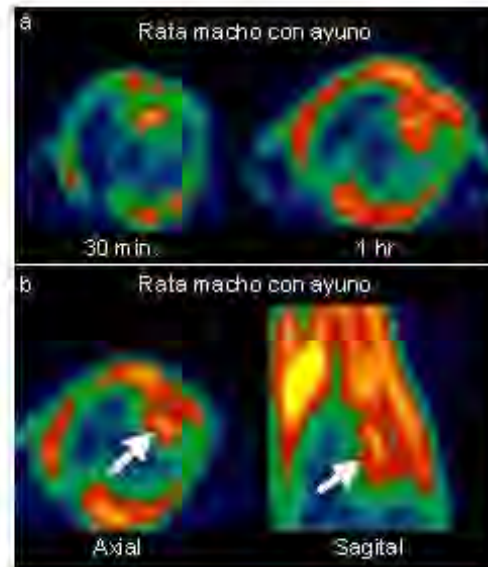


Fig. 4. Cortes axiales de ^{18}F -FDG con ayuno + carga oral de glucosa, a los 30 y 60 minutos. Se aprecia una adecuada captación del radiofármaco, sin embargo en comparación con las imágenes del protocolo 1, se observa una mayor distribución por tejidos blandos del tórax (a y b), así como músculos paravertebrales y grasa parda (c).



Figs. 5a y 5b. Imágenes de corazón con ^{18}F -FDG con ayuno a los 30 y 60 minutos después de su administración. Existe importante distribución del material por «pool sanguíneo», músculos vertebrales, intercostales, grasa parda, con mínima captación a miocardio (flecha).

mite múltiples adquisiciones de un proceso en particular, facilitando así el estudio a través del tiempo de la progresión de la enfermedad o bien, de la respuesta terapéutica en el mismo animal. Así pues, la fisiopatología de la cardiopatía isquémica se ha trasladado al área de la investigación básica no sólo *in vitro*, sino también *in vivo*, donde resulta más factible poder realizar investigaciones para la intervención temprana del evento isquémico con resultados favorables.³²⁻³⁴

Como es sabido en condiciones normales, el flujo coronario aporta la suficiente cantidad de sustratos y oxígeno para los requerimientos de energía necesarios, cumpliendo así el adecuado funcionamiento y excreción celular. Cuando aumenta la demanda miocárdica, el flujo coronario puede llegar a aumentar entre 4 ó 6 veces, gracias a la vasodilatación secundaria a múltiples respuestas en el organismo; en condiciones no patológicas se puede mencionar el ejercicio físico, como ejemplo. El aumento se presenta de manera uniforme en los diferentes vasos coronarios y dicha capacidad de respuesta se denomina reserva funcional o reserva de flujo coronario.

En condiciones fisiológicas, los metabolitos llegan por la microcirculación siendo extraídos por los miocitos mediante diversos mecanismos, incluyendo procesos pasivos o por medio del transporte activo. El miocardio normal utiliza un 80% aproximadamente de ácidos grasos de cadena larga como fuente de energía, siendo la glucosa el sustrato adicional en estas circunstancias.¹⁶⁻¹⁹ En algunas ocasiones, el lactato puede llegar a ser fuente de energía. Estos metabolitos son metabolizados en el Ciclo de Krebs, obteniendo así ATP, H_2O y CO_2 .^{30,31}

Durante el ayuno se produce una lipólisis con el subsecuente aumento de ácidos grasos, lo que repercute en un aumento en su utilización. Por el contrario, en el postprandio existe un aumento de insulina produciéndose un aumento significativo de dicho metabolito por el miocardio, aumentando por consiguiente el uso de glucosa a través de proteínas transportadoras de glucosa dependientes de insulina (GLUT 1 y 4).^{17,32} Entendiendo este fenómeno fisiológico, se pueden explicar las características de las imágenes obtenidas en el protocolo 1 y 2, respectivamente, pues con la administración a libre demanda de alimento, se presentó una mayor captación del radiotrazador por el miocardio desde las imágenes tempranas, permitiendo una mejor definición de las paredes ventriculares en las imágenes tardías, asociado con menor captación de la ^{18}F -FDG por tejidos blandos. En el caso de las imágenes de ayuno, se puede explicar el porqué casi no se visualiza la silueta cardiaca, pues bajo esas condiciones, el mayor aporte metabólico a nivel miocárdico está dado por los ácidos grasos, por lo que la ^{18}F -FDG administrada se distribuye preferentemente a órganos vitales como es el cerebro, que en condiciones de ayuno, requiere glucosa como principal sustrato energético.

Convencionalmente los estudios de PBT en humanos para la valoración de viabilidad miocárdica se realizan en condiciones de ayuno y si es posible, la suspensión de medicamentos cardiovasculares, tras la administración de una carga oral o intravenosa de glucosa. Sin embargo, múltiples estudios han reportado una variabilidad significativa en los niveles séricos de glucosa en los pacientes, haciendo difícil en ocasiones la determinación de una dosis apropiada para su adecuada distribución por el corazón. Es por esto que se ha propuesto el uso de insulina (especialmente en pacientes diabéticos) con el fin de esta-

blecer la llamada pinza (clamp) euglicémica-hiperinsulinémica, para asegurar una concentración estable de glucosa y así favorecer su captación por el tejido miocárdico; sin embargo este método resulta ser poco práctico, pues para obtener una mejor impregnación, se sugiere administrar de manera continua la insulina hasta completar la adquisición de las imágenes.^{18,33}

Únicamente en la mitad de las imágenes obtenidas en el protocolo 3 se pudo valorar adecuadamente el corazón, dado que la absorción de la glucosa por vía oral puede variar de un animal a otro, además se deben tener en cuenta otros factores tales como la velocidad de absorción por la mucosa gástrica y duodenal, la velocidad de vaciamiento gástrico y el tránsito intestinal; lo que hace de esta técnica un método inespecífico con el cual se pueda lograr un estado metabólico ideal para la adecuada captación de la ¹⁸F-FDG por el miocardio.

Conclusiones

Actualmente los resultados obtenidos en roedores permiten evaluar alteraciones tanto per-

fusorias como metabólicas a nivel miocárdico, jugando un importante papel en el estudio de múltiples estados patológicos y no patológicos, como son la edad, obesidad, hipertensión arterial, hipertrofia ventricular, diabetes, e infarto al miocardio, entre otros. El diseño de un protocolo adecuado en investigación básica para el estudio de estos y otros estados patológicos es de suma importancia dado la trascendencia que puede tener en el entendimiento y por consiguiente la intervención terapéutica precoz en el área clínica.

El uso del microPET puede ser muy útil para el análisis molecular del metabolismo del corazón y puede generar un modelo útil para el estudio de la cardiopatía isquémica.

Agradecimientos

Adolfo Zárate Morales, Efraín Zamora Romo, Armando Flores Moreno, José Luis Alonso Morales.

Por el apoyo y tiempo brindado para la realización del presente trabajo.

Referencias

1. World Health Organization. Página Web disponible en: http://www.who.int/cardiovascular_diseases/prevention_control/en/
2. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. Página Web disponible en: <http://www.inegi.gob.mx/est/default.aspx?c=2346>
3. LEFEBVRE C, CHÉNEVERT A, BORDELEAU E, UOOLINI P, OUELLET R, SAELAYROLLES J, ET AL: *Coronary computed tomography angiography: overview of technical aspects, current concepts, and perspectives*. Can Assoc Radiol J 2007; 58: 92-108.
4. LOMBARDO A, RIZZELLO V, GALIUTO L, NATALE L, GIORDANO A, REBUZZI A, ET AL: *Assessment of resting perfusion defects in patients with acute myocardial infarction: comparison of myocardial contrast echocardiography, combined first-pass/delayed contrast-enhanced magnetic resonance imaging and 99mTc-sestamibi SPECT*. Int J Cardiovasc Imaging 2006; 22: 417-28.
5. KLEIN L, VAN CAMPEN L, SIESWERDA G, KAMP O, VISSER C, VISSER F: *Glucose-insulin-potassium echocardiography detects improved segmental myocardial function and viable tissue shortly after acute myocardial infarction*. J Am Soc Echocardiogr 2006; 19: 763-71.
6. ROPERS D: *Multislice computer tomography for detection of coronary artery disease*. J Interv Cardiol 2006; 19: 574-82.
7. NIKOLAOU K, FLOHR T, KNEZ A, RIST C, WINTERS-PERGER B, JOHNSON T, ET AL: *Advances in cardiac CT imaging: 64-slice scanner*. Int J Cardiovasc Imaging. 2004; 20: 535-40.
8. BEANLANDS R, DEKEMP R, SCHEFFEL A, NAHMIAS C, GARNETT S, COATES G: *Can Nitrogen-13 Ammonia Kinetic Modeling Define Myocardial Viability Independent of Fluorine-18 Fluorodeoxyglucose?* J Am Coll Cardiol 1997; 29: 537-43.
9. SLART R, BAX J, DE BOER J, WILLEMSSEN A, MOOK P, OUDKERK M, ET AL: *Comparison of 99mTc-sestamibi/18FDG DISA SPECT with PET for the detection of viability in patients with coronary artery disease and left ventricular dysfunction*. Eur J Nucl Med Mol Imaging 2005; 32: 972-9.
10. ROELANTS V, BERNARD X, WALRAND S, BOL A, COPPENS A, JAMART J, ET AL: *Attenuation-corrected 99mTc-MIBI SPECT in overweight patients with chronic ischaemic dysfunction: a comparison to NH3 PET and implications for the diagnosis of myocardial viability*. Nucl Med Commun 2006; 27: 815-21.
11. MEAVE A, RICALDE A, SIERRA C F, GARCÍA L, ALEXÁNDERSON E: *Estudio de la viabilidad miocárdica: Comparación de tomografía por emisión de positrones y resonancia magnética*. Arch Cardiol Mex 2005; 75: 71-78.
12. BRODOEFEL H, REIMANN A, KLUMPP B, FENCHEL M, OEFNER M, MILLER S, ET AL: *Assessment of myo-*

- cardiac viability in a reperfused porcine model: evaluation of different MSCT contrast protocols in acute and subacute infarct stages in comparison with MRI.* J Comput Assist Tomogr 2007; 31: 290-8.
13. GOLDFARB J, ARNOLD S, RÖTH M, HAN J: *T1-weighted magnetic resonance imaging shows fatty deposition after myocardial infarction.* Magn Reson Med 2007; 57: 828-34.
 14. SURÁNYI P, KISS P, BROTT B, SIMOR T, ELGAVISH A, RUZSICS B, ET AL: *Percent infarct mapping: an RI-map-based CE-MRI method for determining myocardial viability distribution.* Magn Reson Med 2006; 56: 535-45.
 15. MAKI M, HAAPARANTA M, NUUTILA P, OIKONEN V, LUOTOLAHTI M, ESKÖLA O, ET AL: *Free fatty acid uptake in the myocardium and skeletal muscle using fluorine-18 fluoro-6-thia-heptadecanoic acid.* J Nucl Med 1998; 39: 320-7.
 16. VISSER F: *Imaging of cardiac metabolism using radiolabelled glucose, fatty acids and acetate.* Coron Artery Dis 2001; 12: S12-8.
 17. ALEXANDERSON E, GÓMEZ M, BENITO I, RUIZ R, RICALDE A, MEAVE A: *Tomografía por emisión de positrones (PET): Una herramienta útil para el estudio del metabolismo cardíaco.* Arch Cardiol Mex 2004; 74: 220-28.
 18. SCHELBERT H, BEANLANDS R, BENDEL F, KNUUTT J, DI CARLI M, MACHAC J, ET AL: *Pet myocardial perfusion and glucose metabolism imaging: part 2-guidelines for interpretation and reporting.* J Nucl Cardiol 2003; 10: 557-71.
 19. ALEXANDERSON E: *Utilidad de las técnicas nucleares en el estudio de la viabilidad miocárdica.* Arch Cardiol Mex 2004; 74: 8-12.
 20. STRAUSS HW, GREWAL RK, TASKAR NP: *Molecular Imaging in Nuclear Cardiology.* Semin Nucl Med 2004; 34: 47-55.
 21. MEOLI D, SADEGHI M, KRASSILNIKOVA S, BOURKE B, GIORDANO F, DIONE D, ET AL: *Noninvasive imaging of myocardial angiogenesis following experimental myocardial infarction.* J Clin Invest 2004; 113: 1684-91.
 22. SOKOLOVA RI, ZHDANOV VS: *Hibernation and stunning as manifestations of ischemic dysfunction of the myocardium.* Arkh Patol 2002; 64: 50-4.
 23. WU J, INUBUSHI M, SUNDARESAN G, SCHELBERT H, GAMBHIR S: *Positron emission tomography imaging of cardiac reporter gene expression in living rats.* Circulation 2002; 106: 180-3.
 24. INUBUSHI M, WU J, GAMBHIR S, SUNDARESAN G, SATYAMURTHY N, NAMAVARI M ET AL: *Positron-emission tomography reporter gene expression imaging in rat myocardium.* Circulation 2003; 107: 326-32.
 25. KUDO T, ANNATA A, CHERRY S, PHELPS M, SCHELBERT H: *Measurement of myocardial blood flow during occlusion/reperfusion in rats with dynamic microPET imaging.* J Nucl Med 1998; 39: 9P.
 26. LAPOINTE D, BENTOURKIA M, CADORETTE J, RODRIGUE S, OUELLET R, BERNARD F, ET AL: *High-resolution cardiac PET in rats.* J Nucl Med 1999; 40: 185P.
 27. KREISSL M, WU H, STOUT D, LADNO W, SCHINDLER T, ZHANG X, ET AL: *Noninvasive measurement of cardiovascular function in mice with high-temporal-resolution small-animal PET.* J Nucl Med 2006; 47: 974-80.
 28. *microPET—Siemens Focus 120 and 220.* Siemens Medical Solutions USA, Inc. 2005.
 29. FUEGER B, CZERNIN J, HILDEBRANDT I, TRAN C, HALPERN B, STOUT D, ET AL: *Impact of Animal Handling on the Results of 18F-FDG PET Studies in Mice.* J Nucl Med 2006; 47: 999-1006.
 30. GOULD K, SCHELBERT H, PHELPS M, HOFFMAN E: *Non invasive assesment of coronary stenoses with myocardial perfusion imaging during pharmacologic coronary vasodilatation.* Am J Cardiol 1979; 43: 200-208.
 31. SOCHOR H, PACHINGER O, ORGIS E, PROBST P, KAINDL F: *Radionuclide imaging alter coronary vasodilatation: myocardial scintigraphy with thallium-201 and radionuclide angiography alter administration of dipyridamole.* Eur Heart J 1984; 5: 500-9.
 32. SANTALUCIA T, CAMPS M, CASTELLO A, MUNOZ P, NUEL A, TESTAR X, ET AL: *Developmental regulation of GLUT-1 (erythroid/Hep G2) and GLUT-4 (muscle/fat) glucose transporter expression in rat heart, skeletal muscle, and brown adipose tissue.* Endocrinology 1992; 130: 837-46.
 33. BAXX J, VEENING M, VISSER F, VAN LINGEN A, HEINE R, CORNEL L, ET AL: *Optimal metabolic conditions during Fluorine-18 fluorodeoxyglucose imaging; a comparative study using different protocols.* Eur J Nucl Med 1997; 24: 35-41.

- Figura 1 Rutas metabólicas encaminadas a la producción de energía.
- Figura 2 Representación esquemática de las vías metabólicas del metabolismo energético miocárdico.
- Figura 3 Equipo microPET. Focus 120, Concorde Microsystems.
- Figura 4 Adquisición de estudio.
- Figura 5 Determinación de regiones de interés mediante el programa AMIDE.
- Figura 6 Rata macho 3 sin ayuno, adquisición a los 60 min. a) corte axial, b) corte coronal, c) corte sagital.
- Figura 7 Rata macho 3 con ayuno + glucosa oral, adquisición a los 60 min. a) corte axial, b) corte coronal, c) corte sagital.
- Figura 8 Rata macho 3 con ayuno, adquisición a los 60 min. a) corte axial, b) corte coronal, c) corte sagital.
- Figura 9 Grafica de comparación por tipo de protocolo. Músculo cardiaco. Valores medios de captación expresados como 1000 x unidades promedio de imagen \pm DE. *P<0.05.
- Figura 10 Grafica de comparación por tipo de protocolo. Tejido pulmonar. Valores medios de captación expresados como 1000 x unidades promedio de imagen \pm DE.
- Figura 11 Grafica de comparación por tipo de protocolo. Músculo esquelético. Valores medios de captación expresados como 1000 x unidades promedio de imagen \pm DE. *P<0.05.
- Figura 12 Gráfica de comparación de porcentajes de captación de las regiones de interés por tipo de protocolo y tiempo de biodistribución (30 y 60 min). *P<0.05.

AcG	Ácidos grasos
CI	Cardiopatía Isquémica
CoA	Coenzima A
eV	Electrón volt
¹⁸ F-FDG	¹⁸ Fluoro-2-desoxiglucosa
FOV	Campo de Visión
IAM	Infarto al Miocardio
kcps	Kilocuentas por segundo
LSO	Ortosilicato de Lutecio
MBq	Megabequerel
ns	Nanosegundos
PET	Tomografía por Emisión de Positrones
RM	Resonancia Magnética
ROI	Región de Interés
SPECT	Tomografía por Emisión de Fotón Único
SUV	Valor Estandarizado de Captación

12.0 REFERENCIAS

- AKINBOBOYE, O., IDRIS, O., CANNON, P. & BERGMANN, A. (1999) Usefulness of Positron Emission Tomography in Defining Myocardial Viability in Patients Referred for Cardiac Transplantation. *The American Journal of Cardiology*, 83, 1271-1274.
- ALEXÁNDERSON, E. (2004) Utilidad de las técnicas nucleares en el estudio de la viabilidad miocárdica. *Archivos de Cardiología de México*, 74, 8-12.
- ALEXÁNDERSON, E., GÓMEZ, D., BENITO, I., RUÍZ, L. & RICALDE, A. (2004) Tomografía por emisión de positrones (PET): Una herramienta útil para el estudio del metabolismo cardíaco. *Archivos de Cardiología de México*, 74, 220-228.
- ALEXÁNDERSON, E., KERIK, N., FREIMAN, S. & SCHWAYCER, S. (2002) Principios y aplicaciones de la tomografía por emisión de positrones (PET) en la cardiología. PET en México: una realidad. *Archivos de Cardiología de México*, 72, 157-164.
- ALEXÁNDERSON, E., ORTEGA, N., OJEDA, R., MENDOZA, G. & ADAME, G. (2008) Modelo de estudio mediante microPET para la evaluación del metabolismo glucolítico en el miocardio de rata con 18F-FDG. Experiencia inicial en México. *Archivos de Cardiología de México*, 78, 11-18.
- AWAN, M. & SAGGERSON, E. (1993) Malonyl-CoA metabolism in cardiac myocytes and its relevance to the control of fatty acid oxidation. *Biochemical Journal*, 295, 61-67.
- BALABAN, R. & HAMPSHIRE, V. (2001) Challenges in Small Animal Noninvasive Imaging. *ILAR Journal*, 42, 248-263.
- BAX, J., VEENING, M., VISSER, E., LINGEN, A. & HEINE, R. (1997) Optimal metabolic conditions during fluorine-18 fluorodeoxyglucose imaging; a comparative study using different protocols. *European Journal of Nuclear Medicine*, 24, 35-41.
- BENTOURKIA, M., CROTEAU, E., LANGLOIS, R., ALIAGA, A. & CADORETTE, J. (2002) Cardiac Studies in Rats With ¹¹C-Acetate and PET: A Comparison With ¹³N-Ammonia. *IEEE Transactions on nuclear Science*, 49, 2322-2327.
- BERGMANN, R. & PIETZSCH, J. (2005) Small animal positron emission tomography in food sciences. *Amino Acids* 29, 355-376.
- CALVANI, M., REDA, E. & ARRIGONI, E. (2000) Regulation by carnitine of myocardial fatty acid and carbohydrate metabolism under normal and pathological conditions. *Basic Research in Cardiology*, 95, 75 - 83.
- CARVAJAL, K. & MORENO, R. (2003) Heart Metabolic Disturbances in Cardiovascular Diseases. *Archives of Medical Research* 34, 89-99.
- CHARTRAND, C., CADRIN, A., BORDELEAU, E., UGOLINI, P. & OUELLET, R. (2007) Coronary Computed Tomography Angiography: Overview of Technical Aspects, Current Concepts, and Perspectives. *Canadian Association of Radiologist Journal*, 58, 92-108.

- CHATZIOANNOU, A. (2002a) Molecular imaging of small animals with dedicated PET tomographs. *European Journal of Nuclear Medicine*, 29, 98-114.
- CHATZIOANNOU, A. (2002b) PET Scanners Dedicated to Molecular Imaging of Small Animal Models. *Molecular Imaging and Biology*, 4, 47-63.
- CHATZIOANNOU, A. (2005) Instrumentation for Molecular Imaging in Preclinical Research. *Proceedings of the American Thoracic Society*, 2, 533-536.
- CHATZIOANNOU, A., CHERRY, S., SHAO, Y., SILVERMAN, R. & PHELPS, M. (1999) Performance Evaluation of microPET: A High-Resolution Lutetium Oxyorthosilicate PET Scanner for Animal Imaging. *The Journal of Nuclear Medicine*, 40, 1164-1175.
- CHEN, E., MACINTYRE, W., FOUAD, F., BRUNKEN, R., GO, R., WONG, C., SAHA, G., DOROSTI, K., RAZAVI, M. & AMSTRONG, R. (1996) Measurement of cardiac output with first-pass determination during rubidium-82 PET myocardial perfusion imaging. *European Journal of Nuclear Medicine*, 23.
- CHERRY, S. (2001) Fundamentals of Positron Emission Tomography and Applications in Preclinical Drug Development. *The Journal of Clinical Pharmacology*, 41, 482-491.
- CHERRY, S. & GAMBHIR, S. (2001) Use of Positron Emission Tomography in Animal Research. *ILAR Journal*, 42, 219-232.
- DE SILVA, R. & CAMICI, P. (1994) The role of positron emission tomography in the investigation of coronary circulatory function in man. *Cardiovascular Research* 28, 1595-1612.
- DEPRE, C., PONCHAUT, S., DEPREZ, J., MAISIN, L. & HUE, L. (1998) Cyclic AMP suppresses the inhibition of glycolysis by alternative oxidizable substrates in the heart. *Journal of Clinical Investigation*, 101, 390-397.
- DEPRE, C., RIDER, M., VEITCH, K. & HUE, L. (1993) Role of fructose 2,6-bisphosphate in the control of heart glycolysis. *Journal of Biological Chemistry*, 268, Issue, 13274-13279.
- DEPRE, C., VANOVERSCHELDE, J., MELIN, J., BORGERS, M., BOL, A., AUSMA, J., DION, R. & WIJNS, W. (1995) Structural and metabolic correlates of the reversibility of chronic left ventricular ischemic dysfunction in humans. *American Journal of Physiology*, 268, 1265-1275.
- DEPRE, C., VANOVERSCHELDE, J. & TAEGTMEYER, H. (1999) Glucose for the Heart. *Circulation*, 99, 578-588.
- DOBRUCKI, J. & SINUSAS, A. (2005) Molecular imaging. A new approach to nuclear cardiology. *The Quarterly Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*, 49, 106-115.
- FINE, E., MIAO, W., KOBAYASHI, W., VOLEK, J. & BLAOUFOX, D. (2009) Chronic effects of dietary carbohydrate variation on [18F]-2-fluoro-2-deoxyglucose uptake in rodent heart. *Nuclear Medicine Communications*, 30, 675-680.
- GARLAND, P. & RANDLE, P. (1964) Regulation of glucose uptake by muscle: Effects of fatty acids, ketone bodies and pyruvate, and of alloxan-diabetes, starvation on the uptake and metabolic fate of glucose in rat heart and diaphragm muscles. *Biochemical Journal*, 93, 652-665.

- GARLAND, P., RANDLE, P. & NEWSHOLME, E. (1963) Citrate as an Intermediary in the Inhibition of Phosphofructokinase in Rat Heart Muscle by Fatty Acids, Ketone Bodies, Pyruvate, Diabetes and Starvation. *Nature*, 200, 169-170.
- GOULD, G. & HOLMAN, G. (1993) The glucose transporter family: structure, function and tissue-specific expression. *Biochemical Journal*, 295, 329-341.
- HANDA, N., MAGATA, Y., MUKAI, T., NISHINA, T., KONISHI, J. & KOMEDA, M. (2007) Quantitative FDG-uptake by positron emission tomography in progressive hypertrophy of rat hearts in vivo. *Annals of Nuclear Medicine*, 21, 569-576.
- HANDA, N., MAGATA, Y., TADAMURA, E., MUKAI, T., NISHINA, T., MIWA, S., SAKAKIBARA, Y., NOMOTO, T., KONISHI, J., NISHUMURA, K. & KOMEDA, M. (2002) Quantitative fluorine 18 deoxyglucose uptake by myocardial positron emission tomography in rats. *Journal of Nuclear Cardiology*, 9, 616-621.
- HEATH, J., PHELPS, M. & HOOD, L. (2003) NanoSystems Biology. *Molecular Imaging and Biology*, 5, 312-325.
- HERRERO, P., KIM, J., SHARP, T., ENGELBACH, J., GROPLER, R. & WELCH, M. (2006) Assessment of Myocardial Blood Flow Using 15O-Water and 1-11C-Acetate in Rats with Small-Animal PET. *The Journal of Nuclear Medicine*, 47, 477-485.
- HOFFMAN, J. & GAMBHIR, S. (2007) Molecular Imaging: The Vision and Opportunity for Radiology in the Future. *Radiology*, 244, 39-47.
- INUBUSHI, M., WU, J., GAMBHIR, S., SUNDARESAN, G., SATYAMURTHY, N., NAMAVARI, M., YEE, S., BARRIO, J., STOUT, D., CHATZIOANNOU, A., WU, L. & SCHELBERT, H. (2003) Positron-Emission Tomography Reporter Gene Expression Imaging in Rat Myocardium. *Circulation*, 107, 326-332.
- ISSAD, T., PENICAUD, L., FERRE, P., KANDE, J., BAUDON, M. & GIRARD, J. (1987) Effects of fasting on tissue glucose utilization in conscious resting rats. Major glucose-sparing effect in working muscles. *Biochemical Journal*, 246, 241-244.
- KASALICKY, J., KONOPKOVA, M. & MELICHAR, F. (2001) ¹⁸F-fluorodeoxyglucose accumulation in the heart, brain and skeletal muscle of rats; the influence of time after injection, depressed lipid metabolism and glucose-insulin. *Nuclear Medicine Review*, 4, 39-42.
- KIM, J., LEE, J., IM, S., KIM, S. & MOON, D. (2007) Performance Measurement of the microPET Focus 120 Scanner. *The Journal of Nuclear Medicine*, 48, 1527-1535.
- KLEIN, L., VAN CAMPEN, L., SIESWERDA, G., KAMP, O., VISSER, C. & VISSER, F. (2006) Glucose-Insulin-Potassium Echocardiography Detects Improved Segmental Myocardial Function and Viable Tissue Shortly After Acute Myocardial Infarction. *Journal of American Society of Echocardiography*, 19.
- KREISSL, M., WU, H., STOUT, D., LADNO, W., SCHINDLER, T., ZHANG, X., PRIOR, J., PRINS, M., CHATZIOANNOU, A., HUANG, S. & SCHELBERT, H. (2006) Noninvasive Measurement of Cardiovascular Function in Mice with High-Temporal-Resolution Small-Animal PET. *The Journal of Nuclear Medicine*, 47, 974-980.
- KUDO, T., FUKUCHI, K., ANNALA, A., CHATZIOANNOU, A., ALLADA, V., DAHLBOM, M., TAI, Y., INUBUSHI, M., HUANG, S., CHERRY, S., PHELPS, M. & SCHELBERT, H. (2002) Noninvasive Measurement of Myocardial Activity

- Concentrations and Perfusion Defect Sizes in Rats With a New Small-Animal Positron Emission Tomograph *Circulation* 106, 118-123.
- LAFOREST, R., SHARP, T., ENGELBACH, J., FETTING, N., HERRERO, P., KIM, J., LEWIS, J., ROWLAND, D., TAI, Y. & WELCH, M. (2005) Measurement of input functions in rodents: challenges and solutions. *Nuclear Medicine and Biology* 32, 679-685.
- LAUGHLIN, M., TAYLOR, J., CHESNICK, A. & BALABAN, R. (1994) Nonglucose substrates increase glycogen synthesis in vivo in dog heart. *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism*, 267, H217-H223.
- LECOMTE, R., CROTEAU, E., GAUTHIER, M., ARCHAMBAULT, M., ALIAGA, A., ROUSSEAU, J., CADORETTE, J., BENARD, F. & BENTOURKIA, M. (2003) Cardiac PET Imaging of Blood Flow, Metabolism and Function in Normal and Infarcted Rats. *IEEE*, 1853-1857.
- LIVINGSTON, J. (1999) Genetically engineered mice in drug development. *Journal of Internal Medicine* 245, 627-635.
- LOENING, A. & GAMBHIR, S. (2003) AMIDE: A Free Software Tool for Multimodality Medical Image Analysis. *Molecular Imaging*, 2, 131-137.
- LOMBARDO, A., RIZZELLO, V., GALIUTO, L., NATALE, L., GIORDANO, A., REBUZZI, A., LOPERFIDO, F., CREA, F. & MASERI, A. (2006) Assessment of resting perfusion defects in patients with acute myocardial infarction: comparison of myocardial contrast echocardiography, combined first-pass/delayed contrast-enhanced magnetic resonance imaging and ^{99m}Tc-sestamibi SPECT. *The International Journal of Cardiovascular Imaging*, 22, 417-428.
- LOPASCHUK, G. (1992) The relative contribution of glucose and fatty acids to ATP production in hearts reperfused following ischemia. *Cell Biochemistry*, 116, 111-116.
- LOPASCHUK, G. (1994) Regulation of fatty acid oxidation in the mammalian heart in health and disease. *Biochimica et Biophysica Acta*, 263-276.
- LYSIAK, W., LILLY, K., DILISA, F., TOTH, P. & BIEBER, L. (1988) Quantitation of the Effect of L-Carnitine on the Levels of Acid-soluble Short-chain Acyl-CoA and CoASH in Rat Heart and Liver Mitochondria. *The Journal of Biological Chemistry*, 263, 1151-1156.
- MACHAC, J., BACHARACH, S., BATEMAN, T., BAX, J., BEANLANDS, R., BENGEL, F., BERGMANN, S., BRUNKEN, R., CASE, J., DELBEKE, D., DICARLI, M., GARCIA, E., GOLDSTEIN, R., GROPLER, R., TRAVIN, M., PATTERSON, R. & SCHELBERT, H. (2006) Positron emission tomography myocardial perfusion and glucose metabolism imaging. *Journal of Nuclear Cardiology*, 13, 121-151.
- MATSUMURA, A., MIZOKAWA, S., TANAKA, M., WADA, Y., NOZAKI, S., NAKAMURA, F., SHIOMI, S., OCHI, H. & WATANABE, Y. (2003) Assessment of microPET performance in analyzing the rat brain under different types of anesthesia: comparison between quantitative data obtained with microPET and ex vivo autoradiography. *NeuroImage*, 20, 2040-2050.

- MCGARRY, J., MILLS, S., LONG, C. & FOSTER, D. (1983) Observations on the affinity for carnitine, and malonyl-CoA sensitivity, of carnitine palmitoyltransferase I in animal and human tissues. *Biochemical Journal*, 214, 21-28.
- MÉNARD, S., CI, X., FRISCH, F., NORMAND, F., CADORETTE, J., OUELLET, R., VAN LIER, J., BENARD, F., BENTOURKIA, M., LECOMTE, R. & CARPENTIER, A. (2009) Mechanism of Reduced Myocardial Glucose Utilization During Acute Hypertriglyceridemia in Rats. *Molecular Imaging and Biology*, 11, 6-14.
- MOULE, S. & DENTON, R. (1997) Multiple signaling pathways involved in the metabolic effects of insulin. *American Journal of Cardiology*, 80, 41-49.
- MUECKLER, M. (1994) Facilitative glucose transporters. *European Journal of Biochemistry*, 219, 713 - 725.
- NIKOLAOU, K., FLOHR, T., KNEZ, A., RIST, C., WINTERSPERGER, B., JOHNSON, T., REISER, M. & BECKER, C. (2004) Advances in cardiac CT imaging: 64-slice scanner. *The International Journal of Cardiovascular Imaging*, 20, 535-540.
- NOM-062-ZOO-1999 (1999) Norma Oficial Mexicana "Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de animales de laboratorio".
- NUUTILA, P., KOIVISTO, V., KNUUTI, J., RUOTSALAINENE, U., TERAS, M., HAATARANTA, M., BERGMANN, J., SOLIN, O., VOIPIO, L. & WEGELIUS, U. (1992) Glucose-free fatty acid cycle operates in human heart and skeletal muscle *in vivo*. *Journal of Clinical Investigation*, 89, 1767-1774.
- OPIE, L. (1968) Metabolism of the heart in health and disease. *American Heart Journal*, 76, 685-693.
- OPIE, L. & HESSE, B. (1997) Radionuclide tracers in the evaluation of resting myocardial ischemia and viability. *European Journal of Nuclear Medicine*, 24, 1183-1193.
- PAKZAD, F., ELL, P. & CARRIÓ, I. (2005) Molecular imaging in animal models of disease-every little detail counts. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*, 32, 899-900.
- PEÑUELAS, I., ABIZANDA, G., GARCÍA, M., GAVIRA, J., MARTÍ, J., ECAY, M., COLLENTES, M., GARCÍA, J., GARCÍA, A., MAZO, M., BARBA, J., RICHTER, J. & PRÓSPER, F. (2007) ¹⁸F-FDG metabolism in a rat model of chronic infarction. *Nuklearmedizin*, 46, 149-154.
- PESSIN, J. & BELL, G. (1992) Mammalian Facilitative Glucose Transporter Family: Structure and Molecular Regulation. *Annual Review of Physiology*, 54, 911-930.
- PHELPS, M. (2002) Nuclear medicine, molecular imaging, and molecular medicine. *The Journal of Nuclear Medicine*, 43, 13N-14N.
- PRINTZ, R., KOCH, S., POTTER, L., O'DOHERTY, R., TIESINGA, J., MORTIZ, S. & GRANNER, D. (1993) Hexokinase II mRNA and gene structure, regulation by insulin, and evolution. *Journal of Biological Chemistry*, 268, 5209-5219.
- RANDLE, P., GARLAND, P., HALES, C. & NEWSHOLME, E. (1963) The glucose fatty-acid cycle: its role in insulin sensitivity and the metabolic disturbances of diabetes mellitus. *Lancet*, 785-789.
- READER, A. & ZWEIT, J. (2001) Developments in whole-body molecular imaging of live subjects. *Trends in Pharmacological Sciences*, 22, 604-607.

- RODGERS, C. (1998) Fuel metabolism During Exercise: The Role of the Glucose-Fatty Acid Cycle in Mediating Carbohydrate and Fat Metabolism. *Canadian Journal of Applied Physiology*, 23, 528-533.
- ROPERS, D. (2006) Multislice Computer Tomography for Detection of Coronary Artery Disease. *Journal of Interventional Cardiology*, 19, 574-582.
- RUDERMAN, N., SAHA, A., VAVVAS, D. & WITTERS, L. (1999) Malonyl-CoA, fuel sensing, and insulin resistance. *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism*, 276, 1-18.
- SADDIK, M., GAMBLE, J., WITTERS, L. & LOPASCHUK, G. (1993) Acetyl-CoA carboxylase regulation of fatty acid oxidation in the heart. *Journal of Biological Chemistry*, 268, 25836-25845.
- SANTALUCÍA, T., CAMPS, M., CASTELLG, A., MUNOZ, P., NUEL, A., TESTAR, X., PALACIN, M. & ZORZANO, A. (1992) Developmental Regulation of GLUT- 1 (Erythroid/HepG2) and GLUT-4 (Muscle/Fat) Glucose Transporter Expression in Rat Heart, Skeletal Muscle, and Brown Adipose Tissue. *Endocrinology*, 130, 837-846.
- SCHNEIDER, C., NGUYEN, V. & TAEGTMEYER, H. (1991) Feeding and fasting determine postischemic glucose utilization in isolated working rat hearts. *American Journal of Physiology*, 260, 542-548.
- SHELLEY, H. (1961) Cardiac glycogen in different species before and after birth. *British Medical Bulletin*, 17, 137-156.
- SHOGHI, K., GROPLER, R., SHARP, T., HERRERO, P., FETTING, N., SU, Y., MITRA, M., KOVACS, A., FINCK, B. & WELCH, M. (2008) Time Course of Alterations in Myocardial Glucose Utilization in the Zucker Diabetic Fatty Rat with Correlation to Gene Expression of Glucose Transporters: A Small-Animal PET Investigation. *The Journal of Nuclear Medicine*, 49, 1320-1327.
- SIDOSSIS, L. (1998) The Role of Glucose in the Regulation of Substrate Interaction During Exercise. *Canadian Journal of Applied Physiology*, 23, 558-569.
- SOSSI, V. (2005) MicroPET imaging: in vivo biochemistry in small animals. *Journal of Neural Transmission*, 112, 319-330.
- SU, Y. (2006) Review of 18F-FDG synthesis and quality control. *Biomedical Imaging and Intervention Journal*, 2, e57.
- TAEGTMEYER, H. (1994) Energy metabolism of the heart: from basic concepts to clinical applications. *Current Problems in Cardiology*, 19, 57-116.
- TAEGTMEYER, H., HEMS, R. & KREBS, H. (1980) Utilization of energy providing substrates in the isolated working rat heart. *Biochemical Journal*, 186, 701-711.
- TAEGTMEYER, H. & OVERTURF, M. (1988) Effects of moderate hypertension on cardiac function and metabolism in the rabbit. *Hypertension*, 11, 416-426.
- TAI, Y., RUANGMA, A., ROWLAND, D., SIEGEL, S. & LAFOREST, R. (2005) Performance Evaluation of the microPET Focus: A Third-Generation microPET Scanner Dedicated to Animal Imaging. *The Journal of Nuclear Medicine*, 46, 455-463.
- TAMAKI, N. (2002) Principles and Practice of Positron Emission tomography. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins.

- WEBER, S. & BAUER, A. (2004) Small animal PET: aspects of performance assessment. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*, 31, 1545-1555.
- WELCH, M., LEWIS, J., KIM, J., SHARP, T., DENCE, C., GROPLER, R. & HERRERO, P. (2006) Assessment of Myocardial Metabolism in Diabetic Rats Using Small-Animal PET: A Feasibility Study. *The Journal of Nuclear Medicine*, 47, 689-697.
- WOLFE, R. (1998) Metabolic interactions between glucose and fatty acids in humans. *The American Journal of Clinical Nutrition* 67, 19-26.
- WU, J., INUBUSHI, M., SUNDARESAN, G., SCHELBERT, H. & GAMBHIR, S. (2002) Positron Emission Tomography Imaging of Cardiac Reporter Gene Expression in Living Rats. *Circulation*, 106, 180-183.