



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA
Y ZOOTECNIA**

EVALUACIÓN DE METABOLISMO BASAL
CEREBRAL DE MONO VERDE AFRICANO
(*Cercopithecus aethiops*) MEDIANDE FLUOR-2-
DEOXI-D-GLUCOSA MARCADA CON 18-FLUOR
Y TOMOGRAFÍA POR EMISIÓN DE POSITRONES

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

**M E D I C O
V E T E R I N A R I O
Z O O T E C N I S T A**

P R E S E N T A :

RAFAEL OJEDA FLORES



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.



FACULTAD DE CIENCIAS
UNAM

DIRECTORA DE TESIS: BIOL. ARACELI VENCES MEJÍA

2006

DEDICATORIA

Esta tesis va con una muy especial dedicatoria a mi padre **Elías** y mi madre **María** por su paciencia y completo apoyo.

A mi hermana **Karla**, por estar conmigo incondicionalmente; a **Erika**, por conservar siempre mis confidencias y a los pequeños **Dulce** y **Erick** por secundar todas mis locuras.

A **mis abuelas** por su fortaleza; a mi **tía Rosa** por ser la mujer más chévere de mi familia; a mi primo **Pablo**, que siempre será nuestro hermano y a la pequeña **Andrea**, por iluminar mi vida cada vez que la veo.

A mi tío **Juan** y a **Karen** por ser parte importante de mi familia aunque se encuentren lejos.

AGRADECIMIENTOS

A mis padres **Maria** y **Elías** por darme todo su apoyo y libertad.

A mis hermanos **Karla**, **Erika**, **Dulce**, **Erick** y **Pablo** por demostrarme que somos un buen equipo.

A mi novio **Tonatiuh** por todos sus consejos y compartir su vida conmigo, y a **Julia** por enseñarme que no existen límites.

A toda la familia Álvarez del Castillo, **Carlos**, **Elba**, **Julia**, **Maria** y **Emilio** y especialmente a las **Tías**, por considerarme parte de su familia desde el primer momento.

A **Sergio** por estar en muchos momentos difíciles de mi vida y ayudarme a resolverlos, y por todos los conciertos a los que asistimos.

A mi asesora **Araceli Vences** por darme la oportunidad de trabajar en un proyecto tan ambicioso.

A todo el equipo de Toxicología Genética: **Víctor**, **Norma**, **Israel**, **Gaby**, **Alejandra**, **Josefina**, **Silvia**, **Rosario** y **Emilio**, por su paciencia, consejos, amistad y por su colaboración en esta tesis.

A mis sinodales, **Dr. Espinosa**, **Dra. Gonsebatt**, M. en C. **Marco Martínez** y Biol. **Jorge Limón**, por todo el apoyo y sugerencias para mejorar este documento.

Al personal del **Instituto Nacional de Pediatría** por darme las facilidades para concluir con este proyecto.

A **Karla**, a **Vero** y a **David Jehil** por todos los momentos que hemos compartido desde la secundaria.

A **Alma**, **Ana Luisa**, **Mauricio** y **Pamela** por ser amigos incondicionales en éxitos y fracasos.

A **Yurik** por escuchar y aconsejarme en todo momento, por ser una persona incomparable.

A **Bety** y a **Wendy** por ser mis compañeras y amigas desde el principio de la carrera.

A **Edwin**, **Memo**, **Carlos**, **Nayelli**, **Liliana**, **C. Christopher**, **Elisa**, **Diana**, **David**, **Luz**, **Paulina**, **Eugenia**, **Gaby**, **Rocío**, **Sara** y **Lee** por apoyarme y participar en momentos importantes de mi vida, por probar cosas diferentes y poder compartirlo.

A **Sandra Denice** y **Tonatiuh V.** por ser unos excelentes amigos, por su apoyo y sus consejos.

A **Fabiola**, **Nancy**, **Alejandra**, **Martha**, **Miguel**, **Rafa**, **Joram**, **Shariff**, **Roberto**, **Olga** y **Cynthya** por festejar todos nuestros triunfos.

A **Lizbeth** (Licha), **Luis**, **Mike**, **Chucho**, **Paola**, **Abraham**, **Jaime**, **Julio**, **Yoatzin** y **Carlos** por dejarme compartir su amistad con Tonatiuh.

A **Dora**, **Sergio E.** y **César** por sus consejos y por festejar conmigo.

A **Leticia**, **Javier** y **Shahid** por compartir otra etapa con ustedes y por todos los desayunos.

A **Gaby E.**, **Aline**, **Mariano** y **Raúl** y a el grupo de **Neuroquímica** por todas las charlas, la comida y los festejos, por los consejos y el apoyo que me han brindado.

ÍNDICE GENERAL	Pag.
Índice de Figuras	i
Índice de Tablas	ii
Índice de Abreviaturas	iii
I. RESUMEN	1
II. INTRODUCCIÓN.	
1. Biotransformación	2
2. Citocromo P-450	
2.1 Generalidades	4
2.2 Nomenclatura	4
2.3 Estructura	5
2.4 Función	7
2.5 Mecanismo de acción	8
2.6 Polimorfismo genético	9
3. Inhibición	10
4. Inducción	11
4.1 Regulación de la inducción	13
5. Familias del Citocromo P-450	15
5.1 Familia CYP1	15
Subfamilia CYP1A: CYP1A1 y CYP1A2	16
5.2 Familia CYP2	18
Subfamilia CYP2B: CYP2B1 y CYP2B2	18
Subfamilia CYP2E: CYP2E1	19
5.3 Familia CYP3	21
Subfamilia CYP3A: CYP3A2	21
6. Tracto Gastrointestinal	22
7. Citocromo P-450 en Tracto Gastrointestinal	24
7.1 Citocromo P-450 en Esófago	24
7.2 Citocromo P-450 en Estomago	25
7.3 Citocromo P-450 en Intestino Delgado	25
7.4 Citocromo P-450 en Intestino Grueso	26
8. Citocromo P-450 en Hígado	27
9. Agentes inductores	27

III. JUSTIFICACIÓN	31
IV. OBJETIVO	32
V. HIPÓTESIS	33
VI. MATERIAL Y MÉTODOS	
1. Tratamiento de Ratas	34
2. Preparación de Fracción Microsomal	34
3. Determinación de Proteínas	35
4. Electroforesis y análisis de inmunodetección	35
5. Actividad enzimática	37
5.1 Dealquilación de Alkoxiresorufina (AROD)	37
5.2 Hidroxilación de p-Nitrofenol (PNPH)	37
5.3 Dimetilación de Eritromicina (END)	38
6. Análisis Estadístico	38
VII. RESULTADOS	
1. Citocromo P-450 en Hígado	39
2. Citocromo P-450 en Esófago	42
3. Citocromo P-450 en Estomago	45
4. Citocromo P-450 en Intestino Delgado	48
5. Citocromo P-450 en Intestino Grueso	51
VIII. DISCUSIÓN	54
IX. REFERENCIAS	59

RESUMEN

OJEDA FLORES RAFAEL. Evaluación de metabolismo basal cerebral de mono verde africano (*Cercopithecus aethiops*) mediante Fluor-2-Deoxi-D-Glucosa marcada con 18-Flúor y tomografía por emisión de positrones (bajo la dirección de: MVZ MSc Alejandro Rodríguez Monterde, Dr. Juan Fernández Ruiz y MVZ Enrique Pinzón Estrada)

La tomografía por emisión de positrones (PET) es una técnica utilizada en medicina nuclear en la que se marcan moléculas de interés biológico con elementos radioactivos. Estas moléculas son administradas al interior del organismo para su posterior detección y representación de su distribución corporal mediante imágenes bidimensionales y tridimensionales. En este estudio se utilizaron 8 monos verdes africanos (*Cercopithecus aethiops*), 4 hembras y 4 machos (edad promedio 10.44 ± 4.66 años y peso promedio 4.01 ± 1.2 Kg). La flúor-2-deoxi-D-glucosa (FDG) se sintetizó en el Departamento de Radiofarmacia de la Unidad PET-Ciclotrón, UNAM, fue disuelta en solución salina y administrada por vía intravenosa a una dosis de 0.14 mCi/kg. Se utilizó una cámara PET con sistema de cuerpo completo ECAT EXACT HR+ (Siemens/CTI. Knoxville, TN, USA) en modo tridimensional. Se realizó la adquisición de la PET en emisión de 10 minutos. Se realizó una cuantificación mediante áreas de interés. Las imágenes fueron analizadas basándose en imágenes obtenidas mediante Resonancia Magnética. Se obtuvieron diferentes grupos de estructuras con distintos niveles de metabolismo. Este estudio permitió estandarizar la metodología para la realización de estudios de imagenología funcional mediante PET-FDG en primates no humanos y se obtuvo información básica sobre el metabolismo cerebral de mono verde africano en un estado basal para desarrollar un punto de comparación indispensable para la evaluación de pruebas experimentales.

INTRODUCCIÓN

Los estudios realizados por Watson y Crick sobre la estructura del ADN en 1958 abrieron un nuevo campo de estudio en el cual se busca revelar el código genético, así como su regulación y expresión, que constituyen la base de la función fenotípica de las células de un organismo. Actualmente existe gran interés en determinar los patrones de la expresión genética que codifican para los procesos biológicos normales como la replicación, migración, traducción de señales de comunicación celular y otras funciones que son realizadas regularmente por las células de cualquier ser viviente. Al mismo tiempo se ha avanzado en el descubrimiento de las bases moleculares de enfermedades que resultan de alteraciones en la regulación de la expresión genética normal. Estas alteraciones en la expresión genética pueden ser el resultado de interacciones medioambientales, deficiencias hereditarias, errores en el desarrollo y procesos de envejecimiento. Como resultado los investigadores de las ciencias biológicas trabajan para identificar fallas fundamentales causantes de enfermedades y desarrollar correcciones de éstas a nivel molecular. A este campo emergente de estudio se le ha denominado “Medicina Molecular”.

Como parte fundamental para el avance de la medicina molecular se ha requerido del desarrollo de técnicas de imagenología para estudiar la función de moléculas, células, órganos, sistemas y organismos completos; organismos que van desde bacterias, roedores de laboratorio, mamíferos mayores, hasta seres humanos. En cada caso particular las técnicas de imagen molecular facilitan el estudio de su estructura y fisiología. Una de estas técnicas de imagenología molecular es la tomografía por emisión de positrones (PET, por sus siglas en inglés), que se enfoca al estudio de funciones normales y alteraciones

patológicas de organismos vivos de distintas especies como roedores y primates (incluido el hombre), desde diferentes niveles, como pueden ser: molecular, celular, tisular o el estudio del organismo completo.

Los principios fundamentales de los ensayos biológicos que se usan en pruebas desarrolladas con ayuda de la PET, se originan de las ciencias bioquímicas, biológicas y farmacológicas. A la fecha, más de 500 pruebas han sido desarrolladas marcando distintas enzimas, transportadores, ligandos de receptores, hormonas, anticuerpos, péptidos, nucleótidos, fármacos y drogas. ^{7, 14, 16, 17, 24, 28, 29, 31, 34, 35.}

El avance tecnológico desde 1895 con la aplicación de los rayos X dentro de la medicina y posteriormente el ultrasonido, la tomografía computarizada, la resonancia magnética, la tomografía por emisión de positrones, y otras técnicas de medicina nuclear han permitido adentrarse en el conocimiento de la anatomía y la fisiología en distinta medida de una amplia variedad de sistemas biológicos. ^{6, 11, 15, 18, 20, 24, 31.}

GENERALIDADES DE IMAGENOLÓGÍA.

Rayos X. Radiografías simples

Se trata de una radiación electromagnética penetrante con una longitud de onda menor que la luz visible producida bombardeando un blanco con electrones de alta velocidad. Las placas de rayos X se obtienen al hacer pasar un rayo a través del paciente y formar así una sombra de rayos X en la placa. Los tejidos corporales absorben cantidades diferentes de rayos X. Un porcentaje de la radiación que entra al paciente sale por el lado contrario y

golpea una pantalla fluorescente, que produce la luz que la placa capta. Existen cuatro densidades básicas que se pueden observar en las placas simples: aire, grasa, líquidos (sangre y tejidos blandos) y hueso. También se pueden observar estructuras metálicas y medios de contraste. Los medios de contraste que se usan regularmente contienen bario, en el caso de estudios de tubo digestivo, y yodo cuando se administra por vía intravenosa. Las radiografías simples o estándar corresponden a una presentación bidimensional de información tridimensional. Es por ello que con frecuencia se necesitan más de una proyección.^{21, 31, 32}

Fluoroscopia

Los procedimientos fluoroscópicos son aquellos en los que el registro se realiza de manera momentánea en pantallas fluorescentes mediante radiación. Proporcionan imágenes para la observación de movimientos o fenómenos cambiantes que desean estudiarse dinámicamente.^{21, 31, 32}

Ultrasonido

La ultrasonografía utiliza el principio de pulso-eco, como en el radar para crear imágenes. Mediante ello logra ondas de sonido de alta frecuencia (de 2 a 10 MHz) dirigidas en un haz recto y delgado que parten de un material piezoeléctrico que, como efecto de altos voltajes aplicados en millonésimas de segundo, cambia sus dimensiones, vibra y así envía ondas y recibe ecos, los que ampliados electrónicamente pueden exhibirse en la pantalla fluorescente de un cinescopio, una pantalla de un tubo de rayos catódicos, con diversos patrones. La imagen se forma al enviar sonido con alta frecuencia al interior del paciente y valorar la fuerza del eco y el tiempo que le toma regresar, estos ecos se producen por

interfaces o cambios de densidades tisulares. En esta prueba no hay exposición a la radiación ionizante. La aplicación de ultrasonografía de tiempo real da lugar a que el médico observe las imágenes en marcos secuenciales que simulan una película. Esta cualidad permite valorar estructuras con movimiento rápido, como el corazón. Además del uso de ecos para generar imágenes, también se pueden analizar las frecuencias del eco que regresa. Este análisis se denomina Doppler y permite identificar sangre en movimiento y valorar dirección y magnitud del flujo.^{21, 31, 32}

Tomografía computarizada (TC o TAC)

La TC se obtiene al hacer pasar a través del paciente un rayo X con rotación en abanico, midiendo la transmisión por medio de su cuerpo en miles de puntos. Una computadora ordena los datos y calcula con exactitud la cantidad de rayos X que absorbió el paciente en un punto determinado mediante análisis físico-matemáticos de la densidad de los tejidos y poniendo al agua como 0 se representan en un cinescopio diferencias calificadas entre -500 y +500 (unidades Hounsfield, denominadas así en honor del inventor) con el tomógrafo de la primera generación. En la actualidad la distinción va de -1 000 a +1 000. Algunos equipos analizan hasta +3 000, lo que proporciona una alta definición. Debido a que los puntos de información se encuentran en la memoria de la computadora, es posible hacer una ventana de la imagen y obtener diversas imágenes grabadas que resalten estructuras y tejidos distintos sin exponer al paciente a radiación adicional.^{21, 31, 32}

Resonancia Magnética (RM)

La RM genera imágenes al aplicar campos magnéticos variables al cuerpo. El campo magnético alinea los átomos. Cuando se libera el campo, se generan ondas de radio. La

frecuencia de las ondas de radio que se emiten tiene relación con el medio ambiente químico de los átomos. Se pueden generar imágenes de RM (que son básicamente mapas de hidrógeno) realizando un análisis computarizado de estos datos. Los campos magnéticos y pulsos de radiofrecuencia usados en RM no producen radiaciones ionizantes y por tanto no tienen los riesgos y consecuencias de ellas. Si bien existen muchas técnicas para obtener imágenes de RM, se conocen dos tipos básicos de imágenes: T1 y T2. Las imágenes T1 muestran la grasa como una señal blanca o brillante, en tanto que el agua (o el líquido cefalorraquídeo, LCR) es oscuro. En una imagen T2 la grasa se observa oscura, y la sangre, el edema y el LCR se advierten blancos. Desde el punto de vista clínico, el beneficio de la aplicación de RM es enorme en el reconocimiento de tejidos blandos y el estudio de enfermedades cardiovasculares, torácicas, musculoesqueléticas y articulares; digestivas, urinarias, genitales, neurológicas y en el campo de las neoplasias.^{21, 31, 32}

Gammagrafía o Centelleografía

Son procedimientos que emplean radionúclidos (isótopos radiactivos artificiales), productos del bombardeo de los elementos padres en una pila atómica o en un ciclotrón; son emisores de radiación gamma, sobre todo, que ingeridos o inyectados (en coloides o soluciones marcadas con el radioisótopo de elección) se fijan, concentran o fluyen en algún órgano de acuerdo con las características químicas de la sustancia que acarrea al radioisótopo. Los radionúclidos que se emplean en el diagnóstico son muy numerosos en la actualidad; destacan el ¹³¹I para tiroides, el ⁶⁷galio en abscesos y el ⁹⁹Tecnecio para el esqueleto entre otros. Para la realización de estudios existen distintos tipos de cámaras de centelleo: Cámaras fijas, de barrido, lineales o axiales que pueden realizar exámenes para una región o todo el cuerpo. Para el análisis se detectan y registran por conteo los fotones emitidos por

el radioisótopo, lo que permite reconocer órganos y el sitio del paso o la acumulación del isótopo radiactivo.^{21, 31, 32}

Termografía

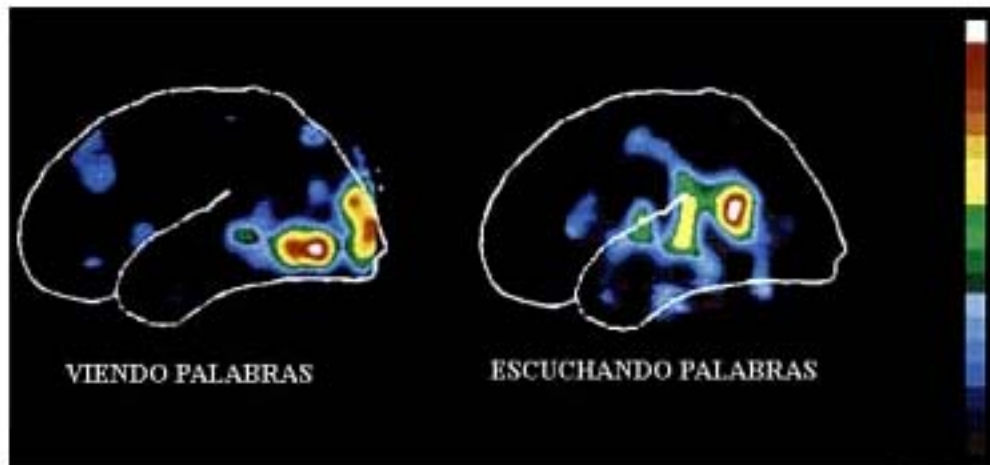
La termografía proviene de las palabras latinas “calor” y “escribir”. Se define como una herramienta complementaria de diagnóstico, no invasiva, que proyecta imágenes a colores de la temperatura de la superficie de la piel. La termografía sirve en la detección de áreas de inflamación. Esta capacidad de evaluar cambios en la temperatura de forma no invasiva, hace que la termografía sea una herramienta más, que contribuye para algunas afecciones específicas.³⁷

GENERALIDADES DE LA PET

La tomografía por emisión de positrones es una técnica utilizada en medicina nuclear en la que se marcan moléculas de interés biológico con elementos radioactivos. Estas moléculas son administradas al interior de organismos para su posterior detección y representación de su distribución corporal mediante imágenes bidimensionales y tridimensionales. Es una técnica mínimamente invasiva*, cuantitativa y con una alta sensibilidad, que ofrece información complementaria a la información anatómica que se obtiene con otras técnicas como los rayos X, el ultrasonido, la tomografía axial computarizada, entre otras.^{11, 14, 15, 18, 24, 26, 27, 31, 35}

*Se entiende como procedimiento médico invasivo aquel en el que alguna parte del cuerpo es penetrada por una punción o incisión

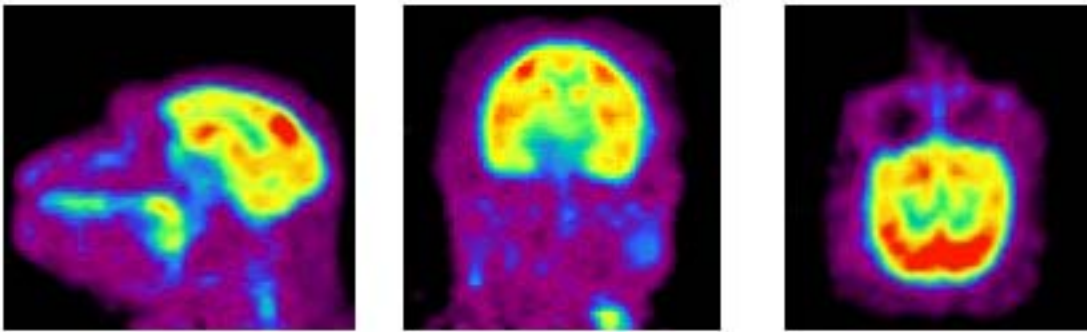
La información que ofrece la PET es de tipo molecular, lo que la convierte en una valiosa herramienta para el estudio regional de fenómenos biológicos, fisiológicos, bioquímicos y farmacológicos, permite además, identificar la alteración de procesos metabólicos y funcionales de tejidos y órganos incluso antes de que se presenten alteraciones anatómicas. La PET también ha sido utilizada para estudiar la respuesta cerebral a estimulaciones de tipo sensitivo, motor, cognitivo, así como las producidas por drogas y fármacos, además de proveer de datos que permiten establecer relaciones estructura/función. ^{6, 11, 15, 24, 27, 28, 31, 35}



Aplicaciones

La PET ofrece mediciones mínimamente invasivas de procesos fisiológicos y bioquímicos en cualquier parte del cuerpo del animal o del ser humano estudiado. Dependiendo de las propiedades del trazador aplicado, la PET puede ser utilizada para medir gran variedad de procesos y variables fisiológicas. Algunas de las aplicaciones de la PET incluyen la medición de flujo y volumen sanguíneo regional, el metabolismo del oxígeno, la síntesis de proteínas, la actividad enzimática, el metabolismo de la glucosa, la densidad y afinidad de receptores de neurotransmisores y fármacos y el pH regional. ^{6, 7, 11, 14, 15, 17, 24, 28, 31, 34, 35}

Con la intención de estudiar la función cerebral se han desarrollado distintos modelos y herramientas, desde estudios en animales que implican necesariamente la muerte del mismo hasta técnicas de imagenología nuclear molecular. Al utilizar técnicas de imagen mínimamente invasivas, como la PET en animales de laboratorio, los procesos biológicos pueden ser medidos repetidamente, antes y después de ser sometidos a procesos quirúrgicos y/o farmacológicos, sin la necesidad de sacrificar al animal.



Las técnicas actuales de imagenología funcional como la PET entre otras, facilitan el estudio de la función cerebral a varios niveles, desde interacciones moleculares hasta procesos que dan lugar a diferentes comportamientos de los organismos. Dichas técnicas de neuroimagen funcional permiten la descripción de la función cerebral y las interacciones de áreas cerebrales encargadas de tareas sensoriales, motoras o cognitivas.^{3, 8, 10, 13, 15, 22, 23,}

24, 25, 28, 35, 35

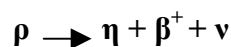
La PET se basa en la medición de cambios metabólicos que son consecuencia directa de alteraciones en la actividad neuronal, lo que permite estudiar funciones mentales, tareas específicas, trastornos patológicos, además de proveer información acerca de las vías y de la localización anatómica de los efectos de fármacos y drogas. Así mismo, usando PET y

FDG para medir el metabolismo cerebral de la glucosa, se puede evaluar la maduración cerebral y la neuroplasticidad.^{6, 8, 14, 17, 19, 28}

Bases Físicas

Los elementos radioactivos que se utilizan en la PET son elementos emisores de positrones. El positrón es la antipartícula del electrón: Tiene la misma masa y la carga eléctrica es igual, pero su signo es positivo.

El átomo es la unidad básica de la materia. Cada átomo consta de un núcleo muy denso formado por protones y neutrones, además de electrones que se mantienen girando en órbitas alrededor de éste. Todos estos elementos se mantienen en constante movimiento dando lugar a diferentes niveles de energía permitidos. Todos los átomos tienden a mantenerse en un estado de mínima energía. Cuando un átomo presenta exceso de energía, ésta es liberada mediante procesos llamados decaimientos radioactivos; el decaimiento por emisión de positrones, también conocido como decaimiento β^+ , es un proceso en donde el núcleo emite un positrón y una partícula neutra conocida como neutrino, es decir un protón (p) del núcleo es transformado en un neutrón (n) más un positrón (β) y un neutrino (ν).



Los núcleos inestables con exceso de protones decaen regularmente por emisión de positrones. Mediante el decaimiento radioactivo se libera energía, misma que se utiliza para poner en movimiento al positrón y al neutrino; la carga neta del núcleo atómico disminuye ya que pierde un protón.

Los elementos emisores de positrones mas comúnmente utilizados, ^{15}O , ^{11}C , ^{13}N y ^{18}F son producidos mediante aceleradores de partículas, usualmente un ciclotrón. El núcleo de un elemento estable debe transformarse en otro núcleo inestable a través de un proceso de bombardeo con partículas pesadas tales como neutrones o protones; el núcleo puede absorber la partícula incidente y liberar el exceso de energía por medio de radiación electromagnética, neutrones, protones o partículas más pesadas. Se deben acelerar las partículas incidentes a altas velocidades para superar la fuerza de repulsión eléctrica del núcleo.

Para la producción de isótopos radioactivos se pueden acelerar iones negativos de hidrógeno (1 protón y 2 electrones) a 11 MeV* mediante campos producidos por electromagnetos. Una vez que el haz de iones de hidrógeno ha alcanzado la energía deseada, éste es extraído del ciclotrón pasando a través de una fina malla de carbono que retira los 2 electrones. El protón resultante al percibir el campo magnético actuando en la dirección opuesta, deja el ciclotrón y se estrella en el blanco.

El emisor de positrones ^{18}F (flúor-18) compuesto por 9 protones y 9 neutrones, es resultado del bombardeo con un haz de protones al ^{18}O (oxígeno-18) compuesto por 8 protones y 10 neutrones, es decir el oxígeno captura un protón y emite un neutrón.



* El electrón-volt, eV, es una unidad de energía y se define como aquella que adquiere un electrón al atravesar una diferencia de potencial de un volt, en el vacío. Un MeV es un millón de electrón-volts.

Tras el bombardeo, el material blanco contiene altas cantidades de isótopo emisor de positrones en forma de un precursor marcador. Este precursor se utiliza para marcar el trazador biológico. Este proceso debe realizarse rápidamente antes de que el isótopo decaiga.

El hecho de que estos elementos emisores de positrones presenten vidas medias en el orden de minutos a horas resulta ideal para el interés médico, ya que si fueran demasiado cortas, decaerían antes de su detección y de ser muy largas, continuarían emitiendo positrones terminada la prueba, todo esto hace imprescindible que las pruebas se realicen en cercanía de un ciclotrón. (Cuadro 1). Además estos periodos cortos de vida media ofrecen ventajas desde el punto de vista de protección radiológica, ya que los sujetos son sometidos a dosis de radiación más bajas en comparación con otras técnicas radiológicas.

Propiedades físicas de isótopos emisores de positrones comúnmente usados			
Isótopo	Vida media (min)	Energía (max) (keV)	Rango (mm) (ap)
Carbono-11	20.4	960	0.69
Nitrógeno-13	9.96	1190	0.91
Oxígeno-15	2.07	1720	1.44
Flúor-18	109.8	640	0.38

Cuadro 1. Propiedades físicas de los principales isótopos utilizados en PET, (ap) Alcance promedio.

Producción de Radiofármacos.

Con los isótopos ^{15}O , ^{11}C , ^{13}N y ^{18}F ; (que forman parte de la mayoría de las moléculas más abundantes en los medios biológicos) se pueden marcar una gran cantidad de moléculas de

interés en la investigación y en el diagnóstico clínico. El marcaje se realiza mediante módulos automáticos situados en el interior de celdas calientes plomadas. Se pueden usar compuestos similares a la glucosa, al agua, al amoníaco, distintos fármacos y drogas. El compuesto químico marcado se conoce como radiomolécula o radiofármaco. Cualquier molécula o compuesto de interés biológico puede ser potencialmente marcada para su estudio en el organismo, sin modificar sus propiedades químicas. La molécula más comúnmente utilizada es la flúor-2-deoxi-D-glucosa (FDG) marcada con ^{18}F . Una vez marcadas las moléculas son sometidas a un minucioso control de calidad radioquímica y farmacéutico (esterilidad, ausencia de pirógenos) previo a la administración al individuo por vía intravenosa.

La ubicación natural del hidrógeno, el carbono y el oxígeno, principales elementos que se utilizan como marcadores radioactivos, dentro de moléculas orgánicas, le da a la PET una gran flexibilidad para marcar una amplia gama de sustratos sin alterar su actividad biológica. La alta sensibilidad de la PET también permite el estudio de la distribución y la cinética de compuestos potencialmente peligrosos como drogas y toxinas, sin efectos indeseables para el organismo debido a que se requieren concentraciones muy por debajo de las necesarias para ejercer su efecto farmacológico o tóxico.

Aniquilación y detección.

El positrón tras ser emitido pierde energía en el medio hasta encontrarse con un electrón libre y forma un sistema similar al del átomo de hidrógeno, denominado positronio. El positronio se aniquila y la pequeña masa del positrón y el electrón se convierte en energía electromagnética en forma de dos fotones emitidos en la misma dirección y en sentido

contrario. La energía de estos dos fotones siempre es la misma, 511 keV, por lo que los sistemas de detección son idénticos para cualquier isótopo. Tras la detección de estos dos fotones con una diferencia de aproximadamente 9 nanosegundos “en coincidencia”, se puede determinar la última posición del positrón antes de su aniquilación. Este proceso denominado detección en coincidencia permite conocer la distribución del radiofármaco dentro del organismo y constituye la base de la tomografía por emisión de positrones.

Los positrones emitidos deben tener una baja energía para evitar que recorran una distancia grande dentro del organismo antes de aniquilarse. Dicha distancia, es decir la que existe entre el sitio donde ocurre el decaimiento y el sitio donde ocurre la aniquilación del positrón es dependiente de su energía y se conoce como alcance promedio, el cual es de pocos milímetros regularmente. Al detectar el sitio donde ocurren las aniquilaciones se determina indirectamente el sitio donde ocurren los decaimientos proporcionando así información sobre la concentración y distribución espacial del radiofármaco en los tejidos.

Flúor-2-deoxi-D-glucosa.

El trazador más utilizado para el estudio del metabolismo cerebral es la flúor-2-deoxi-D-glucosa marcada con 18-flúor (^{18}F -FDG). Su mecanismo de transporte es análogo al de la glucosa. Tras su administración por vía intravenosa, llega al interior de las células por difusión pasiva pero facilitada por proteínas transportadoras, cuya acción se incrementa por efecto de la insulina y por la hipoxia. En el interior de las células, la FDG es fosforilada por la acción de la enzima hexoquinasa, pasando a FDG-6 Fosfato. La reacción es reversible por efecto de la glucosa-6 Fosfatasa. La acción de la hexoquinasa es potenciada por la hipoxia, mientras que la insulina inhibe la acción de la glucosa 6 Fosfatasa. A partir de aquí

la FDG-6 Fosfato ya no sigue las vías metabólicas de la glucosa, quedando atrapada en el interior de las células.

En el momento de realizar el estudio (40 minutos aproximadamente después de la inyección), la mayor parte de la radiación detectada en los tejidos proviene de aquellos con bajas concentraciones de glucosa- 6 Fosfatasa, como son el cerebro y el músculo cardíaco. Otros tejidos, como el músculo, hígado, piel e intestino, con más altas concentraciones de esta enzima en el momento de la obtención de las imágenes PET, acumulan pequeñas cantidades de FDG, produciendo en la imagen un bajo nivel de actividad de fondo. Así mismo, se visualiza actividad urinaria en riñones y vejiga.

La evaluación del metabolismo de la FDG en las imágenes PET se puede realizar mediante análisis visual y mediante análisis cuantitativo o semicuantitativo. En el caso concreto del tejido cerebral, la FDG es fosforilada al igual que la glucosa pero no sigue las vías metabólicas de glucólisis o gluconeogénesis, por lo cual queda atrapada en el tejido cerebral. El tiempo de espera necesario para una adecuada captación de FDG es de aproximadamente 40 minutos, siendo su distribución en el cerebro directamente proporcional al metabolismo.

Sistema de detección.

El escáner para tomografía por emisión de positrones es un instrumento sofisticado de imagen que provee de mediciones tomográficas que permiten analizar las concentraciones tisulares de compuestos marcados con elementos emisores de positrones. Al tiempo que proporciona información espacial, la PET tiene resolución temporal que va de segundos a

minutos, que es suficiente para evaluar distintos procesos biológicos. En conjunto, la información espacial y temporal que se obtiene del escáner de PET provee los datos necesarios para transformar las secuencias de imágenes grabadas en tiempo, en ensayos analíticos de procesos biológicos.

La imagen tomográfica en PET es formada mediante el registro de los dos rayos gamma de 511-keV emitidos tras el decaimiento por emisión de positrones y su consecuente aniquilación usando un anillo o múltiples anillos de cristales centelladores. Dado que los dos rayos gamma son emitidos simultáneamente con un ángulo de 180° se utilizan técnicas electrónicas de coincidencia (requiriendo que los dos rayos gamma sean detectados con un intervalo muy corto de tiempo) para determinar la línea de emisión. Los dos parámetros claves para un escáner de tomografía por emisión de positrones son la resolución espacial (la habilidad de localizar eventos con exactitud) y la sensibilidad (el número de eventos registrados por unidad de dosis inyectada).

Los detectores utilizados en los equipos comerciales de neuroimagen de PET están basados en materiales cristalinos, densos y claros conocidos como cristales centelladores que se encuentran unidos a tubos fotomultiplicadores.

Cuando un rayo gamma interactúa con un cristal centellador, parte de la energía depositada es transformada en un destello de luz visible. La cantidad de luz producida en un cristal centellador por una interacción típica de 511-keV consiste en unos cuantos miles de fotones por lo que es extremadamente débil. Para producir una señal medible, el cristal centellador es acoplado ópticamente a un tubo fotomultiplicador en una de sus caras para detectar la

luz de centello. La luz incidente sobre el fotocátodo del tubo fotomultiplicador genera electrones que son acelerados por un campo eléctrico a través de varias etapas de multiplicación hacia la terminal de salida. Por cada electrón liberado al fotocátodo aproximadamente 10^6 electrones son producidos en la terminal de salida del tubo fotomultiplicador, produciendo un pulso de corriente sustancial que es fácilmente detectado. Para la combinación de cristal centellador/tubo fotomultiplicador se utilizan materiales altamente reflejantes como el óxido de magnesio o el sulfato de bario para tener una alta eficiencia en la colección de luz.

La unidad de detección más ampliamente utilizada en los equipos modernos comerciales de PET consiste en un bloque segmentado de cristales centelladores de Germanato de bismuto (GBO) acoplado a cuatro tubos fotomultiplicadores. El GBO está cortado de manera que los cristales no están completamente aislados uno de otro por lo que se mantienen acoplados ópticamente. Los equipos de PET modernos consisten en varios de estos bloques detectores para obtener una alta sensibilidad. El equipo utilizado en este estudio, un ECAT EXACT HR (Siemens/CTI, Knoxville, TN, USA) consiste en tres anillos de 112 bloques cada uno para un total de cerca de 20,000 elementos de GBO por lo que se pueden medir varios millones de líneas de respuesta. El diámetro del escáner es de 82 cm y el campo axial es de 15 cm. ^{4, 8, 11, 19, 24, 26, 27, 31, 35}

Propiedades de materiales centelladores utilizados en PET				
Centellador	Número atómico efectivo	Tiempo de decaimiento (μseg)	Campo de luz relativo	Longitud de onda de emisión (nm)
Ioduro de sodio (NaI(Tl))	50	0.23	100	410
Germanato de bismuto (GBO)	74	0.30	15	480
Oxiortosilicato de lutecio (LSO)	66	0.04	60-75	420

Cuadro 2. Propiedades de los principales materiales utilizados en cristales centelladores para equipos de PET.

Corrección de datos.

Las imágenes de PET pueden llegar a ser completamente cuantitativas, mediante procedimientos de corrección adecuados, dado que existe una relación lineal entre la concentración de la prueba biológica y la densidad de conteo medida en las imágenes PET. El factor de corrección más importante es aquel requerido para corregir la atenuación del rayo gamma ocasionada por el propio tejido. Los rayos gamma emitidos de la corteza cerebral alcanzarán más fácilmente los detectores que aquellos que son emitidos del centro del cerebro debido a que deberán viajar a través de menos tejido. Se pueden calcular factores de corrección de atenuación de PET mediante el uso de una fuente externa emisora de positrones.

El equipo de PET además de detectar líneas de coincidencia “verdaderas” es decir, la señal generada tras la detección de dos fotones opuestos en coincidencia provenientes de una misma aniquilación, es capaz de detectar otras dos clases de eventos que contaminan la información. Primeramente, las coincidencias aleatorias o accidentales, que se obtienen al detectar rayos gamma provenientes de dos aniquilaciones en lugares distintos dentro de la ventana de tiempo de coincidencia y las coincidencias de dispersión, que se generan cuando

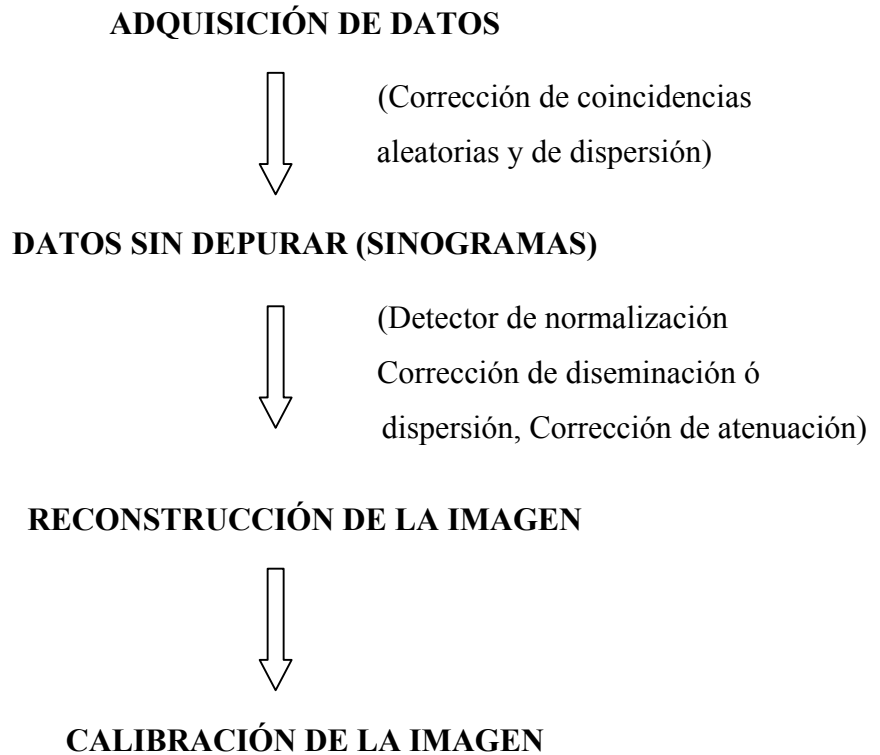
uno o ambos rayos gamma se dispersan en el sujeto y cambian su dirección y energía pero aún se detectan en coincidencia. Estos eventos serían posicionados incorrectamente y resultaría en una reducción del contraste de las imágenes. Los equipos modernos de PET discriminan estos eventos mediante distintas técnicas de corrección para obtener imágenes de alta resolución.

Existen otras dos correcciones importantes para la reconstrucción de imágenes PET. Cada uno de los miles de detectores del sistema, tiene una eficiencia ligeramente distinta. Estas diferencias en la eficiencia pueden ser medidas y corregidas tras el escaneo de una fuente de radiación constante. Por último, a tasas de conteo muy altas, el equipo de PET tiene un límite electrónico para distinguir los eventos individuales. Esto es conocido como tiempo muerto (dead time) y resulta en un conteo dependiente de la tasa de eventos perdidos. Se puede corregir midiendo las tasas de conteo en los detectores y teniendo el conocimiento del “dead time” de cada uno de los pasos de la cadena de procesamiento electrónico.

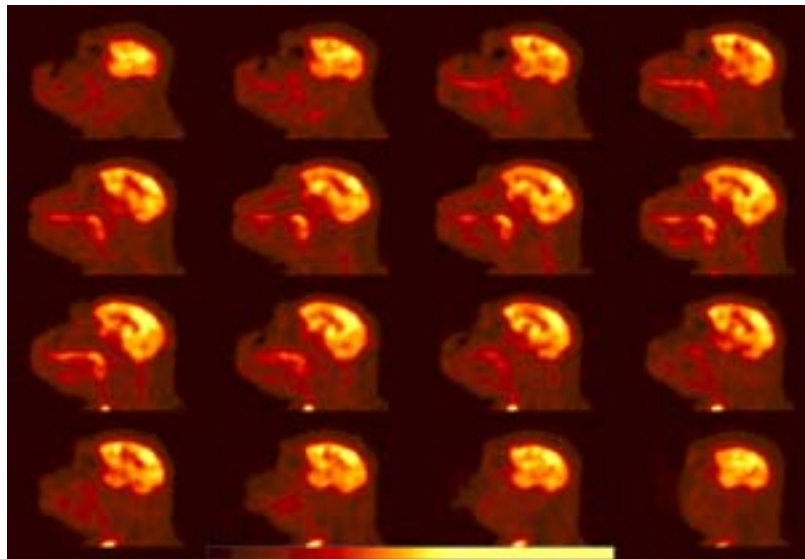
Reconstrucción de imágenes.

El proceso de reconstrucción de imágenes consiste en convertir las señales detectadas por el escáner PET en imágenes transeccionales del cerebro representando la distribución de la radiomolécula emisora de positrones. Los datos de proyección sin depurar detectados por los anillos del escáner PET son representados como sinogramas para su primer almacenamiento antes de reconstruir las imágenes. Un sinograma es una matriz bidimensional de datos de proyección, donde el eje vertical representa el ángulo de la línea de proyección y el eje horizontal representa el desplazamiento de la línea de proyección con respecto al centro del campo de visión, por lo que cada detección en coincidencia de un par

de cristales detectores es representado por un elemento único en la matriz del sinograma. Estos sinogramas son reconstruidos mediante complejos algoritmos para obtener las imágenes PET con carácter cuantitativo. (Cuadro 3)^{8, 19, 24, 26, 27, 31, 35}

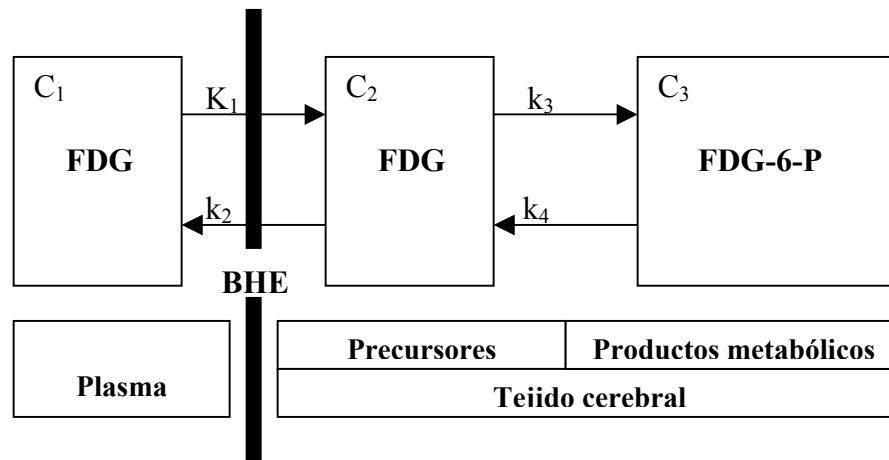


Cuadro 3. Esquema general de corrección de datos y reconstrucción de imágenes obtenidas mediante PET.



Modelos cinéticos de trazadores.

Mediante estudios de PET es posible monitorear la distribución espacial de pruebas biológicas en función de tiempo. Este componente temporal permite calcular la distribución y concentración de reactivos, productos y procesos biológicos, mediante cálculos matemáticos basándose en el curso del tiempo de la distribución del trazador en una serie de imágenes PET y en la concentración sanguínea. Los modelos de compartimientos son los modelos más utilizados en PET como modelos cinéticos de trazadores. Estos modelos son simplificaciones de sistemas biológicos, en donde cada compartimiento representa microambientes o procesos que permiten analizar las tasas de intercambio entre ellos. Un compartimiento puede representar un isótopo emisor de positrones en una localización particular (intracelular, extracelular, vascular) o unirse a una partícula química específica. Los modelos son formulados por ecuaciones diferenciales que describen el intercambio entre compartimientos. (Cuadro 4).^{31,35}



Cuadro 4. Ejemplo de un modelo cinético de trazadores medido mediante imágenes de PET.

Mono verde africano (*Cercopithecus aethiops*).

Existen cuatro grupos principales de primates no humanos, los prosimios, los primates del nuevo mundo, los primates del viejo mundo y los grandes simios o antropoides. Los prosimios se encuentran en África y Asia, y son el más pequeño de los 4 grupos. Los primates del nuevo mundo se encuentran principalmente en Centro y Sudamérica, varían en tamaño y la mayoría son arbóreos, algunos tienen colas prensiles. Los primates del viejo mundo se localizan principalmente en Asia y África, también presentan variaciones en el tamaño y la mayoría son terrestres. A este grupo pertenece el mono rhesus (*Macaca mulatta*), uno de los primates usados más ampliamente en investigación, junto con el mono verde (*Cercopithecus aethiops*). El grupo de los grandes simios comprende a cuatro especies mayores: el gorila, el chimpancé, el orangután y el gibón. Los gorilas y chimpancés son originarios de África y los orangutanes y los gibones provienen de Asia.

En este estudio se utilizó una especie africana de primates conocida comúnmente como mono verde (*Cercopithecus aethiops*). Esta especie pertenece a la familia de los cercopitecinos, originalmente se encontraban distribuidos en diversas zonas de África, cuya distribución comprende la mayor parte del continente al sur del desierto de Sahara desde Etiopía hasta Senegal y Sudáfrica. Sin embargo, durante la colonización fueron introducidos en algunas islas del Caribe como Saint Kitts. Habita en las regiones de vegetación no muy alta, como las sabanas. Se encuentra presente cerca del agua, incluyendo agua salobre, y en regiones semiáridas. Se mantiene en grupos que normalmente cuentan de 8 a 50 de ellos, aunque se han visto grupos de hasta 140 individuos. Estos grupos mantienen un área de acción de 10 a 518 hectáreas.

El animal adulto presenta una longitud de cabeza y cuerpo de 30 a 60 cm. La cola mide de 40 a 76 cm. Los machos pesan alrededor de 5 Kg. y las hembras 3.5 Kg. aproximadamente. La piel del abdomen de ambos sexos y el escroto del macho es azul con el pene de color rojo. La cara, patas y manos son de color negro, el pelaje en la parte dorsal del cuerpo es verde olivo y en la zona ventral es blanco. Presentan colmillos largos y filosos, son omnívoros y consumen principalmente partes de árboles, frutas, flores, artrópodos y pequeños vertebrados.

Hembras y machos son sexualmente maduros a los 30 meses de edad. Las hembras presentan un ciclo estral de 32 a 34 días y producen una cría después de 162 a 165 días de gestación y mantienen una clara actividad de crianza y maternaje por aproximadamente 6 meses.

Los monos verdes son animales sociales y en condiciones naturales forman grupos heterogéneos de multimachos y varias hembras, en los cuales los machos suelen encontrarse en la periferia, más dispersos del grupo. Habitualmente vocalizan poco y cuando lo hacen está principalmente asociado a llamados de alarma ante depredadores comunes como aves, víboras o leopardos.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Estudios basales de metabolismo cerebral

Contar con un estudio de las condiciones basales del organismo es fundamental para evaluar sistemas biológicos complejos. Definir un estado basal del sistema nervioso central, el sistema más complejo susceptible de ser medido, resulta en una tarea difícil. Se han realizado mediciones fisiológicas mediante PET y distintos trazadores para estudiar la función cerebral en distintas especies de animales de experimentación y en seres humanos. En la actualidad el mono verde africano se utiliza como modelo de experimentación para diversas tareas conductuales y cognitivas, para la evaluación de estados patológicos, así como para valorar la eficacia de tratamientos quirúrgicos, farmacológicos y genéticos de enfermedades que afectan al hombre. Un caso en particular es el de la Enfermedad de Parkinson, que se caracteriza por muerte neuronal y una clara disfunción neuroquímica. Para la evaluación tanto del modelo animal con primates no humanos, como de distintas terapias experimentales de dicho síndrome, se utiliza la información obtenida mediante tomografía por emisión de positrones. Para este tipo de estudios es necesario contar con una prueba control del metabolismo cerebral del modelo a utilizar, es decir, una evaluación en estado basal.^{9, 20, 28, 30, 33, 38}

HIPÓTESIS

Mediante el estudio de la distribución y la concentración de la flúor-2-deoxi-D-glucosa marcada con 18-flúor y la tomografía por emisión de positrones se obtendrá una evaluación comparativa del metabolismo basal de áreas cerebrales de interés en el mono verde africano (*Cercopithecus aethiops*).

OBJETIVO

Estandarizar la metodología para la realización de estudios de imagenología funcional mediante FDG-PET en primates no humanos como modelo de estudio dentro del área de neurociencias.

Realizar una medición metabólica basal de áreas de interés de mono verde africano (*Cercopithecus aethiops*) para contar con cuantificaciones que permitan un punto de comparación indispensable para la evaluación de pruebas experimentales posteriores.

MATERIAL Y MÉTODO

Se utilizaron 8 monos verdes africanos (*Cercopithecus aethiops*), 4 hembras y 4 machos (edad promedio 10.44 ± 4.66 años y peso promedio 4.01 ± 1.2 Kg) que se encuentran en el Bioterio de Primates no humanos del Laboratorio de Neuropsicología del Edificio de Investigación de la Facultad de Medicina de la UNAM. Los animales se mantuvieron en jaulas individuales en ambiente controlado, con ciclos de luz/oscuridad de 12:12 horas, con 12 - 15 recambios de aire por hora, a una temperatura de 24 ± 1 °C y una humedad relativa de 50 ± 10 %, con libre acceso a agua y alimento comercial (High Protein Monkey Chow de Lab Chows, Purina®) así como frutas y vegetales frescos.

Los primates no humanos se encuentran bajo diversos programas de enriquecimiento ambiental. Los animales son mantenidos en condiciones concordes a la NOM-062-ZOO-1999: Especificaciones técnicas para la producción cuidado y uso de los animales de

laboratorio y al Reglamento para el cuidado de los animales en la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.

Procedimiento para la Tomografía por Emisión de Positrones con fluoro-18 deoxiglucosa.

Los primates no humanos fueron privados de alimento y agua 12 horas previas a la realización del estudio. Dentro del Bioterio, los animales fueron anestesiados con Clorhidrato de Tiletamina/Clorhidrato de Zolazepam (Zoletil 50 de Virbac®) a dosis de 4 mg/Kg. de peso por vía intramuscular en el interior de sus jaulas individuales mediante un sistema de compresión mecánica. Posteriormente, cada animal fue trasladado al área de quirófano, donde fue rasurado y canalizado en la vena safena con un catéter intravenoso de 24_G X 3/4” y se mantuvo la vía de acceso con solución Hartmann. El animal fue trasladado al área de escáner de la unidad PET-Ciclotrón de la Facultad de Medicina. Ya en la camilla del escáner, con ayuda de un laringoscopio con hoja pediátrica, el sujeto fue intubado con una sonda endotraqueal de tamaño acorde al animal y fue conectado al equipo de anestesia (SIARE Major international 394 modelo CF2GMCV). A partir de este momento, el mono fue inducido con Isoflurano a dosis de 5 % y mantenido posteriormente a dosis de 1 a 2 % ventilado con un volumen tidal promedio de 65 a 70 ml y una frecuencia de 17 a 20 respiraciones por minuto.

Se empleó una cámara PET con sistema de cuerpo completo ECAT EXACT HR+ (Siemens/CTI. Knoxville, TN, USA) en modo tridimensional. Este sistema cubre un campo axial de 14.5 cm, con 72 cortes axiales, de 2 mm de grosor, con una resolución de 4.5 –5.8 mm en dirección transversal y 4.9-8.8 mm en dirección axial.

La FDG fue sintetizada en el Departamento de Radiofarmacia de la Unidad PET-Ciclotrón, UNAM. El Fluor-18 se recibió con kriptofix para hacer una reacción nucleofílica, se evaporó con acetonitrilo a 110 grados centígrados. Posteriormente entró en contacto con el triflato de manosa para marcarse y la síntesis finalizó con una hidrólisis con ácido clorhídrico. Se cuenta con un Acelerador RDS-111 con un Campo magnético promedio de 1.2 T y una frecuencia de resonancia de 72 MHz para el marcado del Fluor-18.

La flúor-2-deoxi-D-glucosa marcada con ^{18}F se administró por vía intravenosa a una dosis de 0.14 mCi/kg disuelta en solución salina. El periodo de distribución de la FDG fue de 40 minutos. Tras esperar este tiempo, el animal fue colocado dentro de la camilla del equipo de neuroimagen orientando su cabeza en el eje orbitomeatal y se ajustaron la altura y posición correctas con ayuda de un colimador láser, la cabeza fue fijada con un sujetador de acrílico con el propósito de mantener inmóvil al animal durante el estudio.

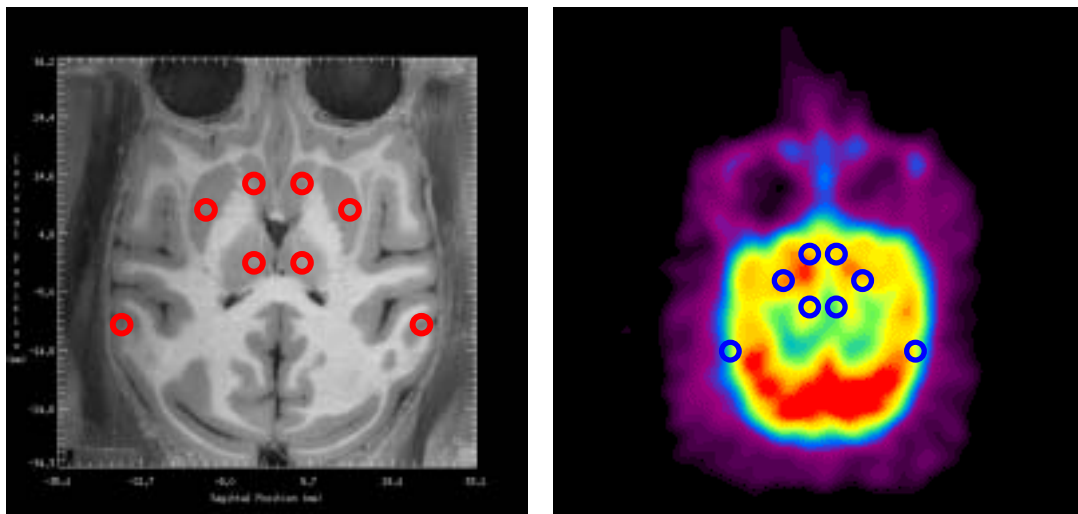
Se inició la adquisición de la PET y se ratificó su correcto posicionamiento mediante una adquisición en emisión de 3 minutos. Posteriormente se realizó una adquisición en emisión de 10 minutos obteniendo 72 cortes axiales. Se realizó una adquisición en transmisión utilizando una fuente de $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ para la posterior corrección de atenuación. La reconstrucción se realizó en una matriz de 128 x 128 unidades de imagen (píxel) con una amplificación de 2.5, utilizando un método con 6 iteraciones y 16 subsets. Se utilizó un FWHM de 4 mm y un filtro tipo Shepp.

El animal fue colocado sobre un colchón térmico para regular la temperatura durante el estudio ya que el área de escáner se mantiene fría debido a requerimientos propios del equipo.

Al finalizar el estudio, cada animal se mantuvo en oxigenación alrededor de 5 minutos y se suspendió el suministro de anestésico, se retiró el acceso intravenoso y posteriormente se retiró el tubo endotraqueal. El sujeto fue trasladado a un cuarto de recuperación en el Laboratorio de Neuropsicología, se monitoreó su recuperación y 2 horas después fue devuelto a su jaula. El primate se alimentó normalmente al día siguiente.

El análisis de las imágenes obtenidas en el estudio se realizó mediante la cuantificación de regiones de interés (ROI's) basándose en imágenes de resonancia magnética para la ubicación anatómica de las estructuras cerebrales a estudiar. El ROI de forma circular ocupó un área constante de 0.094629788 cm^2 .







Se analizaron un total de 606 ROI's en 72 cortes axiales en cada uno de los ocho sujetos.



Se cuantificaron las siguientes áreas de interés:

Cerebro completo	Hemisferio Izquierdo
Hemisferio Derecho	Tálamo
Globo pálido externo	Globo pálido interno
Putamen	Cabeza del núcleo caudado
Sustancia Blanca	Cuerpo calloso
Corteza occipital	Corteza frontal
Corteza parietal	Corteza temporal
Amígdala	Hipocampo
Mesencéfalo	Sustancia Negra
Cerebelo	Puente

Después de la cuantificación del total de los ROIs, se calculó la media de captación del cerebro completo. Este valor representa la media de consumo cerebral contra el cual se comparó el consumo de cada una de las áreas estudiadas. Posteriormente se diseñó una escala colorimétrica que representa los porcentajes de activación de las diferentes áreas con respecto a la media de consumo cerebral.

20,0 a 29,9 %	
10,0 a 19,9 %	
0,0 a 09,9 %	
-0,0 a -09,9 %	
-10,0 a -19,9 %	
-20,0 a -29,9 %	

El primero de los ocho animales fue excluido del análisis debido a que se hicieron correcciones metodológicas posteriores a su estudio PET. La evaluación metodológica de dicho sujeto permitió estandarizar variables para la realización de los estudios posteriores, ya que se carecía de la técnica necesaria.

RESULTADOS

Distribución de áreas de interés

Tras el análisis de ROI's, se encontraron 4 áreas que consistentemente se presentaron por arriba del promedio total en todos los animales, 7 áreas con cierta variación en los distintos animales, 3 áreas que se presentaron por debajo del promedio en 6 monos y solo 1 caso atípico y 3 áreas que consistentemente se presentaron por debajo del promedio total de todos los sujetos.

Tal.	7	arriba	Amig.	3	arriba
	0	abajo		4	abajo
G.P.Ext.	7	arriba	C. Par.	2	arriba
	0	abajo		5	abajo
Put.	7	arriba	Hip.	1	arriba
	0	abajo		6	abajo
N. C.	7	arriba	Mes.	1	arriba
	0	abajo		6	abajo
G.P.Int.	5	arriba	C. Tem.	1	arriba
	2	abajo		6	abajo
S. B.	4	arriba	S. N.	0	arriba
	3	abajo		7	abajo
C. Occ.	4	arriba	Cer.	0	arriba
	3	abajo		7	abajo
C. Front.	5	arriba	Pte.	0	arriba
	2	abajo		7	abajo
C. C.	2	arriba			
	5	abajo			

Tabla 1. Distribución de actividad metabólica de las estructuras evaluadas.

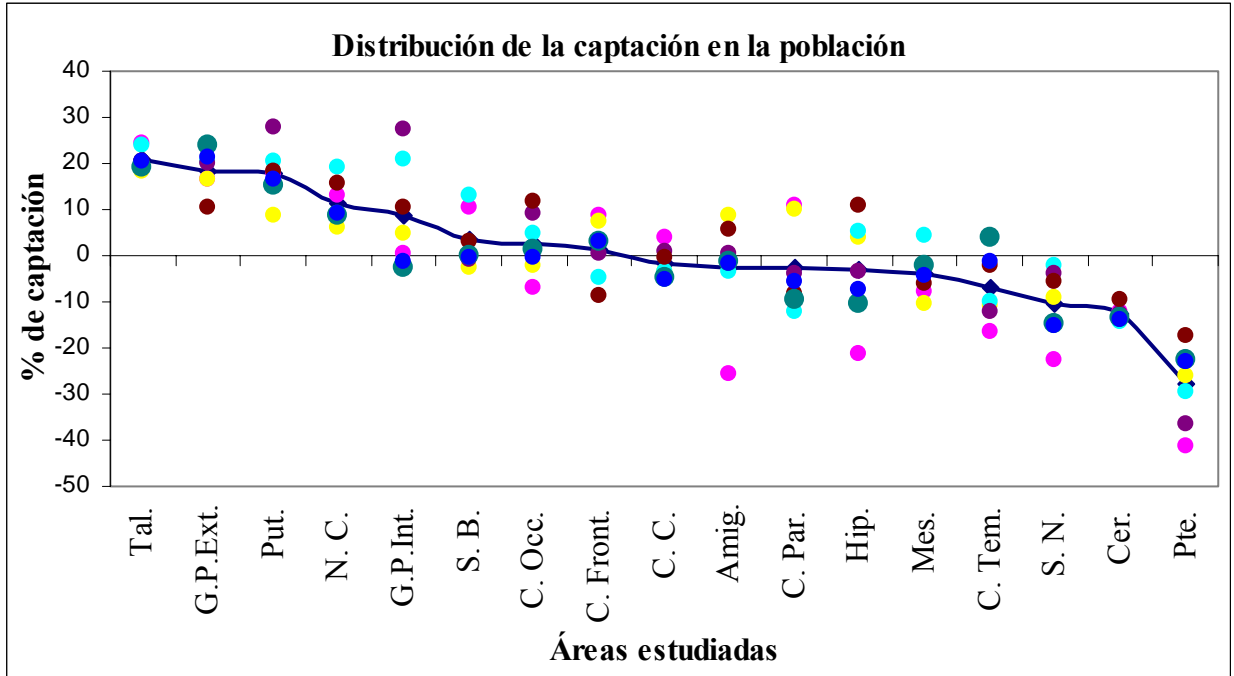
A continuación se presentan las tablas de porcentaje y distribución de FDG en las diferentes áreas analizadas en cada animal. Así como las gráficas de comparación de captación, donde el eje de las X representa las estructuras presentadas por su nivel de captación en el promedio total de los siete sujetos (de mayor a menor).

20,90132584	Tal.		
18,42015024	G.P.Ext.		
17,85286718	Put.		
11,50343203	N. C.		
8,623774776	G.P.Int.		
3,312434656	S. B.	20,0 a 29,9 %	
2,479119267	C. Occ.	10,0 a 19,9 %	
1,28718288	C. Front.	0,0 a 09,9 %	
-1,854523648	C. C.	0,0 a 09,9 %	
-2,473817771	Amig.	10,0 a 19,9 %	
-2,629383409	C. Par.	20,0 a 29,9 %	
-3,209535502	Hip.		
-4,127228001	Mes.		
-7,016084569	C. Tem.		
-10,54311473	S. N.		
-12,72043299	Cer.		
-28,04069295	Pte.		

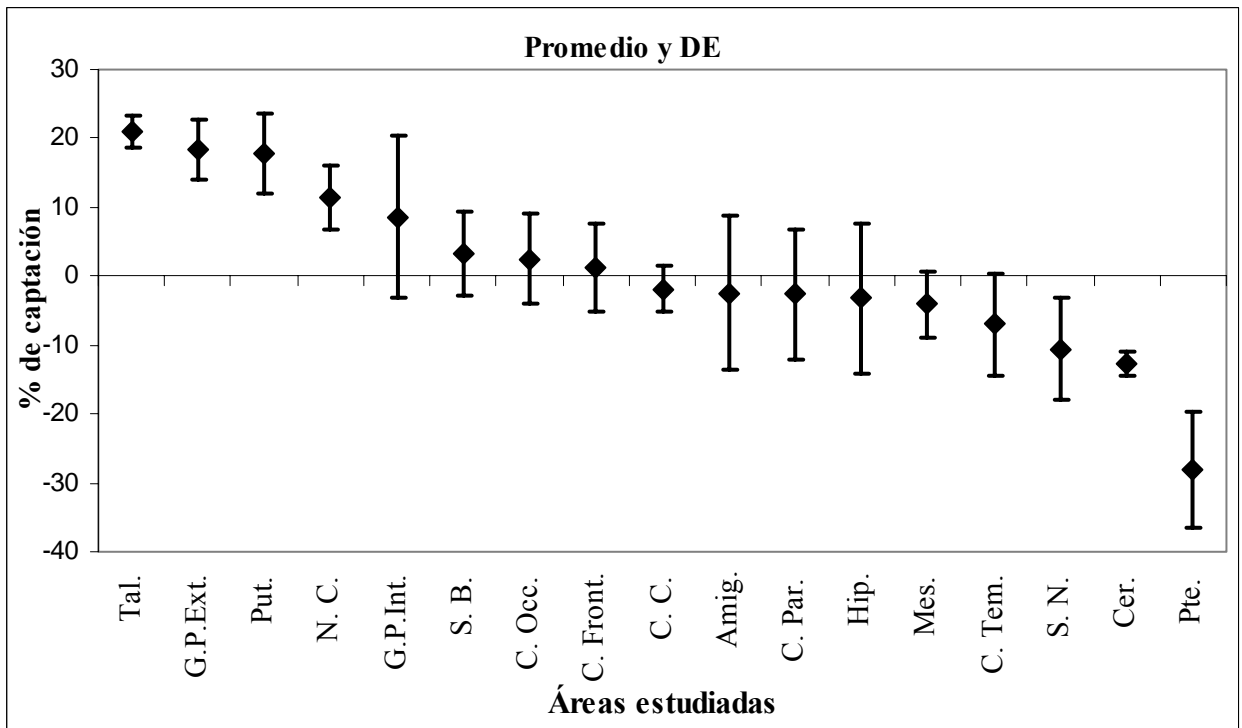
Tabla 2. Cuantificación en porcentaje de las diferentes áreas en promedio de los 7 monos.

Estructura	%	Mono1	Mono2	Mono3	Mono4	Mono5	Mono6	Mono7
Tal.		124,48	118,17	123,75	119,82	120,30	119,22	120,58
G.P.Ext.		116,34	116,70	120,49	119,88	110,32	124,10	121,11
Put.		117,94	108,61	120,35	128,01	118,30	115,27	116,49
N. C.		113,03	106,26	119,24	108,82	115,51	108,53	109,13
G.P.Int.		100,28	104,70	121,08	127,47	110,62	97,35	98,86
S. B.		110,46	97,58	113,23	99,31	102,96	100,12	99,53
C. Occ.		93,13	97,81	104,86	109,11	111,79	101,27	99,38
C. Front.		108,89	107,26	95,34	100,24	91,21	103,16	102,90
C. C.		103,74	96,66	96,43	100,96	99,43	95,00	94,79
Amig.		74,28	108,76	96,32	100,56	105,64	98,75	98,37
C. Par.		111,03	109,98	87,63	95,96	91,94	90,64	94,42
Hip.		78,62	104,00	105,26	96,57	110,69	89,75	92,66
Mes.		92,08	89,69	104,26	97,97	93,94	97,72	95,45
C. Tem.		83,26	89,31	89,86	88,03	97,69	104,02	98,71
S. N.		77,47	90,71	97,76	96,09	94,31	85,08	84,77
Cer.		87,89	86,62	85,54	87,57	90,56	86,60	86,16
Pte.		58,75	73,79	70,38	63,53	82,63	77,58	77,06

Tabla 3. Cuantificación en porcentaje de las diferentes áreas por mono.



Gráfica 1. Distribución de la captación de FDG en la población.



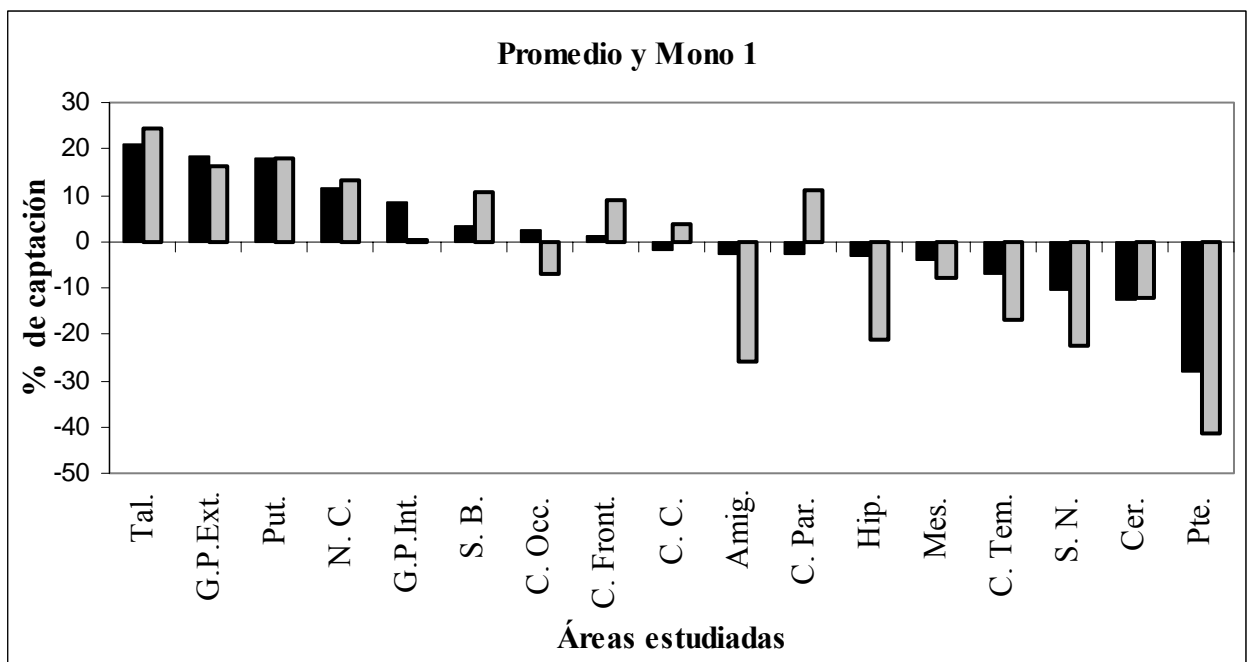
Gráfica 2. Promedio y Desviación estándar.

Análisis estadístico

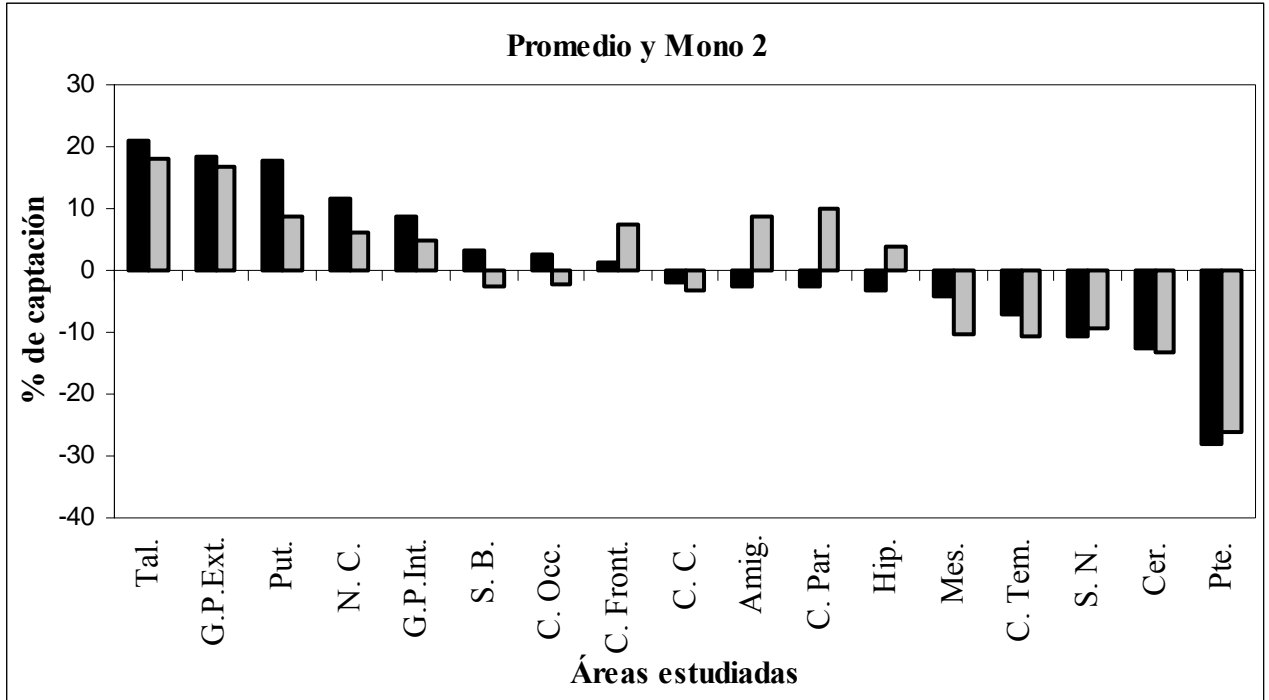
Para el análisis estadístico de las distintas estructuras cerebrales se aplicó la prueba de análisis de varianza de Kruskal-Wallis para rangos ordenados y se encontraron diferencias estadísticas entre las distintas estructuras ($P = 0.0001$).

Posteriormente se aplicó un análisis Pos- Hoc de Student-Newman-Keuls que permitió agrupar las estructuras en subgrupos como se muestra en las tablas que se presentan en el apéndice 1

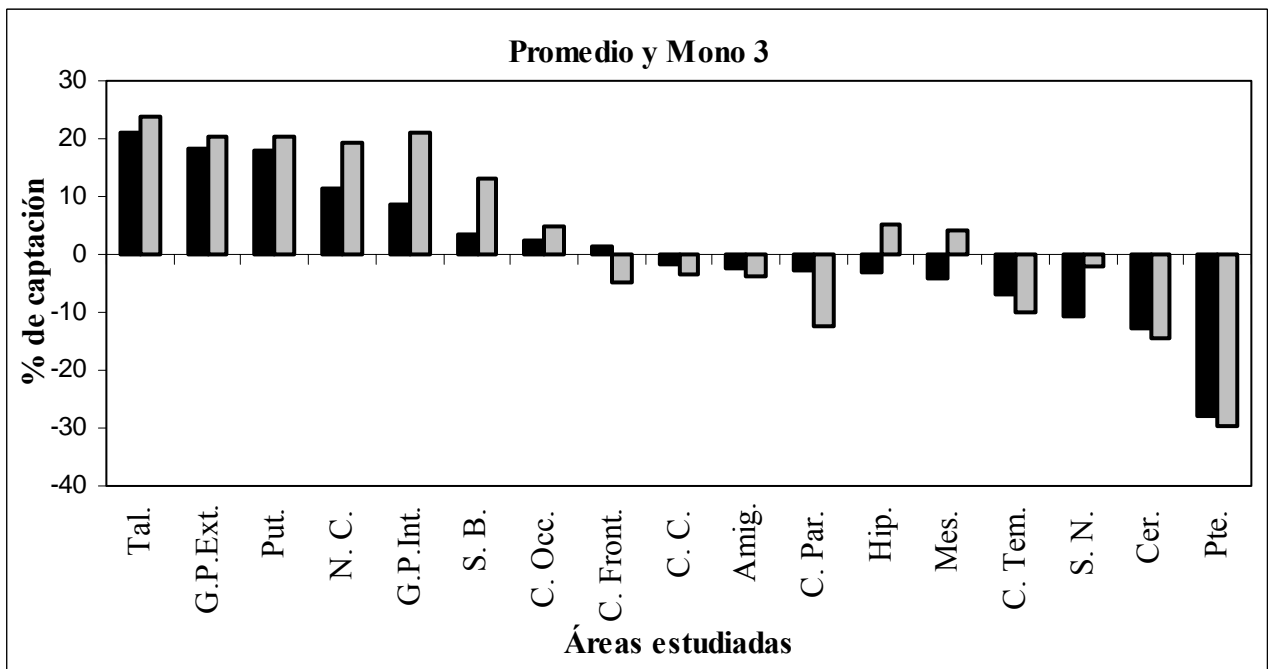
Gráficas por sujeto



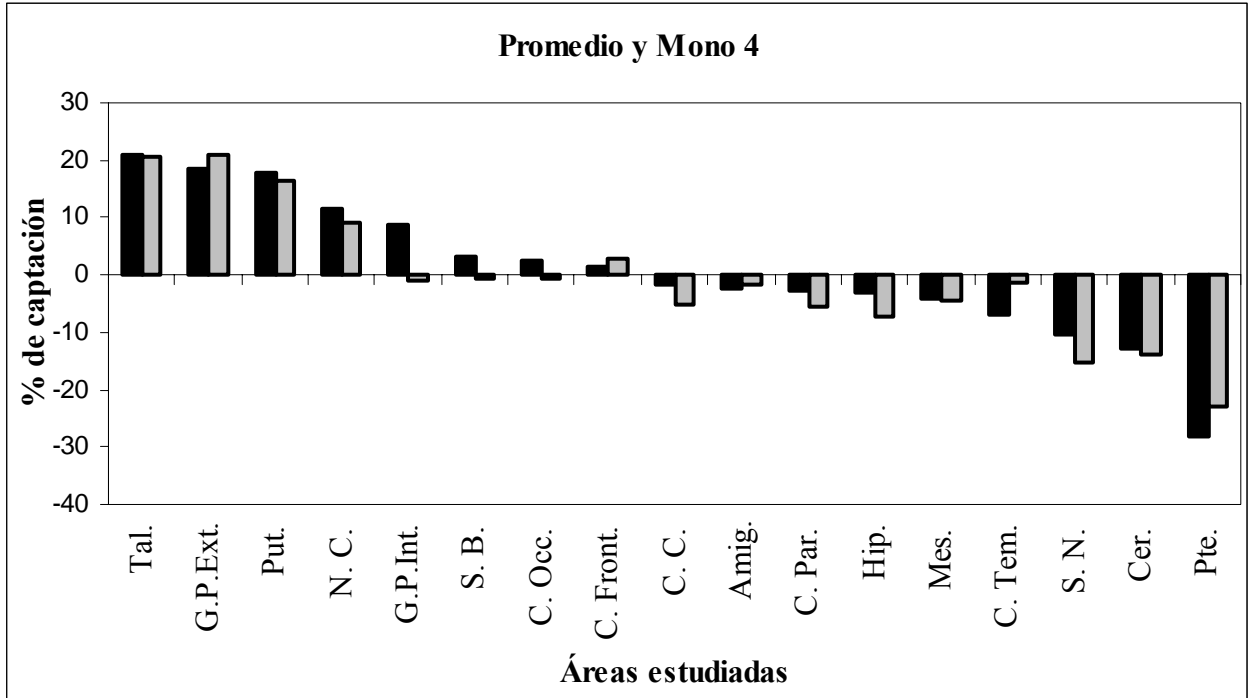
Gráfica 3. Comparación del Promedio ■ y el sujeto 1 ▒



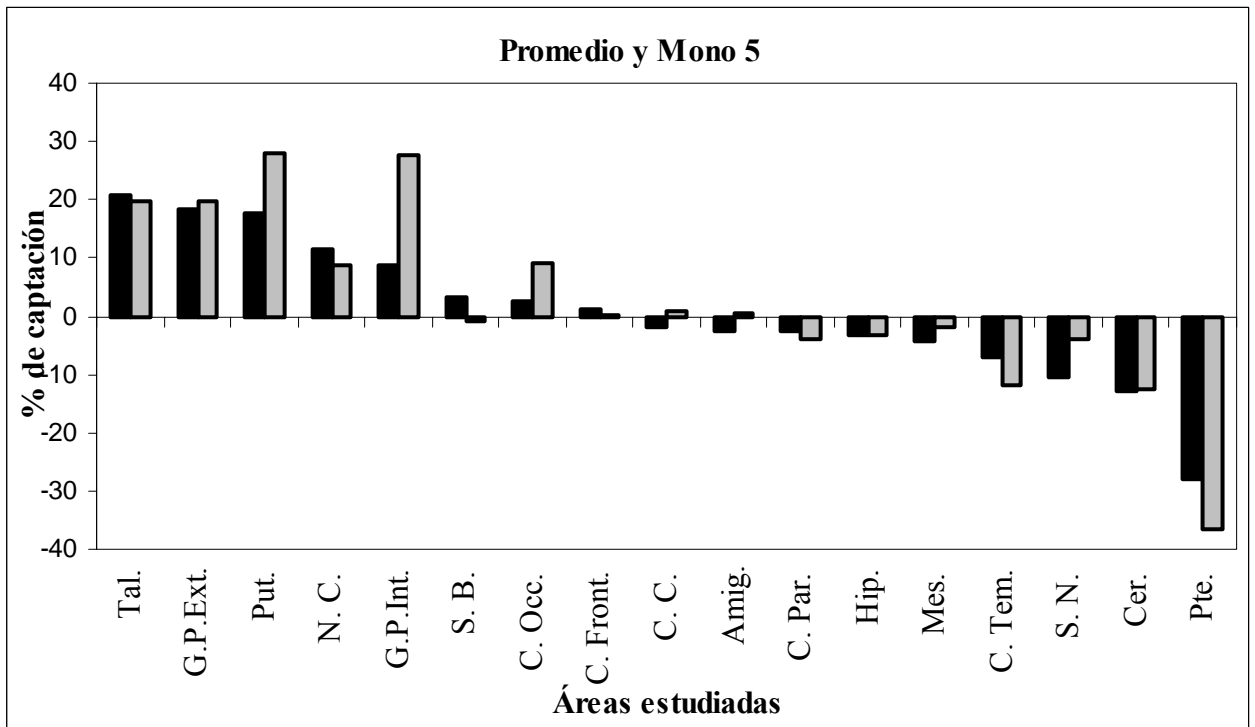
Gráfica 4. Comparación del Promedio ■ y el sujeto 2 ▒



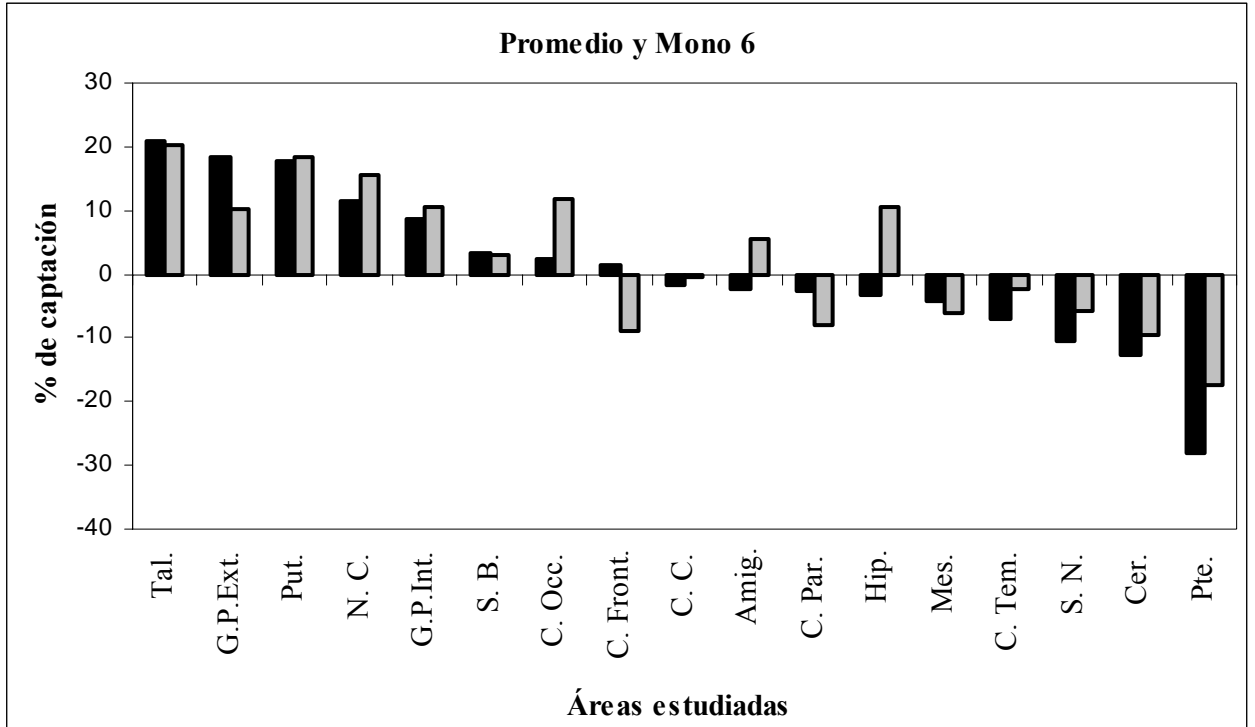
Gráfica 5. Comparación del Promedio ■ y el sujeto 3 ▒



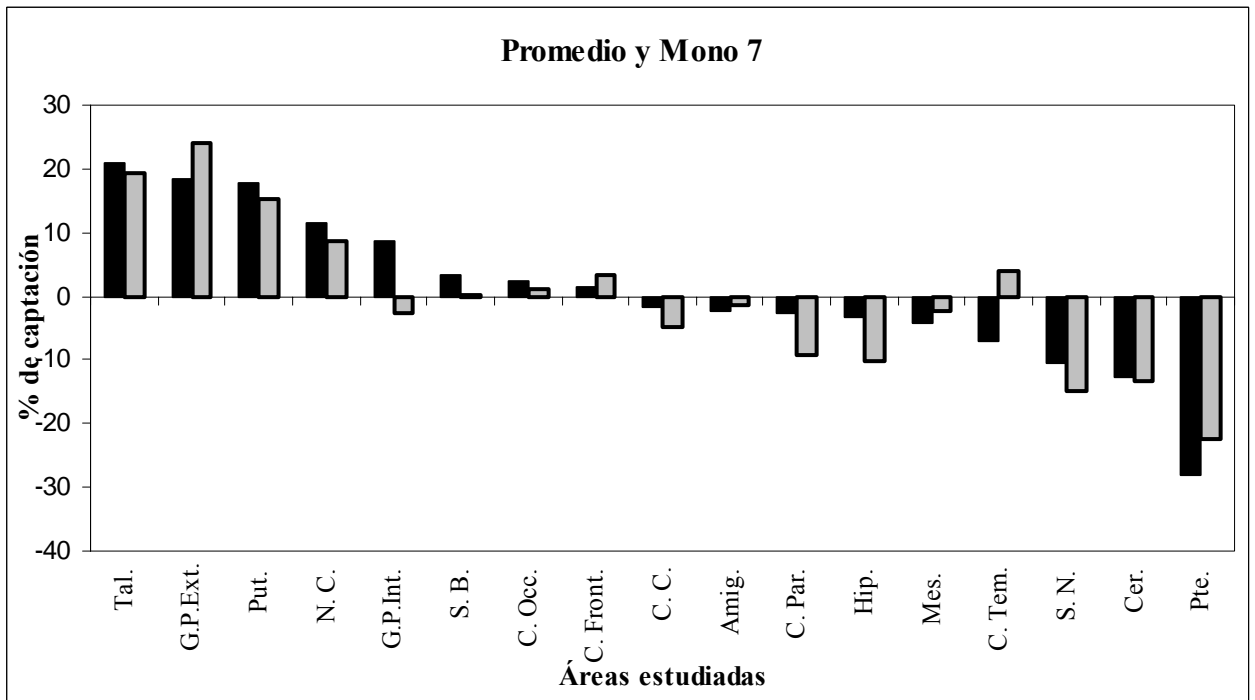
Gráfica 6. Comparación del Promedio ■ y el sujeto 4 ▒



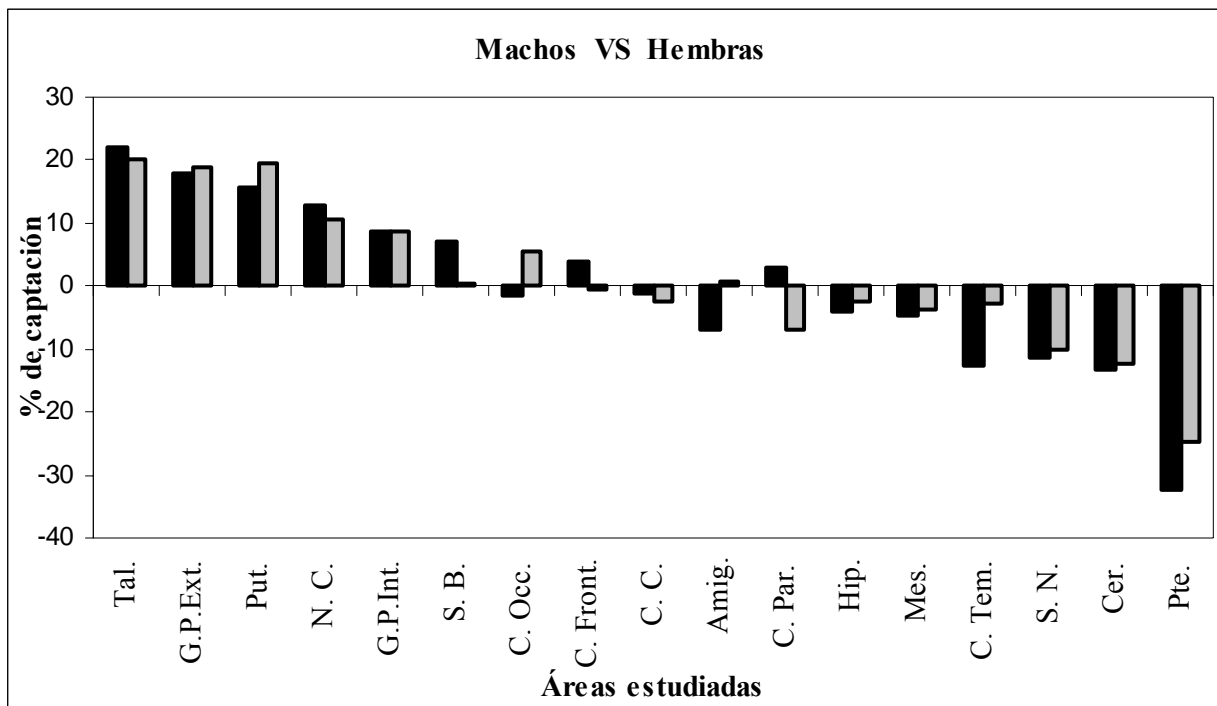
Gráfica 7. Comparación del Promedio ■ y el sujeto 5 ▒



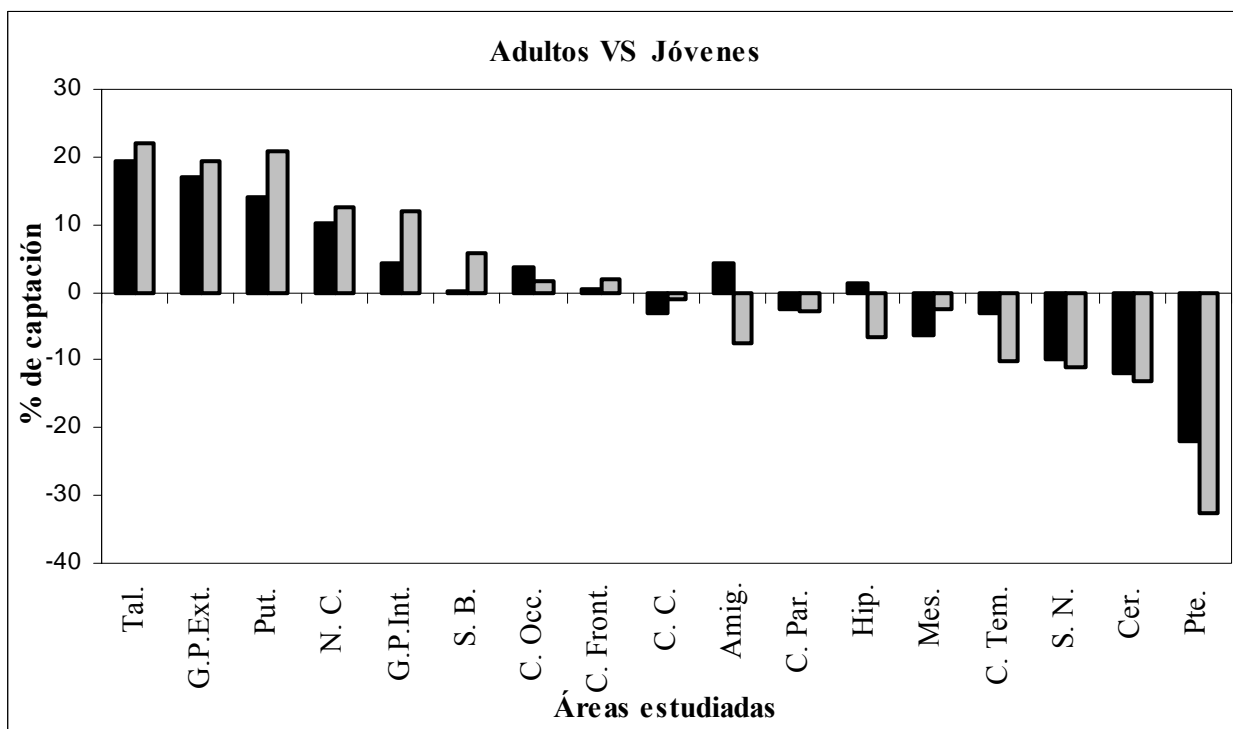
Gráfica 8. Comparación del Promedio ■ y el sujeto 5 ▒



Gráfica 9. Comparación del Promedio ■ y el sujeto 5 ▒



Gráfica 10. Comparación de machos ■ y hembras ▒



Gráfica 11. Comparación de adultos ■ y jóvenes ▒

Aplicando la prueba de Mann-Whitney para rangos ordenados se compararon los grupos de Machos y Hembras, y se obtuvo que las diferencias en los valores de las medianas a lo largo de los dos grupos no son suficientemente grandes para excluir la posibilidad de que la diferencia sea debida al azar; por lo tanto, no hay diferencias estadísticamente significativas ($P = 0.809$).

Aplicando la prueba de Mann-Whitney para rangos ordenados se compararon los grupos de Jóvenes y Adultos se obtuvo que las diferencias en los valores de medianas a lo largo de los dos grupos no son suficientemente grandes para excluir la posibilidad de que la diferencia sea debida al azar; por lo tanto, no hay diferencias estadísticamente significativas ($P = 0.945$).

DISCUSIÓN

En este trabajo se utilizó al mono verde africano como modelo animal para la obtención de mediciones de metabolismo cerebral mediante PET-FDG en estado basal de distintas áreas de interés bajo anestesia inhalada con isoflurano. Los resultados sugieren que existen diferentes niveles de metabolismo basal en distintas estructuras cerebrales. Estos resultados concuerdan con estudios previos reportados en la literatura científica, donde se han demostrado patrones de concentración y distribución de FDG en monos rhesus, en babuinos y en voluntarios humanos bajo efectos de diferentes anestésicos así como los cambios producidos por los mismos.^{1, 3, 5, 12, 13, 33, 36, 38}

Categorización de las estructuras cerebrales dependiendo de su metabolismo basal.

La categorización de las estructuras da origen a tres grupos. Un grupo de áreas de interés que consistentemente resultaron con un metabolismo de FDG por arriba del promedio. Un grupo de estructuras cerebrales con metabolismo por debajo del promedio total igualmente consistentes. Y un tercer grupo con variaciones entre los diferentes sujetos.

Discusión del significado del consumo metabólico en regiones específicas.

El Tálamo resultó como el área de mayor activación, es decir es el área con la más alta demanda energética del cerebro de éstos PNH, en un estado basal bajo anestesia inhalada con isoflurano, esto concuerda con estudios previos realizados con humanos voluntarios en los que se encontró a ésta misma área como la región con mayor activación metabólica tanto en estado de conciencia como bajo anestesia mediante isoflurano. En dicho estudio se encontró también que el patrón de distribución del metabolismo de la FDG en sujetos

despiertos es igual al que se obtiene de la evaluación de los mismos sujetos bajo anestesia con isoflurano, es decir no se encontró variación en la distribución y concentración de FDG entre los dos estados.^{1, 12, 23, 30, 33, 38}

El tálamo se compone de un conjunto de núcleos profundos localizados al costado de los ventrículos. El tálamo se encuentra regularmente activo debido a la gran cantidad de aferencias y eferencias que presenta. Se considera un área de relevo ampliamente conectada a múltiples núcleos relacionada con actividad somatosensorial. Mantiene relaciones corticales de entrada y salida entre el cerebro y el cuerpo. Tiene relación con funciones corporales, con la conducta, la memoria y la integración de actividades somáticas y sensoriales. Al igual que el tálamo, el globo pálido externo se encontró con una activación mayor al promedio del cerebro completo en los siete sujetos evaluados. Este núcleo recibe señales de entrada de distintas cortezas e igualmente proyecta diversas señales de salida. Mantiene relación con el sistema corticoespinal. El globo pálido externo se relaciona con patrones complejos de actividad motora.

El estriado, compuesto por el putamen y el núcleo caudado, presentó actividad metabólica constantemente por arriba del promedio en los siete animales en sus dos porciones evaluadas. El estriado participa en la regulación sensorio-motriz. Al núcleo caudado se le relaciona con el control cognitivo de la actividad motora, este recibe información de áreas corticales motoras, somatosensitivas y de asociación y participa en la preparación y el inicio de movimientos. Se sabe que el estriado tiene funciones de orden cognitivo, motivacional y emocional debido a sus conexiones con el sistema límbico. La vía cortico-estriada esta formada por fibras que provienen de casi todas las áreas corticales.²

Estas estructuras pueden presentar actividad metabólica elevada relacionada con la intención de realizar movimientos pese a que no se realicen debido al estado de inconciencia.

Dentro de las áreas cerebrales que presentaron menor actividad metabólica en comparación al promedio total del cerebro de manera constante en los siete animales encontramos al cerebelo que participa en funciones como el equilibrio, la marcha y la ejecución de movimientos, es decir con la iniciación, detección y corrección de movimientos, actividades que los sujetos aquí evaluados no realizan debido al estado anestésico bajo el cual se realizó el estudio.²

El puente fue el área con menor captación de FDG en los siete animales, a ésta estructura se le relaciona con el mantenimiento del estado de alerta y funciones vitales. En éste se encuentran los núcleos de varios pares craneales vinculados a la parte de control motor. Por lo que encontrar menor actividad metabólica en estas regiones relacionadas a la ejecución de movimientos en sujetos anestesiados es concordante.²

CONCLUSIÓN

Este estudio permitió estandarizar la metodología para la realización de estudios de imagenología funcional mediante flúor-2-deoxi-d-glucosa marcada con 18-flúor y tomografía por emisión de positrones en primates no humanos. También permitió obtener información básica sobre el metabolismo cerebral de mono verde africano en un estado basal bajo efectos anestésicos, para desarrollar un punto de comparación indispensable para la evaluación de pruebas experimentales. Permitted además realizar análisis comparativos entre los consumos basales de las diferentes estructuras cerebrales, dando lugar a posibles agrupaciones dependiendo de la intensidad de la actividad metabólica.

Apéndice 1

Descriptives

VAR00002

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1.00	7	20.9013	2.33858	.88390	18.7385	23.0642	18.17	24.48
2.00	7	18.4202	4.44813	1.68124	14.3063	22.5340	10.32	24.10
3.00	7	17.8529	5.82695	2.20238	12.4638	23.2419	8.61	28.01
4.00	7	11.5034	4.60786	1.74161	7.2419	15.7650	6.26	19.24
5.00	7	8.6238	11.70326	4.42342	-2.1999	19.4475	-2.65	27.47
6.00	7	3.3124	6.09690	2.30441	-2.3263	8.9511	-2.42	13.23
7.00	7	2.4791	6.54063	2.47212	-3.5700	8.5282	-6.87	11.79
8.00	7	1.2872	6.29342	2.37869	-4.5333	7.1076	-8.79	8.89
9.00	7	-1.8545	3.34584	1.26461	-4.9489	1.2399	-5.21	3.74
10.00	7	-2.4738	11.14527	4.21252	-12.7815	7.8338	-25.72	8.76
11.00	7	-2.6294	9.36316	3.53894	-11.2889	6.0301	-12.37	11.03
12.00	7	-3.2095	10.90739	4.12261	-13.2972	6.8781	-21.38	10.69
13.00	7	-4.1272	4.73957	1.79139	-8.5106	.2561	-10.31	4.26
14.00	7	-7.0161	7.29269	2.75638	-13.7607	-.2715	-16.74	4.02
15.00	7	-10.5431	7.33554	2.77257	-17.3274	-3.7589	-22.53	-2.24
16.00	7	-12.7204	1.65149	.62421	-14.2478	-11.1931	-14.46	-9.44
17.00	7	-28.0407	8.39629	3.17350	-35.8060	-20.2754	-41.25	-17.37
Total	119	.6921	13.82142	1.26701	-1.8169	3.2011	-41.25	28.01

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Within Groups	17251.524	16	1078.220	20.789	.000
Total	5290.198	102	51.865		
	22541.722	118			

	N	Subset alpha = .05							
		1	2	3	4	5	6	7	8
17.00	7	-28.0407							
16.00	7		-12.7204						
15.00	7		-10.5431	-10.5431					
14.00	7		-7.0161	-7.0161	-7.0161				
13.00	7		-4.1272	-4.1272	-4.1272				
12.00	7		-3.2095	-3.2095	-3.2095	-3.2095			
11.00	7		-2.6294	-2.6294	-2.6294	-2.6294			
10.00	7		-2.4738	-2.4738	-2.4738	-2.4738			
9.00	7		-1.8545	-1.8545	-1.8545	-1.8545			
8.00	7			1.2872	1.2872	1.2872	1.2872		
7.00	7				2.4791	2.4791	2.4791		
6.00	7				3.3124	3.3124	3.3124		
5.00	7					8.6238	8.6238	8.6238	
4.00	7						11.5034	11.5034	11.5034
3.00	7							17.8529	17.8529
2.00	7							18.4202	18.4202
1.00	7								20.9013
Sig.		1.000	.101	.053	.167	.053	.068	.059	.076

REFERENCIAS

1. Alkire M, Haider M, Nitin S, Anderson C. Positron Emission Tomography Study of Regional Cerebral Metabolism in Humans during Isoflurane Anesthesia. *Anesthesiology* 1997; 86 (3): 549-557.
2. Bergman R, Afifi A. *Neuroanatomía Funcional*. USA 1999; McGraw-Hill Interamericana.
3. Blaizot X, Landeau B, Baron J, Chavoix Ch. Mapping the Visual Recognition Memory Network With PET in the Behaving Baboon. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism* 2000; 20: 213–219.
4. Brooks D, Frey K, Marek K, Oakes D, Paty D, Prentice R, Shults C, Stoessl A. Assessment of neuroimaging techniques as biomarkers of the progression of Parkinson's disease. *Experimental Neurology* 2003; 184: 68-79.
5. Cariani P. Anesthesia, Neural Information Processing, and Conscious Awareness. *Consciousness and Cognition* 2000; 9: 387-395.
6. Carreras JL, Pérez MJ, Jiménez A, Melgarejo M, Kiblawi S, Madariaga P. Características de la PET. Principales aplicaciones en Neurología. *Revista de Neurología* 1997; 5 (supl 4): 404-411.

7. Case R, Rowe C, Newton M, Berlangieri S, Scott A. Positron Emission Tomography and Epilepsy. *Molecular Imaging and Biology* 2002; 4 (5) 338-351.
8. Ding YS. ¹⁸F-labeled biomolecules for PET studies in the neurosciences. *Journal of Fluorine Chemistry* 2000; 101: 291-295.
9. Eberling JL, Pivrotto P, Bringas J, Bankiewicz. Tremor is Associated with PET Measures of Nigrostriatal Dopamine Function in MPTP-Lesioned Monkeys. *Experimental Neurology* 2000; 165: 342-346.
10. Eberling JL, Roberts JA, Rapp PR, Tuszynski MH, and Jagust WJ. Cerebral Glucose Metabolism and Memory in Aged Rhesus Macaques. *Neurobiology of Aging* 1997; 18 (4): 437-443.
11. Heath J, Phelps M, Hood L. NanoSystems Biology. *Molecular Imaging and Biology* 2003; 5 (5): 312-325.
12. Heinke W, Schwarzbauer. In vivo imaging of anaesthetic action in humans: approaches with positron emission tomography and functional magnetic resonance imaging. *British Journal of Anaesthesia* 2002; 89 (1): 112-122.
13. Howell LL, Hoffman JF, Votaw JR, Landrum AM, Jordan JF. An apparatus and behavioral training protocol to conduct positron emission tomography (PET)

- neuroimaging in conscious rhesus monkeys. *Journal of Neuroscience Methods* 2001; 106: 161-169.
14. Iacoboni M, Baron JC, Richard SJ, Frackowiak GJ, Mazziotta JC, Lenzi GL. Emission tomography contribution to clinical neurology. *Clinical Neurophysiology* 1999; 110: 2-23.
15. Klimas M. Positron Emission Tomography and Drug Discovery: Contributions to the Understanding of Pharmacokinetics, Mechanism of Action and Disease State Characterization. *Molecular Imaging and Biology* 2002; 4 (5): 311-337.
16. MacLaren D, Toyokuni T, Cherry S, Barrio J, Phelps M, Herschman H, Gambhir S. PET Imaging of Transgene Expression. *Biological Psychiatry* 2000; 48: 337-348.
17. Maldonado A, García L, Resino A, Domínguez B, Muñoz JA, Otero C. Imagen metabólica por tomografía por emisión de positrones usando [18F]-fluorodeoxiglucosa en los trastornos del desarrollo. *Revista de Neurología* 2004; 38 (Supl 1): 24-27.
18. Maquet P. Functional neuroimaging of normal human sleep by positron emission tomography. *Journal of Sleep Research* 2000; 9: 207-231.
19. Marsden PK. Detector technology challenges for nuclear medicine and PET. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research* 2003; 513:1-7.

20. Melega W, Raleigh M, Stout D, DeSalles A, Cherry S, Blurton M, Morton G, Huang S, Phelps M. Longitudinal Behavioral and 6-[¹⁸F] Fluoro-L-Dopa-Pet Assessment in MPTP- Hemiparkinsonian Monkeys. *Experimental Neurology* 1996; 141: 318-329.
21. Mettler F, Guiberteau M, Voss C, Urbina Ch. *Radiología de Atención Primaria*. USA. 2002; McGraw-Hill Interamericana.
22. Moore A, Hovda D, Cherry S, Pollack D, Phelps M. Application of positron emission tomography to determine cerebral glucose utilization in conscious infant monkeys. *Journal of Neuroscience Methods* 1999; 88:123-133.
23. Moore A, Hovda D, Cherry S, Pollack D, Villablanca JP, Phelps M. Dynamic changes in cerebral glucose metabolism in conscious infant monkeys during the first year of life as measured by positron emission tomography. *Developmental Brain Research* 2000; 120:141-150.
24. Moses WW. Trends in PET imaging. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research* 2001; 471: 209–214.
25. Noda A, Ohba H, Kakiuchi T, Futatsubashi M, Tsukada H, Nishimura S. Age-related changes in cerebral blood flow and glucose metabolism in conscious rhesus monkeys. *Brain Research* 2002; 936: 76-81.

26. Nutt R. The History of Positron Emission Tomography. *Molecular Imaging and Biology* 2002; 4 (1): 11–26.
27. Paans A, Waarde A, Elsinga P, Willemsen A, Vaalburg W. Positron emission tomography: the conceptual idea using a multidisciplinary approach. *Methods* 2002; 27: 195–207.
28. Phelps M. Positron emission tomography provides molecular imaging of biological processes. *Protocols of the National Academy of Science* 2000; 97 (16): 9226-9233.
29. Phelps M, Cherry S. The Changing Design of Positron Imaging Systems. *Clinical Positron Imaging* 1998; 1 (1): 31-45.
30. Raichle M, MacLeod A, Snyder A, Powers W, Gusnard D, Shulman G. A default mode of brain function. *Protocols of the National Academy of Science* 2001; 98 (2): 676-682.
31. Rodríguez M, Ávila MA. Como funciona el cuerpo humano. Tomografía por emisión de positrones. *Ciencia* 2002; 53 (2): 28-39.
32. Santin G. *Vademecum Radiológico*. México. 2001; McGraw-Hill Interamericana.
33. Silverman D, Phelps M. Application of Positron Emission Tomography for Evaluation of Metabolism and Blood Flow in Human Brain: Normal Development,

- Aging, Dementia, and Stroke. *Molecular Genetics and Metabolism* 2001; 74: 128-138.
34. Sossi V. Positron emission tomography (PET) advances in neurological applications. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research* 2003; 510: 107–115.
35. Toga AW, Mazziotta JC. *Brain Mapping: The Methods*, Second Edition. USA: Academic Press, 2002: 191-221.
36. Tsukada H, Nishimura S, Kakiuchi T, Ohba H, Sato K, Harada N, Nakanishi S. Isoflurane anesthesia enhances the inhibitory effects of cocaine and GBR12909 on dopamine transporter: PET studies in combination with microdialysis in the monkey brain. *Brain Research* 1999; 849: 85-96.
37. Velázquez JL. *Cambios térmicos en las extremidades de caballos asociados a golpes y su evaluación por termografía*. México. 2002.
38. Watson J. Images of the working brain: understanding human brain function with positron emission tomography. *Journal of Neuroscience Methods* 1997; 74: 245-256.