



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MÉXICO
CENTRO ONCOLÓGICO ESTATAL
ISSEMYM



FACULTAD DE MEDICINA

***” Análisis de la actividad metabólica
multiorgánica con ^{18}F -FDG en ratones
suplementados con glutamato monosódico y
una dieta alta en grasa”***

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRA EN FÍSICA MÉDICA

P R E S E N T A

Marisol Molina Romero

Comité de Tutores: Dra. en C. S. Liliana Aranda Lara
Dr. en C. Eugenio Torres García
Dr. en I.M. Rigoberto Oros Pantoja



TOLUCA, ESTADO DE MÉXICO

2019

Contenido

Capítulo 1	9
INTRODUCCIÓN	9
Planteamiento del Problema	11
Pregunta de investigación	11
Hipótesis	11
Objetivos	12
Capítulo 2	13
MARCO TEÓRICO	13
2.1 Transporte y metabolismo de la glucosa	13
2.2 Factores que modifican la captación de glucosa en órganos y tejidos	16
2.3 Actividad metabólica de la glucosa	19
2.4 ¹⁸ F-FDG Y PET/CT	19
Capítulo 3	27
METODOLOGÍA	27
3.1 Administración de dietas y cinética del peso corporal	27
3.2 Cuantificación de glucosa en sangre	27
3.3 Evaluación de la actividad metabólica	28
3.4 Análisis de datos	32
Capítulo 4	33
RESULTADOS Y DISCUSION	33
4.1 Cinética del peso corporal y glucosa periférica	33
4.2 Análisis de la actividad metabólica con ¹⁸ F-FDG	35
Capítulo 5	44
CONCLUSIONES	44
Capítulo 6	45
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	45
Capítulo 7	49
ANEXOS	49
A.1: Participación en Congresos	49
A.2: Artículo de investigación	49

Índice de Figuras

FIG. 2 1. DIAGRAMA DE DIFUSIÓN MEDIANTE LAS PROTEÍNAS TRANSPORTADORAS.	13
FIG. 2 2. DIAGRAMA DEL SISTEMA DE DETECCIÓN DE RAYOS GAMMA EN UN EQUIPO PET DEBIDO A LA ANIQUILACIÓN DE POSITRONES.	20
FIG. 2 3. DIAGRAMA DEL METABOLISMO DE LA GLUCOSA Y DEL ¹⁸ F-FDG [42].	21
FIG. 2 4. A) ESQUEMA DE ANIQUILACIÓN DE UN POSITRÓN CON UN ELECTRÓN NEGATIVO Y LA CONVERSIÓN DE MASA A ENERGÍA. B) ESPECTRO CONTINUO DE PARTÍCULAS B ⁻ DEL FOSFORO-32. ENERGÍA MÁXIMA QUE PUEDEN ALCANZAR LAS BETAS DE 1.71 MeV Y UNA ENERGÍA PROMEDIO QUE ES APROXIMADAMENTE E (PROMEDIO)=0.	23
FIG. 2 5. A) ESQUEMA DE UN CICLOTRÓN. B) TABLA DE NUCLEÍDOS ES UNA REPRESENTACIÓN GRÁFICA DE TODOS LOS NUCLEÍDOS CONOCIDOS, YA SEAN NATURALES O ARTIFICIALES, ESTABLES O RADIATIVOS	23
FIG. 3 1. ADMINISTRACIÓN DE GLUCOSA AL 20% VÍA INTRAPERITONEAL [46].	28
FIG. 3 2. DIAGRAMA DE FLUJO PARA EL CÁLCULO DEL SUV MEDIANTE EL SOFTWARE Π.PMOD	29
FIG. 4 1. CONCENTRACIÓN DE GLUCOSA EN SANGRE PARA LOS GRUPOS SUPLEMENTADOS CON GMS, DAG Y MIXTA (N=3) DURANTE EL SEGUNDO MES. A) CONCENTRACIÓN DE GLUCOSA EN SANGRE (MG/DL). B) ÁREA BAJO LA CURVA (AUC) DE LA CONCENTRACIÓN DE GLUCOSA EN SANGRE (MG/DL).	34
FIG. 4 2. CONCENTRACIÓN DE GLUCOSA EN SANGRE PARA LOS GRUPOS DE ESTUDIO SUPLEMENTADOS CON GMS, DAG Y MIXTA DURANTE EL SEXTO MES (N=3). A) CONCENTRACIÓN DE GLUCOSA EN SANGRE (MG/DL). B) ÁREA BAJO LA CURVA (AUC) DE LA CONCENTRACIÓN DE GLUCOSA EN SANGRE (MG/DL). VALORES EXPRESADOS EN PROMEDIO ± DESVIACIÓN ESTÁNDAR. *P < 0. 05 TEST POST HOC DE DUNNETT.	35
FIG. 4 3. IMAGEN MICRO PET/CT DE ¹⁸ F-FDG EN LOS RATONES SUPLEMENTADOS CON CT, MSG, DAG, MIXTA. LA BIODISTRIBUCIÓN ESTÁ REPRESENTADA EN ESCALA DE COLORES.	36
FIG. 4 4. CAPTACIÓN DE ¹⁸ F-FDG EN SANGRE PARA LOS RATONES SUPLEMENTADOS CON CT, MSG, DAG Y MIXTA. * ESTADÍSTICAMENTE SIGNIFICATIVO CON RESPECTO AL GRUPO CONTROL (P<0.05).	38
FIG. 4 5. BIODISTRIBUCIÓN DE ¹⁸ F-FDG EN CORAZÓN, CEREBRO, PULMONES, HÍGADO Y RIÑONES DE RATONES SUPLEMENTADOS CON GMS, DAG Y MIXTA DURANTE A) DOS MESES Y B) SEIS MESES. LOS DATOS SON EXPRESADOS COMO PROMEDIO ± Σ. * ESTADÍSTICAMENTE SIGNIFICATIVOS (P<0.05).	38
FIG. 4 6. CAPTACIÓN DE ¹⁸ F-FDG EN A) CORAZÓN, B) CEREBRO, C) PULMONES, D) HÍGADO Y E) RIÑONES DE LOS RATONES SUPLEMENTADOS CON CT, GMS, DAG Y MIXTA DURANTE 2 Y 6 MESES. ESTADÍSTICAMENTE SIGNIFICATIVO CON RESPECTO AL CONTROL (*P< 0.05)..	42
FIG. 4 7. CAPTACIÓN DE ¹⁸ F-FDG EN GRASA INGUINAL, MESENTÉRICA Y RETROPERITONEAL PARA LOS RATONES SUPLEMENTADOS CON GMS, DAG Y MIXTA PARA A) SEGUNDO Y B) SEXTO MES DE EVALUACIÓN. LOS DATOS SON EXPRESADOS COMO EL PROMEDIO ± Σ. * ESTADÍSTICAMENTE SIGNIFICATIVOS CON RESPECTO AL CONTROL (P<0.05). ** ESTADÍSTICAMENTE SIGNIFICATIVOS ENTRE LOS GRUPOS GMS, DAG Y MIXTA.	43

Índice de tablas

TABLA 2. 1. EXPRESIÓN DE LOS TRASPORTADORES DE GLUCOSA (GLUT) EN ÓRGANOS Y TEJIDOS.	16
TABLA 2. 2. CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DEL FLOUR-18.	21
TABLA 2. 3 RADIONÚCLIDOS QUE SE PRODUCEN EN UN CICLOTRÓN.	26
TABLA 4. 1. PESO CORPORAL DE LOS GRUPOS DE ESTUDIO SUPLEMENTADOS CON GMS, DAG Y MIXTA DURANTE DOS Y SEIS MESES.....	33
TABLA 4. 2. VALORES DE CAPTACIÓN ESTÁNDAR (SUV) EN REGIONES DE INTERÉS EN GRUPOS SUPLEMENTADOS CON CT, MSG, DAG, MIXTA.....	36

Resumen

La ingesta de alimentos altos en grasa y glutamato monosódico (GMS) se ha asociado con alteraciones en el transporte de glucosa en tejidos y órganos. El ^{18}F -FDG mide metabolismo de glucosa. Sin embargo, existen pocos estudios que evalúan los cambios inducidos por la combinación de glutamato monosódico (GMS) y una dieta alta en grasa (DAG). Por lo que, el objetivo del trabajo fue evaluar los cambios en la actividad metabólica en órganos y tejidos mediante la captación de ^{18}F -FDG en ratones BALB/c suplementados con una dieta alta en grasa en combinación con glutamato monosódico. A los grupos de estudio se les administró ^{18}F -FDG y se estimó la actividad metabólica de los órganos y tejidos través de imagen micro PET/CT y cuantificación ex vivo (%DI /g tejido). El análisis de las imágenes micro PET/CT se realizó con el software Pmod. Para la captación ex vivo, los grupos de estudio se sacrificaron 60 minutos después de la administración de ^{18}F -FDG y se midió la actividad de cada órgano y tejido de interés en un contador de pozo. Las diferencias estadísticas entre grupos se hicieron mediante un análisis de varianza ANOVA.

Los resultados de obtenidos de las imágenes y de la captación ex vivo indicaron cambios significativos en la actividad metabólica en los grupos suplementados con DAG en comparación dieta mixta, principalmente en corazón y tejido adiposo, sin importar el tiempo de suplementación. Mientras que el grupo suplementado con GMS no mostró diferencias con respecto al grupo control ($p < 0.05$).

En conclusión, la dieta alta en grasa en combinación con el glutamato altera la actividad metabólica de los órganos y tejidos sensibles a la insulina como corazón y tejido adiposo.

Summary

Intake of high fat foods and monosodium glutamate (MSG) has been associated with alterations in glucose transport in tissues and organs. THE ^{18}F -FDG measure glucose metabolism. However, few studies assess the changes induced by the combination of MSG and HFD. Therefore, the objective the work was to evaluate metabolic activity in organs and tissues by uptake of ^{18}F -FDG in BALB/C mice supplemented with a high fat diet in combination with monosodium glutamate. The study groups were give ^{18}F -FDG and the metabolic activity of organs and tissue was estimated through micro PET/CT imaging and ex-vivo quantification (% ID/ g tissue). The analysis of the micro PET/CT image was performed with the Pmod software. For ex-vivo uptake, the study group were sacrificed 60 min after the administration of ^{18}F -FDG and the activity of each organ and tissue of interest was measured in a well counter. The differences between groups were made by an ANOVA variance analysis.

The results of imaging and ex-vivo capture indicated significant change in metabolic activity in HFD supplemented groups compared to mixed diet, mainly in heart and adipose tissue, regardless of the time of supplementation. While the group supplemented with MSG showed no differences from the group ($P < 0.05$).

In conclusion, the high-fat diet in combination with monosodium glutamate alters the metabolic activity of insulin sensitive organs and tissue such as heart and adipose tissue.

Capítulo 1

INTRODUCCIÓN

La ingesta de alimentos altos en grasa y glutamato monosódico (GMS) se ha asociado con el sobrepeso y la obesidad [1] [2]. El alto consumo de grasa saturada causa alteraciones como el aumento de peso corporal, modulación y expansión del tejido adiposo, variabilidad en la concentración de glucosa e insulina en plasma, concentración de lípidos hepáticos, ácidos grasos circulatorios y resistencia a la insulina [1] [3]–[6]. El último se caracteriza por anomalías en el metabolismo de la glucosa en músculo esquelético y tejido adiposo [1] [6][7]. Por otra parte, el GMS es una sal de sodio del ácido glutámico, que se utiliza como potenciador del sabor en alimentos procesados para promover la baja tasa metabólica y la frecuencia de ingesta de alimentos y en consecuencia el aumento de la masa corporal [8]–[10]. La administración intraperitoneal de GMS en dosis altas en roedores fetales se utiliza como modelo animal para inducir trastornos metabólicos [2] [5], [11]–[14]. Sin embargo, pocos estudios han evaluado el efecto de dosis bajas de glutamato equivalentes a los niveles del consumo humano, las cuales se consideran dentro del rango de 0.3-1 g por día en total [15].

El ^{18}F -fluoro-2-desoxiglucosa (^{18}F -FDG) es un radiofármaco análogo de la glucosa con una vida media corta de 110 minutos y captación celular similar a la glucosa [3]. El ^{18}F -FDG se ha utilizado para la cuantificación directa del metabolismo de la glucosa en modelos animales y humanos, y ha sido ampliamente utilizado para caracterizar respuestas metabólicas en situaciones fisiológicas y patológicas [16]. La imagen mediante tomografía por emisión de positrones (PET) se utiliza para medir de forma no invasiva y semicuantitativa la concentración de ^{18}F -FDG, la cual refleja la actividad metabólica del tejido según el valor de captación estándar (SUV). Este valor normaliza la captación de ^{18}F -FDG en el tejido por dosis inyectada por peso corporal [17], [18]. Estudios preclínicos han utilizado ^{18}F -FDG para medir la captación de glucosa en modelos animales con dieta alta en grasas. En esas condiciones,

el tejido adiposo y el músculo mostraron claras diferencias en la captación de glucosa ^{18}F -FDG entre el modelo y sus controles correspondientes [3]. Sin embargo, la respuesta del tejido a una dieta alta en grasa en combinación con una dosis baja de glutamato no ha sido evaluada con ^{18}F -FDG. Por lo tanto, evaluar el efecto de la dieta alta en la grasa en combinación con una baja dosis de GMS (1%) sobre la acumulación de ^{18}F -FDG estimará de manera indirecta la actividad metabólica de los órganos y los tejidos que son afectados o modulados por la combinación de ambos suplementos. El objetivo del trabajo fue evaluar la actividad metabólica multiorgánica de ratones suplementados con GMS y DAG con ^{18}F -FDG.

Planteamiento del Problema

En la actualidad, la obesidad ha alcanzado niveles de pandemia por varias razones, incluida la inactividad y la mala alimentación. La Encuesta Nacional de Examen de Salud y Nutrición (NHANES) en el 2011, mostró que, el 68,3% de los estudiados se consideraban con sobrepeso ($IMC \geq 25$) y el 33,9% eran obesos ($IMC \geq 30$) y en consecuencia aumenta el riesgo de enfermedades metabólicas crónicas [19]. Una de las causas que conllevan al desarrollo de desórdenes metabólicos, tales como obesidad y diabetes, se asocia con el consumo frecuente de alimentos altamente calóricos o con glutamato monosódico, ya que se ha demostrado que inducen alteraciones en el transporte de glucosa principalmente en corazón, tejido adiposo y músculo. Sin embargo, hasta el momento no se ha mostrado el efecto que causa la combinación de ambas dietas sobre el metabolismo de glucosa.

Pregunta de investigación

¿Es posible evaluar los cambios en la actividad metabólica de órganos y tejidos por efecto de la suplementación con grasa y GMS a través de la captación de ^{18}F -FDG?

Hipótesis

El cambio en la actividad metabólica de órganos y tejidos por efecto de la suplementación con grasa y GMS se puede evaluar a través de la captación de ^{18}F -FDG.

Objetivos

General

Evaluar la actividad metabólica multiorgánica con ^{18}F -FDG en ratones suplementados con glutamato monosódico y una dieta alta en grasa.

Específicos

1. Obtener la concentración de glucosa en sangre a diferentes tiempos para los ratones suplementados con las distintas dietas: GMS, DAG y Mixta.
2. Obtener imágenes micro PET/CT en órganos y tejidos de interés en ratones suplementados con GMS, dieta alta en grasa y con una dieta combinada.
3. Cuantificar la captación del ^{18}F -FDG ex vivo en los órganos de ratones suplementados con las respectivas dietas.
4. Evaluar los cambios en la actividad metabólica de órganos y tejidos por efecto de la suplementación con grasa y GMS se puede evaluar a través de la captación de ^{18}F -FDG.

Capítulo 2

MARCO TEÓRICO

2.1 Transporte y metabolismo de la glucosa

Existen proteínas transmembranales que facilitan el transporte de moléculas blanco (glucosa), las cuales cambian su conformación para llevar una molécula blanco de un lado a otro de la membrana celular (Fig. 2.1). Llamados transportadores GLUT, los cuales se pueden clasificar según su expresión en los órganos y tejidos. En el caso de la molécula de glucosa debido a la polaridad y a su carga tiene problemas para atravesar la membrana plasmática por simple difusión, por lo que requieren ayuda de las proteínas transportadoras para cruzar la membrana de manera eficiente a través de la membrana celular [20].

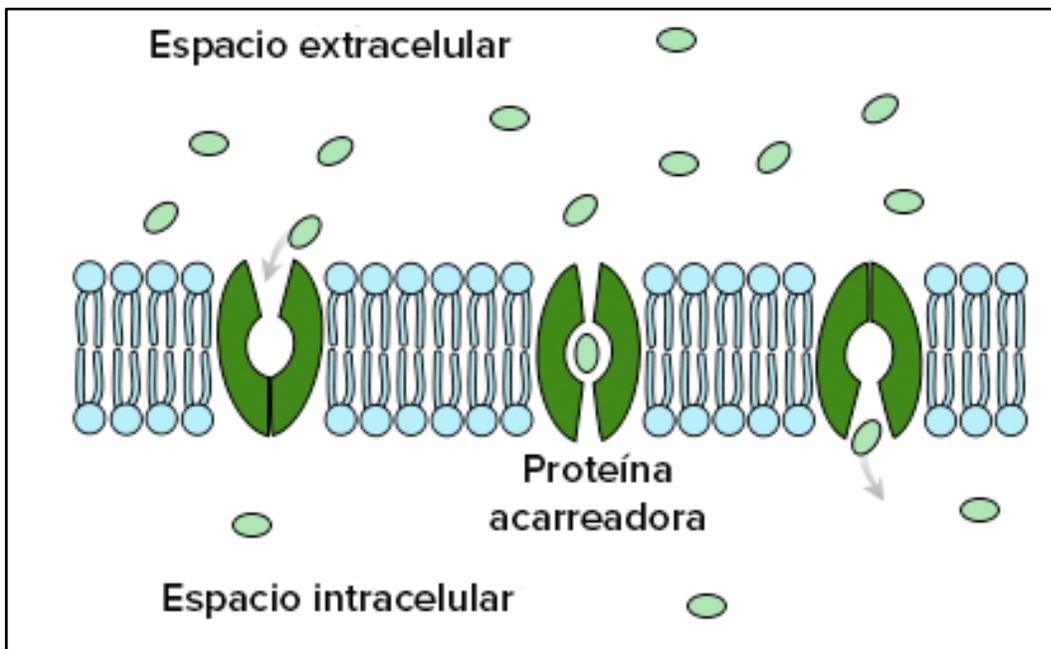


Fig. 2 1. Diagrama de difusión mediante las proteínas transportadoras.

GLUT-1

Esta proteína se expresa en la barrera hematoencefálica, cerebro, placenta y riñón. Cataliza el suministro para proporcionar el combustible necesario que cubren la necesidad fisiológica del cerebro mediante la generación de trifosfato de adenosina (ATP), molécula a la cual se le conoce "*la moneda energética universal*", esta molécula se rompe y libera la energía almacenada que en su mayoría va al cerebro [21] [22].

GLUT-2

Este transportador se expresa principalmente en células pancreáticas y en membranas basolaterales de células epiteliales intestinales y renales. Este transportador se encarga de equilibrar la glucosa entre el espacio extracelular y matriz citoplasmática en los niveles glucémicos asociados a la diabetes debido a su Cinemática enzimática (K_m alto con un valor de 17mM) [21] [22].

GLUT-3

Es el principal transportador de glucosa a nivel neuronal, asimismo se expresa en linfocitos/monocitos, macrófagos y plaquetas. Esta proteína se localiza en vesículas intracelulares que pueden ser traslocadas y fusionadas en la membrana plasmática para asegurar el transporte y el metabolismo de la glucosa [21] [22].

GLUT-4

Este transportador es dependiente de insulina, se expresa específicamente en: tejido adiposo, corazón y músculo esquelético (tejidos sensibles a insulina). Es un importante regulador del metabolismo de la glucosa y cuya función primaria es la de reducir la concentración de la glucosa en sangre promoviendo la captación en las células. El estudio de este transportador es importante ya que está asociado a la resistencia de insulina, así como el sobrepeso/obesidad y a la diabetes tipo II [21] [22].

GLUT-5

Esta proteína tiene alta afinidad con la fructosa. Se manifiesta en células epiteliales intestinales, es una ruta importante de absorción de fructuosa dietética. Órganos de baja expresión del GLUT-5 son riñón, cerebro, testículos, tejido adiposo y músculo [21] [22].

GLUT-9

Es un transportador de urato está presente en el hígado, riñones y en el intestino. Estudios realizados con ratones, que consiste en inactivar genéticamente el transportador GLUT-9, muestra problemas de hipouricemia, lo que indica que juega un papel importante en los niveles de ácido úrico, a través de su expresión en el hígado que permite el acceso de urato a su enzima degradante llamada uricasa y el riñón al cual se le asocia la reabsorción del urato [21] [22].

GLUT 6-8, 10-12

Estudios en ratones indica que el GLUT-8 tiene como función principal la proliferación neuronal del hipocampo y actividad auricular cardiaca, el GLUT-12 regula la homeostasis de la glucosa. En la tabla 2.1, se muestra la expresión de los transportadores de glucosa GLUT en órganos y tejidos [21] [22].

Tabla 2. 1. Expresión de los Transportadores de glucosa (GLUT) en órganos y tejidos.

Transportador	Localización (tejido)
GLUT 1	Todos los tejidos (cerebro, placenta, riñones)
GLUT 2	Hígado, islote pancreático
GLUT 3	Cerebro
GLUT 4 (activado por insulina)	Músculo esquelético, corazón y tejido adiposo
GLUT 5	Intestino, testículos, riñón y eritrocitos
GLUT 6	Bazo, leucocitos, cerebro
GLUT 7	Hígado
GLUT 8	Testículos y cerebro
GLUT 9	Hígado y riñón, pulmones
GLUT 10	Hígado y páncreas
GLUT 11, GLUT 10	Corazón y músculo esquelético
GLUT 12, GLUT 8	Corazón y próstata

2.2 Factores que modifican la captación de glucosa en órganos y tejidos

Existen diferentes factores que modifican la captación de glucosa en órganos y tejidos, siendo la dieta uno de los principales factores. Las dietas basadas en el consumo frecuente de alimentos densamente calóricos y/o procesados contribuyen al sobrepeso, obesidad así como al deterioro de la señalización metabólica local o sistémica [23].

2.2.1 Dieta alta en grasa

Un factor importante dentro del aumento del sobrepeso y obesidad tanto en humanos como en animales se ha relacionado con una dieta alta en grasa [24]. La grasa dietética es fácil de consumir en exceso debido a que causa menos saciedad que los carbohidratos y proteínas. Una mayor ingesta de grasa no estimula de forma aguda el gasto de energía ni la oxidación de ácido graso sino solo promueve su almacenamiento en el cuerpo [25]. La respuesta adaptativa aguda a trastornos metabólicos como el sobrepeso y obesidad tiene como fenómeno la inflamación, la cual es importante en el proceso de reparación del tejido y es vital para la viabilidad y función a nivel celular. No obstante, una inflamación aguda se asocia principalmente con trastornos metabólicos (sobrepeso/obesidad) lo cual involucra la activación de vías inflamatorias y generación de citoquinas pre-inflamatorias que pueden disminuir la captación de la glucosa en órganos y tejidos y/o suprimir la producción de la glucosa hepática estimulada por insulina. Estos efectos dan lugar al desarrollo de hiperinsulinemia, resistencia a la insulina e hiperglicemia [6][24]. En este mismo sentido, bajo esta dieta se excede la capacidad de almacenamiento de lípidos en los adipocitos, lo que da como resultado que los ácidos grasos derivados de los adipocitos y las citoquinas se filtren en la circulación, e incrementen los niveles de colesterol, triglicéridos y ácidos grasos libres en plasma [26] [23].

2.2.2 *Glutamato monosódico*

Otro de los factores que contribuyen en el cambio del metabolismo de la glucosa, es el consumo frecuente de productos procesados, los cuales suelen incorporar una gran cantidad de ingredientes artificiales, químicos y aditivos alimentarios, tales como el glutamato monosódico (GMS). El GMS es una sal sódica que se usa ampliamente como potenciador del sabor [27]. A pesar de que la Food Drug Administration (FDA), declaró que el GMS es un compuesto seguro, su seguridad como aditivo alimentario sigue siendo debatida [28]. Se sabe que el mecanismo de acción del GMS involucra la degeneración de áreas inmaduras del cerebro que no están lo suficientemente protegidas por la barrera hematoencefálica, tales como las regiones que regulan la alimentación y saciedad [29]. Por ejemplo, la administración subcutánea del GMS durante el periodo neonatal de ratas causa daño hipotalámico, y como consecuencia estos animales desarrollan varias alteraciones metabólicas y neuroendocrinas, lo que conduce a niveles más altos de acumulación de tejido adiposo, intolerancia a la glucosa, resistencia a la insulina e hiperinsulinemia en la etapa adulta [30] [27] [9]. Adicionalmente, se ha mostrado que la administración neonatal de GMS tiene un efecto en el metabolismo de lípidos, dando como resultado cambios en la distribución de grasa y termogénesis, además de causar esteatosis microvesicular hepática, inflamación y displasia [29].

La ingesta de GMS en dosis menores a 1% en roedores han demostrado resistencia a la insulina y por ende tolerancia a la glucosa, provocando un equilibrio de energía interrumpido debido a la palatabilidad de los alimentos que llevan como aditivo el GMS de esta manera la señalización de la leptina en el hipotálamo y como consecuencia se tienen trastornos metabólicos como el caso es la obesidad y sobrepeso [15]. Sin embargo, pocos estudios han evaluado el efecto de dosis bajas de glutamato equivalentes a los niveles del consumo humano, las cuales se consideran dentro del rango de 0.3-1 g por día [14].

Por otro lado, en modelos de ratones tratados con GMS se han observado diferencias en la expresión de la proteína GLUT-4 en tejido adiposo y músculo. En los primeros meses del tratamiento (2 a 4 meses) la expresión de la proteína GLUT-4 en músculo esquelético, corazón y tejido adiposo blanco es mayor en comparación con la expresión de dicha proteína al final del tratamiento (7 meses). Este estudio sugiere que durante la administración de GMS se modula la expresión de la proteína, lo cual podría estar asociado con una de las causas de resistencia a la insulina [31].

2.3 Actividad metabólica de la glucosa

La actividad metabólica de la glucosa, son reacciones bioquímicas que catalizan la glucosa mediante enzimas que toman lugar dentro de las células para mantener la homeostasis y liberar energía en forma de ATP. Estas reacciones están organizadas dentro de rutas metabólicas, las cuales están reguladas por la concentración y eficacia catalítica de enzimas así como también de la concentración de cofactores. La captación de glucosa en las células se mide mediante tomografía por emisión de positrones (PET) con 18-Fluorodeoxiglucosa (^{18}F -FDG). Estudios en humanos sanos han demostrado una mayor captación ^{18}F -FDG del tejido adiposo visceral en comparación con el tejido subcutáneo y para sujetos obesos se observó disminución en la captación de la glucosa en ambos tejidos. El impacto en la captación de glucosa en tejido adiposo refleja la actividad metabólica y con ello proporciona una visión fisiológica y ayuda a la estratificación de un riesgo cardiovascular[28] [32]–[37].

2.4 ^{18}F -FDG Y PET/CT

La tomografía computarizada por emisión de positrones (PET/CT), es una técnica de diagnóstico para medir procesos bioquímicos y fisiológicos “*in vivo*”, que se ha desarrollado rápidamente dentro de la medicina nuclear tuvo inicio en la década de 1960. Se inyecta al

paciente un trazador llamado “radiofármaco” que está marcado con un radionúclido emisor de positrones tales como ^{11}C , ^{13}N , ^{15}O y ^{18}F , con las características de farmacocinética y farmacodinamia del organismo. El átomo radiactivo que libera positrones choca debido a la atracción de cargas con electrones de orbitales de átomos cercanos teniendo como consecuencia un aniquilamiento entre ambas partículas; es decir, desaparece la masa y se crean dos fotones de energía mínima de 511 keV que son proyectados en direcciones opuestas (180°) y finalmente son detectados por los detectores ubicados en el Gantry del equipo (Fig. 2.2), la radiación de aniquilación se mide mediante la técnica de coincidencia [37] [38] [39].

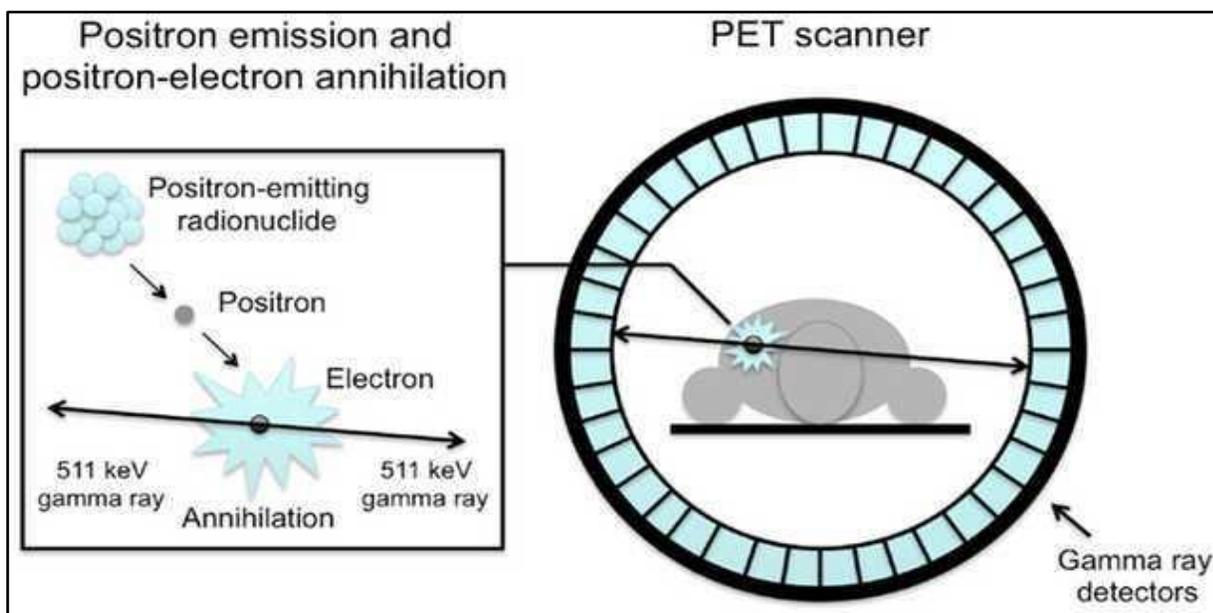


Fig. 2 2. Diagrama del sistema de detección de rayos gamma en un equipo PET debido a la aniquilación de positrones.

Entre los radiofármacos más usados para este fin es el ^{18}F -FDG, una molécula análoga de glucosa usada como marcador metabólico que ingresa a la célula, a través de diferentes transportadores de membrana. El ^{18}F -FDG es fosforilado por la hexoquinasa para formar ^{18}F -FDG-6-fosfato, el cual no es metabolizado por las enzimas permitiendo su acumulación en

las células, lo que proporciona un indicador de la demanda de glucosa dentro de órganos y tejidos (Fig. 2.3). La distribución habitual del ^{18}F -FDG es mayor en los tejidos con mayor actividad metabólica: cerebro y miocardio. En general, la ^{18}F -FDG se acumula en los tumores en forma proporcional a la tasa de metabolismo glucídico y mitótico [40][41].

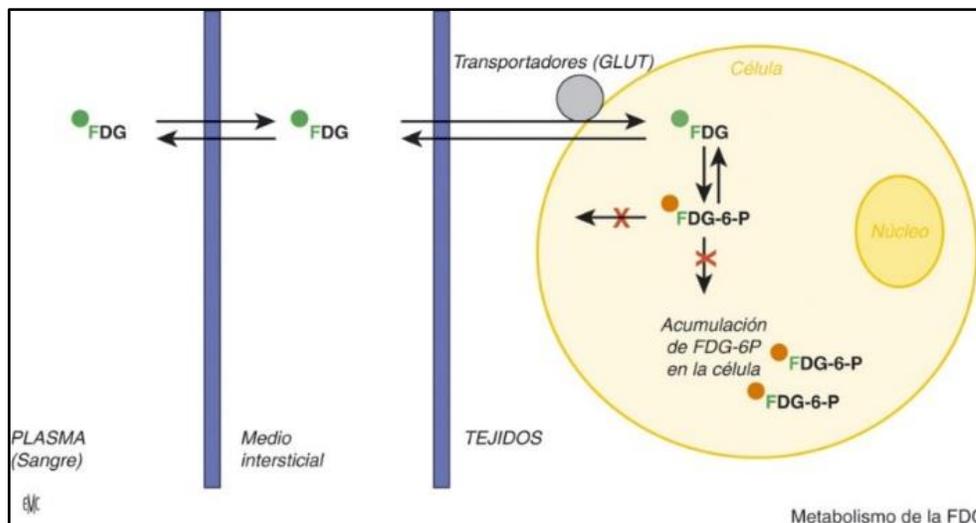


Fig. 2 3. Diagrama del metabolismo de la glucosa y del ^{18}F -FDG [42].

2.4.1 ^{18}F (Flour-18)

El Flour-18, es un elemento químico de número atómico 9, situado en el grupo de los halógenos, con una energía de enlace por nucleón de 7631.638 keV, masa de 18.00093 umas, vida media de 109.77 min y constante de decaimiento de $\lambda = 6.314 \times 10^{-3} \text{min}^{-1}$. La tabla 3.2 muestra las características de emisión del ^{18}F [43].

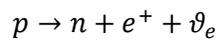
Tabla 2. 2. Características físicas del flour-18.

Radiación/emisión	% por desintegración	Energía promedio
Positrón (β^+)	96.73	249.8 keV
Gamma *	193.46	511.0 keV

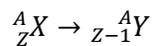
*Producto de la aniquilación

2.4.2 Emisor de positrones

Los emisores de positrones tienen baja relación neutrón protón (n/p), por esta razón no es posible tener una emisión alfa. El núcleo llega a la estabilidad emitiendo un positrón, que no es más que una partícula beta pero con carga positiva de $1.6 \times 10^{-19} \text{ C}$ y con masa de aproximadamente 0.000548 umas [44].



La notación para mostrar el decaimiento β^+



El positrón que se obtiene del núcleo se combina con un electrón negativo y con ello da paso a una *“reacción de aniquilación”*, dando como resultado una conversión de masa-energía como se muestra en la Fig. 2.4 a. La conversión da lugar a dos rayos gamma con energía mínima de 511 keV [44].

Para la emisión de partículas β^+ , se debe cumplir la siguiente ecuación de conservación:

$$M_p = M_d + M_e + Q$$

Donde: M_p , M_d , M_e y Q son las masas de núcleo padre, núcleo hijo, masa de la partícula β^+ y Q es la masa de la energía de reacción.

Las partículas β^+ , tienen un *“espectro continuo”* y su distribución de energía cinética va desde cero hasta una energía máxima (E_{max}) como se muestra en la Fig. 2.4 b [44] [45].

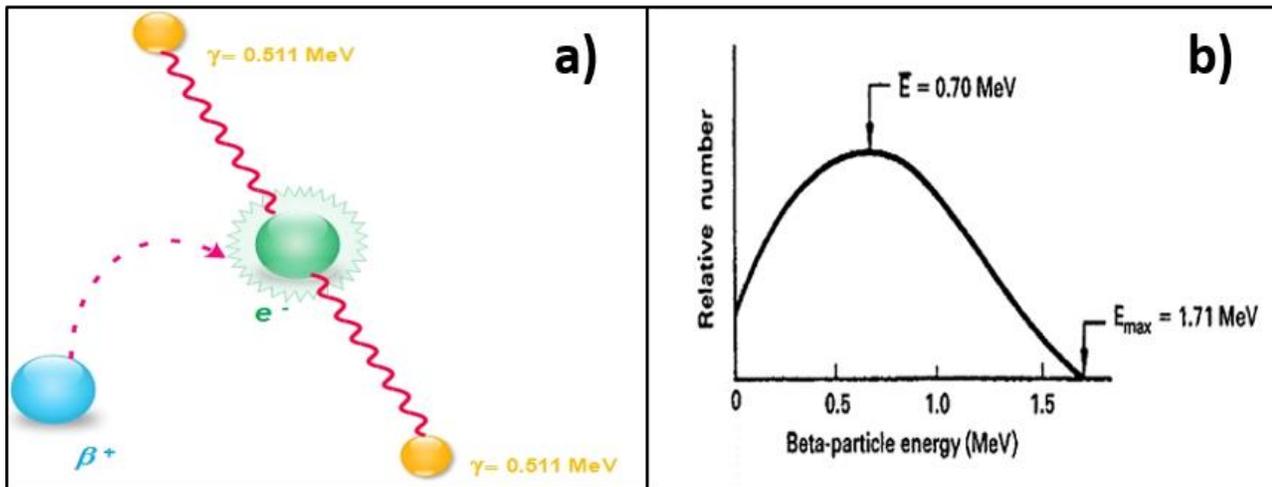


Fig. 2.4. a) Esquema de aniquilación de un positrón con un electrón negativo y la conversión de masa a energía. b) Espectro continuo de partículas β^- del fósforo-32. Energía máxima que pueden alcanzar las betas de 1.71 MeV y una energía promedio que es aproximadamente E (promedio)=0.

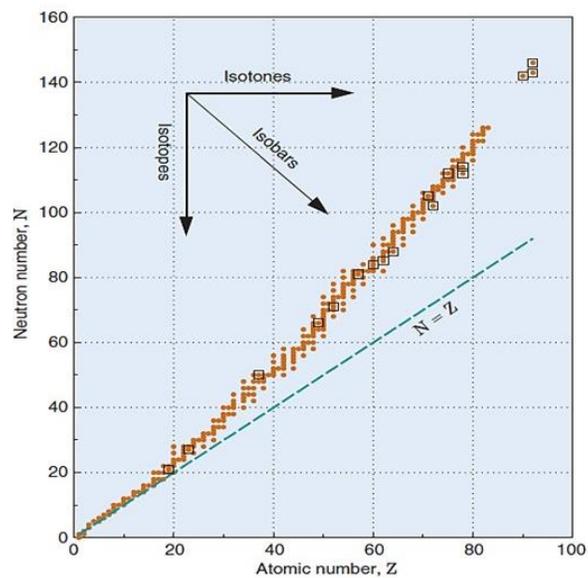
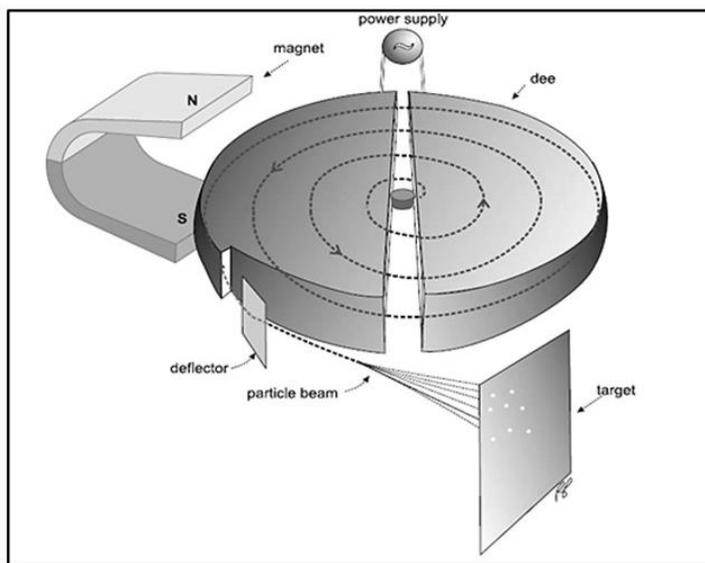


Fig. 2.5. a) Esquema de un ciclotrón. b) Tabla de nucleídos es una representación gráfica de todos los nucleídos conocidos, ya sean naturales o artificiales, estables o radiactivos

2.4.3 Producción de las partículas β^+

Las partículas β^+ , son de gran interés dentro del campo de la medicina y para la producción de ellas se usa un ciclotrón. Los ciclotrones son dispositivos circulares que aceleran partículas como iones negativos (H^-) y deuterones (D^-). Las partículas son aceleradas mediante la acción de un campo eléctrico oscilante y un campo magnético. El ciclotrón consta de dos placas semicirculares huecas llamadas “dees”. Las “dees”, se encuentran al vacío, debido a la acción del campo eléctrico se aceleran los iones, en forma de espiral para ganar energía hasta adquirir suficiente velocidad para ser desviadas por un deflector a un blanco (Fig. 2.5 a) [43]. La energía de las partículas aceleradas se obtiene con la siguiente ecuación:

$$E[MeV] \approx 4.8 \times 10^{-3} (H * R * Z)^2 / A$$

Dónde: H es el campo magnético [Teslas], R es el radio de la órbita de la partícula acelerada, Z es el número atómico y A es la masa atómica de la partícula acelerada.

Las características de la producción de radionúclidos con el ciclotrón son las siguientes [43]:

1. Los procesos de activación usando el ciclotrón se da mediante la unión de una carga positiva al núcleo, dichos productos se encuentran por debajo de la línea de estabilidad (Fig. 2.5 b). Para llegar a la estabilidad decae por emisión β^+ y/o captura electrónica (EC) [43].
2. La unión de la carga positiva al núcleo cambia el número atómico. Por lo tanto, los productos de activación del ciclotrón generalmente no tiene portadores [43].

Los productos obtenidos en el ciclotrón son atractivos para estudios de imagen en medicina nuclear debido a su alta relación de emisión de fotones/partícula, que se obtiene de las desintegraciones β^+ y EC. Algunos productos obtenidos en el ciclotrón se muestra en la Tabla 2.3, son de gran interés debido vida media corta además de fácil marcado biológico [43].

Tabla 2. 3 Radionúclidos que se producen en un ciclotrón.

Producto	Modo de decaimiento	Reacción de producción común	Abundancia natural del isotopo blanco (%)	Energía limite (MeV)
^{11}C	β^+ , EC	$^{14}\text{N}(p, \alpha)^{11}\text{C}$	99.6	3.1
		$^{10}\text{B}(d, n)^{11}\text{C}$	19.9	0
^{13}N	β^+	$^{16}\text{O}(p, \alpha)^{13}\text{N}$	99.8	5.5
		$^{12}\text{C}(D, N)^{13}\text{N}$	98.9	0.35
^{15}O	β^+	$^{14}\text{N}(d, n)^{15}\text{O}$	99.6	0
		$^{15}\text{N}(p, n)^{15}\text{O}$	0.37	---
^{18}F	β^+ , EC	$^{18}\text{O}(p, n)^{18}\text{F}$	0.20	2.57
		$^{20}\text{Ne}(d, \alpha)^{18}\text{F}$	90.5	0
^{67}Ga	EC, γ	$^{68}\text{Zn}(p, 2n)^{67}\text{Ga}$	18.8	5.96
^{111}In	EC, γ	$^{109}\text{Ag}(\alpha, 2n)^{111}\text{In}$	48.2	---
		$^{111}\text{Cd}(p, n)^{111}\text{In}$	12.8	---
^{123}I	EC, γ	$^{122}\text{Te}(d, n)^{123}\text{I}$	2.6	---
		$^{124}\text{Te}(p, 3n)^{123}\text{I}$	4.8	---
^{201}Tl	EC, γ	$^{201}\text{Hg}(d, 2n)^{201}\text{Tl}$	13.2	---

Capítulo 3

METODOLOGÍA

3.1 Administración de dietas y cinética del peso corporal

Se emplearon ratones machos BALB/c de 12-14 semanas de edad, los cuales se mantuvieron en condiciones controladas de temperatura (18-21 °C), humedad relativa (50%) y ciclo de luz/oscuridad de 12 h. Los ratones se alimentaron *ad libitum* con dietas específicas (n= 9 por cada grupo): dieta con glutamato monosódico al 0.1%, dieta alta en grasa (60% de calorías derivadas de grasa), dieta mixta (grasa 60% y GMS 0.1%) y dieta estándar (Rodent Diet 5010, 13.5% de calorías derivadas de grasa) como grupo control. Los grupos fueron evaluados durante seis meses considerando la Norma Oficial Mexicana 062-ZOO-1999 y NOM-033-SAG/ZOO-2014. En los ratones suplementados con las dietas específicas se realizó documentación semanal del peso corporal.

3.2 Cuantificación de glucosa en sangre

Se determinó la concentración de glucosa en sangre usando el equipo ACCU-CHEK Compact Plus previo a la administración de ¹⁸F-FDG. Las muestras de sangre se tomaron de las colas de los ratones con 17 h ayuno, usando un glucómetro con tiras reactivas Accu-chek Performa. Se registró la concentración de glucosa en el estado basal y posteriormente, se preparó y administró una solución de glucosa al 20% vía intraperitoneal (Fig. 3.1) y se tomaron muestras de sangre a 0, 15, 30, 45, 60, 90 y 120 min. El volumen de inyección de glucosa se calculó con la siguiente ecuación [46]:

$$V_{iny} = MC [g] \times 10 [\mu l] \text{ de solución de glucosa} \quad \text{Ecuación 1}$$

Donde: V_{iny} . Es el volumen de la inyección y MC es la masa corporal del ratón.

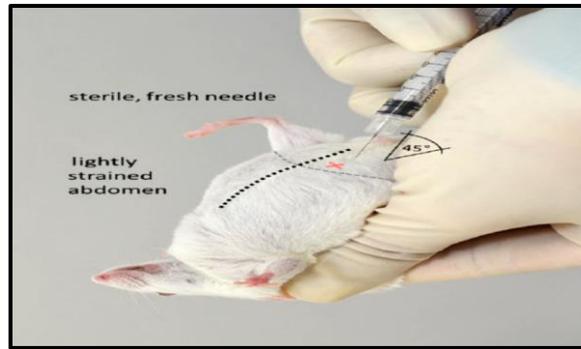


Fig. 3 1. Administración de glucosa al 20% vía intraperitoneal [46].

3.3 Evaluación de la actividad metabólica

3.2.1 Adquisición de Imagen micro PET/CT

Para evaluar la actividad metabólica de los grupos de estudio, se tomaron imágenes microPET/CT (Albira, ONCOVISION; Gem Imaging S. A., Valencia, Spain) 60 minutos después de la administración de ^{18}F -FDG (7.4 MBq). Para la adquisición de la imagen los ratones se mantuvieron anestesiados por inhalación con isoflurano al 2% en conjunto con aire y oxígeno puro. Se colocaron en posición prona y se adquirieron imágenes a cuerpo entero. Para la adquisición de la imagen PET en 3D se tomó en cuenta el campo de visión (FOV) de 60 mm con un total de 64 proyecciones de 30 segundos cada una hasta cubrir 360° . La adquisición de la imagen CT se realizó con un voltaje de 35 kV, con una corriente de $700 \mu\text{A}$ y con un total de 64 proyecciones micro-CT. La captación de ^{18}F -FDG en las regiones de interés (ROIs) se expresó como valor de captación estándar (SUV). Para obtener el SUV se usó el software π pmod (https://www.pmod.com/web/?page_id=345), el cual se estimó a partir de la actividad en la región de interés (ROI) normalizada por la actividad inyectada. Con fines de comparación, se obtuvieron las imágenes PET/CT y SUV del grupo control. La figura 3.2 muestra el diagrama de flujo para el cálculo del SUV mediante el software π .pmod.

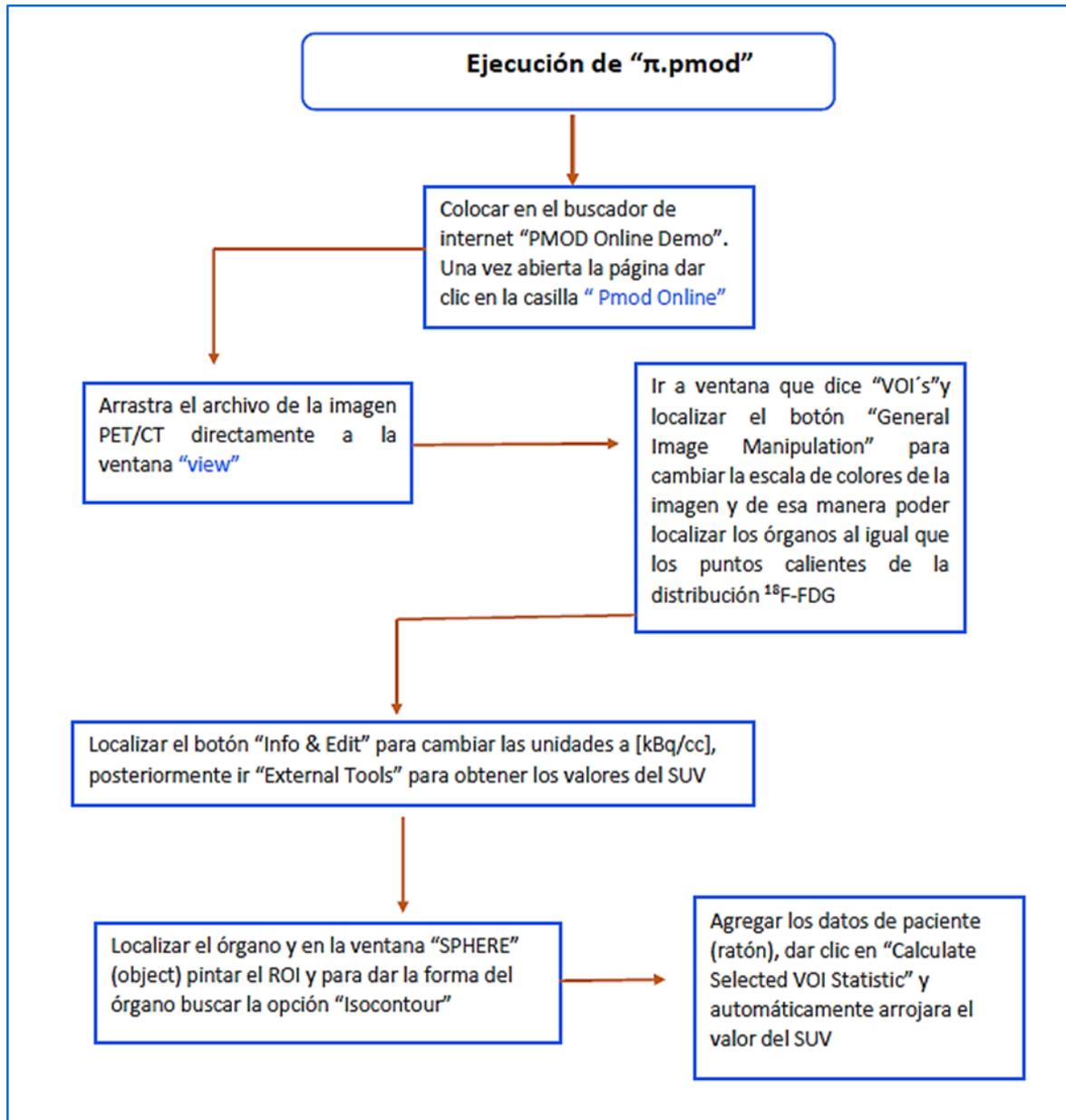


Fig. 3 2. Diagrama de flujo para el cálculo del SUV mediante el software π.pmod

3.2.2 Cuantificación ex vivo

Para cuantificar la actividad del ^{18}F -FDG en los órganos y tejido de interés, se utilizó un Activímetro

CRC[®] -55tR, el cual se calibró con una fuente de 16.5 MBq de ^{18}F . Se midió la actividad a diferentes tiempos y los valores se ajustaron a la ecuación 2, con el fin de obtener la constante de decaimiento (λ) de los datos experimentales, obteniendo una $\lambda = 6.02 \times 10^{-3} \text{min}^{-1}$. En comparación con el ajuste teórico de $\lambda = 6.314 \times 10^{-3} \text{min}^{-1}$, los datos experimentales mostraron una diferencia del 1.8 % con respecto a la constante de decaimiento del ^{18}F (Fig.3.3) [43].

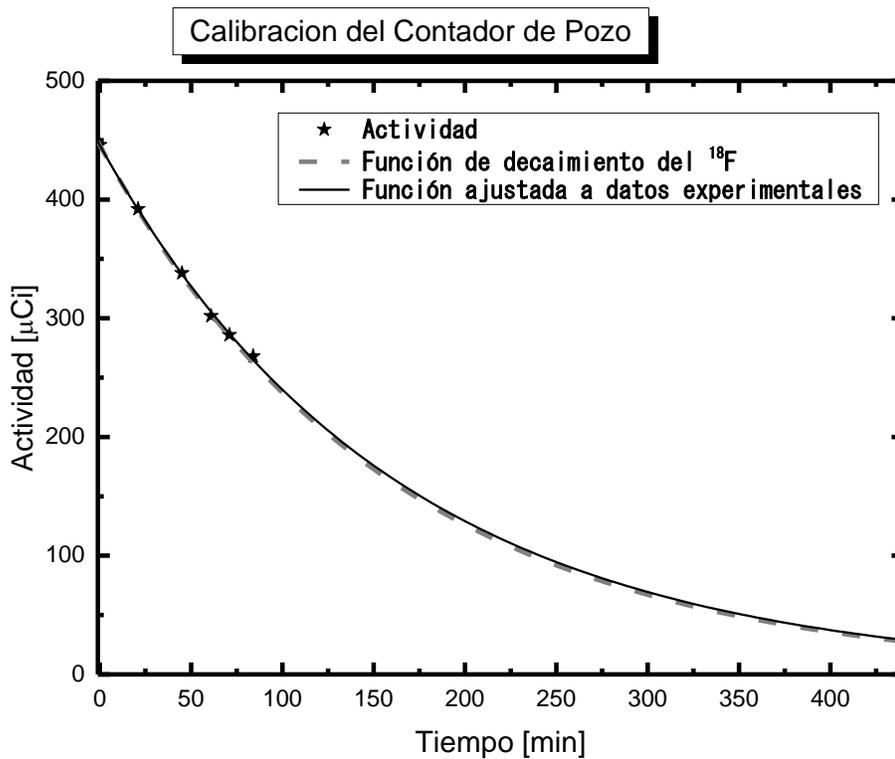


Figura.3.3. Curva de decaimiento radiactivo para el ^{18}F a diferentes tiempos.

En los grupos de estudio, con previo ayuno de 17 h, se administró ^{18}F -FDG ($300 \mu\text{Ci}$) vía intraperitoneal en el Centro Oncológico del Estado de México y 60 min después, los ratones fueron sacrificados en una cámara de CO_2 con flujo de $2 \text{ml}/\text{min}$ (Figura 3.4). Posterior al

sacrificio, se extrajo la sangre, órganos y tejido adiposo blanco (grasa retroperitoneal, mesentérica e inguinal), los cuales se pesaron en una balanza electrónica Modelo FA22043, instalada en el laboratorio de Simulación Monte Carlo de la UAEMéx. La actividad de cada órgano se midió con el contador de pozo y se corrigió por decaimiento físico usando un estándar de ^{18}F -FDG (300 μCi) que representa el 100% de la dosis inyectada (Fig. 3.5). Con la actividad promedio se obtuvo el porcentaje de actividad inyectada por gramo de tejido (% DI/g tejido) corregida por el tiempo de decaimiento del ^{18}F con la ecuación 2.

$$A = A_0 e^{-\lambda t}$$

Ecuación 2

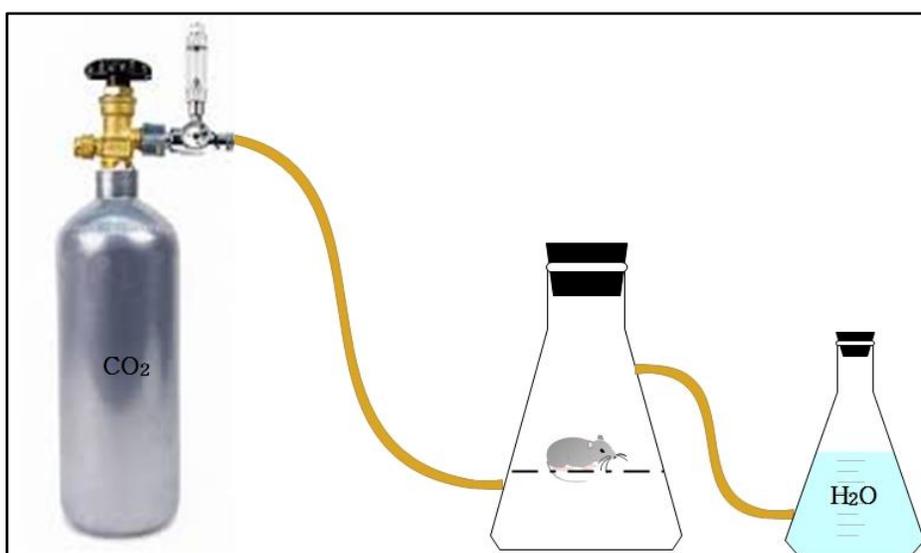


Fig.3.4. Arreglo de la cámara de CO_2 para sacrificio animal

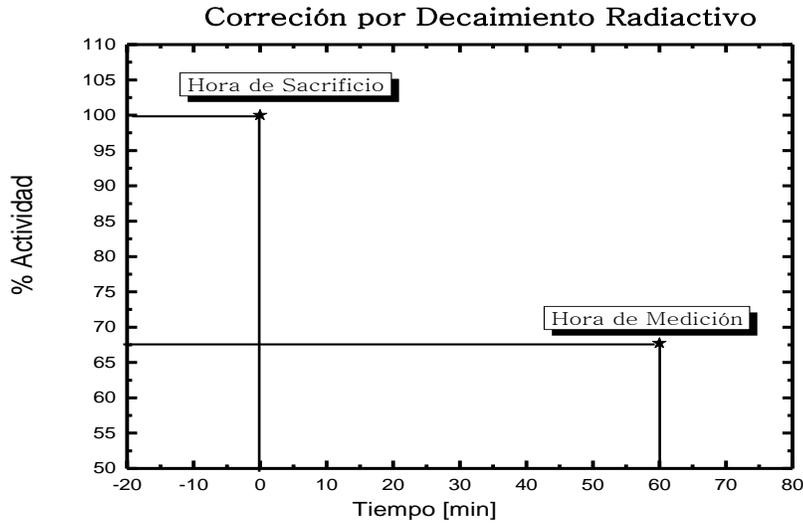


Fig. 3.5. Esquema de corrección por decaimiento físico.

3.4 Análisis de datos

El peso corporal, concentración de glucosa en sangre y área bajo la curva fueron evaluadas usando la prueba pos-hoc DUNNETT mediante comparación de medias para determinar las diferencias con respecto al grupo control. Para evaluar las diferencias en la captación de ^{18}F -FDG en el modelo *ex vivo* se usó la prueba pos-hoc Tukey de comparación múltiple entre las medias usando intervalos de confianza. Los resultados se expresan como el promedio \pm desviación estándar

Capítulo 4

RESULTADOS Y DISCUSION

4.1 Cinética del peso corporal y glucosa periférica

La tabla 4.1 muestra los resultados del peso corporal de los grupos suplementados con GMS, DAG y Mixta. Para observar diferencias significativas entre los grupos de estudio, se realizó la prueba estadística Dunnett ($P < 0.05$), la cual mostró que el peso corporal de los grupos GMS y Mixta incrementó significativamente con respecto al grupo control durante los meses evaluados. Mientras que, el grupo suplementado con DAG se mantuvo cerca o por debajo del peso registrado para el grupo control. Como se sabe, el alto contenido calórico tiende a aumentar el peso corporal [47]. Sin embargo, en este estudio el grupo suplementado con DAG mostró una disminución al compararse con el grupo control. Por otra parte, estudios previos sugieren que dosis altas de GMS tienden a incrementar el peso corporal cuando se administra intraperitonealmente en ratones neonatos [14], mientras que la administración de dosis bajas por vía oral, no produce ningún efecto [15]. En este estudio, se observó un incremento en el peso corporal de los ratones suplementados con GMS a pesar de que la administración de GMS fue a dosis bajas (0.1%).

Tabla 4. 1. Peso corporal de los grupos de estudio suplementados con GMS, DAG y Mixta durante dos y seis meses.

Grupo	Control (n=3) peso [g]	GMS (n=3) peso [g]	DAG (n=3) peso [g]	Mixta (n=3) peso [g]
Día 1	30.8	30.1	30.5	30.5
2° mes	31.7 ± 0.36	33.9 ± 0.27*	32.2 ± 0.21	34.5 ± 0.44*
6° mes	36.8 ± 0.47	38.2 ± 0.29*	34.3 ± 0.36*	37.4 ± 0.24*

* $p < 0.05$ test post hoc de Dunnett.

La cuantificación de glucosa en sangre mostró variaciones en la concentración a diferentes tiempos con respecto al grupo control durante el segundo y sexto mes (Figura 4.1 y 4.2). En

los meses evaluados los grupos DAG y Mixta mostraron un incremento en los niveles de glucosa en sangre después de 17 horas de ayuno (Figura 4.1 a y 4.2 a). Este comportamiento también se observa en los valores del área bajo la curva (AUC) para los grupos suplementados con DAG y Mixta (Figura 5.1 b y 5.2 b), los cuales mostraron a los 120 min, un incremento de ~ 2.5 y ~4 veces más que el grupo control, respectivamente. Asimismo, en las gráficas 5.1 y 5.2, es evidente que la eliminación de glucosa en sangre es diferente en los grupos suplementados con DAG y Mixta, ya que se pueden observar picos sostenidos en los tiempos de 15 a 60 minutos y que están por encima del grupo control. El grupo suplementado con GMS no experimentó variaciones en la concentración de glucosa en sangre con respecto al grupo control, indicando que dosis bajas de GMS no altera la eliminación de glucosa en sangre. Como era de esperarse, la suplementación con DAG y Mixta tuvo un mayor impacto en los niveles de glucosa en sangre principalmente para el segundo mes, sugiriendo que los grupos podrían mostrar intolerancia a la glucosa, es decir; diabetes mellitus tipo 2.

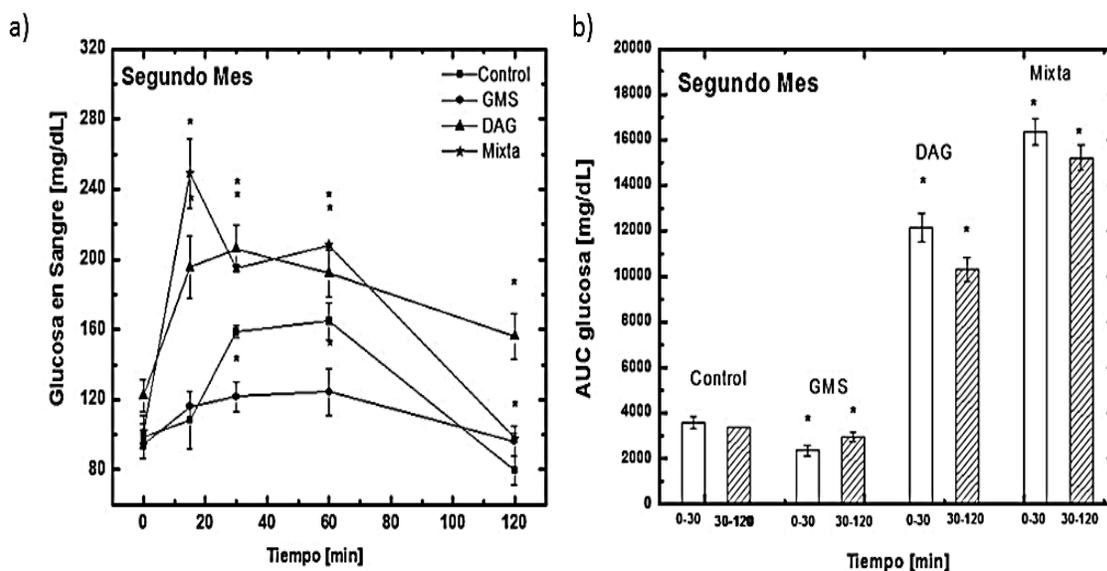


Fig. 4.1. Concentración de glucosa en sangre para los grupos suplementados con GMS, DAG y Mixta (n=3) durante el segundo mes. a) Concentración de glucosa en sangre (mg/dL). b) área bajo la curva (AUC) de la concentración de glucosa en sangre (mg/dL).

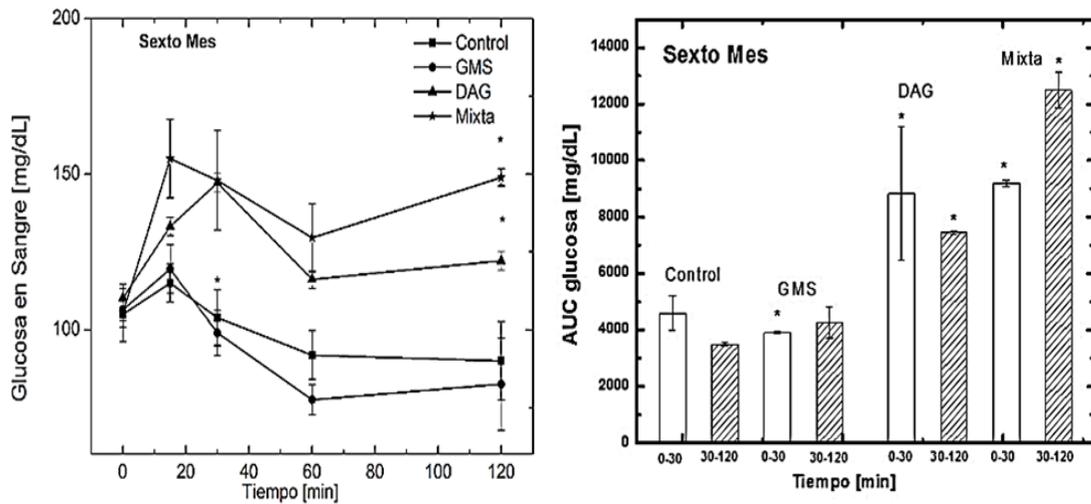


Fig. 4.2. Concentración de glucosa en sangre para los grupos de estudio suplementados con GMS, DAG y Mixta durante el sexto mes (n=3). A) Concentración de glucosa en sangre (mg/dL). B) área bajo la curva (AUC) de la concentración de glucosa en sangre (mg/dL). Valores expresados en promedio \pm desviación estándar. * $p < 0.05$ test post hoc de Dunnett.

4.2 Análisis de la actividad metabólica con ^{18}F -FDG

4.2.1 Imágenes Micro PET/CT

La Figura 4.3 muestra los cortes axiales, coronales y sagitales las imágenes micro PET/CT. El análisis de las imágenes micro PET/CT del ^{18}F -FDG se realizó de manera semicuantitativa a través de la estimación del valor de captación estándar SUV (Tabla XXX) con el fin de evaluar la actividad metabólica de corazón, cerebro, grasa mesentérica, retroperitoneal e inguinal. No hubo diferencias estadísticamente significativas en el SUV de pulmones, riñones e hígado, indicando que las condiciones de suplementación con GMS, DAG y Mixta da resultados indistinguibles uno de otro.

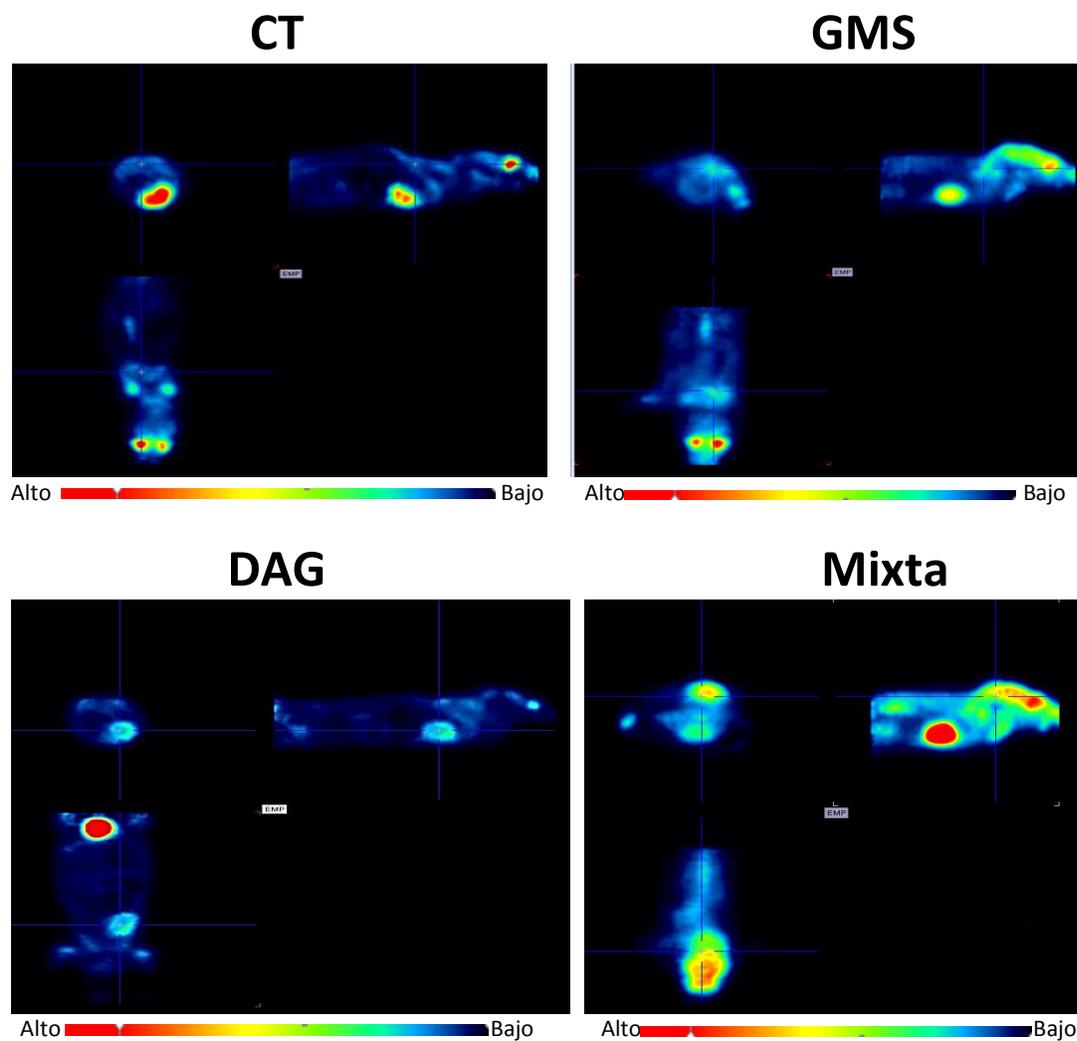


Fig. 4 3. Imagen Micro PET/CT de ^{18}F -FDG en los ratones suplementados con CT, MSG, DAG, Mixta. La biodistribución está representada en escala de colores.

Tabla 4. 2. Valores de captación estándar (SUV) en regiones de interés en grupos suplementados con CT, MSG, DAG, Mixta.

Órganos	CT	GMS	DAG	Mixta
	SUV [kBq/cm^3]			
Corazón	1.20 ± 0.21	1.18 ± 0.21	952.01 ± 137.73	0.055 ± 0.007
Cerebro	1.75 ± 0.11	0.025 ± 0.010	606.89 ± 88.45	0.625 ± 0.008

4.2.2 Cuantificación ex vivo

Para determinar las diferencias significativas en la captación de ^{18}F -FDG en los órganos y tejidos de los grupos de estudio, se realizó la prueba estadística post-hoc tukey. Con base en dicha prueba, la concentración de ^{18}F -FDG en sangre fue significativamente mayor en los grupos suplementados con DAG y Mixta con respecto al grupo control durante el segundo y sexto mes de evaluación ($p < 0.05$); mientras que la captación de ^{18}F -FDG en sangre del grupo GMS no mostró variaciones con respecto a los valores del grupo control (Figura 4.4). Tales resultados, coinciden con los niveles de glucosa en sangre registrados para los grupos DAG y Mixta a los 60 y 120 min (Figura 4.1 y 4.2). Ambos estudios sugieren que, la suplementación con DAG y Mixta alteran la distribución de la glucosa en sangre a órganos y tejidos, ya que en estos grupos la concentración y eliminación de glucosa, así como del ^{18}F -FDG presentes en sangre, se ven significativamente modificados en comparación con el grupo control.

La captación de ^{18}F -FDG en cerebro, corazón, pulmones, hígado y riñones durante el segundo y sexto mes de suplementación con GMS, DAG y Mixta se muestra en la Figura 4. 5. El corazón fue uno de los órganos que mayor captación de ^{18}F -FDG presentó, seguido por el cerebro, pulmones, hígado y riñones [48].

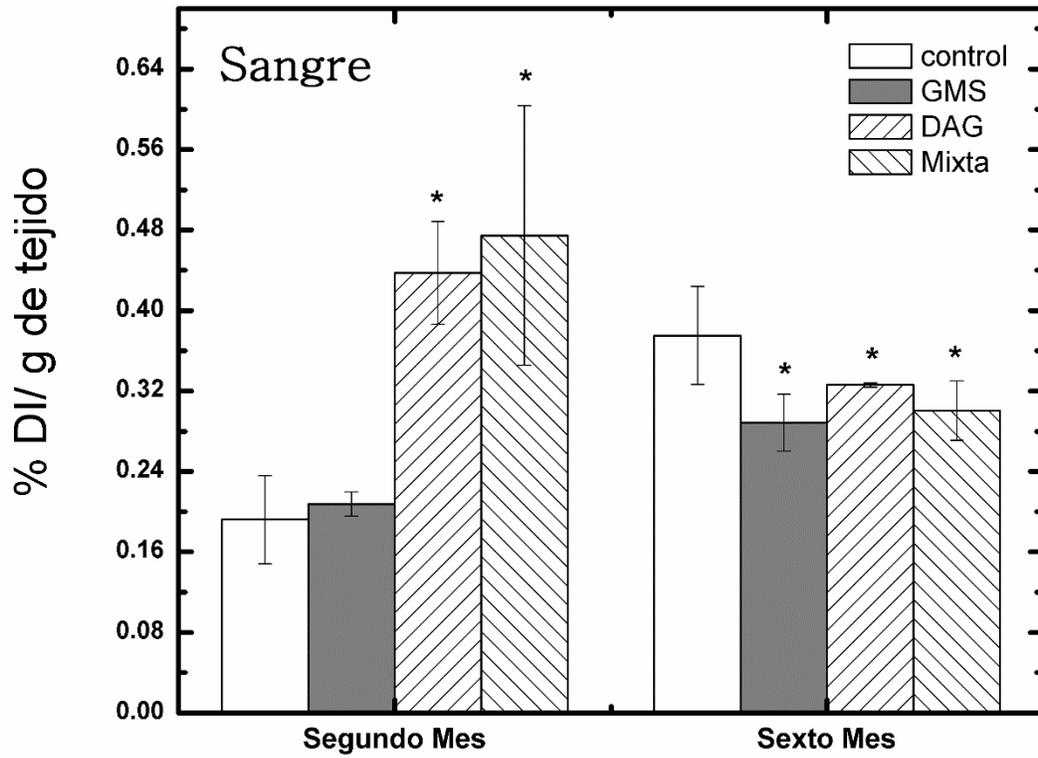


Fig. 4 4. Captación de ^{18}F -FDG en sangre para los ratones suplementados con CT, MSG, DAG y Mixta. * Estadísticamente significativo con respecto al grupo control ($p < 0.05$).

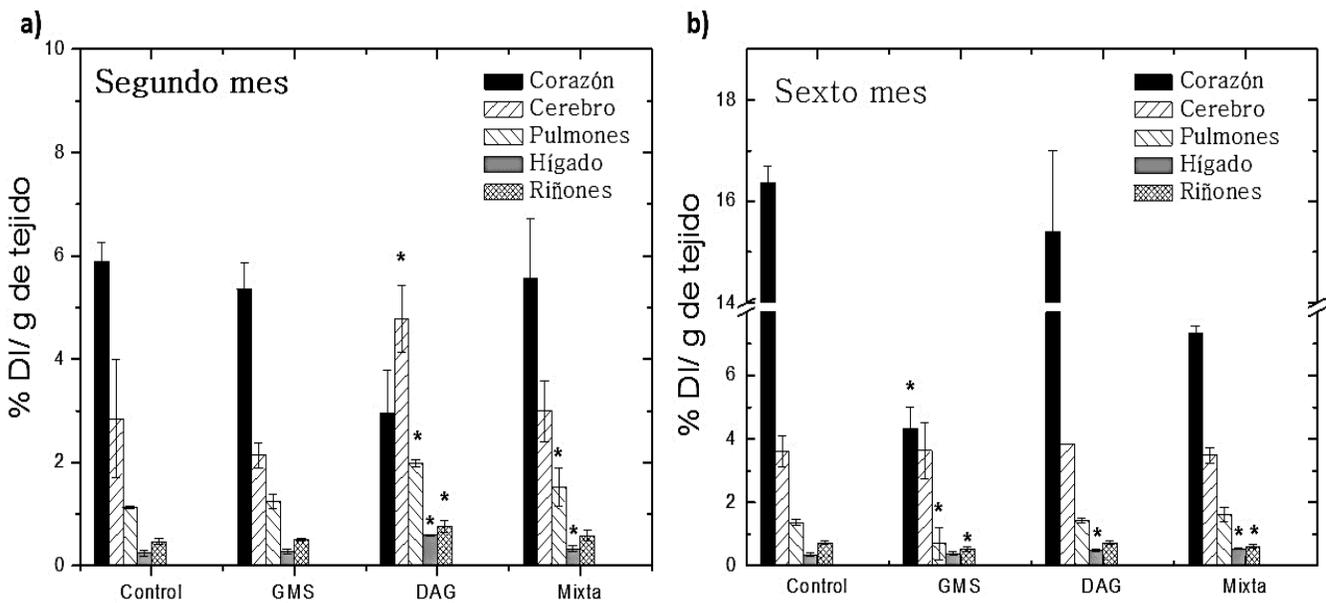


Fig. 4 5. Biodistribución de ^{18}F -FDG en corazón, cerebro, pulmones, hígado y riñones de ratones suplementados con GMS, DAG y Mixta durante a) dos meses y b) seis meses. Los datos son expresados como promedio $\pm \sigma$. * estadísticamente significativos ($p < 0.05$).

Corazón

La Figura 4.6a muestra la captación de ^{18}F -FDG en corazón. El grupo suplementado con la dieta alta en grasa muestra diferencias significativas ($p < 0.05$) con respecto al grupo control, e incluso con los grupos suplementados con GMS y con la dieta mixta. El corazón utiliza una variedad de fuentes de energía como ácidos grasos libres, lactato y cuerpos cetónicos. En particular, el corazón prefiere el uso de ácidos grasos libres para la producción de energía, bajo las siguiente condición, en estado de ayudo la captación de glucosa es baja [49]. Para el caso de nuestros resultados la captación de ^{18}F -FDG en corazón es baja para los grupos suplementados con grasa, esto se relaciona con lo mencionado anteriormente.

Cerebro

La Figura 4.6B muestra la captación de ^{18}F -FDG en cerebro de los grupos suplementados con dieta GMS, DAG y Mixta, las cuales no mostraron diferencias estadísticamente significativas con respecto al control ($p < 0.05$), sugiriendo que dichas dietas no producen cambios en la actividad metabólica cerebral. Sin embargo, estudios recientes con imágenes micro-PET mostraron que la dieta alta en grasa tiene un efecto negativo sobre el metabolismo de glucosa cerebral, específicamente en el tálamo y el cuerpo estriado; los cuales fueron disminuidos después de la suplementación con dieta alta en grasa por nueve semanas [50]. Por otro lado, no hay estudios que evalúen con ^{18}F -FDG, el efecto del GMS sobre la actividad metabólica cerebral. Pero, estudios mencionan que el GMS en las dietas no disminuye la función cerebral [51], lo cual se relaciona con los observado en el presente estudio, donde dosis bajas de GMS (0.1%) no produjeron efectos negativos sobre la actividad metabólica del cerebro. La poca variabilidad en la captación de ^{18}F -FDG en cerebro muestra que dicho órgano requiere de un suministro continuo de glucosa, independiente de la suplementación con las dietas y el tiempo de exposición [52].

Pulmones

La captación de ^{18}F -FDG en los pulmones durante el segundo y sexto mes, no presentó diferencias significativas en los grupos suplementados con diferentes dietas con respecto al grupo control ($p < 0.05$) (Fig. 4.6C). Martinez et al. (2007) indican que los pulmones en condiciones normales muestran un grado de captación de ^{18}F -FDG homogéneo pero que con la edad la captación tiende a incrementar debido a procesos inflamatorios [53] [54]. No obstante, en la Fig. 4.6C se observa que no hay una relación entre la edad y la captación de ^{18}F -FDG.

Hígado

La Fig. 4.6D muestra la captación ^{18}F -FDG en hígado, la cual mostró incremento en los grupos suplementados con DAG y Mixta, mientras que el GMS no presentó cambios significativos con respecto al control ($p < 0.05$). En el segundo mes, los ratones suplementados con DAG registraron un aumento en la captación de ~ 2.4 veces más con respecto al grupo control mientras que, para el sexto mes el incremento fue ~ 1.4 veces. Sin embargo, para los ratones con dieta mixta los cambios significativos en la captación fueron únicamente observados en el sexto mes, mostrando un incremento de 1.5 veces más que el control. Zabielski P. y cols. (2017), mencionan que el hígado juega un papel importante dentro de la regulación del metabolismo de la glucosa y lípidos; por lo que la alta captación de ^{18}F -FDG probablemente refleja que el hígado es metabólicamente activo en la conversión de glucosa a glucógeno [55]. Por otro lado, se sabe que los ácidos grasos almacenados en hígado tienden a aumentar la concentración de glucosa en sangre [56]. Este aumento de glucosa concuerda con los resultados obtenidos anteriormente (Figura 4.1 y 4.2) y con la alta acumulación de ^{18}F -FDG en sangre (Fig. 4.4) en los grupos suplementados con DAG y Mixta, indicando que posiblemente la alta concentración de glucosa en sangre de dichos grupos de estudios es un reflejo de la alta acumulación de ácidos grasos en hígado derivados de las dietas DAG y Mixta.

Riñones

Recientemente se ha prestado atención en el impacto que tiene el consumo de dietas altamente calóricas en la alteración de la función renal. Muhammed E.A. y Cols. (2008), señalan que, la administración de dietas altas en grasa conduce a una atrofia renal, tanto fisiológicamente como funcional [57]. Sin embargo, de acuerdo con nuestros resultados, la respuesta que se obtuvo al suplementar ratones con DAG y Mixta incrementó significativamente la captación de ^{18}F -FDG en ambos meses en comparación con el grupo control ($p < 0.05$) (Figura 4.6E), la cual no reflejan una disminución en la función renal. Park S. y Cols. (2014). Menciona que la disminución de la función renal se observa comúnmente con la edad, sin embargo en la Fig. 4.6E, no se muestran cambios significativos en la captación con respecto al tiempo [54].

Tejido adiposo

En la Fig. 4.7A y 4.7B, se observa la captación de ^{18}F -FDG en grasa inguinal, grasa mesentérica y retroperitoneal correspondiente al segundo y sexto mes de suplementación con GMS, DAG y Mixta. La captación en grasa inguinal no mostró diferencias significativas entre los grupos suplementados tanto en segundo y sexto mes, mientras que la captación en grasa mesentérica y retroperitoneal fue variable entre los grupos de estudio y el tiempo de suplementación. Para el segundo mes, la captación de ^{18}F -FDG en grasa mesentérica fue mayor en los grupos DAG y Mixta mientras que para el sexto mes la captación fue significativamente menor que el control e incluso que GMS ($p < 0.05$). En la grasa retroperitoneal, la captación fue significativamente menor que el grupo GMS y control independientemente del mes de suplementación ($p < 0.05$). Estos resultados sugieren que la grasa mesentérica tiende a ser más susceptible a la dieta alta en grasa y/o en combinación con GMS. Diferentes estudios muestran que el tejido adiposo puede ser modulado en respuesta a la suplementación con dieta alta en grasa produciendo alteración en el

transporte de glucosa inducida por la translocación en los transportadores de glucosa activos o hipertrofia en los adipocitos [31].

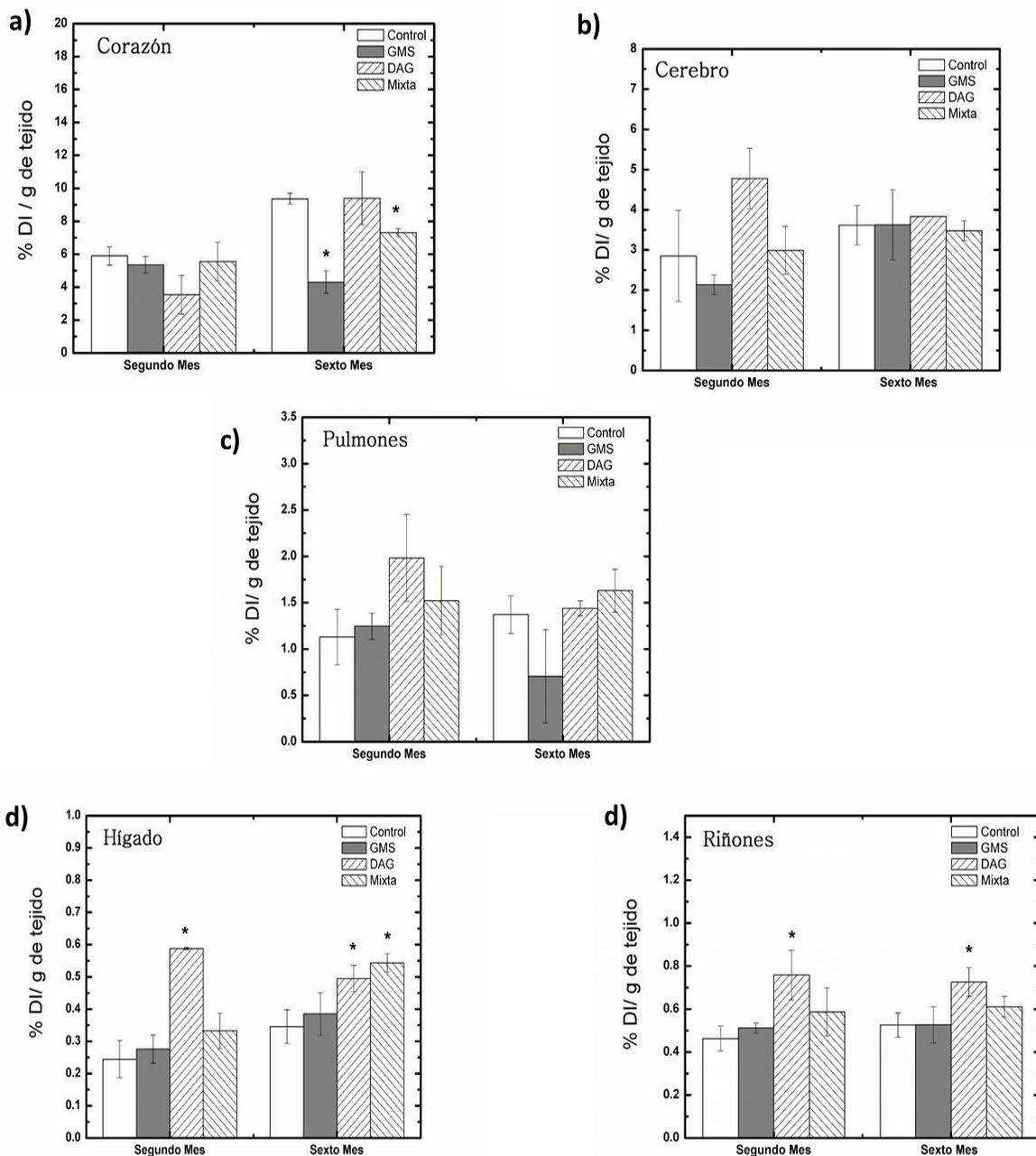


Fig. 4.6. Captación de ^{18}F -FDG en A) corazón, B) cerebro, C) pulmones, D) hígado y E) riñones de los ratones suplementados con CT, GMS, DAG y Mixta durante 2 y 6 meses. Estadísticamente significativo con respecto al control (* $p < 0.05$).

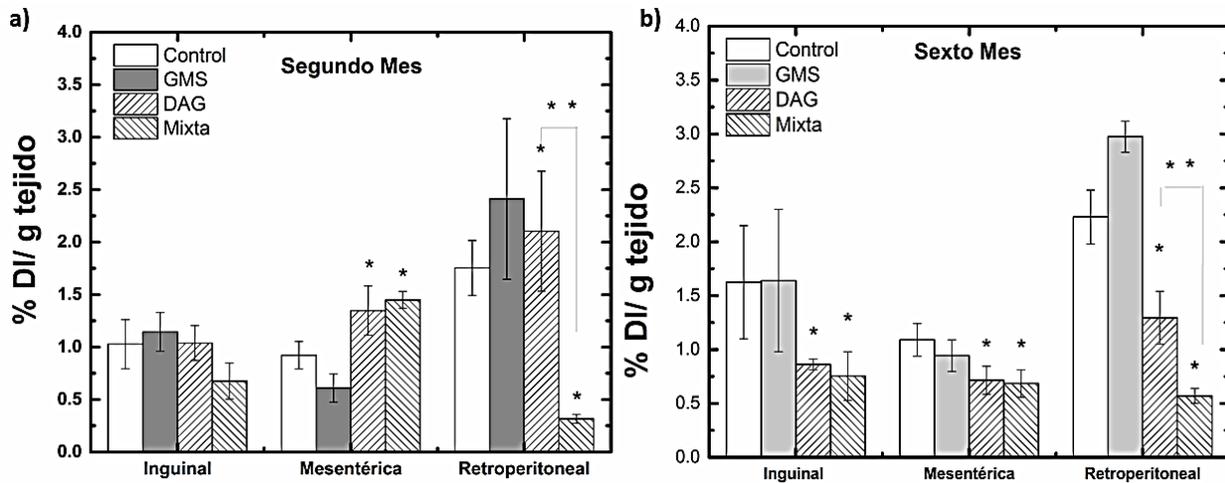


Fig. 4 7. Captación de ^{18}F -FDG en grasa inguinal, mesentérica y retroperitoneal para los ratones suplementados con GMS, DAG y mixta para a) segundo y b) sexto mes de evaluación. Los datos son expresados como el promedio $\pm \sigma$. * Estadísticamente significativos con respecto al control ($P < 0.05$). ** Estadísticamente significativos entre los grupos GMS, DAG y Mixta.

Los cambios en la actividad metabólica en los órganos (corazón, cerebro, pulmones, hígado y riñones) muestran mayor impacto en corazón e hígado y principalmente para los grupos suplementados con dietas altas en grasa, debido a que, se relacionan estos dos órganos con la producción de ácidos grasos y su uso para la obtención de energía. Incluso riñones muestran captación de ^{18}F -FDG, debido a que es un órgano secretor. La captación de ^{18}F -FDG en tejido adiposo muestra los cambios metabólicos en mesentérica y retroperitoneal principalmente, Carvalho P. P. y cols., menciona que, debido a las dietas altas en grasa se produce alteración en el transporte de glucosa inducida por la translocación en los transportadores de glucosa activos o hipertrofia en los adipocitos [31].

Capítulo 5

CONCLUSIONES

La captación de ^{18}F -FDG, permitió evaluar los cambios en la actividad metabólica de órganos y tejidos derivada de la suplementación con GMS, DAG y Mixta. La dieta alta en grasa y en combinación con el glutamato monosódico tiene mayor impacto en la modificación de la actividad metabólica del corazón y tejido adiposo. Sugiriendo que los grupos que muestran cambios podrían no responder a la insulina con normalidad y con ello relacionarse con trastornos metabólicos, como diabetes mellitus tipo 2.

Capítulo 6

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- [1] B. Lizarbe, A. Cherix, J. M. N. Duarte, J. R. Cardinaux, and R. Gruetter, "High-fat diet consumption alters energy metabolism in the mouse hypothalamus," *Int. J. Obes.*, 2018.
- [2] M. Dolnikoff, A. Martín-Hidalgo, U. F. Machado, F. B. Lima, and E. Herrera, "Decreased lipolysis and enhanced glycerol and glucose utilization by adipose tissue prior to development of obesity in monosodium glutamate (MSG) treated-rats," *Int. J. Obes.*, vol. 25, no. 3, pp. 426–433, 2001.
- [3] S. Ishino *et al.*, "Glucose uptake of the muscle and adipose tissues in diabetes and obesity disease models: evaluation of insulin and β 3-adrenergic receptor agonist effects by 18F-FDG," *Ann. Nucl. Med.*, vol. 31, no. 5, pp. 413–423, 2017.
- [4] T. A. Lutz and S. C. Woods, "Overview of animal models of obesity," *Curr. Protoc. Pharmacol.*, no. SUPPL.58, pp. 1–18, 2012.
- [5] M. Kleinert *et al.*, "Animal models of obesity and diabetes mellitus," *Nat. Rev. Endocrinol.*, vol. 14, no. 3, pp. 140–162, 2018.
- [6] L. Ghibaudi, J. Cook, C. Farley, M. Van Heek, and J. J. Hwa, "Fat intake affects adiposity, comorbidity factors, and energy metabolism of Sprague-Dawley rats," *Obes. Res.*, vol. 10, no. 9, pp. 956–963, 2002.
- [7] S. S. Choe, J. Y. Huh, I. J. Hwang, J. I. Kim, and J. B. Kim, "Adipose tissue remodeling: Its role in energy metabolism and metabolic disorders," *Front. Endocrinol. (Lausanne)*, vol. 7, no. APR, pp. 1–16, 2016.
- [8] R. Matyšková, L. Maletínská, J. Maixnerová, Z. Pirník, A. Kiss, and B. Železná, "Comparison of the obesity phenotypes related to monosodium glutamate effect on arcuate nucleus and/or the high fat diet feeding in C57BL/6 and NMRI mice," *Physiol. Res.*, vol. 57, no. 5, pp. 727–734, 2008.
- [9] P. Boonnate *et al.*, "Monosodium glutamate dietary consumption decreases pancreatic β -cell mass in adult Wistar rats," *PLoS One*, vol. 10, no. 6, pp. 1–14, 2015.
- [10] M. G. Tordoff, T. R. Aleman, and M. C. Murphy, "No effects of monosodium glutamate consumption on the body weight or composition of adult rats and mice," *Physiol. Behav.*, vol. 107, no. 3, pp. 338–345, 2012.
- [11] K. S. Collison *et al.*, "Effect of dietary monosodium glutamate on trans fat-induced nonalcoholic fatty liver disease," *J. Lipid Res.*, 2008.
- [12] M. Hermanussen, A. P. Garcia, M. Sunder, M. Voigt, V. Salazar, and J. A. F. Tresguerres, "Obesity, voracity, and short stature: The impact of glutamate on the regulation of appetite," *Eur. J. Clin. Nutr.*, vol. 60, no. 1, pp. 25–31, 2006.
- [13] A. E. Hirata, I. S. Andrade, P. Vaskevicius, and M. S. Dolnikoff, "Monosodium glutamate (MSG)-obese rats develop glucose intolerance and insulin resistance to peripheral glucose uptake," *Brazilian J. Med. Biol. Res.*, vol. 30, no. 5, pp. 671–674, 1997.
- [14] X. Ren, J. G. Ferreira, C. W. Yeckel, T. Kondoh, and I. E. De Araujo, "Effects of ad libitum ingestion of monosodium glutamate on weight gain in C57BL6/J mice," *Digestion*, vol. 83, no. SUPPL.1, pp. 32–36,

2011.

- [15] K. Niaz, E. Zaplatic, and J. Spoor, "Extensive use of monosodium glutamate: A threat to public health?," *EXCLI J.*, vol. 17, pp. 273–278, 2018.
- [16] M. del C. Servín Rodas, "Nutrición básica y aplicada," *Univ. Nac. Autónoma México*, p. 276, 2013.
- [17] K.-P. Wong, W. Sha, X. Zhang, and S.-C. Huang, "Effects of Administration Route, Dietary Condition, and Blood Glucose Level on Kinetics and Uptake of 18F-FDG in Mice," *J. Nucl. Med.*, 2011.
- [18] F. Xie and F. Peng, "Radiopharmaceuticals for Assessment of Altered Metabolism and Biometal Fluxes in Brain Aging and Alzheimer's Disease with Positron Emission Tomography," *Journal of Alzheimer's Disease*. 2017.
- [19] B. P. Sampey *et al.*, "Cafeteria diet is a robust model of human metabolic syndrome with liver and adipose inflammation: Comparison to high-fat diet," *Obesity*, vol. 19, no. 6, pp. 1109–1117, 2011.
- [20] A. M. Navale and A. N. Paranjape, "Glucose transporters: physiological and pathological roles," *Biophys. Rev.*, vol. 8, no. 1, pp. 5–9, 2016.
- [21] A. S. Cla and P. Alabr, "Cómo se transporta la glucosa a través de la membrana celular?," *Iatreia*, vol. 15, no. 3, pp. 179–189, 2002.
- [22] V. Bermúdez *et al.*, "Biología molecular de los transportadores de glucosa: Clasificación, estructura y distribución," *Arch. Venez. Farmacol. y Ter.*, vol. 26, no. 2, pp. 76–86, 2007.
- [23] A. E. Russi and M. A. Brown, "HHS Public Access," vol. 165, no. 2, pp. 255–269, 2016.
- [24] F. Faillaci, E. Turola, R. M. Critelli, F. Schepis, and E. Villa, "Obese zebrafish : A small fish for a major human health condition," no. September, pp. 255–265, 2018.
- [25] D. Jha and P. Mitra, "High fat diet administration leads to the mitochondrial dysfunction and selectively alters the expression of class 1 GLUT protein in mice," *Mol. Biol. Rep.*, vol. 0, no. 0, p. 0, 2019.
- [26] L. Carrillo Fernández, J. Dalmau Serra, J. R. Martínez Álvarez, R. Solà Alberich, and F. Perez Jimenez, "Dietary fats and cardiovascular health," *Clin. e Investig. en Arterioscler.*, vol. 23, no. SUPPL. 1, pp. 1–36, 2011.
- [27] I. Ugur Calis *et al.*, "The Effects of Monosodium Glutamate and Tannic Acid on Adult Rats," *Iran. Red Crescent Med. J.*, vol. 18, no. 10, 2016.
- [28] I. Brink, M. J. Reinhardt, S. Hoegerle, C. Althoefer, E. Moser, and E. U. Nitzsche, "Increased metabolic activity in the thymus gland studied with 18F-FDG PET: age dependency and frequency after chemotherapy," *J. Nucl. Med. Off. Publ. Soc. Nucl. Med.*, vol. 42, no. 4, pp. 591–595, 2001.
- [29] K. S. Collison *et al.*, "Effect of Dietary Monosodium Glutamate on HFCS-Induced Hepatic Steatosis: Expression Profiles in the Liver and Visceral Fat," *Obesity*, vol. 18, no. 6, pp. 1122–1134, 2010.
- [30] R. Roman-Ramos *et al.*, "Monosodium glutamate neonatal intoxication associated with obesity in adult stage is characterized by chronic inflammation and increased mRNA expression of peroxisome proliferator-activated receptors in mice," *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.*, vol. 108, no. 6, pp. 406–413, 2011.
- [31] P. De Carvalho Papa, A. M. Vargas, J. L. Tavares Da Silva, M. T. Nunes, and U. F. Machado, "GLUT4 protein is differently modulated during development of obesity in monosodium glutamate-treated

mice," *Life Sci.*, vol. 71, no. 16, pp. 1917–1928, 2002.

- [32] S. M. Lingala and M. G. M. Mhs. Ghany, "Visceral and subcutaneous adipose tissue FDG uptake by PET/CT in metabolically healthy obese subjects," vol. 25, no. 3, pp. 289–313, 2016.
- [33] A. Manuscript, "Increased glucose uptake in visceral versus subcutaneous adipose tissue revealed by PET imaging," *Bone*, vol. 23, no. 1, pp. 1–7, 2008.
- [34] V. Di Gialleonardo, D. M. Wilson, and K. R. Keshari, "The Potential of Metabolic Imaging," *Semin. Nucl. Med.*, vol. 46, no. 1, pp. 28–39, 2016.
- [35] C. Plathow and W. A. Weber, "Tumor Cell Metabolism Imaging," *J. Nucl. Med.*, vol. 49, no. Suppl_2, p. 43S–63S, 2008.
- [36] deKemp, E. Croteau, J. . Renaud, M. Richard, T. D. Ruddy, and F. Bénard, "PET Metabolic Biomarkers for Cancer," *Biomark. Cancer*, vol. 8, p. 61, 2016.
- [37] E. Roldán-Valadez, I. Vega-González, G. Valdivieso-Cárdenas, A. Rumoroso-García, O. Morales-Santillán, and L. Osorio-Cardiel, "Conceptos básicos del 18F-FDG PET/CT. Definición y variantes normales," *Gac. Med. Mex.*, vol. 144, no. 2, pp. 137–146, 2008.
- [38] A. M. J. Paans, "Positron emission tomography," pp. 363–382.
- [39] Z. Cho, Y. Son, Y. Kim, and S. Yoo, "Biomedical image processing," no. January 2011, pp. 1–1, 2015.
- [40] E. Roldán-valadez *et al.*, "Conceptos básicos del 18 F-FDG PET/CT. Definición y variantes normales," vol. 144, no. 2, pp. 137–146, 2008.
- [41] A. M. Álvarez Páez, J. M. Nogueiras Alonso, and A. Serena Puig, "18F-FDG-PET/TC en linfoma: Dos décadas de experiencia," *Rev. Esp. Med. Nucl. Imagen Mol.*, vol. 31, no. 6, pp. 340–349, 2012.
- [42] L. Vija, P. Chaumet-Riffaud, G. Grimon, E. Durand, and A. Prigent, "Tomografía por emisión de positrones con 18 F-fluorodesoxiglucosa en el tratamiento de los cánceres ginecológicos o mamarios," *EMC - Ginecol.*, vol. 53, no. 2, pp. 1–18, 2017.
- [43] J. Phels, *physics in nuclear medicine* . .
- [44] Attix F.H., "Introduction to Radiological Physics and Radiation Domisetry," *John Wiley Sons, U.S.A.*, 1986.
- [45] Herman Cember, *Health* . .
- [46] J. Rozman *et al.*, "Glucose tolerance tests for systematic screening of glucose homeostasis in mice," *Curr. Protoc. Mouse Biol.*, vol. 5, no. 1, pp. 65–84, 2015.
- [47] M. D. Dibonaventura, H. Meincke, A. Le Lay, J. Fournier, E. Bakker, and A. Ehrenreich, "Obesity in mexico: Prevalence, comorbidities, associations with patient outcomes, and treatment experiences," *Diabetes, Metab. Syndr. Obes. Targets Ther.*, vol. 11, pp. 1–10, 2018.
- [48] O. Tschritter, A. Fritsche, F. Shirkavand, F. Machicao, H. Häring, and M. Stumvoll, "Assessing the shape of the glucose curve during an oral glucose tolerance test," *Diabetes Care*, vol. 26, no. 4, pp. 1026–1033, 2003.
- [49] O. Manabe *et al.*, "The effects of 18-h fasting with low-carbohydrate diet preparation on suppressed physiological myocardial 18F-fluorodeoxyglucose (FDG) uptake and possible minimal effects of

unfractionated heparin use in patients with suspected cardiac involvement sarcoidosis," *J. Nucl. Cardiol.*, vol. 23, no. 2, pp. 244–252, 2016.

- [50] H. Hu, Y. Xu, C. Liu, H. Zhao, H. Zhang, and L. Wang, "Changes in behavior and in brain glucose metabolism in rats after nine weeks on a high fat diet: a randomized controlled trial," *Shanghai Arch. Psychiatry*, vol. 26, no. 3, pp. 129–137, 2014.
- [51] J. D. Fernstrom, "Monosodium Glutamate in the Diet Does Not Raise Brain Glutamate Concentrations or Disrupt Brain Functions," vol. 73, no. suppl 5, pp. 43–52, 2018.
- [52] V. Berti, L. Mosconi, and A. Pupi, "Brain: Normal variations and benign findings in fluorodeoxyglucose-PET/ computed tomography imaging," *PET Clin.*, vol. 9, no. 2, pp. 129–140, 2014.
- [53] F. [1]. Gil Martínez, Eduardo Manuel [1], Mohedano Ferrer, Borja [1], Ramírez López, Miguel Ángel [1], González Cabezas, Pedro [2], Durán Barquero, Carmen [3], Moya García, "Captación fisiológica y no maligna de [18]FDG en estudio PET de cuerpo completo.," *alabimn journal*. [Online]. Available: <http://web.uchile.cl/vignette/borrar3/alabimn/CDA/imprime/0,1208,PRT%253D19328,00.html>.
- [54] S. Park, C. S. Kim, J. Min, S. H. Lee, and Y. S. Jung, "A high-fat diet increases oxidative renal injury and protein glycation in D-galactose-induced aging rats and its prevention by Korea red Ginseng," *J. Nutr. Sci. Vitaminol. (Tokyo)*, vol. 60, no. 3, pp. 159–166, 2014.
- [55] P. Zabielski, H. R. Hady, M. Chacinska, K. Roszczyc, and J. Gorski, "The effect of high fat diet and metformin treatment on liver lipids accumulation and their impact on insulin action," no. April, pp. 1–11, 2018.
- [56] S. Mahieu, M. Klug, N. Millen, A. Fabro, A. Benmelej, and M. D. C. Contini, "Monosodium glutamate intake affect the function of the kidney through NMDA receptor," *Life Sci.*, vol. 149, pp. 114–119, 2016.
- [57] M. E. Altunkaynak, E. Özbek, B. Z. Altunkaynak, I. Can, D. Unal, and B. Unal, "The effects of high-fat diet on the renal structure and morphometric parametric of kidneys in rats," *J. Anat.*, vol. 212, no. 6, pp. 845–852, 2008.