



---

---

Universidad Autónoma del Estado de México  
Facultad de Ciencias de la Conducta

Doctorado en Ciencias de la Salud  
**Efecto de la ovariectomía sobre la captación multiorgánica  
de  $^{18}\text{F}$ -FDG en ratones con diabetes experimental**

**TESIS**

Para Obtener el Grado de:  
Doctor en Ciencias de la Salud

Presenta:

M. C. S. Mario Flores Reyes

Comité Tutorial:

Dr. Eugenio Torres García

Tutor Académico

Dr. Rigoberto Oros Pantoja

Tutor Interno

Dra. Nallely Patricia Jiménez Mancilla

Tutor Externo

Toluca, Estado de México, agosto 2021



## ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	5
2. ANTECEDENTES .....	7
2.1 DIABETES Y CLASIFICACIÓN .....	7
2.2 EPIDEMIOLOGÍA DE LA DIABETES.....	7
2.3 TRANSPORTE DE GLUCOSA .....	8
2.4 INSULINA .....	9
2.5 RESISTENCIA A LA INSULINA.....	9
2.6 BIOSÍNTESIS DE INSULINA .....	10
2.7 RECEPTORES DE INSULINA.....	11
2.8 VÍAS DE SEÑALIZACIÓN DE LA INSULINA.....	11
2.9 MODELOS DE DIABETES EXPERIMENTAL.....	12
2.10 METABOLISMO DEL GLUCÓGENO .....	13
2.11 GLUCONEOGÉNESIS.....	13
2.12 GLUCÓLISIS.....	15
2.13 EL OVARIO.....	16
2.14 HORMONAS OVÁRICAS .....	16
2.15 ESTRÓGENOS .....	16
2.16 RECEPTORES DE ESTRÓGENOS.....	17
2.17 EJE HIPOTÁLAMO HIPÓFISIS GONADAL.....	18
2.18 DISFUNCIÓN OVÁRICA.....	19
2.19 MENOPAUSIA .....	20
2.20 OVARIOTOMÍA .....	20
2.25 RADIOFÁRMACOS .....	23
2.26 RADIONÚCLIDOS EN PET.....	24
2.27 2-[ <sup>18</sup> F] fluor-2 deoxy-D-glucosa ( <sup>18</sup> F-FDG).....	24
2.28 CAPTACIÓN BIOLÓGICA DEL <sup>18</sup> F-FDG .....	25
2.29 CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DEL <sup>18</sup> F .....	26
2.30 MODELO BIOCINÉTICO.....	28
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	31
4. JUSTIFICACIÓN.....	32
5. HIPÓTESIS .....	33

6. OBJETIVOS.....	33
6.1 OBJETIVO GENERAL .....	33
6.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	33
7. DISEÑO METODOLÓGICO .....	34
7.1 DISEÑO DEL ESTUDIO.....	34
7.2 UNIVERSO Y MUESTRA .....	34
7.3 CRITERIOS DE INCLUSIÓN.....	34
7.4 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN.....	34
7.5 PROCEDIMIENTO .....	34
7.6 OVARIECTOMÍA .....	35
7.7 INDUCCIÓN DE DIABETES .....	35
7.7 RADIOGRAFÍAS. ....	36
7.8 SEGMENTACIÓN DE FÉMUR .....	36
7.9 DENSIDAD DEL FÉMUR .....	37
7.10 SUMINITRO DEL <sup>18</sup> F-FDG.....	37
7.11 RECOLECCIÓN DE DATOS.....	38
7.12 ANÁLISIS DE DATOS .....	38
7.13 ASPECTOS ÉTICOS .....	38
8. RESULTADOS .....	39
8.1 TÍTULO DEL ARTÍCULO PUBLICADO.....	39
8.1.1 PÁGINA FRONTAL DE MANUSCRITO.....	39
8.2 ARTÍCULO ENVIADO.....	40
8.2.1 TÍTULO DEL ARTÍCULO ENVIADO.....	40
8.2.2 CARTA DE ENVÍO Y/O RECEPCIÓN DEL ARTÍCULO.....	40
9. DISCUSIÓN GENERAL .....	41
10. CONCLUSIONES GENERALES .....	45
11. BIBLIOHEMEROGRAFÍA .....	46
12. ANEXOS .....	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>

## Resumen

**Introducción:** El Síndrome Metabólico (SM) es una patología que afecta por igual a individuos a nivel mundial. La diabetes mellitus (DM) y la osteoporosis disminuyen la resistencia ósea y aumentan el riesgo de fractura. La resistencia a la insulina se considera como un tronco común fisiopatológico de la diabetes mellitus y otras enfermedades, mientras que los estrógenos en mujeres premenopáusicas funcionan como un factor protector ante la diabetes tipo 2 y en diferentes órganos como el corazón, hígado, cerebro y músculo esquelético. Mientras que la diabetes como enfermedad sistémica, multifactorial y multiorgánica puede conducir a una afectación gradual y progresiva de microangiopatías (retina, el glomérulo renal y el sistema nervioso periférico) y macroangiopatías (sistema cardiovascular, el sistema nervioso central (SNC) y la afectación vascular periférica).

**Objetivo:** El objetivo del presente trabajo fue analizar el efecto que causa la ovariectomía (OVX) y la diabetes mellitus tipo 2 (DM2) sobre la salud ósea mediante absorciometría de rayos X y también describir el daño a órganos que ambas patologías causan, esto mediante la captación multiorgánica de  $^{18}\text{F}$ -FDG en ratones hembra CD1. **Metodología:** se formaron seis grupos de estudio (n=6/grupo): control joven, control adulto, Sham, ovariectomía (OVX), diabetes experimental (DM2) y ovariectomía-diabetes (OVX-DM). A las diez semanas de edad los ratones de los grupos OVX y OVX-DM fueron ovariectomizados vía peritoneal. La diabetes experimental se indujo químicamente con aloxano a las 13 semanas de edad en los grupos DM y OVX-DM. A las 30 semanas de edad: a) Se obtuvieron las radiografías, las cuales se analizaron con el software MATLAB, por medio de segmentación basado en el método de umbrales que permite una segmentación interactiva de ROI con alta precisión geométrica para medir la absorciometría, b) Se inyectó y 2h después se midió la captación de  $^{18}\text{F}$ -FDG en los órganos de interés con un contador de rayos gamma. **Resultados y discusión:** Basados en la absorciometría y la metodología DXA, se encontraron valores de la DMO que indican que a lo más estas patologías podrían causar osteopenia. Sin embargo, la captación del  $^{18}\text{F}$ -FDG revela disminución de la función en: timo, corazón y cerebro causados por la DM y OVX en el mismo sujeto. **Conclusiones:** Con este modelo experimental se determinó que los sujetos de prueba con OVX, DM y DM-OVX no alcanzaron la condición de osteoporosis a las

30 semanas de edad, además a esta edad los sujetos de prueba con DM-OVX podrían disminuir la funcionalidad del timo, corazón y cerebro.

## **1. INTRODUCCIÓN**

En México, uno de los principales problemas de salud es la diabetes mellitus, una enfermedad metabólica provocada por defectos en la acción de la insulina, la diabetes esta entre las primeras causas de muerte. En México es una de las principales causas de mortalidad y la primera causa de años de vida saludable perdidos, con una prevalencia del 10.7%. El reporte de diabetes a través de un diagnóstico médico fue mayor entre mujeres que entre hombres a (10.3% vs 8.4%), fue más frecuente en mujeres de localidades urbanas (10.5%) que en rurales (9.5%). Los efectos más frecuentes vinculados con esta afección es la ceguera, nefropatía, insuficiencia renal, neuropatía, aumento de riesgo de infarto, accidentes cerebrovasculares e hipertensión. Sumado a estas patologías las mujeres mayores de 45 años sufren la menopausia, un proceso fisiológico normal del envejecimiento, caracterizado principalmente por la ausencia de secreción hormonal ovárica, como el estradiol (E2) que es un regulador clave de la homeostasis de la energía y la glucosa con efectos directos en los músculos, el hígado, el páncreas, el tejido adiposo, las células inmunes y el cerebro. Por lo tanto, la reducción sustancial de E2 circulante que acompaña a la menopausia tiene efectos más allá de la salud reproductiva, como la disminución de la sensibilidad a la insulina, predisponiendo a las mujeres a desarrollar diabetes tipo 2, síndrome metabólico y enfermedad cardiovascular. El 40% de mujeres que ingresan a la menopausia antes de los 40 años se someten a histerectomía con ooforectomía bilateral, ampliamente aceptada en el ámbito de la práctica ginecológica, lo que aumenta el riesgo de síndrome metabólico.

Las mujeres que se someten a una menopausia prematura o precoz experimentan la pérdida temprana de estrógeno y otras hormonas ováricas, las consecuencias a largo plazo de la menopausia incluyen numerosas alteraciones fisiológicas, metabólicas e inmunológicas como efectos adversos sobre el estado de ánimo, la cognición, el tejido óseo la salud cardiovascular y sexual, así como un mayor riesgo de mortalidad temprana. La deficiencia de estrógenos después de la menopausia puede provocar osteoporosis y un mayor riesgo de fractura ósea, ya que estos protegen al esqueleto de la pérdida ósea al suprimir el recambio y mantener un equilibrio entre la formación y reabsorción ósea. Estudios recientes han demostrado

alteraciones de la matriz mineral en el tejido óseo que rodea a los osteocitos en animales con deficiencia de estrógenos. También esta deficiencia de estrógenos provoca un aumento de la porosidad vascular del hueso cortical. La deficiencia de estrógenos y la diabetes aceleran el proceso de envejecimiento y aumentan el riesgo de desarrollar enfermedades cardiovasculares, renales, cerebrales etc. Existe una molécula análoga de la glucosa usada como marcador metabólico que nos permitiría identificar y cuantificar el daño causado por la diabetes y ovariectomía, está ingresa a las células, a través de los diferentes receptores de membrana, y sigue la misma vía metabólica de la glucosa, esa molécula es la  $^{18}\text{F}$ -FDG, la cual puede seguirse en su ruta a través de la tomografía por emisión de positrones (PET) en organismos vivos. Esta técnica nos permite visualizar los procesos a nivel molecular. Ya que el Fluor-18 es un emisor de positrones que durante su decaimiento  $\beta^+$  se aniquilan con electrones del medio produciendo dos rayos gamma antiparalelos los cuales son detectados por tomógrafo PET o por contadores de rayos gama, este último nos permite cuantificar la absorción de  $^{18}\text{F}$ -FDG en órganos, que a su vez está relacionada con la tasa metabólica de la región de interés. El objetivo de este trabajo es analizar el efecto que causa la ovariectomía (OVX) y la diabetes mellitus tipo 2 (DM2) sobre la salud ósea mediante absorciometría de rayos X, y describir el daño a órganos que ambas patologías causan, esto mediante la captación multiorgánica de  $^{18}\text{F}$ -FDG en ratones hembra CD1.

## **2. ANTECEDENTES**

### **2.1 DIABETES Y CLASIFICACIÓN**

La diabetes mellitus es un trastorno metabólico que se caracteriza por niveles altos de glucosa en sangre, e insuficiencia en la producción o acción de la insulina (Asmat y Ismail. 2016). La diabetes mellitus se clasifica en 4 tipos: la Diabetes tipo 1 es una enfermedad crónica caracterizada por la destrucción de las células beta pancreáticas, provocando la incapacidad de producir insulina. La diabetes tipo 2 (DM2) es una enfermedad crónica degenerativa causada por un trastorno metabólico con múltiples etiologías. Se caracteriza por una hiperglucemia crónica y se asocia con diferentes complicaciones cardiovasculares y renales, provocando una disminución en la calidad y esperanza de vida (Roden, 2016; Iglesias y Heredia, 2020). La DM2 representa del 90 y el 95% de los diferentes tipos de diabetes. Es una de las principales enfermedades con un mayor impacto socioeconómico y sanitario debido a su elevada prevalencia, mortalidad.

Diabetes gestacional (DMG): trastorno de tolerancia a la glucosa que apareció/fue diagnosticado por primera vez durante el embarazo, La hiperglucemia puede desaparecer después del parto. Sin embargo, del 5-10% de las mujeres DMG, puede continuar teniendo diabetes, a menudo DM2 y requerirá tratamiento con cambios de estilo de vida y agentes hipoglucemiantes apropiados (Roden, 2016; Holt *et al.*, 2016, American Diabetes Association, 2016). Otras formas específicas de diabetes: como enfermedades del páncreas exocrino, relacionadas con fármacos (por ejemplo, glucocorticoides,  $\alpha$ - interferón, terapia contra el VIH/SIDA), mediada por autoinmunidad, defectos y síndromes genéticos (Roden, 2016; Holt *et al.*, 2016).

### **2.2 EPIDEMIOLOGÍA DE LA DIABETES**

La incidencia de la diabetes a nivel mundial se ha cuadruplicado en las últimas tres décadas, debido principalmente al estilo de vida y al envejecimiento. En 2017, se reportó que había 424.9 millones de personas con diabetes y más de 1.8 millones de defunciones a causa de esta enfermedad. Cerca del 80% de estas se dio en países con bajos y medianos ingresos

económicos. Para Centroamérica y Sudamérica la prevalencia asciende a 29.6 millones y hay aproximadamente 1.5 millones de personas que conviven con diabetes sin recibir diagnóstico. El crecimiento de la incidencia de DM2 en países en desarrollo fue de 69% y en países desarrollados fue de 20% entre el 2010 y 2020. En los próximos años se espera un aumento de 148 y 65% respectivamente en Latinoamérica y Sudamérica (Villanueva *et al.*, 2020).

### **2.3 TRANSPORTE DE GLUCOSA**

La glucosa representa la fuente principal de energía para los tejidos del cuerpo. Por tanto, la homeostasis de la glucosa en el cuerpo es un sistema regulador complejo que involucra a varios tejidos. El transporte de glucosa se logra mediante la difusión facilitada o el transporte activo secundario mediado por transportadores de glucosa, una amplia variedad de proteínas de membrana (Lizák *et al.*, 2019). Estas proteínas se han caracterizado principalmente como transportadores de membrana plasmática que median la captación de glucosa, y otras moléculas. Se han caracterizado tres tipos de transportadores de glucosa en eucariotas: los transportadores de glucosa (GLUT), los transportadores de sodio-glucosa (SGLT) y el SWEET.

Los transportadores GLUT, participa en todos los pasos críticos del manejo de la glucosa y otras hexosas, incluida la absorción, distribución y excreción/recuperación (Chadt y Hasani, 2020). La familia de transportadores de glucosa facilitadora humana (GLUT o SLC2A) contiene 14 isoformas con características estructurales compartidas, como 12 dominios transmembrana, extremos N y C que se enfrentan al citoplasma de la célula y sitios de N-glicosilación. Las diferentes isoformas muestran diferente distribución tisular, localización subcelular, afinidades de unión al sustrato y regulación (Lizák *et al.*, 2019).

Los SGLT, llevan a cabo un transporte acoplado de sodio-glucosa en las células, estas proteínas se encuentran localizadas en la membrana luminal de las células presentes en los túbulos contorneados proximales de riñones y en células del intestino delgado encargadas de la absorción (Hernández y Herrera, 2002).

A través de los transportadores SGLT presentes en los riñones se recupera una gran cantidad de glucosa, dejando a la orina libre de glucosa evitando de esta forma la pérdida de calorías. Cerca del 90% de glucosa es reabsorbida en el tubo próxima del riñón, en esta región se encuentran presentes los transportadores SGT2 y GLUT2, el 10% restante es reabsorbida en el

segmento S3 del tubo proximal a través de transportadores SGLT1 y GLUT1 (Segura, 2016). Esta nueva familia de transportadores de clase SWEET, está representada por un solo miembro, SWEET1 (o SLC50A1), en el genoma humano. Esta se encuentra principalmente en plantas.

La glucosa ingresa a la célula a través de cuatro etapas: 1) la glucosa se une al transportador presente en la membrana interna. 2) el transportador lleva a cabo un cambio de conformación llevando a la glucosa al interior de la célula. 3) el transportador libera a la molécula de glucosa. 4) ya libre el transportador cambia nuevamente de conformación para iniciar nuevamente el proceso de transporte de glucosa (Hernández y Herrera, 2002).

## **2.4 INSULINA**

La insulina es una hormona constituida por 51 aminoácidos de un peso molecular de 5.800 kDa. Formada por dos cadenas: una cadena  $\alpha$  de 21 aminoácidos y una cadena  $\beta$  de 30 aminoácidos, unidas por dos enlaces disulfuro y un puente disulfuro intercatenario entre la cadena alfa (Rojas *et al.*, 2007). La insulina es sintetizada en las células beta de los islotes de Langerhans ubicados en el páncreas (Koolman y Röhm, 2005; Reyes y Plancarte, 2008). Esta hormona tiene una función de gran importancia que es la de mantener la concentración de glucosa en sangre en un rango de 80-105 mg/dl favoreciendo la entrada a través de los transportadores GLUT y su almacenamiento en músculos, tejido adiposo e hígado, tejidos diana de relevancia para la insulina. En general, la insulina activa los sistemas de transporte, las enzimas que intervienen en la utilización y almacenamiento de glucosa e inhibe el proceso de gluconeogénesis y procesos catabólicos como la descomposición de glucógeno, grasa y proteínas (Moller y Flier, 1991).

## **2.5 RESISTENCIA A LA INSULINA**

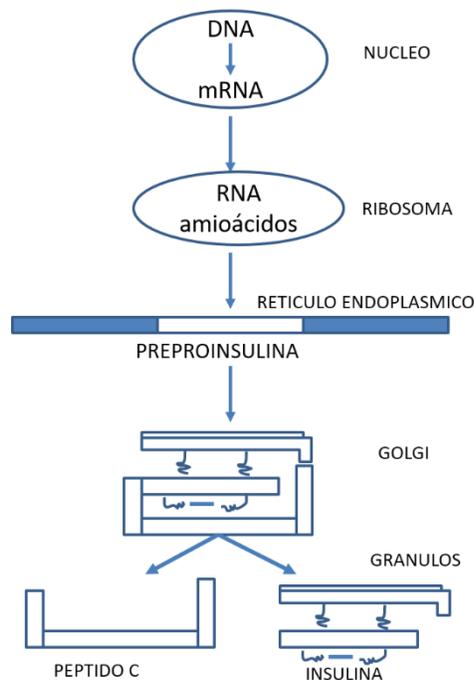
La resistencia a la insulina es un estado en el que las células del cuerpo que ordinariamente responden a esta hormona dejan de hacerlo, provocando que la glucosa no pueda ingresar a las células con esa facilidad que normalmente lo hace, provocando que se acumule en sangre con altos niveles (Chadt y Hasani, 2020). La resistencia a la insulina se manifiesta principalmente por una disminución del transporte de glucosa a diferentes células. Esta resistencia es una consecuencia de una mala señalización de la insulina causada probablemente por mutaciones o modificaciones post-traducción del receptor de insulina (IR) o por moléculas efectoras

presentes rio abajo. A nivel molecular, son múltiples los mecanismos que generan resistencia a la insulina y estos pueden variar de un organismo a otro (Reyes y Plancarte, 2008).

## **2.6 BIOSÍNTESIS DE INSULINA**

La insulina es sintetizada por las células beta pancreáticas a través de la misma maquinaria celular que se utiliza para síntesis de cualquier otra proteína. Inicia con los ribosomas que se encuentran acoplados al retículo y traduce el ARN de la insulina para formar una preprohormona insulinica, con un peso molecular de 11.500 kDa. Esta es desdoblada en el retículo formando la proinsulina con un peso molecular de 9.00 kDa. También es empaquetada en vesículas conocidas como gránulos beta que al sufrir el rompimiento del péptido C, se forma la insulina que es almacenada en hexámeros que contienen cinc, hasta su liberación (koolman y Röhm, 2005). Este proceso lo podemos observar en la figura No.1. Los gránulos que contienen insulina y péptido C en fracciones equimolares son liberados por exocitosis. La proinsulina provoca una serie de acciones similares a la insulina, mientras que el péptido C carece de acción y se desconoce su rol fisiológico (Malgor y Valsecia, 2000).

La mayoría de la insulina que se libera en sangre circula de forma libre (no ligada). Tiene una vida media de 6 minutos y desaparece por completo en 15 minutos aproximadamente. Con excepción de la insulina que se une a los receptores de la célula efectora, mientras que el resto se degrada por la acción de la enzima insulinas, principalmente en el hígado, riñones, músculos y de forma muy ligera en todos los demás tejidos (Hall y Guyton, 2017).



**Figura No. 1** Biosíntesis de la insulina

## 2.7 RECEPTORES DE INSULINA

El receptor de insulina (IR) está formado por cuatro cadenas: dos  $\alpha$  y dos cadenas  $\beta$ , con un peso molecular de 480 kDa. Las dos cadenas  $\alpha$  se encuentran extracelularmente y sirven de anclaje a la hormona insulínica mediante sus regiones ricas en cisteína, e intervienen en la función catalítica de las cadenas  $\beta$ , que tienen una posición extra, trans e intracelular. Los receptores presentan cuatro dominios: A) un dominio ubicado transmembrana que le permite anclarse, que contiene aminoácidos hidrofóbicos en forma de  $\alpha$  hélice. B) un dominio yuxtamembranal que le permite la internalización del receptor. C) un dominio con capacidad catalítica de tipo tirocincinasa y D) un dominio carboxilo terminal que contiene residuos de serina y treonina capaces de autofosforilarse (Rojas *et al.*, 2007).

## 2.8 VÍAS DE SEÑALIZACIÓN DE LA INSULINA

Cuando se da la unión de la insulina con su receptor, este desencadena diferentes vías de señalización que regulan su acción biológica. Todo este proceso inicia con la fosforilación inicial del receptor IR en su región de tirosina. Las principales vías de transducción son: la vía de la fosfatidinositol 3-cinasa (PI3K), principal mecanismo de respuesta por el que la insulina lleva a cabo sus funciones del metabolismo de glucosa y de lípidos. Otra vía principal es la de

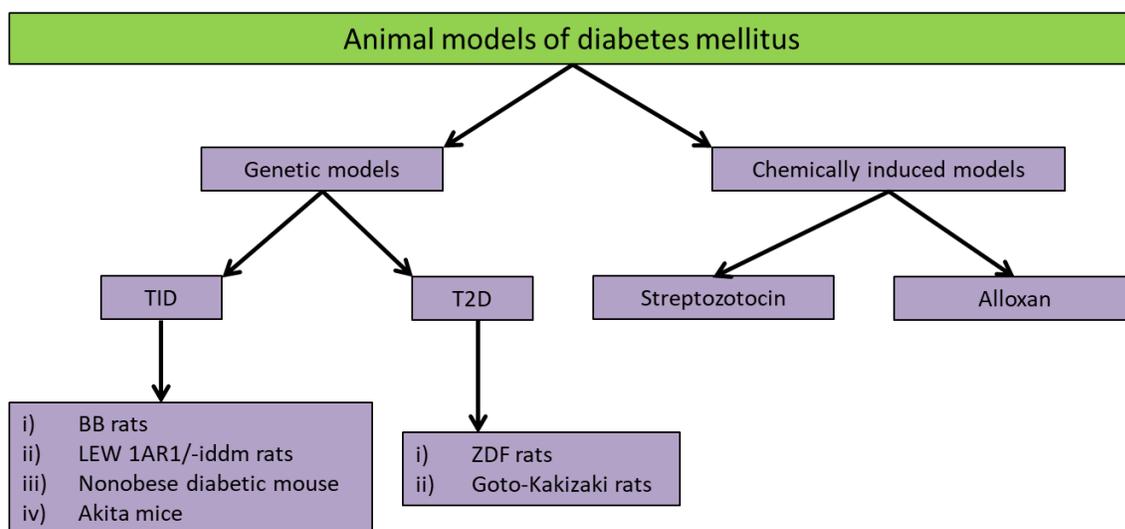
las cinasas activadas por mitogénos (MAP cinasa). Estas dos vías regulan la mayoría de las acciones de la insulina teniendo efecto en el metabolismo energético, expresión genética y efectos mitogénicos (Reyes y Plancarte, 2008).

## **2.9 MODELOS DE DIABETES EXPERIMENTAL**

Los modelos animales han desempeñado un papel fundamental en la exploración y caracterización de la patofisiología de la enfermedad y en la identificación de nuevos agentes terapéuticos y tratamientos in vivo. La figura 2 muestra distintos tipos de inducción de diabetes en modelo animal.

El aloxano y la estreptozotocina (STZ) se consideran las sustancias químicas diabetogénicas más potentes utilizadas hasta ahora en la investigación de la diabetes. Ambos productos químicos se emplean como análogos citotóxicos de la glucosa, que tienden a acumularse en células beta ubicadas en los islotes de Langerhans, al igual que la glucosa también utilizan los transportadores GLUT2 (Al-Awar *et al.*, 2016).

Estos fármacos causan insuficiencia insulínica primaria del páncreas, provocando una respuesta trifásica en los niveles glucémicos durante las primeras horas de la administración, seguida del establecimiento de diabetes permanente en las primeras 24 horas subsiguientes (Lerco *et al.*, 2003; Figueroa *et al.*, 2013). El aloxano afecta directamente a las células beta de los islotes de Langerhans debido a la interacción de sus metabolitos con el cinc del páncreas. Otros reportes mencionan que el aloxano tiene su acción debido a la producción de radicales de oxígeno que provocan una acción diabetogena (Estévez *et al.*, 2000). Otras formas de provocar diabetogénesis son por medio de la utilización de modelos virales, relacionados con los virus ARN, lesiones en el hipotálamo ventro-medial, por medio de la administración de electrolitos que provoca hiperfagia, hiperinsulinemia y obesidad (Hernandorena *et al.*, 2002).



**Figura. No. 2** modelos animales de diabetes mellitus. Modificado de (Al-Awar *et al.*, 2016).

## 2.10 METABOLISMO DEL GLUCÓGENO

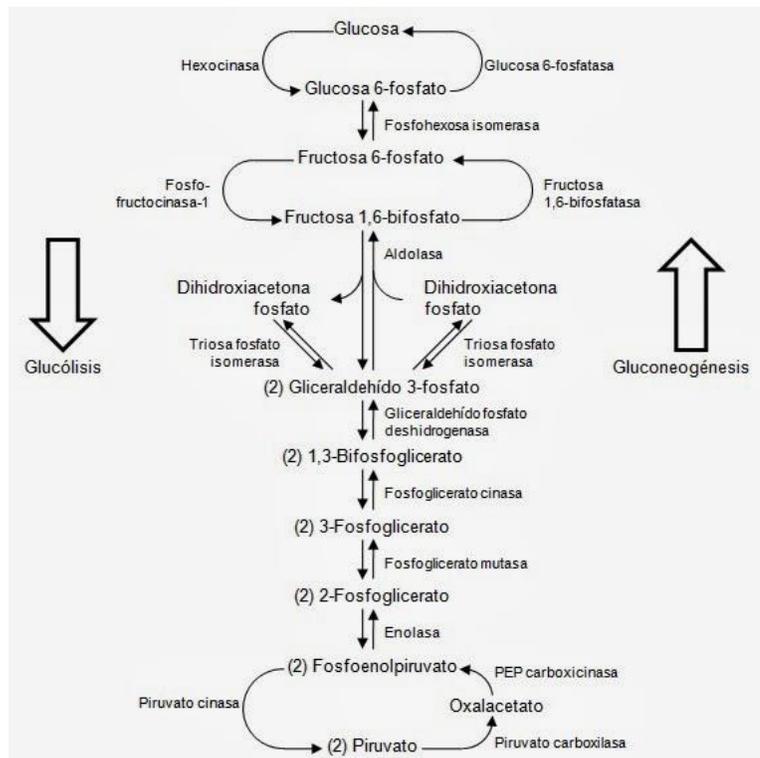
El glucógeno es un polímero ramificado de alfa-d-glucosa que se sintetiza principalmente en el hígado y músculo, este es el principal carbohidrato de almacenamiento de los animales. Sabemos que en el hígado la concentración de glucógeno es mayor pero el músculo es el lugar donde se encuentra la mayoría del glucógeno debido a que la masa muscular es mayor.

Durante las actividades que requieren de una alta demanda de energía, esta se obtiene a través del glucógeno muscular que proporciona una fuente de glucosa 1-fosfato para que se lleve a cabo la glucólisis dentro de las células musculares. Mientras que en un ayuno prolongado se utiliza el glucógeno hepático para mantener los niveles adecuados de glucosa en sangre durante este periodo de ayuno. Durante una ingesta de comida el glucógeno en el hígado aumenta alrededor de 450mM, y durante un ayuno (durante la noche) este disminuye a casi 200mM, si el ayuno se prolonga por más de 18 horas el glucógeno hepático casi se agota (Harper *et al.*, 2013).

## 2.11 GLUCONEOGÉNESIS

La gluconeogénesis es el mecanismo anabólico que realiza la biosíntesis de glucosa a partir de precursores no glucídicos. Este proceso se desarrolla principalmente en el hígado y en menor proporción en el riñón. Varias de las reacciones llevadas a cabo en la glucólisis son reversibles que se utilizan en el proceso de gluconeogénesis (Voet *et al.*, 2014). Este proceso lo podemos observar en la figura 3.

En la gluconeogénesis, algunos sustratos (como el lactato) se deben convertir en piruvato a través de un proceso directo o indirectamente, mediante el ciclo del ácido tricarbóxico (TCA). Primeramente, el piruvato se encuentra en el citosol desde donde es transportado a la mitocondria, aquí el piruvato sufrirá la acción de la enzima piruvato carboxilasa que lo transformara a oxalacetato, para continuar con esta vía es reducido mediante la enzima deshidrogenasa a malato para poder salir de la mitocondria al citosol donde se convertirá de nuevo a oxalacetato mediante la enzima malato deshidrogenasa citosólica, el oxalacetato se transforma por a fosfoenolpiruvato por la enzima PEP carboxinasa citosólica, que es transformado a 2-fosfoglicerato mediante la enzima enolasa, continúa la ruta para convertirse a 3-fosfoglicerato interviniendo la enzima fosfoglicerato mutasa, este es transformado a 1,3-bisfosfoglicerato mediante la enzima fosfogliceratoquinasa, el 1,3-bisfosfoglicerato es convertido a través de la enzima gliceraldehido-3-fosfato deshidrogenasa a gliceraldehido-3-fosfato, este se transforma a fructosa-1,6-bisfosfato gracias a la intervención de la aldosa, posteriormente será convertido con la ayuda de la fructosa-1,6-bisfosfatasa a fructosa-6-fosfato, esta se transformará a glucosa-6-fosfato mediante la enzima fosfohexosa isomerasa y finalmente es convertida con la glucosa-6-fosfatasa a glucosa la cual es exportada a la circulación (Voet *et al.*, 2014; Rines *et al.*, 2016).



**Figura No. 3** síntesis de la vía de glucólisis y gluconeogénesis

## 2.12 GLUCÓLISIS

La glucólisis es un proceso metabólico de 10 reacciones como se observa en la figura 3, donde se oxida la glucosa con la finalidad de obtener energía para las células, cada una catalizada por diferentes enzimas, inicia con la molécula de glucosa, que es transformada mediante la enzima hexoquinasa en glucosa-6-fosfato, esta es transformada mediante la intervención de la fosfoglucosa isomerasa a fructosa-6-fosfato, posteriormente la enzima fosfofructoquinasa la convierte a fructosa-1,6-bifosfato, después la aldolasa la convertirá a dihidroxiacetona fosfato, esta con ayuda del trifosfato isomerasa se transformara a gliceraldehído-3-fosfato, que gracias a la intervención de la enzima gliceraldehído fosfato se convierte en 1,3-bifosfoglicerato, posteriormente la enzima fosfoglicerato cinasa lo transforma en 3-fosfoglicerato, este sustrato es catalizado por la enzima fosfoglicerato mutasa para convertirlo a 2-fosfoglicerato, este se convierte en fosfoenolpiruvato mediante la enolasa y finalmente el fosfoenolpiruvato es convertido en piruvato mediante la enzima piruvato quinasa (Li *et al.*, 2015).

### **2.13 EL OVARIO**

Los ovarios o gónadas son dos formaciones ovoides, del tamaño de una almendra, situadas a cada lado de la pelvis, inmediatamente por debajo de las trompas. En mujer adulta mide alrededor de 3,5 por 2 y 1,5 cm, con un peso aproximado entre 7 y 14 g. se hallan situados a los lados del útero, sostenidos por una terna de ligamentos: los ligamentos uteroováricos, tuboováricos e infundíbulo-pélvico (Bonilla *et al.*, 2008). El ovario, el testículo y en pequeñas cantidades la suprarrenal, producen las hormonas sexuales o esteroides, cuya acción se manifiesta en la producción de los caracteres sexuales secundarios y en el proceso reproductivo. Todas ellas tienen una estructura química común: el ciclopentano-perhidrofenantreno y forman parte cinco tipos de hormonas: los estrógenos, los andrógenos, los gestágenos, los glucocorticoides y los mineralocorticoides (Bonilla *et al.*, 2008).

### **2.14 HORMONAS OVÁRICAS**

Las hormonas sexuales femeninas producidas en el ovario en mayor concentración son: el estradiol y la progesterona, otras hormonas que se producen en pequeñas cantidades son la estrona, androstendiona, testosterona, 17 $\alpha$ -hidroxiprogesterona y hormonas no esteroideas (la inhibina, la relaxina). Estas hormonas esteroideas derivan principalmente del colesterol, que se obtiene a partir de cuatro fuentes principales. 1) del colesterol libre asociado a la membrana plasmática. 2) a partir de los ésteres de colesterol que se obtiene a través de la endocitosis de lipoproteínas de baja densidad (LDL). 3) de los ésteres de colesterol almacenados en las gotas lipídicas y 4) de la síntesis de *novo* en el retículo endoplásmico. Independientemente de su origen, el colesterol se transporta a las membranas mitocondriales donde inicia la biosíntesis esteroidea. Esta se lleva a cabo en el ovario fundamentalmente en la granulosa, la teca y las células del cuerpo lúteo, donde se encuentra un sistema enzimático que les permite la síntesis de hormonas esteroideas (Cuellar *et al.*, 2016).

### **2.15 ESTRÓGENOS**

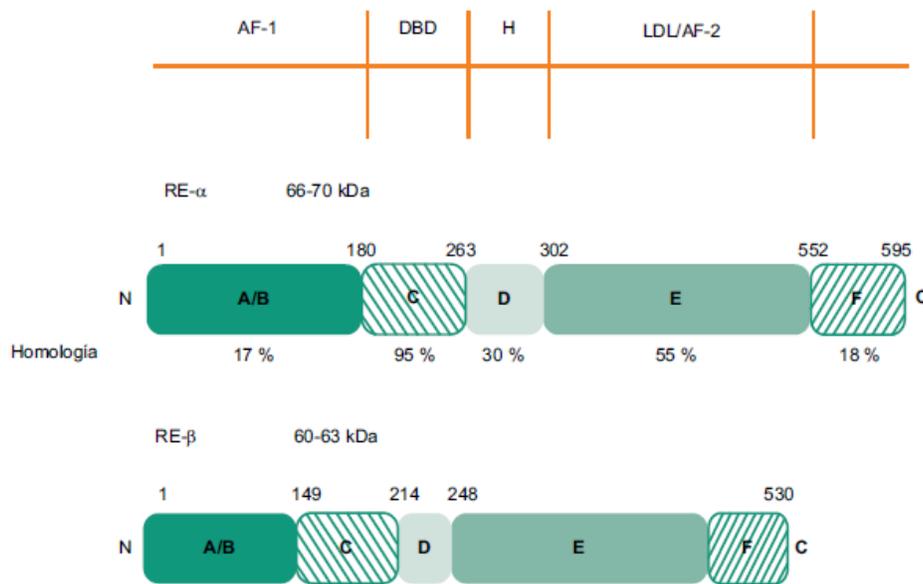
Los estrógenos son hormonas esteroidales producidas principalmente en los ovarios. Los estrógenos participan en diversos procesos fisiológicos que participan en la proliferación y crecimiento celular desde la etapa embrionaria hasta la posmenopausia.

La síntesis de las hormonas esteroideas dependen de cuatro enzimas necesarias para realizar este proceso como: el P450 desramificante (P450dr), la 3 $\beta$  hidroxisteroide deshidrogenasa

( $3\beta$  HSD), el citocromo P450 (17- $\alpha$ -hidroxilasa) y el P450 aromatasa. Estas enzimas regulan y catalizan la conversión del colesterol a estrógenos (Llusiá, 1995, Cuellar *et al.*, 2016). Estas hormonas se encuentran en distintas células del ovario como: El P450dr presente en grandes cantidades en la teca interna y en el cuerpo lúteo, mientras que la  $3\beta$  HSD es escasa en el folículo pero abundante en el cuerpo lúteo. El P450 17- $\alpha$ -hidroxilasa es abundante en las células tecales y en cuerpo lúteo y ausente en células de la granulosa. Para la síntesis de andrógenos se requiere de las células tecales y del cuerpo lúteo, mientras que las células de la granulosa no son capaces de sintetizar estos debido a la falta de enzimas necesarias. Para finalmente obtener estrógenos se requiere de la aromatización del anillo A de los andrógenos mediante la enzima P450 aromatasa presente en grandes concentraciones en células de la granulosa. Estas son capaces de convertir los andrógenos a estrógenos (Llusiá, 1995, Hall y Guyton, 2017).

## **2.16 RECEPTORES DE ESTRÓGENOS**

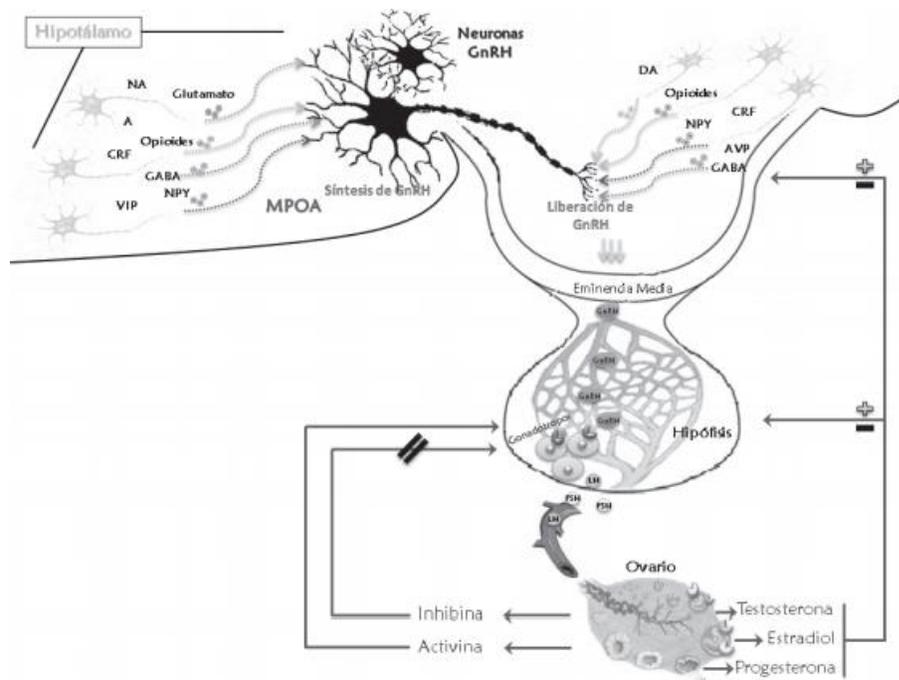
Los receptores de estrógenos (RE) son proteínas de la familia de receptores nucleares al igual que otras hormonas esteroideas. Los receptores se encuentran en diferentes órganos y tejidos donde realizan diversas funciones. Los RE están constituidos por seis dominios denominados por letras (A a la F) (Márquez, 2010), como se describen en la imagen 4. En uno de los extremos de los RE se encuentra la región N-terminal responsable de la transactivación (dominios A/B AF-1), el dominio de unión al DNA (DBD, dominio C) la región C-terminal que contiene el dominio de unión al ligando (DBL, dominio E/F, AF-2) y la función de transactivación-2 (AF-2). Y el porcentaje de homología entre el RE alfa y RE beta (Cahua *et al.*, 2016).



**Figura No. 4** Receptores de estrógenos alfa y beta.

## 2.17 EJE HIPOTÁLAMO HIPÓFISIS GONADAL

La hormona liberadora de gonadotropina (GnRH), una hormona sintetizada por neuronas hipotalámicas localizadas a nivel del núcleo arcuato, liberadas a través del sistema de vasos sanguíneos hacia la hipófisis. Cuando llega a la hipófisis anterior estimula la producción de dos importantes hormonas gonadotropas, la hormona folículo estimulante (FSH) y la hormona luteinizante (LH), posteriormente estas hormonas llegan hasta las gónadas donde van a actuar estimulando el desarrollo de esteroides como: estrógenos, progesterona y andrógenos (Norma *et al.*, 2014). La acción del hipotálamo sobre las células gonadotropas depende de los cambios de frecuencia de pulsatilidad, esta secreción de GnRH incrementa la expresión e inducen la secreción de la LH y la FSH, hormonas de gran importancia para que se lleve a cabo la función reproductora. La frecuencia de los pulsos de la GnRH está a cargo principalmente por vías noradrenérgicas, que se originan a nivel del mesencéfalo y del tronco cerebral, así como la vía  $\beta$ -endorfinérgicas, esta acción sobre sí misma es inhibitoria. Hay otros neurotransmisores y neuropéptidos que tienen la capacidad de modular la secreción de GnRH (Arce *et al.*, 2006).



**Figura No. 5** esquema del eje hipotálamo-hipofisario-gonadal. (A: adrenalina, AVP: péptido arginina-vasopresina, CRF: factor liberador de corticotrofinas, DA: dopamina, GABA: ácido gamma amino butírico, NA: noradrenalina, NPY: neuropéptido Y, VIP: péptido intestinal vasoactivo) (Eguibar *et al.*, 2016).

## 2.18 DISFUNCIÓN OVÁRICA

En las mujeres se puede presentar la menopausia en la quinta década de vida, como una consecuencia natural de la depleción de los folículos ováricos, en otras situaciones se puede producir el cese antes de los 40 años de edad. En este último caso, existen múltiples factores hereditarios y ambientales que condicionan las alteraciones de la función ovárica, también conocida como Falla Ovárica Prematura (FOP), Insuficiencia Ovárica Prematura, que se puede presentar antes de los 40 años de edad con amenorreas de más de 4 meses, con concentraciones séricas bajas de estradiol y una concentración elevada de FSH. Se han asociado tres mecanismos en la FOP, 1) la disminución de los folículos primordiales, 2) la atresia folicular acelerada y 3) la inhabilidad para el reclutamiento de folículos primordiales (Lara y Escalante, 2015). En el 90% de los casos de una FOP se clasifica como idiopática. Algunas causas que pueden conllevar a una falla ovárica prematura son: disgenesia gonadal, defectos de cromosoma X, mutación en los receptores de FSH y/o LH, síndrome de Turner, defectos enzimáticos, anormalidades metabólicas, enfermedades autoinmunes, quimioterapia y radioterapia, etc.

## **2.19 MENOPAUSIA**

La menopausia es un proceso fisiológico natural del envejecimiento en la mujer que se puede dar entre los 40 y 50 años y se caracteriza por el cese de hormonas ováricas. Para llegar a la menopausia el ciclo sexual sufre irregularidades hasta que la producción de estrógenos por el ovario decrece y el número de folículos primordiales se aproxima a cero y tras un periodo de alrededor de 12 meses de amenorrea, sin otra causa patológica ni psicológica aparente, en este punto se considera menopausia, que es el cese permanente de la menstruación (Hall y Guyton, 2017). La menopausia inicia en promedio a los 50 años de edad, esto va a depender del número de ovocitos presentes en el ovario. La menopausia se puede dar precozmente si ocurre antes de los 45 años de edad y/o tardía si tiene lugar después de los 55 años. También se puede dar de forma natural cuando ocurre de manera gradual y progresiva debido al envejecimiento del ovario, o bien artificial provocada por medios quirúrgicos, químicos, o por mecanismos destructores de células germinales como radiación y quimioterapia (Arenas, 2009).

## **2.20 OVARIOTOMÍA**

Uno de los métodos de menopausia artificial es la ovariectomía (OVX), también llamada ooforectomía, que es la eliminación quirúrgica de uno o de los dos ovarios. Durante la edad reproductiva los ovarios producen diferentes hormonas esteroideas, cuando se realiza una ooforectomía se da una pérdida inmediata de dichas hormonas, incluso de la androstenediona y testosterona que en mujeres con menopausia natural continúan produciendo estas hormonas hasta una edad avanzada (Vallejo, 2009).

López y cols. midieron el efecto de la ovariectomía sobre el consumo de glucosa, para este estudio realizaron ovariectomía bilateral en ratas Wistar, las cuales las agruparon en jóvenes y viejas, en sus resultados obtuvieron una disminución significativa del consumo cerebral de glucosa en ratas viejas con respecto a las jóvenes. Concluyen que durante una ovariectomía la disminución del consumo de glucosa es similar en el envejecimiento (López *et al.*, 2010).

Una de las consecuencias que provoca la ovariectomía y la menopausia es la osteoporosis posmenopáusicas, debido al hipoestrogenismo que es el responsable directo de la pérdida de masa ósea en la mujer, caracterizado por un alto remodelado óseo debido al aumento en el número de unidades activas, así como el desequilibrio entre los osteoclastos y osteoblastos, lo que conlleva a una mayor reabsorción ósea (Arenas, 2009).

## **2.21 DENSIDAD MINERAL ÓSEA**

La densidad mineral ósea (DMO) nos permite medir la cantidad de minerales presentes en un volumen de hueso (Bover *et al.*, 2018). El mayor contenido mineral óseo se presenta al final de la adolescencia y después disminuye gradualmente al paso de los años (Hernández *et al.*, 2000). El valor obtenido en una evaluación de densidad mineral ósea nos permite medir el factor de riesgo de fractura en personas con osteopenia. Además de este valor es importante identificar y valorar otros factores de riesgo no densitométricos que nos permitan medir la resistencia ósea pudiendo determinar la calidad ósea que presentan las personas (Bover *et al.*, 2018). Una baja DMO es el primer factor que contribuye en el desarrollo de osteopenia y osteoporosis, aumentando la incidencia de fractura principalmente en mujeres de edad avanzada (Kim, 2018). Es importante mencionar que durante la osteoporosis el proceso de reabsorción por parte de los osteoclastos es mayor que la actividad de los osteoblastos, este desequilibrio es mayor en el hueso trabecular que en el cortical, podría ser debido a que en el trabecular es más sensible a cambios de concentración de minerales que en el cortical (Hernández *et al.*, 2000).

## **2.22 DENSITOMETRÍA SXA**

La evaluación cuantitativa indirecta de la densidad mineral ósea se puede obtener a través de diversas técnicas densitométricas, estas se fundamentan en los procesos físicos que produce el tejido óseo, reportando las alteraciones que pueden sufrir estos tejidos. La absorciometría radiológica simple (SXA) y la dual (DXA), utilizan un tubo generador de rayos X como fuente radiactiva. En el caso del SXA genera un haz monoenergético que nos permite valorar la masa ósea en el esqueleto periférico sin diferenciar la atenuación de los tejidos involucrados (Estrada *et al.*, 1999). En humanos, donde encontramos regiones con abundante tejido blando, es recomendable utilizar la técnica DXA, mientras que en los ratones que presentan menor cantidad de tejido blando es recomendable utilizar la técnica de SXA que es igual o más eficaz que la DXA, otra de las ventajas que presenta el SXA es su fácil estandarización y su facilidad de usar en comparación con el DXA (Inoue *et al.*, 1997; Sekioka *et al.*, 1999).

## **2.23 ABSORCIOMETRÍA DE RAYOS X DE ENERGÍA DUAL (DXA)**

La absorciometría de rayos X de energía dual (DXA), es la técnica más utilizada en la clínica para medir la densidad mineral ósea y llevar a cabo estudios de composición corporal, a partir de los datos obtenidos, nos permite dar un diagnóstico con mayor precisión, una estimación

del riesgo de fractura, evaluar la respuesta a un tratamiento y tomar decisiones terapéuticas (Ramos *et al.*, 2012). El equipo cuenta con una mesa donde se posiciona el paciente, un brazo móvil en el cual se encuentra el tubo generador de rayos X que es capaz de generar dos niveles de energías diferentes y por debajo un detector (Clemente *et al.*, 2016), el tubo emite de forma alternante dos radiaciones: una radiación de alto kilovoltaje (140 kVp) y otra de bajo (70 kVp), esto lo realiza durante el desplazamiento a lo largo del cuerpo a evaluar. Cabe mencionar que hay otros equipos que cuentan con un tubo generador de rayos X, que es constante el haz y para poder separar fotones de alta y baja energía se interpone un filtro de tierras raras (Ramos *et al.*, 2012). Para obtener una diferenciación de los tejidos, esta se realiza al obtener la diferencia de atenuación de los dos haces a medida que va pasando por los tejidos del cuerpo (Clemente *et al.*, 2016), un haz es absorbido por el tejido blando y el otro por el hueso (Miranda *et al.*, 2013), con los datos obtenidos se calcula la DMO, el proceso matemático inicia diferenciando el tejido óseo con respecto al tejido blando, para obtener la densidad por unidad de superficie (Densidad mineral ósea  $\text{g/cm}^2$ ), de cada región explorada (Miranda *et al.*, 2013). Los tiempos de exploración van desde los 2 a 5 minutos y la dosis de radiación absorbida por el paciente va desde 0.5 a 2.5  $\mu\text{Sv}$  (esta última durante un estudio de cuerpo completo).

## **2.24 SEGMENTACIÓN DE IMÁGENES DE RAYOS X**

Con el rápido desarrollo de las técnicas de imagenología modernas, la segmentación de imágenes médicas nos permiten reconstruir la estructura anatómica de órganos y tejidos lo cual es importante en el diagnóstico y tratamiento de diversas enfermedades (Huang *et al.*, 2020). La segmentación de imagen es una técnica donde se realiza la extracción de información de una región de interés, de una imagen, que nos permita realizar un análisis más detallado de esta, ya que el resto del contenido podría no ser útil o estar contaminado.

Durante el proceso de segmentación a las imágenes se le asignan valores a cada uno de los elementos que la componen para representar cada una de sus estructuras. El reconocimiento de los elementos que componen a una imagen es una tarea compleja que requiere de diversos algoritmos que nos permiten realizar una automatización de la segmentación, cuando se realiza una adecuada combinación y/o aplicación de los algoritmos, dará como resultados una buena segmentación de la región de interés (Peña *et al.*, 2016). La implementación más

sencilla de la segmentación de imágenes para materiales 2D es mediante la creación de umbrales. Esto se realiza analizando el contraste de la imagen, a partir de la reflectancia o transmitancia, por ejemplo, y dividiendo las regiones de una imagen en función de la diferencia de nivel de contraste. Esta técnica ha sido ampliamente empleada con éxito en la identificación y caracterización de materiales 2D. Las técnicas de umbralización, aunque se implementan fácilmente, adolecen de imprecisiones cuando las diferencias de contraste se vuelven relativamente pequeñas (Sterbentz *et al.*, 2021).

## **2.25 RADIOFÁRMACOS**

Los radiofármacos son medicamentos que se caracterizan por contener una pequeña cantidad de principio activo capaz de emitir radiación utilizada para diagnóstico o tratamiento, el principio activo es un trazador que se marca con un radionucleido, este es un núcleo atómico inestable que al desintegrarse emite radiación ionizante de forma espontánea como partículas alfa, beta y radiación gamma. La radiación emitida nos permite utilizarla para medir una función fisiológica y su distribución en un compartimento biológico, mediante una imagen gammagráfica, que nos permite visualizar la acumulación del radiofármaco en un órgano diana (Cortez y Gómez, 2003).

Los radiofármacos utilizados para diagnóstico son utilizados en bajas concentraciones, que al ser administrados emiten radiación gamma, de esta forma es detectada su distribución del radionucleido y se visualiza a través de una imagen permitiendo identificar diversas anomalías en diferentes órganos y tejidos diana. Los radionucleidos utilizados en el diagnóstico emiten radiación gamma o de partículas  $\beta^+$  (Cortés y Gómez, 2003). Mientras que los radiofármacos utilizados como agentes terapéuticos contienen una elevada reactividad que pueden causar alteraciones en las estructuras celulares. Existen radionucleidos naturales que tienen una vida media prolongada y por sus características no tienen un uso en la medicina nuclear, mientras que los radionucleidos utilizados frecuentemente en esta área se producen de forma artificial (Ziessman *et al.*, 2007). Algunas de las características que debe presentar un radiofármaco para su uso en medicina nuclear son baja absorción inespecífica, fácil penetración en tejido diana, metabolización nula o escasa, elevada afinidad por un sitio de unión y que la disociación del sitio de unión sea lenta que nos permita detectarla.

## 2.26 RADIONÚCLIDOS EN PET

Los radiofármacos usados en PET contienen una molécula que es fundamental para determinar la ruta metabólica, unida a un radioisótopo emisor de positrones que permite la detección externa de la biodistribución dentro del organismo. Los radioisótopos más utilizados en PET son carbono-11 ( $^{11}\text{C}$ ), nitrógeno-13 ( $^{13}\text{N}$ ), oxígeno-15 ( $^{15}\text{O}$ ) y flúor-18 ( $^{18}\text{F}$ ), en la tabla 1 se muestran sus características físicas. Debido a su vida media corta tanto el ciclotrón, como el laboratorio para la síntesis del compuesto y la cámara PET deben estar situadas a corta distancia.

Radioisótopo	Producto común	Vida media	Forma de desintegración	Principios de emisión (MeV)	Constante de rayos gama (R/mCi-h a 1 cm)
$^{11}\text{C}$	$^{14}\text{N}(\text{p},\alpha)^{11}\text{C}$	20,4 minutos	$\beta^+$	0,97 $\beta^+(100\%)$	5,9
$^{13}\text{N}$	$^{16}\text{O}(\text{p},\alpha)^{13}\text{N}$	10,0 minutos	$\beta^+$	1,2 $\beta^+$ (100%)	5,9
$^{15}\text{O}$	$^{14}\text{N}(\text{d},\text{n})^{15}\text{O}$	2,05 meses	$\beta^+$	1,74 $\beta^+(100\%)$	5,9
$^{18}\text{F}$	$^{18}\text{O}(\text{n},\text{p})^{18}\text{F}$	110 minutos	$\beta^+$ , EC	0,511 $\gamma$ (200%)	5,7

**Tabla No. 1** Características físicas de los radioisótopos de uso común en medicina (Gennaro, 2003).

## 2.27 2-[ $^{18}\text{F}$ ] fluor-2 deoxy-D-glucosa ( $^{18}\text{F}$ -FDG)

El 2-[ $^{18}\text{F}$ ] fluor-2-deoxy-D-glucosa ( $^{18}\text{F}$ -FDG) es un análogo de la glucosa, marcada con fluor-18 un radionúclido emisor de positrones. Un radiofármaco versátil con importantes aplicaciones en oncología, neurología, cardiología etc. El  $^{18}\text{F}$ -FDG se administra por vía intravenosa y luego es transportada a las células, a través de los transportadores de glucosa. En la célula el  $^{18}\text{F}$ -FDG es fosforilado por la hexoquinasa para formar  $^{18}\text{F}$ -FDG-6-fosfato molécula que no puede salir de la célula y no puede degradarse a través de la vía de la glucólisis ni puede sufrir fácilmente la desfosforilación por la glucosa-6-fosfatasa. Por tal razón, la  $^{18}\text{F}$ -FDG-6-fosfato permanece atrapado dentro de la célula (Abouziéd *et al.*, 2005). Dentro de la célula el  $^{18}\text{F}$  se desintegra mediante la emisión de positrones ( $\beta^+$ ) con un periodo de semidesintegración radioactiva de 109.7 minutos, tiempo en el que la actividad se

reduce a la mitad. Los fotones principales útiles para la obtención de imágenes de diagnóstico son los fotones gamma de 511 keV.

## 2.28 CAPTACIÓN BIOLÓGICA DEL $^{18}\text{F}$ -FDG

El  $^{18}\text{F}$ -FDG es un buen candidato para obtener imágenes metabólicas, después de la administración por vía intravenosa, el  $^{18}\text{F}$ -FDG se desplaza por el sistema circulatorio, llegando de esta manera hasta los órganos y células mediante los GLUT que son transportadores de membrana. Una vez que el  $^{18}\text{F}$ -FDG está dentro del citoplasma celular la enzima hexoquinasa lo transforma en  $^{18}\text{F}$ -FDG-6-P, pero la presencia del  $^{18}\text{F}$  impide que pueda ser transformado en glucógeno o entrar en la vía glucolítica, como se observa la figura 6, sufriendo un atrapamiento intracelularmente (Láinez *et al.*, 2014), y la reacción inversa (desfosforilación por la enzima glucosa 6-fosfatasa) es mínima (Roldán-Valadez *et al.*, 2008). Ya que el  $^{18}\text{F}$ -FDG carece del hidroxilo en la posición 2, como se observa en la figura 7.

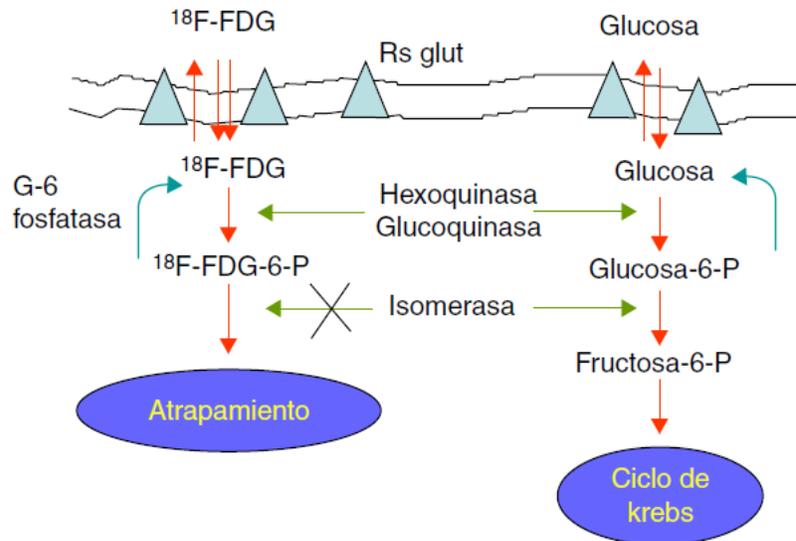
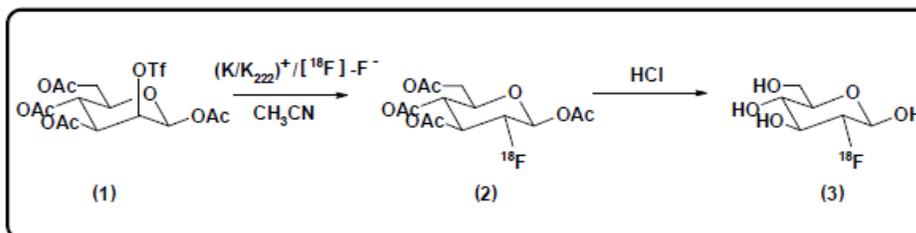


Figura No. 6 Captación celular del  $^{18}\text{F}$ -FDG (Láinez *et al.*, 2014).

Cuando el  $^{18}\text{F}$ -FDG penetra en las células a través de los transportadores de membrana y se concentran en mayor proporción en las células tumorales con alto consumo de glucosa, esto nos permite hacer el diagnóstico visual o mediante una semi-cuantificación de su concentración por gramo de tejido en un área determinada. Esta semi-cuantificación se expresa en unidades SUV (valores estándar de captación). Niveles incrementados de SUV

reflejan el comportamiento maligno de un tumor y una disminución o aumento es reflejo de la respuesta al tratamiento.

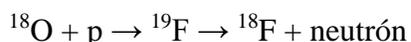


**Figura No. 7** Síntesis del radiofármaco  $[^{18}\text{F}]\text{-FDG}$  (Duran y Colín, 2004).

Para poder cuantificar la cinética del  $^{18}\text{F}\text{-FDG}$ , es necesario analizarlos con modelos matemáticos, ya que estos modelos calculan la estimación de la absorción fraccional de tejido de  $^{18}\text{F}\text{-FDG}$ , para calcular la tasa metabólica regional de la glucosa se puede utilizar la constante agrupada, como factor de escala entre el metabolismo de glucosa y  $^{18}\text{F}\text{-FDG}$ . Frecuentemente solo se puede calcular un solo parámetro macroscópico como la absorción fraccional de  $^{18}\text{F}\text{-FDG}$ , sin embargo, la mayoría de los modelos, nos pueden proporcionar una imagen mucho más íntima del sistema, por ejemplo el grado de heterogeneidad del tejido y la constante de velocidad de intercambio entre sangre-tejido (Bertoldo *et al.*, 1998).

## 2.29 CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DEL $^{18}\text{F}$

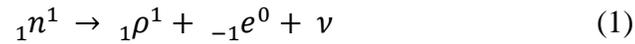
La preparación farmacéutica de los positrones comienza en una instalación de ciclotrón donde un isótopo determinado es bombardeado por un haz de protones. En la obtención del flúor-18 la reacción inicia cuando se da una interacción entre un protón de alta energía con un núcleo de oxígeno. Durante este proceso el oxígeno-18 captura al protón para originar al fluoruro-19, que se encuentra en un estado excitado. Este emite espontáneamente un neutrón, originando al fluoruro-18. La ecuación que define dicha reacción es la siguiente:



Esta reacción que es conocida como  $^{18}\text{O}(\text{p}, \text{n})^{18}\text{F}$ , donde el núcleo del oxígeno-18 contiene diez neutrones y ocho protones. En este proceso un protón es adicionado al núcleo y un neutrón es emitido dejando al fluoruro-18, que contiene nueve protones y nueve neutrones (Durán *et al.*, 2005).

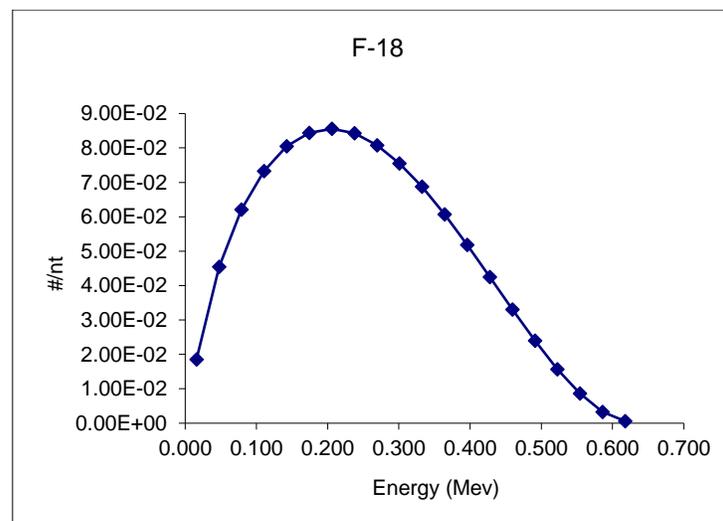
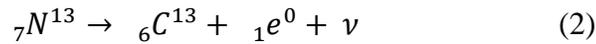
**Decaimiento:** en la naturaleza existen elementos que presentan inestabilidad y emiten radiaciones, para tener configuraciones más estables. Durante este proceso pueden emitir algún tipo de radiación como: decaimiento alfa, beta y gamma.

El decaimiento beta que se observa en la figura 8, se debe al decaimiento de protones y neutrones, donde el neutrón libre es inestable, este decae en un protón y un electrón o beta negativa ( $\beta^-$ ), este decaimiento se observa en de la siguiente forma.



Donde  $\nu$  es un antineutrino,  $p$  es un protón,  ${}_{+1}e^0$  es un positrón o beta positiva  $\beta^+$  más un neutrón

Una partícula beta puede tener una carga positiva o negativa y una masa despreciable que puede interactuar con la materia dándose una colisión provocando una ionización y excitación, a este proceso se le conoce como Brehmsstrahlung (frenado rápido), durante la colisión de generan espontáneamente dos rayos gamma en sentido opuesto (Espinosa y Rodríguez, 2016).



**Figura No. 8** Decaimiento beta de F-18 (Eckerman *et al.*, 1994).

### 2.30 MODELO BIOCINÉTICO

El modelo biocinético nos explica matemáticamente la distribución biológica dependiente del tiempo de algún radiofármaco que es introducido al cuerpo hasta su depuración biológica o física. Existen tres tipos de modelos (Strand *et al.*, 1993): el empírico, el analítico y el compartimental.

**Modelo Empírico:** para obtener la concentración del radiofármaco en diferentes tejidos a distintos tiempos, graficando actividad vs tiempo e integrando directamente se obtiene el área bajo la curva que representa la actividad acumulada del órgano o tejido blanco. Tomando en cuenta que en este modelo no se hacen suposiciones de la actividad, en la primera ni en la última medida. Sin embargo, el cálculo de tal integración es dependiente de la cantidad administrada en el órgano o tejido blanco.

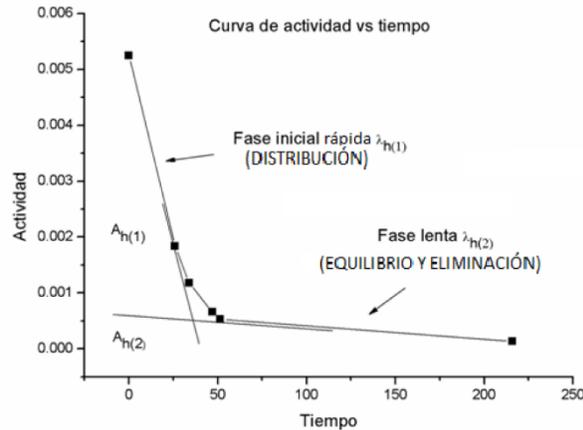
Es necesario tener varias muestras de distribución y retención del radiofármaco durante la experimentación, y tener en cuenta los siguientes criterios: los picos de captación y la fase de eliminación, tener al menos dos datos por tiempo, obtener la dosis absorbida máxima en primer tiempo, tomar en cuenta las diferentes vías de excreción, el estudio debe abarcar al menos un lapso de tres vidas medias y saber la cinética del radiofármaco.

**Modelo Analítico:** a diferencia del modelo empírico, en este modelo se pueden extrapolar los datos del último tiempo de lectura, ajustase a una función analítica llamada “función de distribución” y puede ser ajustada a una función, suma de exponenciales que se plantea en (ecu. 3) dependiente del tiempo antes de la medición y después de la última medición (Makoid *et al.*, 1999).

$$Z_h(t) = \sum_j A_{h(j)} e^{\lambda_{h(j)} t} \quad (3)$$

Dónde:  $Z_h(t)$  es la función de distribución de la región fuente,  $A_{h(j)}$  es la actividad (Bq) para el  $j$ -ésimo componente exponencial en el tiempo  $t=0$ ,  $\lambda_{h(j)}$  es la constante de eliminación efectiva del  $j$ -ésimo componente exponencial de la curva de actividad vs tiempo.

Al administrar el radiofármaco por vía intravenosa, se considera una fase inicial rápida (distribución), seguida de una fase lenta (equilibrio y eliminación) como en la figura 9.



**Figura No. 9** Fases de distribución de un radiofármaco.

La función de distribución biexponencial matemáticamente se representa como:

$$Z_h(t) = A_{h(1)}e^{\lambda_{h(1)}t} + A_{h(2)}e^{\lambda_{h(2)}t} + \dots \quad (4)$$

Dónde:  $A_{h(1)}$  y  $A_{h(2)}$  constantes relacionadas con la actividad inicial a  $t=0: A_0 = A_{h(1)} + A_{h(2)}$ , las constantes de decaimiento nos indican la rapidez de decaimiento de cada compartimento. Integrando la función de distribución en la expresión de actividad acumulada e integrando de cero a infinito se obtiene como resultado, en términos generales, la siguiente ecuación:

$$\tilde{A}(0, \infty) = \sum_j \frac{A_{h(j)}}{\lambda_{h(j)}} \quad (5)$$

**Modelo compartimental:** en el modelo por compartimentos, el cuerpo se divide en uno o mas compartimentos. El modelo describe la distribución del fármaco entre los compartimentos y su eliminación de uno o más de los compartimentos. Se utiliza cuando estudian al organismo en una serie de sectores o compartimentos, donde el radiofármaco se distribuye de manera homogénea. El compartimento utilizado no es una región fisiológica o anatómica real, solo es

considerado como un órgano que tiene un flujo sanguíneo parecido a un radiofármaco. El traslado del radiofármaco entre los compartimentos es guiado por principios cinéticos de primer orden. La retención de un elemento en el cuerpo entero será descrita por un término exponencial.

Para poder tener un buen resultado de distribución y retención del radiofármaco, se deben tener en cuenta algunos criterios: obtener los picos de captación y la fase de eliminación del radiofármaco, tomar en cuenta la actividad de las diferentes vías de excreción, registrar al menos tres mediciones de tres vidas medias efectivas del radiofármaco, tomar como mínimo dos muestras por tiempo y corregir la actividad de decaimiento por tiempo.

En los modelos biocinéticos, se considera la vida media efectiva ( $\frac{1}{t_{eff}}$ ) la cual depende de la vida media radiactiva, física ( $t_{1/2}$ ) y la vida media biológica ( $t_{1/2}^b$ ) que es el tiempo necesario para que la actividad en un órgano disminuya a la mitad debido a la excreción biológica y la vida media efectiva se expresa por la siguiente ecuación 6:

$$\frac{1}{t_{eff}} = \frac{1}{t_{1/2}} + \frac{1}{t_{1/2}^b} \quad (6)$$

La constante de decaimiento efectiva ( $\lambda_{eff}$ ) se define como:

$$\lambda_{eff} = \lambda + \lambda_b \quad (7)$$

### **3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

El ovario es un órgano en el cual se sintetizan y secretan las hormonas sexuales. Las hormonas que producen son los estrógenos, esenciales en el equilibrio hidroelectrolítico y de masa ósea, también participan en aspectos relacionados con la proliferación epitelial de vasos sanguíneos etc. Los estrógenos y los receptores de estrógenos tienen un efecto en el metabolismo de minerales, hidratos de carbono, proteínas y lípidos. La reducción sustancial de estrógenos circulante que acompaña a la menopausia, tiene efectos más allá de la salud reproductiva, caracterizados por adiposidad central y resistencia a la insulina predisponiendo a mujeres a desarrollar diabetes tipo 2, además es bien sabido que la condición postmenopáusica genera disminución en la densidad mineral ósea.

La diabetes mellitus tipo 2 es una enfermedad metabólica que se debe a defectos en la acción de la insulina en los tejidos periféricos que afecta el metabolismo de lípidos, al transporte de aminoácidos, la síntesis de proteínas, la estimulación del crecimiento y la proliferación celular. Por otra parte, se ha mostrado que incrementa la mineralización ósea. Esta enfermedad incrementa el detrimento crónico del sistema óseo y los órganos vitales como riñones, hígado, bazo, corazón, etc. Dicho efecto será posible evaluarlo mediante el metabolismo glicémico, cuantificando la captación del  $^{18}\text{F}$ -FDG en los órganos vitales y midiendo la densidad mineral ósea en los huesos. Por lo anterior, se pretende determinar la magnitud del cambio en detrimento de la función multiorgánica causada por la ausencia de la función ovárica y/o diabetes mellitus 2.

#### **Pregunta de investigación**

¿La degradación crónica multiorgánica producida por la diabetes mellitus experimental se incrementará con la falta de la función ovárica en ratones CD1?

#### **4. JUSTIFICACIÓN**

Debido al constante incremento de la esperanza de vida, cada vez es más elevado el número de personas mayores de 65 años con respecto al total de la población. En México, la esperanza de vida en 2019 fue de 75.1 años en promedio y se estima que para el 2030 sea de 76.7 años y con ello aumentará la frecuencia de enfermedades relacionadas con la edad entre las que destaca la diabetes mellitus tipo 2. De esa población la mayoría estará conformada por mujeres menopáusicas, evento natural al que se enfrentan todas las mujeres mayores de 45 años, que ocurre como parte del proceso de envejecimiento biológico, la cual provoca deficiencia de estrógenos, afectando de manera negativa la función metabólica, lo que puede contribuir a múltiples patologías (Lizcano y Guzmán, 2014). Las mujeres vivirán más de una tercera parte de su vida con la deficiencia de estrógenos. Por lo antes mencionado, se va a generar un problema de salud pública a nivel mundial por lo que es necesario realizar investigación sobre cómo afecta la deficiencia de estrógenos y la diabetes tipo2 en la actividad metabólica de diferentes órganos. Con lo anterior se podrá hacer una proyección del problema y tratar de prevenirlo.

## **5. HIPÓTESIS**

- La captación multiorgánica de  $^{18}\text{F}$ -FDG se verá modificada por la diabetes experimental y la ovariectomía en ratones hembra CD1, además estas patologías afectaran negativamente la salud ósea.

## **6. OBJETIVOS**

### **6.1 OBJETIVO GENERAL**

- Analizar el efecto que causa la ovariectomía (OVX) y la diabetes mellitus tipo 2 (DM2) sobre la salud ósea mediante absorciometría de rayos X y describir el efecto en órganos que causan ambas patologías, esto mediante la captación de  $^{18}\text{F}$ -FDG en ratones hembra CD1.

### **6.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Segmentar el fémur a partir de una imagen radiológica para determinar la absorciometría de rayos X de ratón hembra CD1 con ovariectomía y diabetes experimental.
- Determinar si la condición de osteoporosis se alcanza bajo las condiciones mencionadas a las 30 semanas de edad de los ratones.
- Cuantificar la función multiorgánica en ratones hembra CD1 con diabetes tipo 2 y agotamiento de estrógenos a través de la determinación cuantitativa de la captación de  $^{18}\text{F}$ -FDG.
- Determinar si existe sinergia de la diabetes tipo 2 y la falta de estrógenos en el daño a la función multiorgánica.

## **7. DISEÑO METODOLÓGICO**

### **7.1 DISEÑO DEL ESTUDIO**

Es un estudio experimental, longitudinal, aleatorizado, prospectivo, que se llevara a cabo en la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma del Estado de México y en Hospital Oncológico ISSEMYM.

### **7.2 UNIVERSO Y MUESTRA**

Se utilizaron ratones hembras CD1 con un peso promedio entre 25 a 35 g. Los animales se obtuvieron del bioterio de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma del Estado de México, los animales se alojaron en jaulas acrílicas de 43x53x20cm, con ciclos de luz/oscuridad de 12/12h con temperatura controlada a  $21\pm 1$  °C. Se alimentaron con una dieta normal estándar (Rodent Laboratory Chow 5001 de Purina) y agua ad libitum, el manejo se realizará de acuerdo a las técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio siguiendo los parámetros de la NORMA Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999.

### **7.3 CRITERIOS DE INCLUSIÓN**

- Ratones hembra con 10 semanas de edad.
- Ratones hembras CD1 con un peso entre 25 y 35 g.

### **7.4 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN**

- Ratones hembras CD1 que estén fuera del peso establecido

### **7.5 PROCEDIMIENTO**

Los animales se dividieron al azar en cinco grupos (n=6), grupo control joven, grupo control adulto, grupo Sham (se les practico falsa ovariectomía), grupo con ovariectomía (OVX) a estos ratones hembra se les practico una ovariectomía bilateral, grupo diabetes experimental (DM) se les indujo diabetes con aloxano a las 10 semanas de edad, al grupo con ovariectomía-

diabetes experimental (OVX-DM) se les realizó la ovariectomía bilateral y se les indujo diabetes con aloxano.

## **7.6 OVARECTOMÍA**

A las diez semanas de edad los ratones fueron ovariectomizados. Fueron anestesiados con pentobarbital sódico 50 mg/kg, vía intraperitoneal, sobre la región ventral se quitó el pelaje de una área aproximada de 3\*3 cm y se limpió el área con benzal, luego se realizó una incisión de 1 cm de largo en la línea media (Ohtake *et al.*, 2017; Schneider *et al.*, 2019). La piel se separó suavemente del músculo subyacente, posteriormente se identificaron los tubos uterinos que sirvieron como guía hasta localizar cada ovario visualizando una mancha blanca en los flancos del animal; la mancha blanca es la almohadilla de grasa que cubre el ovario. Este se separó suavemente del cuerno uterino (Khajuria *et al.*, 2012). Se suturo la capa muscular y la piel, luego los ratones se mantuvieron en observación durante 2 h en una cámara de recuperación. Los grupos Sham, OVX, OVX-DM, descansaron durante 15 días para recuperarse de la cirugía.

## **7.7 INDUCCIÓN DE DIABETES**

Se indujo la necrosis selectiva de las células beta pancreáticas para obtener animales con condición de diabetes, se produjo utilizando aloxano monohidratado (Sigma Chemicals, EE.UU.), intraperitonealmente se administraron 150 mg/kg disueltos en agua destilada a 12 ratones hembra normogluémicas (seis del grupo DM y seis del grupo OVX-DM) (Lenzen, 2008). El aloxano induce diabetes a los tres días tiempo en el cual destruye a las células beta, por lo que los niveles de glucosa se midieron 72 h después de la inyección, considerando un período de ayuno de 16 h. Los ratones que presentaban valores de 250 mg/dL o más, se consideraron hipergluémicos como se describe en (Hasibuan *et al.*, 2015).

## **7.7 RADIOGRAFÍAS.**

La absorciometría del fémur se analizó mediante radiografías para analizar la absorciometría en cada grupo de ratones con una edad de 30 semanas (ratones adultos), las radiografías se adquirieron en el Instituto Nacional de Cancerología, Ciudad de México, con un sistema de imagen trimodal microPET / SPECT / CT Albira ARS (Oncovision / Bruker, España), utilizando una tensión de funcionamiento de 35 kV y una corriente de 0,4 mA; durante la adquisición, los ratones se anestesiaron mediante inhalación con isoflurano al 2% (Lisorane, Baxter International Inc.).

## **7.8 SEGMENTACIÓN DE FÉMUR**

Los cinco grupos de ratones (30 semanas de edad) y el grupo control joven (10 semanas de edad) fueron examinados mediante rayos X, se adquirieron imágenes radiográficas con el sistema microPET anteriormente mencionado. En el presente trabajo, la región de interés fue el fémur, por lo que su segmentación se realizó en archivos DICOM de las imágenes radiológicas utilizando el software MATLAB® (R2017a). La imagen es una matriz de píxeles 2D (matriz 2D), cada una de ellas se caracteriza por coordenadas (x, y) y su valor corresponde a la escala de grises, o absorciometría en este caso.

Proceso de segmentación: los datos de la imagen se leyeron con la función `dicomread` y se mostraron con el comando `imshow`; a partir de la imagen completa, se cortó una subregión rectangular que contenía el fémur utilizando la función `imcrop` u se envió al espacio de trabajo en MATLAB®. Posteriormente, se utilizó la aplicación Image Segmenter para cargar la imagen recortada desde el espacio de trabajo, iniciando la segmentación con la herramienta Graph Cut. Utiliza una técnica semiautomática que puede segmentar el primer plano y el fondo. A partir de una imagen rectangular que contiene el fémur, la región de primer plano que representa la zona del fémur se segmentó cuidadosamente con el comando `MarkForeground`, guardando sus valores de píxeles originales. La imagen restante se considera el fondo y sus valores de píxeles se vuelven cero. Se realizó el mismo proceso para el área de tejido blando adyacente. Finalmente, las regiones segmentadas se exportaron al espacio de trabajo para su análisis.

## **7.9 DENSIDAD DEL FÉMUR**

La densidad de los fémures se analizó con el software MATLAB, la matriz de los valores obtenidos de la segmentación de la región de interés así como del tejido blando se pasaron a vectores para poder eliminar los datos que tenían valores de 0 que no pertenecían a los valores de las regiones de interés. La absorciometría se consideró una medida de densidad radiológica (DR) u oscurecimiento. Se determinó por el tono gris de cada píxel dado por un valor numérico, ninguna absorbancia tiene el valor numérico de cero, mientras que el valor más alto representa la absorbancia máxima (Hernandez-vaquero *et al.*, 2009; Inlay *et al.*, 2006). Se analizó la absorciometría de todo el fémur y su parte proximal con su correspondiente región de partes blandas adyacente. Es necesario calcular el valor de absorciometría promedio para cada área; luego, la absorciometría de tejido blando promedio se restó del valor de la región del fémur para obtener solo la absorciometría promedio del fémur. Se calculó la absorciometría del área proximal del fémur ya que esta parte es la más sensible al riesgo de fractura cuando cambia la densidad mineral ósea. Las radiografías pueden revelar un grado de cambio en la DMO mediante absorciometría o densidad radiológica (Hernandez-vaquero *et al.*, 2009); por lo tanto, en el presente trabajo se asumió que la DMO es proporcional a la absorbancia de rayos X, incluso sin una evaluación cuantitativa de la DMO, como se hizo en SXA y DXA (Inoue *et al.*, 1997; Sekioka *et al.*, 1999).

## **7.10 SUMINITRO DEL <sup>18</sup>F-FDG**

La administración de <sup>18</sup>F-FDG se realizó a las 30 semanas de edad de los ratones, se administró una actividad promedio de 26,89 MBq (obtenida del Centro Oncológico Estatal - ISSEMyM) a cada ratón mediante inyección intraperitoneal, dos horas después de la inyección, los ratones se sacrificaron en una cámara de CO<sub>2</sub>. Después de la muerte, se extrajeron los órganos de interés y se pesaron. Para cada órgano de interés, la actividad de absorción fue el centro del calibrador de dosis para la medición. Las lecturas se corrigieron para determinar el fondo y el deterioro físico, luego se normalizaron por la masa (g) y la actividad administrada. En consecuencia, las actividades de los órganos se expresaron en términos de  $[MBq \times MBq^{-1} g^{-1}]$ .

### **7.11 RECOLECCIÓN DE DATOS**

La cuantificación de la actividad del  $^{18}\text{F}$ -FDG se obtuvo de manera directa y cuantitativa mediante un contador de pozo de rayos gamma (cámara de ionización).

Los datos para determinar la densidad de los fémures se obtuvieron a través del software MATLAB.

### **7.12 ANÁLISIS DE DATOS**

Los resultados se analizaron mediante el análisis de varianza múltiple (ANOVA), seguida de la prueba Tukey para comparaciones múltiples. Se consideraran como significativas aquellas diferencias con una probabilidad menor o igual a 0.05.

### **7.13 ASPECTOS ÉTICOS**

El protocolo se sometido al comité de bioética de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma del Estado de México.

## 8. RESULTADOS

### 8.1 TÍTULO DEL ARTÍCULO PUBLICADO

Femur absorptiometry changes determined by X-ray image segmentation in mice under experimental diabetes and ovariectomy (<https://doi.org/10.1016/j.apradiso.2021.109608>)

#### 8.1.1 PÁGINA FRONTAL DE MANUSCRITO

Applied Radiation and Isotopes 170 (2021) 109608



### Femur absorptiometry changes determined by X-ray image segmentation in mice under experimental diabetes and ovariectomy

Mario Flores-Reyes <sup>a</sup>, Eugenio Torres-García <sup>a,\*</sup>, Rigoberto Oros-Pantoja <sup>a</sup>, Luis Enrique Díaz-Sánchez <sup>b</sup>, Alfredo V. Mercado-Quintero <sup>a</sup>, Luis Alberto Medina-Velázquez <sup>c</sup>

<sup>a</sup> Facultad de Medicina, Universidad Autónoma del Estado de México, Toluca, México, Mexico

<sup>b</sup> Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma del Estado de México, Toluca, México, Mexico

<sup>c</sup> Instituto de Física, Universidad Nacional Autónoma de México, México/Unidad de Investigación Biomédica en Cáncer INCan-UNAM, Instituto Nacional de Cancerología, Ciudad de México, Mexico

#### ARTICLE INFO

**Keywords:**  
Absorptiometry  
X-ray imaging  
Segmentation imaging  
Diabetes mellitus  
Ovariectomy

#### ABSTRACT

**Aim:** The aim of the present work was to determine if both ovariectomy (OVX) and type 2 diabetes mellitus (T2DM) can change X-ray absorptiometry until reach the osteoporosis condition.  
**Results:** The segmentation allowed us to quantitatively determine the X-ray absorption in the femurs of mice subjected to OVX, T2DM and both pathologies together.  
**Conclusions:** The test subjects suffering from the mentioned pathologies separately or together, did not reach the osteoporosis condition when they were 30 weeks old.

#### 1. Introduction

Different analysis techniques have been developed to obtain information about Bone Mineral Density (BMD) and its changes due to the effects of several diseases such as Diabetes Mellitus (DM) and Ovariectomy (Bonds et al., 2006; Chen et al., 2018; Neumann et al., 2018; Valderrábano and Linares, 2018). Moreover, Type 2 Diabetes Mellitus (T2DM) is a disease that causes a metabolic disorder that affects millions of people around the world (Bahia et al., 2019). T2DM influences bone deterioration, leading to fragility that increases as well the risk factor of fracture (Valderrábano and Linares, 2018). T2DM has also been associated to increased bone mineral density, but with a paradoxically increased risk for skeletal fractures, probably due to long-term complications associated to this disease (Bonds et al., 2006; De Liefde et al., 2005; Schwartz et al., 2011). Furthermore, T2DM can also affect cartilage (Neumann et al., 2018; Saeki Fernandes et al., 2018). It is important to consider that Type 1 Diabetes Mellitus affects bone strength and produces fragility in patients who suffer from it (Janghorbani et al., 2006; Weber et al., 2015). It has also been reported that T2DM in postmenopausal women generates a 20% increase in the probability of fracture in any part of the body. This risk increases up to 50% with respect to patients without DM (Zhao et al., 2020).

Menopause can be induced by ovariectomy. It has exhibited rapid estrogen decline inducing bone loss due to ovarian hormone deficiency (Kalu, 1991; Shen et al., 2018). It is important because post-menopausal osteoporosis is the most common degenerative bone disease. Osteoporosis is characterized by decreased bone density and increased fracture risks. Currently, there are several groups performing research on osteoporosis, which are developing and using a number of new drugs to obtain satisfactory therapeutic outcomes (Shen et al., 2018; Zhao et al., 2018). In many of these works osteoporosis was induced by ovariectomy. X-ray (radiographic) images can disclose evidence of osteoporosis, even before carrying out quantitative assessment of BMD. Also, structural abnormalities such as thinned cortices, endosteal resorption and a reduction in trabecular number can be noticed in radiographs (Adams, 2013). Osteoporosis and other abnormalities can be determined by analyzing X-ray absorption in a medium. This information is captured in a radiographic image, either digital or analog (film); thus through X-ray absorptiometry, it is possible to determine BMD changes and their consequences. Dual energy X-ray absorptiometry (DXA) is the most widely used technique to measure BMD. There are other techniques such as conventional radiography, computed tomography (CT) and quantitative ultrasound to measure BMD (Guglielmi and Muscarella, 2011; Messina et al., 2018; Oei et al., 2016a). Single X-ray absorptiometry

\* Corresponding author. Facultad de Medicina, Universidad Autónoma del Estado de México. Paseo Tollocan s/n esquina Jesús Carranza, Col. Moderna de la Cruz, CP 50180, Toluca, México, Mexico.

E-mail address: [eugenio\\_tg@yahoo.com.mx](mailto:eugenio_tg@yahoo.com.mx) (E. Torres-García).

<https://doi.org/10.1016/j.apradiso.2021.109608>

Received 16 January 2020; Received in revised form 14 January 2021; Accepted 19 January 2021

Available online 24 January 2021

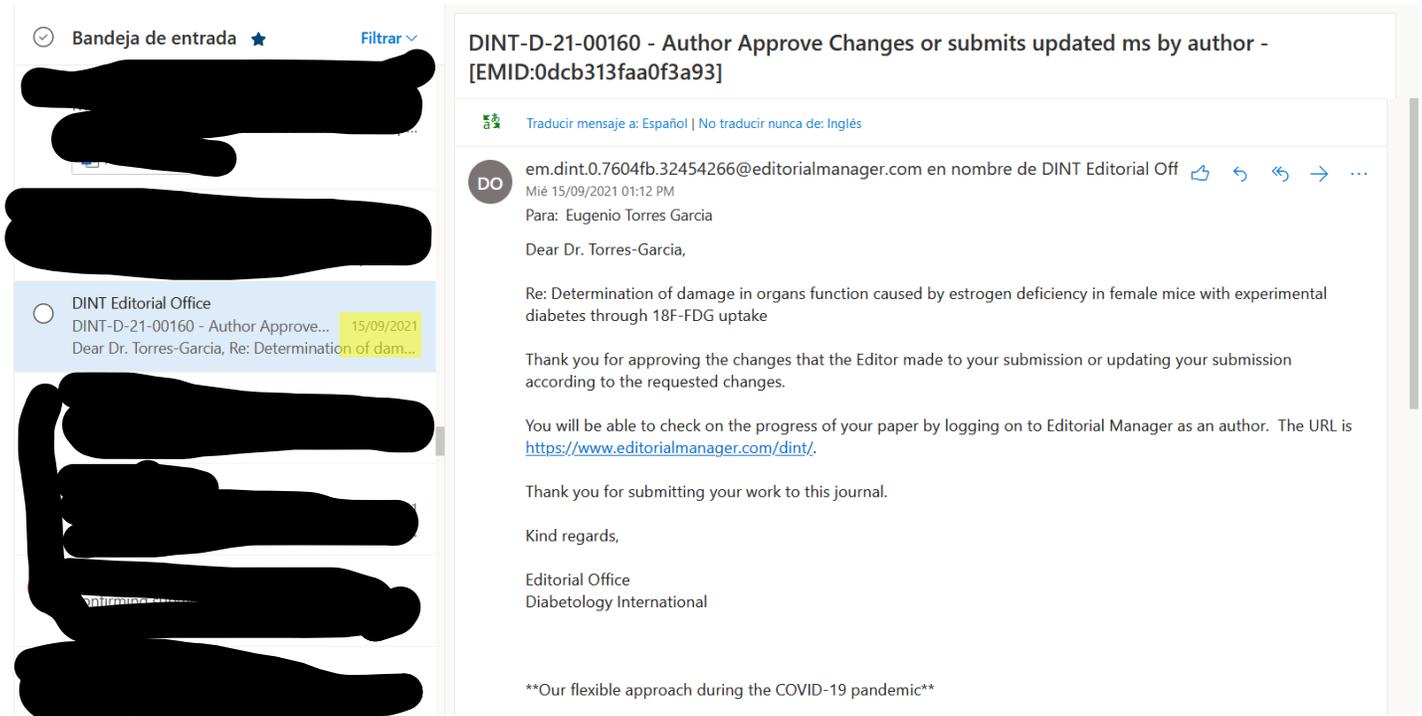
0969-8043/© 2021 Elsevier Ltd. All rights reserved.

## 8.2 ARTÍCULO ENVIADO

### 8.2.1 TÍTULO DEL ARTÍCULO ENVIADO

Determination of damage in organs function caused by estrogen deficiency in female mice with experimental diabetes through  $^{18}\text{F}$ -FDG uptake.

### 8.2.2 CARTA DE ENVÍO Y/O RECEPCIÓN DEL ARTÍCULO



**Bandeja de entrada** ★ Filtrar

**DINT-D-21-00160 - Author Approve Changes or submits updated ms by author - [EMID:0dcb313faa0f3a93]**

Traducir mensaje a: Español | No traducir nunca de: Inglés

em.dint.0.7604fb.32454266@editorialmanager.com en nombre de DINT Editorial Off 👍 ↶ ↷ → ...

Mié 15/09/2021 01:12 PM  
Para: Eugenio Torres Garcia

Dear Dr. Torres-Garcia,

Re: Determination of damage in organs function caused by estrogen deficiency in female mice with experimental diabetes through  $^{18}\text{F}$ -FDG uptake

Thank you for approving the changes that the Editor made to your submission or updating your submission according to the requested changes.

You will be able to check on the progress of your paper by logging on to Editorial Manager as an author. The URL is <https://www.editorialmanager.com/dint/>.

Thank you for submitting your work to this journal.

Kind regards,

Editorial Office  
Diabetology International

\*\*Our flexible approach during the COVID-19 pandemic\*\*

## 9. DISCUSIÓN GENERAL

La segmentación de umbral utilizada por la herramienta Graph Cut de MatLab es útil y permite segmentar de forma interactiva regiones de interés con alta precisión geométrica, lo que permite almacenar los valores reales de densidad radiológica para determinar la absorciometría de rayos X con alta precisión. La segmentación basada en gráficos es reproducible y adecuada para la segmentación del fémur con buena precisión. Sin embargo, un problema encontrado es que el proceso de segmentación no delimita automáticamente la región de interés con precisión, ya que marca algunas subregiones de tejidos blandos como regiones del fémur. Se ha informado que este problema se debe a la falta de suavidad provocada por el modelo de Graph cut, perdiendo información en algunos casos (Song *et al.*, 2019). Lo anterior es consistente con lo expresado por (Oyebode *et al.*, 2018) es decir, la segmentación automática del corte del gráfico acelera la segmentación, mientras que la segmentación interactiva facilita la flexibilidad para seleccionar puntos semilla cuando la segmentación se requiere de forma aislada.

Algunos informes mencionan que la diabetes y la deficiencia de estrógenos son factores que conducen a la osteoporosis. En primer lugar, en el caso de la diabetes, esto puede deberse a que la hiperglucemia influye en la función, maduración y motilidad de los osteoclastos (Botella Martínez *et al.*, 2016), y una relación indirecta con el estrés oxidativo y la hipercalciuria que podría conducir a una alteración en la mineralización ósea. Sin embargo, nuestros resultados muestran evidencia de que en los dos grupos que padecen DM, la absorbancia de los rayos X disminuye en comparación con el grupo control de adultos, luego de acuerdo con la prueba T-Score, ningún grupo alcanza la condición de osteoporosis. Lo anterior concuerda con lo mostrado por Szkudelski quien menciona que la disminución de la densidad mineral ósea en el grupo de DM puede deberse a la necrosis de las células beta pancreáticas producidas por el aloxano (Szkudelski, 2001). Esto se debe a que las personas con diabetes presentan una porosidad cortical significativamente más alta que los controles normales (Choi y Chung, 2016). También es consistente con los resultados de Wittrant *et al.*, quienes afirman que en un estudio *in vitro*, en el cual las células fueron expuestas a niveles altos de glucosa tratando de imitar las condiciones de la diabetes, encontraron que se inhibe la formación de osteoclastos esenciales en el metabolismo óseo (Wittrant *et al.*, 2008). En cuanto

al grupo control joven nuestros resultados coinciden con los mostrados por (Poiana y Capatina, 2017; Vestergaard, 2007), en todos los casos existe una tendencia al aumento de la densidad mineral ósea en la DM2. En segundo lugar, en el caso de la deficiencia de estrógenos causada por la menopausia, se asocia a pérdida ósea u osteoporosis, aumentando el riesgo de fractura, que ocurre con mayor frecuencia en mujeres mayores de 50 años, con el inicio de la menopausia disminuye la influencia hormonal protectora de los estrógenos directamente sobre la salud ósea (Oei *et al.*, 2016b). Nuestros resultados indican que el grupo OVX tiene mayor absorbancia en comparación con el grupo DM. Esto podría explicarse porque, la ovariectomía genera un aumento del peso corporal del 6,9% en comparación con la DM, lo que provoca una mayor carga sobre el hueso, esto podría compensar parcialmente el deterioro de la calidad ósea (Huang *et al.*, 2008), también los grupos de diabéticos podría tener un aumento significativo en la separación trabecular y una disminución en la fracción de volumen óseo, el número trabecular y el grosor (Mohsin *et al.*, 2019), lo que disminuiría sus absorciones de rayos X.

En este trabajo se menciona que la diabetes puede generar un deterioro en la microarquitectura del tejido óseo que predispone a un mayor riesgo de fractura debido a un desequilibrio entre la formación de hueso y la reabsorción ósea. Este deterioro puede tener un efecto sinérgico con la depleción de estrógenos lo cual provoca una mayor actividad de los osteoclastos en mujeres menopáusicas, provocando en los primeros años una probable disminución la densidad mineral ósea.

Con respecto a los resultados obtenidos relacionados con el metabolismo del FDG. La dinámica de la distribución de la FDG se puede utilizar para aumentar tanto la sensibilidad como la especificidad, porque es absorbida por los transportadores de glucosa, que a menudo están regulados al alza en las células hipermetabólicas, independientemente de si son benignas o malignas (Hess *et al.*, 2014).

[<sup>18</sup>F] FDG ha tenido éxito porque las células sanas reducen la tasa de glucólisis en presencia de oxígeno (conocido como efecto Pasteur) a favor de una respiración aeróbica más eficiente, mientras que muchos tipos de células malignas dependen de una vía glucolítica anaeróbica regulada (conocida como el efecto Warburg) (Alford *et al.*, 2009). La pérdida gradual de la función de los órganos vitales puede contribuir a la mortalidad prematura en personas con diferentes estados de enfermedad.

Resultados encontrados muestran que la captación de  $^{18}\text{F}$ -FDG en el cerebro de los roedores pertenecientes al grupo OVX, no presentaron cambios con respecto al grupo control y Sham, pero este estudio mostró que la captación en cerebro se ve afectada por la hiperglucemia. SariKaya *et al.*, 2019 encontraron hasta el 65 % de reducción de glucosa en cerebro cuando la glucosa en sangre era superior a 201 mg/dl. Por otro lado, Cengiz en sus resultados muestran que en un estado de hiperglucemia la captación de  $^{18}\text{F}$ -FDG en el cerebro disminuye considerablemente en comparación con la normoglucemia.

La captación de  $^{18}\text{F}$ -FDG en el corazón se vio afectada por la diabetes y la ovariectomía en comparación con los grupos control y Sham. La disminución de la absorción de glucosa en la diabetes se ha relacionado con el estrés oxidativo y la autofagia alterada, lo que provoca apoptosis celular, "acolchado" fibrótico y disfunción cardíaca (Verma *et al.*, 2018). Li *et al.*, 2019, reportaron en sus estudios histológicos una mayor fibrosis miocárdica en ratones con DM en comparación con su grupo control.

La disminución del E2 que es el estrógeno ovárico más abundante disminuye también la protección cardiovascular. Estos efectos protectores cardiovasculares de los estrógenos están mediados principalmente por el receptor de estrógenos alfa ( $\text{ER}\alpha$ ), que se expresa ampliamente en los tejidos metabólicos y vasculares (Gourdy *et al.*, 2018). Lin *et al.*, 2018, informaron que la deficiencia de estradiol después de la ovariectomía causa un aumento de la fibrosis cardíaca y células apoptóticas cardíacas. Esto nos permite entender por qué hubo una baja captación de  $^{18}\text{F}$ -FDG en los grupos ovariectomizados.

Los grupos con la condición de diabetes presentaron una mayor captación de  $^{18}\text{F}$ -FDG en riñones, en comparación con los grupos: ctrl, Sham y OXX. Otros estudios han reportado que el riñón de las personas con diabetes o hiperglucémicas muestra un exceso de expresión y actividad de los transportadores SGLT2 del túbulo proximal, provocando un aumento de la reabsorción renal de glucosa (Tejedor, 2020). Esto es debido a que el riñón participa en la regulación de la glucosa a través de la gluconeogénesis, absorbiendo glucosa de la circulación y reabsorbiendo glucosa de la filtración glomerular (Rieg y Vallon, 2018).

En este estudio se determinó que los grupos que presentaron hiperglucemia tienen una mayor captación de  $^{18}\text{F}$ -FDG con respecto a los grupos normoglucémicos. Viglianti *et al.*, 2017, en su estudio encontraron una correlación positiva entre los niveles de glucosa en sangre y la captación de  $^{18}\text{F}$ -FDG en el hígado, análoga a nuestros resultados. Por otra parte Waqas *et al.*,

2019. Mencionan que la hiperglucemia y la diabetes afectan claramente la captación de  $^{18}\text{F}$ -FDG tanto en tejidos patológicos como no patológicos. Otros estudios mencionan que la absorción de  $^{18}\text{F}$ -FDG en el hígado se ve afectada por los niveles glucémicos, pero la magnitud de éste efecto es pequeña.

La captación de  $^{18}\text{F}$ -FDG en el páncreas fue mayor en los grupos que tenían diabetes en comparación con los grupos ctrl, Sham y OVX. Otros estudios han reportado que el aumento de la captación es debido a que las células inflamatorias presentan una mayor actividad metabólica de la glucosa (Bakker *et al.*, 2019). Mochizuki *et al.*, 2001, en su estudio encontró una alta captación de  $^{18}\text{F}$ -FDG en lesión tumoral y también en lesiones inflamatorias debido a la alta expresión de GLUT-1 y GLUT-3. Dichos estudios nos pueden ayudar a dilucidar por qué hay una mayor absorción de  $^{18}\text{F}$ -FDG en nuestros grupos con diabetes. Aunque la patogenia del síndrome metabólico es multifactorial, las hormonas juegan un papel fundamental en su desarrollo y progresión. En nuestro estudio, no se observó ningún cambio significativo en el grupo OVX con respecto al CTRL. Como se sabe, el estradiol es un importante regulador de la inflamación y la apoptosis de las células B (Barros *et al.*, 2011).

## **10. CONCLUSIONES GENERALES**

El proceso de segmentación de umbrales permitió segmentar de forma interactiva las regiones de interés con alta precisión geométrica, permitiendo obtener valores de densidad radiológica para determinar la absorciometría de rayos x con buena precisión. De acuerdo con los cambios en la absorciometría de rayos X y el protocolo SXA, los sujetos con ovariectomía, diabetes tipo 2 o ambas patologías no alcanzaron la condición de osteoporosis cuando tenían 30 semanas de edad. La dinámica de la distribución de la FDG se utilizó para ver los efectos provocados por la diabetes y la deficiencia de estrógenos, se pudo observar que la hiperglucemia disminuye la captación del FDG en algunos órganos (cerebro, corazón, y timo). Mientras que otros órganos (riñones, sangre, páncreas e hígado) la captación de FDG se observa aumentada en un estado hiperglucémico. Ambos efectos pueden provocar la pérdida gradual de la función de los órganos lo que puede contribuir a la mortalidad prematura de las personas que presentan las condiciones antes mencionadas.

## 11. BIBLIOHEMEROGRAFÍA

1. Asmat, U., Abad, K., & Ismail, K. (2016). Diabetes mellitus and oxidative stress—A concise review. *Saudi pharmaceutical journal*, 24(5), 547-553.
2. Roden, M. (2016). Diabetes mellitus—Definition, Klassifikation und Diagnose. *Wiener klinische Wochenschrift*, 128(2), 37-40.
3. Iglesias-Osores, S., & Rafael-Heredia, A. (2020). Factors associated with type 2 diabetes mellitus in patients treated at an amazonian hospital in Peru. *Universidad Médica Pinareña*, 16(2), 1-7
4. Holt RIG, Cockram C, Flyvbjerg A, Goldstein BJ. Textbook of Diabetes: Wiley; 2016.
5. Association AD. 2. Classification and diagnosis of diabetes. *Diabetes care*. 2016;39 (Supplement 1):S13-S22.
6. Villanueva-Pájaro, D. J., Vergara-Dagobeth, E. E., Suárez-Causado, A., & Gómez-Arias, R. D. (2020). Epidemiología de la interrelación cáncer colorrectal y diabetes mellitus tipo 2. Revisión sistemática. *Revista Facultad Nacional de Salud Pública*, 38(2), 1-21.
7. Chadt, A., & Al-Hasani, H. (2020). Glucose transporters in adipose tissue, liver, and skeletal muscle in metabolic health and disease. *Pflugers Archiv : European journal of physiology*, 472(9), 1273–1298. <https://doi.org/10.1007/s00424-020-02417-x>
8. Lizák, B., Szarka, A., Kim, Y., Choi, KS, Németh, CE, Marcolongo, P., Benedetti, A., Bánhegyi, G. y Margittai, É. (2019). Transporte y transportadores de glucosa en las endomembranas. *Revista internacional de ciencias moleculares*, 20 (23), 5898. <https://doi.org/10.3390/ijms20235898>
9. Hernández DPD, Herrera LCB. ¿Cómo se transporta la glucosa a través de la membrana celular? *Iatreia*. 2002; 15( 3):179-89.
10. Segura, J. (2016). Abordaje de la diabetes mellitus tipo 2 a través del cotransportador sodio-glucosa tipo 2:¿ tiene sentido?. *Medicina Clínica*, 147, 22-25.
11. Rojas J, Bermúdez V, Leal E, Bermúdez F, Cano R, Acosta L, et al. Insulinorresistencia e hiperinsulinemia como factores de riesgo para enfermedad cardiovascular. *Revista Latinoamericana de Hipertensión*. 2007;2(6).

12. Koolman J, Röhm K-H. Bioquímica: texto y atlas: Ed. Médica Panamericana; 2005.
13. Reyes JAO, Plancarte AA. Bases moleculares de las acciones de la insulina. *Revista de Educación Bioquímica*. 2008;27(1):9-18.
14. Moller, D. E., & Flier, J. S. (1991). Insulin resistance—mechanisms, syndromes, and implications. *New England Journal of Medicine*, 325(13), 938-948.
15. Malgor L, Valsecia M. *Farmacología médica*. Volúmenes. 2000;1(2):3.
16. Hall JE. Guyton E Hall *Tratado De Fisiología Médica*: Elsevier Brasil; 2017.
17. Al-Awar, A., Kupai, K., Veszelka, M., Szücs, G., Attieh, Z., Murlasits, Z., Török, S., Pósa, A., & Varga, C. (2016). Experimental Diabetes Mellitus in Different Animal Models. *Journal of diabetes research*, 2016, 9051426. <https://doi.org/10.1155/2016/9051426>
18. Lerco MM. Spadella CT. Machado JL. M. Schellini SA. & Padovani CR. Caracterização de um modelo experimental de Diabetes Mellitus, induzido pela aloxana em ratos: estudo clínico e laboratorial. *Acta Cirúrgica Brasileira*. 2003;132-142.
19. Figueroa MC. Pérez IH. & Mejía R. Caracterización de un modelo de diabetes tipo 2 en ratas Wistar hembra. *Revista MVZ Córdoba*. 2013. 18.
20. Estévez ASF., Carballo R S. Almeida G. Pena AMQ. & Alfonso MA. (2000). Modelo experimental de diabetes en conejos. *Rev Cubana Angiol y Cir Vasc*. 2000;1(1).
21. Hernandorena BH. García JC. R. González JC. R. & Rodríguez MTM. Animales de experimentación como modelos de la diabetes mellitus tipo 2. *Rev Cubana Endocrinol*. 2002. 13(2), 160-8.
22. Harper HA, Murray RKB, David AB, Kathleen MRK, David AB, Kathleen MB, et al. Harper: *Bioquímica ilustrada/Bioquímica ilustrada*: Konrad-Adenauer-Stiftung; 2013.
23. Voet D, Voet JG, Pratt CW. *Fundamentos de Bioquímica-: A Vida em Nível Molecular*: Artmed Editora; 2014.
24. Rines AK, Sharabi K, Tavares CD, Puigserver P. Targeting hepatic glucose metabolism in the treatment of type 2 diabetes. *Nature Reviews Drug Discovery*. 2016 Nov 1;15(11):786-804.
25. Li XB, Gu JD, Zhou QH. Review of aerobic glycolysis and its key enzymes—new targets for lung cancer therapy. *Thoracic Cancer*. 2015 Jan 1;6(1):17-24.

26. Bonilla-Musoles FP, Bonilla-Musoles A, Pellicer A. Obstetricia, reproducción y ginecología básicas: Médica Panamericana; 2008.
27. Cuéllar, A. Y. D., Sibaja, C. M., & Aguirre, A. U. (2016). *Endocrinología clínica de Dorantes y Martínez*. Editorial El Manual Moderno.
28. Llusíá JB. Tumores ováricos: Primera parte. El Ovario: Fisiología y Patología. 1995;11(10):287.
29. Márquez, D. C. (2010). Receptor de Estrógeno: Bases Moleculares Aplicadas a Medicina. *Los Angeles*.
30. Cahua-Pablo JÁ, Flores-Alfaro E, Cruz M. Estrogen receptor alpha in obesity and diabetes. *Revista médica del Instituto Mexicano del Seguro Social*. 2016;54(4):521.
31. Norma, G. T., Ulises, A. R., & Oscar, G. C. (2014). Las orexinas dos péptidos hipotalámicos: Su localización y acción en el eje hipotálamo-hipófisis-gónadas. *Rev Mex Neuroci Noviembre-Diciembre, 15(6)*, 345-350.
32. Arce, V. M., Catalina, P. F., & Mallo, F. (Eds.). (2006). *Endocrinología*. Univ Santiago de Compostela.
33. Eguíbar C JR, Cortés S, Trujillo H. Procesos fisiológicos y toxicológicos de la reproducción. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. 2016.
34. Lara, M., & Escalante, C. (2015). Falla ovárica prematura. *Revista Venezolana de Endocrinología y Metabolismo, 13(3)*, 136-145.
35. Arenas JMB. Fundamentos de ginecología: Ed. Médica Panamericana; 2009.
36. Vallejo, J. G. Conservación de los ovarios frente a ooforectomía bilateral en pacientes sometidas a histerectomía por procesos benignos. *Clínica e Investigación en Ginecología y Obstetricia*. 2009;36(3), 94-98.
37. López-Grueso R, Borrás C, Gambini J, Viña J. El envejecimiento y la ovariectomía causan una disminución del consumo cerebral de glucosa in vivo en ratas Wistar. *Revista Espanola de Geriatria y Gerontologia*. 2010;45(3):136-40.
38. Bover, J., Ureña-Torres, P., Torregrosa, J. V., Rodríguez-García, M., Castro-Alonso, C., Górriz, J. L., ... & Cannata-Andía, J. (2018). Osteoporosis, densidad mineral ósea y complejo CKD-MBD (I): consideraciones diagnósticas. *Nefrología, 38(5)*, 476-490.
39. Hernández, M. M., Fernández, M. M., & Ramírez, J. R. (2000, January). Variaciones de la densidad y de la concentración mineral ósea entre distintas comunidades. In *Anales de Pediatría* (Vol. 52, No. 4, pp. 319-326). Elsevier Doyma.

40. Kim, S. K. (2018). Identification of 613 new loci associated with heel bone mineral density and a polygenic risk score for bone mineral density, osteoporosis and fracture. *PloS one*, *13*(7), e0200785.
41. Estrada, M. D., Espallargues, M., Sampietro-Colom, L., del Río, L., Solà, M., & Granados, A. (1999). *La densitometría ósea*. Agència d'Avaluació de Tecnologia Mèdica.
42. Inoue, T., Yamazaki, K., Kushida, K., 1997. Utility of dual X-ray absorptiometry and single X-ray absorptiometry as diagnostic tools for involutinal osteoporosis. *Osteoporos. Int.* *7*, 19–21.
43. Sekioka, Y., Kushida, K., Yamazaki, K., Inoue, T., 1999. Calcaneus bone mineral density using single X-ray absorptiometry in Japanese women. *Calcif. Tissue Int.* *65*, 106–111. <https://doi.org/10.1007/s002239900665>.
44. Ramos, R. L., Armán, J. A., Galeano, N. A., Hernández, A. M., Gómez, J. G., & Molinero, J. G. (2012). Absorciometría con rayos X de doble energía. Fundamentos, metodología y aplicaciones clínicas. *Radiología*, *54*(5), 410-423.
45. Clemente, E. A., Villagrasa, M. P. S., Casas, A. A., Aznar, L. A. M., & Lozano, M. G. B. (2016). Estudio de composición corporal: absorciometría de rayos X de energía dual (DEXA). *Boletín de la Sociedad de Pediatría de Aragón, La Rioja y Soria*, *46*(1), 5-9.
46. Miranda, V. E., Muñoz, C. S., Paolinelli, G. P., & Astudillo, A. C. (2013). Densitometría ósea. *Revista Médica Clínica Las Condes*, *24*(1), 169-173.
47. Huang, Y., Hu, G., Ji, C., & Xiong, H. (2020). Glass-cutting medical images via a mechanical image segmentation method based on crack propagation. *Nature communications*, *11*(1), 1-15.
48. Peña-Peñate, A., Silva Rojas, L. G., & Alcolea Núñez, R. (2016). Módulo de filtrado y segmentación de imágenes médicas digitales para el proyecto Vismedic. *Revista Cubana de Ciencias Informáticas*, *10*(1), 13-27.
49. Sterbentz, R. M., Haley, K. L., & Island, J. O. (2021). Universal image segmentation for optical identification of 2D materials. *Scientific Reports*, *11*(1), 1-8.
50. Cortés-Blanco, P. A., & Gómez, J. E. (2003). Radiofármacos de uso humano: marco legal e indicaciones clínicas autorizadas en España. *Seguridad Nuclear*, *26*, 5-15.

51. Ziessman H, OMalley J, Thrall J. Los requisitos en Radiología: Medicina nuclear. Fundamentos. 2007;3.
52. Gennaro AR. Remington farmacia: Ed. Médica Panamericana; 2003.
53. Abouzed, M. M., Crawford, E. S., & Nabi, H. A. (2005). 18F-FDG imaging: pitfalls and artifacts. *Journal of nuclear medicine technology*, 33(3), 145-155.
54. Láinez MN-P, Rodríguez-Fernández A, Gómez-Río M, Vázquez-Alonso F, Cózar-Olmo J, Llamas-Elvira J. Papel de la tomografía por emisión de positrones/tomografía computarizada con análogos radiomarcados de colina en el cáncer de próstata. *Actas Urológicas Españolas*. 2014;38(9):613-21.
55. Roldán-Valadez E, Vega-González I, Valdivieso-Cárdenas G, Rumoroso-García A, Morales-Santillán O, Osorio-Cardiel L. Conceptos básicos del 18F-FDG PET/CT: definición y variantes normales. *Gac Med Mex*. 2008;144(2):137-46.
56. Durán, F. A. L., & Colín, R. D. (2004). La radioquímica de la [18-F]-FDG: la primera experiencia en México. *Tip Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 7(2), 76-82.
57. Bertoldo A, Vicini P, Sambuceti G, Lammertsma AA, Parodi O, Cobelli C. Evaluation of compartmental and spectral analysis models of [<sup>18</sup>F] FDG kinetics for heart and brain studies with PET. *IEEE transactions on biomedical engineering*. 1998;45(12):1429-48.
58. Durán FAL, Romo EZ, Morales JLA. Tomografía por Emisión de Positrones: Los nuevos paradigmas. Unidad PET-Ciclotrón, Pisano ED, Gatsonis C, Hendrick E, et al Diagnostic performance of digital versus film mammography for breast-cancer screening *New England Journal of Medicine*. 2005;353(17):1773-83.
59. Espinosa-Paredes G, Rodríguez RV. Física de reactores nucleares I: Un enfoque conceptual: OmniaScience; 2016.
60. Eckerman K, Westfall R, Ryman J, Cristy M. Availability of nuclear decay data in electronic form, including beta spectra not previously published. *Health physics*. 1994;67(4):338-45.
61. Strand SE, Zanzonico P, Johnson TK. Pharmacokinetic modeling. *Medical physics*. 1993;20(2):515-27.

62. Makoid MC, Vuchetich PJ, Banakar UV. Basic pharmacokinetics: Virtual University Press; 1999.
63. Lizcano F, Guzmán G. Estrogen deficiency and the origin of obesity during menopause. *BioMed research international*. 2014.
64. Ohtake, K., Ehara, N., Chiba, H., Nakano, G., Sonoda, K., Ito, J., Uchida, H., Kobayashi, J., 2017. Dietary nitrite reverses features of postmenopausal metabolic syndrome induced by high-fat diet and ovariectomy in mice. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*
65. Schneider, A.H., Kanashiro, A., Dutra, S.G.V., de Souza, R. do N., Veras, F.P., Cunha, F. de Q., Ulloa, L., Mecawi, A.S., Reis, L.C., Malvar, D. do C., 2019. Estradiol replacement therapy regulates innate immune response in ovariectomized arthritic mice. *Int. Immunopharm.*
66. Khajuria, D. K., Razdan, R., & Mahapatra, D. R. (2012). Description of a new method of ovariectomy in female rats. *Revista brasileira de reumatologia*, 52(3), 466-470.
67. Lenzen, S., 2008. The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia* 51, 216–226.
68. Hasibuan, R., Ilyas, S., Hanum, S., 2015. Effect of leaf extract haramonting (*Rhodomyrtus tomentosa*) to lower blood sugar levels in mice induced by alloxan. *Int. J. PharmTech Res.*
69. Hernandez-vaquero, D., Garcia-Sandoval, M.A., Manuel, J., Suarez-Vazquez, A., Perez-Hernández, 2009. Measurement of bone mineral density is possible with standard radiographs: a study involving total knee replacement Measurement of bone mineral density is possible with standard radiographs A study involving total knee replacement. *Acta Orthop.* 76, 791–795.
70. Inlay, P., Por, O., Radiografia, M.D.E., 2006. Digital radiographic evaluation OF optical density OF porcelains used for fabrication OF inlay/onlay prosthesis. *J. Appl. Oral Sci.* 14, 16–20.
71. Inoue, T., Yamazaki, K., Kushida, K., 1997. Utility of dual X-ray absorptiometry and single X-ray absorptiometry as diagnostic tools for involutional osteoporosis. *Osteoporos. Int.* 7, 19–21.

72. Sekioka, Y., Kushida, K., Yamazaki, K., Inoue, T., 1999. Calcaneus bone mineral density using single X-ray absorptiometry in Japanese women. *Calcif. Tissue Int.* 65, 106–111.
73. Song, X., Wang, Y., Feng, Q., Wang, Q., 2019. Improved graph cut model with features of superpixels and neighborhood patches for myocardium segmentation from ultrasound image. *Math. Biosci. Eng.*
74. Oyebode, K.O., Du, S., Van Wyk, B.J., Djouani, K., 2018. Investigating the relevance of graph cut parameter on interactive and automatic cell segmentation. *Comput. Math. Methods Med.* 1–10.
75. Botella Martínez, S., Varo Cenarruzabeitia, N., Escalada San Martín, J., Calleja Canelas, A., 2016. La paradoja diabética: densidad mineral ósea y fractura en la diabetes tipo 2. *Endocrinol. Nutr.* 63, 495–501.
76. Szkudelski, T., 2001. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. *Physiol. Res.* 50, 10.
77. Choi, Y.J., Chung, Y.-S., 2016. Type 2 diabetes mellitus and bone fragility: special focus on bone imaging. *Osteoporos. Sarcopenia* 2, 20–24.
78. Wittrant, Y., Gorin, Y., Woodruff, K., Horn, D., Abboud, H.E., Mohan, S., Abboud-Werner, S.L., 2008. High d(+)glucose concentration inhibits RANKL-induced osteoclastogenesis. *Bone* 42, 1122–1130.
79. Poiana, C., Capatina, C., 2017. Fracture risk assessment in patients with diabetes mellitus. *J. Clin. Densitom.* 20, 432–443.
80. Vestergaard, P., 2007. Discrepancies in bone mineral density and fracture risk in patients with type 1 and type 2 diabetes - a meta-analysis. *Osteoporos. Int.* 18, 427–444.
81. Oei, L., Zillikens, M.C., Rivadeneira, F., Oei, E.H.G., 2016b. Osteoporotic vertebral fractures as part of systemic disease. *J. Clin. Densitom.* 19, 70–80.
82. Huang, T.H., Mühlbauer, R.C., Tang, C.H., Chen, H.I., Chang, G.L., Huang, Y.W., Lai, Y. T., Lin, H.S., Yang, W.T., Yang, R. Sen, 2008. Onion decreases the ovariectomy-induced osteopenia in young adult rats. *Bone* 42, 1154–1163.

83. Mohsin, S., Kaimala, S., Sunny, J.J., Adeghate, E., Brown, E.M., 2019. Type 2 diabetes mellitus increases the risk to hip fracture in postmenopausal osteoporosis by deteriorating the trabecular bone microarchitecture and bone mass. *J. Diabetes Res.*
84. Hess, S., Blomberg, B. A., Rakheja, R., Friedman, K., Kwee, T. C., Høilund-Carlsen, P. F., & Alavi, A. (2014). A brief overview of novel approaches to FDG PET imaging and quantification. *Clinical and Translational Imaging*, 2(3), 187-198.
85. Alford, R., Ogawa, M., Choyke, P. L., & Kobayashi, H. (2009). Molecular probes for the in vivo imaging of cancer. *Molecular BioSystems*, 5(11), 1279-1291. Sarikaya, I., Sarikaya, A., & Sharma, P. (2019). Assessing the Effect of Various Blood Glucose Levels on 18F-FDG Activity in the Brain, Liver, and Blood Pool. *Journal of nuclear medicine technology*, 47(4), 313-318.
86. Cengiz, A. The Relation Between the Blood Glucose Level and the FDG Uptake of Tissues at Normal or Near-Normal PET/CT Imaging.
87. Varma, U., Koutsifeli, P., Benson, V. L., Mellor, K. M., & Delbridge, L. M. D. (2018). Molecular mechanisms of cardiac pathology in diabetes—Experimental insights. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1864(5), 1949-1959.
88. Li, C., Zhang, J., Xue, M., Li, X., Han, F., Liu, X., ... & Yu, X. (2019). SGLT2 inhibition with empagliflozin attenuates myocardial oxidative stress and fibrosis in diabetic mice heart. *Cardiovascular diabetology*, 18(1), 15.
89. Gourdy, P., Guillaume, M., Fontaine, C., Adlanmerini, M., Montagner, A., Laurell, H., ... & Arnal, J. F. (2018). Estrogen receptor subcellular localization and cardiometabolism. *Molecular metabolism*, 15, 56-69.
90. Lin, Y. Y., Chen, J. S., Wu, X. B., Shyu, W. C., Chaunchaiyakul, R., Zhao, X. L., ... & Lee, S. D. (2018). Combined effects of 17 $\beta$ -estradiol and exercise training on cardiac apoptosis in ovariectomized rats. *PloS one*, 13(12).
91. Tejedor, A. (2020). Corazón y riñón en la diabetes: efectos de los glucosúricos. *Hipertensión y Riesgo Vascular*.
92. Rieg, T., & Vallon, V. (2018). Development of SGLT1 and SGLT2 inhibitors. *Diabetologia*, 61(10), 2079-2086.
93. Viglianti, B. L., Wong, K. K., Wimer, S. M., Parameswaran, A., Nan, B., Ky, C., ... & Gross, M. D. (2017). Effect of hyperglycemia on brain and liver 18F-FDG standardized uptake value (FDG SUV) measured by quantitative positron emission tomography (PET) imaging. *Biomedicine & pharmacotherapy*, 88, 1038-1045.

94. Waqas, K., van Haard, P. M., Postema, J. W., & Schweitzer, D. H. (2019). Diabetes Mellitus–Related Fractional Glucose Uptake in Men and Women Imaged With 18F-FDG PET-CT. *Journal of the Endocrine Society*, 3(4), 773-783.
95. Bakker, G. J., Vanbellinghen, M. C., Scheithauer, T. P., Verchere, C. B., Stroes, E. S., Timmers, N. K., ... & van Raalte, D. H. (2019). Pancreatic 18F-FDG uptake is increased in type 2 diabetes patients compared to non-diabetic controls. *PloS one*, 14(3).
96. Mochizuki, T., Tsukamoto, E., Kuge, Y., Kanegae, K., Zhao, S., Hikosaka, K., ... & Tamaki, N. (2001). FDG uptake and glucose transporter subtype expressions in experimental tumor and inflammation models. *Journal of Nuclear Medicine*, 42(10), 1551-1555.
97. Barros, R. P., & Gustafsson, J. Å. (2011). Estrogen receptors and the metabolic network. *Cell metabolism*, 14(3), 289-299.