

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
UNIDAD XOCHIMILCO

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
DEPARTAMENTO DE SISTEMAS BIOLÓGICOS

MAESTRÍA EN CIENCIAS FARMACÉUTICAS

LINEA DE INVESTIGACIÓN:
ATENCIÓN Y SERVICIOS FARMACEUTICOS

**Biodistribución de $^{64}\text{Cobre}$ usando PET/CT en ganglios basales de pacientes
con Enfermedad de Parkinson comparados con sujetos sanos**

IDÓNEA COMUNICACIÓN DE RESULTADOS PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS FARMACÉUTICAS

PRESENTA

Q.F.B. MARTINEZ RODRIGUEZ ERICK JOSE
MATRÍCULA: 2151801984

COMITÉ TUTORAL

Cotutor: Dra. MARTHA PEDRAZA LOPEZ.

Cotutor: Dr. RIOS CASTAÑEDA LUIS CAMILO

Asesora: Dra. MARIA DE LOS ANGELES ARACELI DIAZ RUIZ

Biodistribución de $^{64}\text{Cobre}$ usando PET/CT en ganglios basales de pacientes con Enfermedad de Parkinson comparados con sujetos sanos

Jurado del Examen de Grado

Presidente: Dr. Miguel Ángel Ávila Rodríguez

Vocal: Dra. Marie Catherine Boll Woehrlen

Secretario: Dr. Rios Castañeda Luis Camilo

Biodistribución de $^{64}\text{Cobre}$ usando PET/CT en ganglios basales de pacientes con Enfermedad de Parkinson comparados con sujetos sanos

Visto Bueno (Vo.Bo.) del Comité Tutorial

Co-tutor: Dr. Ríos Castañeda Luis Camilo

Co-tutora: Dra. Martha Pedraza López

Asesora: Dra. María de los Ángeles Araceli Diaz Ruiz

Resumen

Actualmente la enfermedad de Parkinson se considera la segunda enfermedad neurodegenerativa a nivel mundial y en el país, afecta a medio millón de Mexicanos mayores de 60 años. En la actualidad el tratamiento farmacológico es sintomático y no está dirigido a detener la progresión de la Enfermedad. Sin embargo, se conoce que el cobre determina un papel esencial en la homeóstasis de la Enfermedad de Parkinson y puede ser utilizado como un método terapéutico. Actualmente el desarrollo de nuevos radiofármacos en medicina nuclear, permite el diagnóstico y terapia, esto implica un estudio detallado sobre su biodistribución para estimar riesgos y beneficios de su administración. Este trabajo es un estudio prospectivo donde se obtuvo una muestra de cinco pacientes con Enfermedad de Parkinson además de seis voluntarios sanos para formar dos grupos. El objetivo fue determinar la biodistribución y conocer la captación de $^{64}\text{Cobre}$ en ganglios basales de pacientes con Enfermedad de Parkinson y compararla con la de sujetos sanos. Utilizando PET-CT realizado en el Instituto Nacional de Cancerología de la Ciudad de México. Se utilizó una sola dosis de $^{64}\text{Cobre}$, esta fue administrada a pacientes y controles, Posteriormente se tomaron imágenes de cerebro durante 6 diferentes tiempos 5, 30, 60 minutos además 5, 9 y 24 horas. A continuación, las imágenes fueron analizadas en un software PMOD y normalizadas en un atlas de resonancia magnética. Finalmente, los resultados obtenidos mostraron que la captación para algunas estructuras de los ganglios basales es mayor en controles vs pacientes con Enfermedad de Parkinson.

AGRADECIMIENTOS INSTITUCIONALES

A la Universidad Autónoma Metropolitana unidad Xochimilco (UAMX) por todos los recursos que nos da para tener una formación profesional de alto nivel.

Se extiende un profundo agradecimiento al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por el apoyo brindado al becario para la realización de este estudio de posgrado bajo la asignación del CVU 380666.

Al Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía Manuel Velasco Suarez y al Instituto Nacional de Cancerología Ciudad de México por permitirme utilizar sus instalaciones para el desarrollo de este trabajo.

A la unidad de Radiofarmacia-Ciclotrón de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM).

El presente trabajo fue realizado con recursos financiados por CONACyT del fondo de salud número 233815.

AGRADECIMIENTOS PERSONALES

Le doy gracias a Dios de permitirme la oportunidad de lograr mis sueños y a través de ellos ayudar a los demás.

Gracias a mi familia, especialmente a mis padres quienes son mi ejemplo a seguir y modelo de vida.

A mis amigos y al grupo de trabajo de la Unidad de Radiofarmacia de Medicina UNAM que desde que los conocí me han brindado apoyo durante la realización de este estudio.

Agradezco infinitamente a mi comité tutoral quienes con su enseñanza contribuyeron a mi formación profesional. A los sinodales gracias por el tiempo que han dedicado a la revisión de este trabajo.

Gracias a mi amigo Arturo Avendaño quien me brindo ayuda por sus observaciones, opiniones y aclaraciones.

ÍNDICE

| | |
|---|----|
| 1.0 Introducción..... | 1 |
| 2.0 Marco teórico..... | 3 |
| 2.1 Enfermedad de Parkinson..... | 3 |
| 2.2 Epidemiología..... | 3 |
| 2.3 Manifestaciones clínicas..... | 4 |
| 2.3.1 Síntomas motores..... | 4 |
| 2.3.2 Síntomas no motores..... | 6 |
| 2.3.2.1 Disturbios para dormir..... | 6 |
| 2.3.2.2 Trastornos del estado de ánimo..... | 6 |
| 2.3.2.3 Alteraciones cognitivas..... | 7 |
| 2.3.2.4 Dolor y disturbios sensoriales..... | 7 |
| 2.4 Cerebro y ganglios basales..... | 8 |
| 2.5 Fisiopatología..... | 9 |
| 2.5.1 Cuerpos de Lewy..... | 9 |
| 2.5.2 Degeneración neural..... | 10 |
| 2.5.3 Plegamiento y agregación inadecuada de proteínas..... | 11 |
| 2.5.4 Disfunción mitocondrial..... | 11 |
| 2.5.5 Estrés oxidativo..... | 12 |
| 3.0 Cobre en el humano..... | 13 |
| 3.1 Consumo de cobre en cerebro..... | 14 |
| 3.2 Distribución de cobre en cerebro..... | 16 |
| 3.3 Captación celular de Cobre..... | 16 |
| 4.0 Enfermedad de Parkinson y Cobre..... | 18 |
| 5.0 PET cerebral con ⁶⁴ Cobre..... | 20 |

| | |
|--|----|
| 6.0 Planteamiento del problema..... | 22 |
| 7.0 Hipótesis..... | 23 |
| 8.0 Objetivo general..... | 23 |
| 9.0 Objetivos particulares..... | 23 |
| 10.0 Metodología experimental..... | 24 |
| 10.1 Captación de pacientes para la administración de ⁶⁴ Cobre..... | 24 |
| 10.2 Criterios de inclusión y exclusión..... | 25 |
| 10.3 Síntesis de ⁶⁴ Cobre..... | 27 |
| 10.4 Biodistribución de ⁶⁴ Cobre en ganglios basales..... | 27 |
| 10.5 Estudio PET/CT..... | 28 |
| 10.6 Análisis de imágenes..... | 30 |
| 10.7 Obtención de la Biodistribución..... | 31 |
| 10.8 Análisis estadístico..... | 31 |
| 11.0 Resultados..... | 32 |
| 12.0 Discusión de resultados..... | 39 |
| 13.0 Conclusión..... | 44 |
| 14.0 Bibliografía..... | 45 |
| 15.0 Anexos..... | 57 |

ÍNDICE DE TABLAS

| Título de la tabla | Página |
|---|--------|
| Tabla1: Proteínas implicadas en la fisiología del cobre | 14 |
| Tabla 2: Propiedades físicas de los radionúclidos de cobre | 21 |
| Tabla 3: Características principales del equipo PET/CT | 29 |
| Tabla 4: Biodistribución de ⁶⁴ Cobre en estructuras cerebrales | 38 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| Título de la figura | Página |
|--|--------|
| Figura 1: Homeostasis del Cobre en células eucariotas | 13 |
| Figura 2: Transporte de Cobre en el cerebro | 15 |
| Figura3: Equipo PET-CT Siemens | 29 |
| Figura 4: protocolo de adquisición de estudios PET-CT | 30 |
| Figura5: Biodistribución en cerebro de ⁶⁴ Cobre a 24 horas | 32 |
| Figura 6: captación relativa de ⁶⁴ Cobre en el putamen | 33 |
| Figura 7: captación relativa de ⁶⁴ Cobre en pallidum | 34 |
| Figura8: captación relativa de ⁶⁴ Cobre en caudado | 35 |
| Figura 9: captación relativa de ⁶⁴ Cobre en bulbo olfatorio | 36 |
| Figura 10a: Estructuras a los 5 minutos con captación significativa | 37 |
| Figura 10b: Estructuras a las 24 horas con captación significativa | 37 |

1.0 Introducción

Las enfermedades neurodegenerativas se pueden dividir en dos subfamilias: desmielinizante y no desmielinizante en esta última se agrupa la enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer, Corea Huntington y la esclerosis lateral amiotrófica, estas enfermedades son caracterizadas por desórdenes en la función cerebral o generalmente en el sistema nervioso central.

En la actualidad, el estudio de los principales mecanismos de daño que llevan al desarrollo de enfermedades neurodegenerativas es de interés primordial en diversas investigaciones, siendo la Enfermedad de Parkinson uno de los principales problemas en salud, afectando aproximadamente a 6.3 millones de personas a nivel mundial y en nuestro país a medio millón de mexicanos mayores de 60 años. Se considera la segunda causa de discapacidad motora en los ancianos después del accidente cerebro vascular.

La Enfermedad de Parkinson es una enfermedad neurodegenerativa y progresiva que inicia con deterioro en los circuitos neuronales de los ganglios basales, su diagnóstico se asocia con síntomas motores como: rigidez, acinesia, temblor y disturbios en la marcha. Así como síntomas no motores: estreñimiento, hiposmia, psialorrea, dificultad para dormir, alteraciones de ánimo y disturbios psiquiátricos. Los síntomas motores aparecen generalmente cuando existe una pérdida del 50-60% de las neuronas dopaminérgicas en la sustancia nigra del mesencéfalo, esto dificulta la respuesta a un tratamiento terapéutico (Fearnley *et al.*, 1991).

La patogénesis de la Enfermedad de Parkinson, se puede asociar con diferentes disfunciones en el interior celular como son: disfunción mitocondrial, estrés oxidativo, acumulación de hierro, déficit de cobre, plegamiento de proteínas e incremento en los daños del sistema ubiquitina-proteosoma. Siendo estos, algunos de los principales mecanismos estudiados en la etiología de la Enfermedad de Parkinson.

En estudios neuropatológicos se ha reportado pérdida de las neuronas dopaminérgicas en la sustancia nigra, como inclusiones de alfa sinucleína que conforman los cuerpos de Lewy. (Dickson *et al.*, 2009 y Dexter *et al.*, 2013).

En la actualidad las técnicas de diagnóstico no invasivas con alta sensibilidad y especificidad como lo es la resonancia magnética, pueden aportar resultados no concluyentes en etapas tempranas de la Enfermedad de Parkinson. Mientras que la Tomografía por emisión de positrones /Tomografía computada (**PET/CT** por sus siglas en inglés) con radionúclidos como ^{68}Ga , ^{94}Tc , ^{45}Ti , ^{64}Cu nos permite determinar la anatomía y fisiología en tiempo real del tejido en estudio.

Actualmente se conoce que el cobre en el cerebro de pacientes con Enfermedad de Parkinson, determina un papel fundamental en la homeóstasis de las funciones cerebrales. Como en la expresión de transportadores, activación enzimática, plegamiento de proteínas, síntesis de aminoácidos, entre otras funciones (Davies *et al.*, 2016).

El cobre actúa como cofactor de muchas enzimas como son: tirosinasa hidroxilasa, citocromos C oxidasa, superóxido dismutasa y ceruloplasmina, mientras que en otros mecanismos bioquímicos del cuerpo humano es fundamental, en reacciones de óxido-reducción.

Algunos autores consideran que las alteraciones en la regulación de cobre en estructuras cerebrales, pueden estar involucradas con enfermedades neurodegenerativas (Scheiber *et al.*, 2013).

Con base en lo anterior el objetivo de esta investigación es; comparar la biodistribución de ^{64}Cu en ganglios basales (globo pallidum, caudado, putamen y bulbo olfatorio) en cerebros de pacientes con Enfermedad de Parkinson versus sujetos sanos. Esto aportaría una primera evidencia para entender la participación del cobre en la terapia farmacológica de la Enfermedad de Parkinson.

2.0 Marco teórico

2.1 Enfermedad de Parkinson

La enfermedad de Parkinson fue descrita por primera vez por James Parkinson en 1817 en su monografía titulada ensayo sobre la parálisis agitante (Parkinson J. 1981) donde fue considerada una enfermedad neurodegenerativa y progresiva.

La incidencia de la enfermedad se incrementa rápidamente después de los 60 años con una edad media de diagnóstico de 70.5 años, se sabe que el principal factor de riesgo es el incremento en la edad (Van Den *et al.*, 2003).

2.2 Epidemiología

La Enfermedad de Parkinson es la segunda enfermedad neurodegenerativa después del Alzheimer, se estima que su prevalencia en países industrializados es de 0.3 por ciento y en otros países alcanza hasta el 1 por ciento en personas mayores de 60 años. La incidencia en mayores 80 años es de 8 a 18 por cada 100 000 personas al año (Lee *et al.*, 2016).

Además de la edad el sexo masculino es considerado un factor de riesgo para desarrollar la Enfermedad de Parkinson (Gillies *et al.*, 2014). Tanto la incidencia como la prevalencia son de 1 a 2.5 veces más alta en el hombre que en la mujer (Haaxma *et al.*, 2007).

Las mujeres presentan un fenotipo de la Enfermedad de Parkinson más leve para el temblor y deterioro motor comparado con los hombres. Algunos estudios demuestran que el factor hormonal desempeña un papel neuroprotector contra la muerte celular de la vía dopaminérgica en el núcleo estriado (Martinez *et al.*, 2013).

Se estima que hay aproximadamente 7.5 millones de personas en todo el mundo con la Enfermedad de Parkinson, considerando que la tasa de aumento en los últimos 10 años ha sido de un 20 por ciento (Ross y Abbott 2014). En nuestro país, de acuerdo con la secretaría de salud, afecta a medio millón de mexicanos mayores

de 60 años (Leon *et al.*, 2013). La prevalencia de la Enfermedad de Parkinson aumenta con la edad, del 41 por 100, 000 para la edad de 40-49 años hasta 1900 por 100, 000 para 80 años o más (Pringsheim *et al.*, 2014). Se estima que en el 2030 habrá nueve millones de personas con la enfermedad de Parkinson. Siendo la incidencia de 8 a 18.6 por 100 000 (Lau y Breteler 2006).

2.3 Manifestaciones clínicas

Anteriormente la Enfermedad de Parkinson era reconocida como un desorden del sistema motor, ahora se conoce como una condición compleja con diversas características clínicas que incluyen manifestaciones neuropsiquiátricas no motoras como alteraciones del estado de ánimo, cognitivas y desordenes sensoriales (Langston, 2006).

Actualmente el diagnóstico preciso de la enfermedad de Parkinson se basa en la capacidad del médico para reconocer signos y síntomas característicos en las primeras etapas de su presentación clínica, manifestada por bradicinesia, rigidez, temblor e inestabilidad postural. Aunque los signos y síntomas no motores pueden presidir a los motores.

2.3.1 Síntomas motores

Los signos cardinales de la Enfermedad de Parkinson son temblor, bradicinesia, rigidez. Una cuarta característica es la inestabilidad postural que generalmente se observa en estadios avanzados de la enfermedad y por tanto no está incluida en algún criterio de diagnóstico (Gelb *et al.*, 1999).

La evolución de la enfermedad es lenta y progresiva, el tipo de lesiones anatómicas afectan selectivamente a la sustancia nigra del mesencéfalo. Se desconoce con certeza cuánto tiempo se encuentra presente la enfermedad antes de que los síntomas aparezcan y se plantean dos fases de este padecimiento. La primera o fase presintomática que transcurre entre la exposición del individuo con o sin carga

hereditaria al medio ambiente, incluyendo toxinas, traumatismos, edad etc., y la segunda fase sintomática que incluye signos y síntomas de la enfermedad.

Las manifestaciones clínicas están ligadas a la severidad de la pérdida neuronal en la *sustancia nigra*, se estima que la dopamina estriatal está reducida entre el 70 a 90% cuando ocurren las manifestaciones clínicas, de igual forma del 60 al 70% de las neuronas dopaminérgicas se han perdido cuando el primer síntoma aparece, por lo que sería ideal contar con marcadores del proceso de enfermedad en la etapa presintomática que nos permitieran establecer el diagnóstico temprano o incluso antes del inicio de los síntomas (Surmeier *et al.*, 2014).

La forma idiopática de la Enfermedad de Parkinson es probablemente la enfermedad neurodegenerativa más frecuente en México. Su diagnóstico es clínico y su confirmación es anatomopatológica (Hughes,2001). Macroscópicamente se observa la despigmentación de la sustancia nigra y microscópicamente los depósitos de hierro en dicho núcleo y la presencia de cuerpos de inclusión citoplásmicos o cuerpos de Lewy.

2.3.2 Síntomas no motores

Además de la disfunción motora los síntomas no motores de la Enfermedad de Parkinson son reconocidos por que pueden determinan una calidad de vida inadecuada antes de que los signos motores aparezcan. Los síntomas no motores pueden ser clasificados en disfunción autonómica, desordenes para dormir, desordenes del estado de ánimo, alteraciones cognitivas, dolor y desordenes sensoriales (Pfeiffer, 2016). La hipótesis de Braak sugiere que los cuerpos de Lewy en núcleos del tallo cerebral, se observan en cerebros de pacientes con Enfermedad de Parkinson y se consideran que generan sintomatología no motora (Braak, 2003).

La disautonomía asociada a la Enfermedad de Parkinson consiste en disfunción gastrointestinal, anormalidades genitourinarias y disfunción cardiovascular con hipotensión ortostática. Siendo la constipación uno de los síntomas más comunes con una prevalencia de 50-70 por ciento. La disfunción genitourinaria es debido a la

hiperactividad del musculo detrusor siendo la anomalía uro-dinámica más frecuente que conduce a la urgencia urinaria, nicturia, incontinencia, su prevalencia se estima de 25-50 por ciento (Martínez *et al.*, 2007; Sung,2013).

La disfunción cardiovascular se presenta en el 60 por ciento de los pacientes con enfermedad de Parkinson siendo la hipotensión ortostática uno de los signos más debilitantes y también formador de síntomas como visión borrosa y fatiga.

2.3.2.1 Disturbios para dormir

Se considera que son excesivamente comunes en la Enfermedad de Parkinson su prevalencia es de 90 por ciento, estos disturbios incluyen síndrome de piernas inquietas, movimientos periódicos de las extremidades durante el sueño, insomnio y somnolencia. Lo más común es la fragmentación del sueño y la somnolencia, también existe un deterioro en la capacidad para voltearse de la cama debido a una rigidez y bradicinesia con movimientos periódicos de las extremidades (Pfeiffer, 2016.).

2.3.2.2 Trastornos del estado de ánimo

La depresión la ansiedad y la apatía son comunes en la Enfermedad de Parkinson, incluso la depresión puede preceder a manifestaciones motrices y ser un signo prodrómico de esta enfermedad. Un meta análisis informó una prevalencia de depresión mayor en un 17 por ciento y depresión menor en un 22 por ciento como distimia en un 13 por ciento en pacientes con Enfermedad de Parkinson (Riejinders *et al.*, 2008).

Los trastornos como la ansiedad, agorafobia, pánico y la fobia social están presentes en individuos con Enfermedad de Parkinson con una prevalencia de 20-40 por ciento (Sung, 2013). Algunos autores sugieren que la apatía puede estar presente en el cuarenta por ciento de los individuos con enfermedad de Parkinson.

2.3.2.3 Alteraciones cognitivas

Una de las principales complicaciones que generan más temor entre los pacientes con Enfermedad de Parkinson es el desarrollo de demencia considerando que la disfunción cognitiva se puede presentar en diferentes grados.

La prevalencia de demencia en pacientes con Enfermedad de Parkinson es superior al setenta y cinco por ciento en individuos que sobreviven 10 años con esta enfermedad, el deterioro cognitivo afecta al 18.9 por ciento siendo el 38.2 por ciento de los pacientes en las primeras etapas del trastorno (Hely *et al.*, 2008; Litvan *et al.*, 2011).

2.3.2.4 Dolor y disturbios sensoriales

Varias anomalías sensoriales se han descrito en individuos con la Enfermedad de Parkinson siendo los núcleos superiores del bulbo olfativo uno de los principales deterioros tempranos aproximadamente el 90 por ciento en etapas tempranas de la enfermedad.

Los problemas de visión también están presentes y ocurren de diversas formas como problemas para la discriminación de color y síndrome de ojo seco. En consecuencia, se vuelven vulnerables para desarrollar blefaritis y enfermedades que afectan a las glándulas de meibomio.

El dolor es un problema frecuente en la Enfermedad de Parkinson que empeora a lo largo de la enfermedad y los pacientes que tienen dolor son más vulnerables a la depresión y tienen una peor calidad de vida que aquellos que no la tienen (Nowacka *et al.*, 2014). En un estudio trasversal el 76 por ciento de los pacientes con Enfermedad de Parkinson refirió tener dolor de tipo muscular esquelético, neuropático y radicular (Valkovic *et al.*, 2015).

2.4 Cerebro y Ganglios basales

El encéfalo adulto presenta cuatro porciones principales el tronco encefálico o tallo cerebral, cerebelo, diencefalo y cerebro región más grande, este último conformado por una mitad izquierda y derecha conocidos como hemisferios cerebrales. Los hemisferios consisten en una capa externa de sustancia gris y una región interna de sustancia blanca, en la profundidad de cada hemisferio cerebral se encuentran unos núcleos conformados de materia gris denominados ganglios basales.

El circuito de los ganglios basales a veces referido como sistema extrapiramidal está conformado por la sustancia nigra (SN), núcleo estriado (conformado por caudado y el putamen), globo pallidum (GP), núcleos subtálamicos (NST) y tálamo.

Los ganglios basales reciben información del área motora prefrontal, amígdala e hipocampo, esta información es principalmente excitatoria mediada por el neurotransmisor glutamato. Mientras que las neuronas de la sustancia nigra son un importante aporte dopaminérgico, hacia el cuerpo estriado que ejercen influencias tanto excitatorias como inhibitorias en las neuronas de salida. utilizando como neurotransmisor acetil colina o ácido gama aminobutírico (GABA).

Se conoce que en las estructuras implicadas en la Enfermedad de Parkinson existen receptores dopaminérgicos. Siendo estos cinco diferentes receptores de dopamina (D1 a D5). Los receptores D1 y D2 están concentrados en el cuerpo estriado y se consideran relevantes para la fisiopatología de la Enfermedad de Parkinson; se activan por la vía dopaminérgica, originaria de la sustancia nigra y termina en el núcleo caudado y el putamen. Los receptores D3 y D4 son más abundantes en la parte mesolímbica y el receptor D5 en hipocampo e hipotálamo (Gerfen 2000).

La deficiencia de dopamina en la vía nigroestriatal, origina la hipersensibilidad de estas neuronas, implicando receptores dopaminérgicos D2 y generando la sintomatología de la Enfermedad de Parkinson (Bamford *et al.*,2004). Además de la degeneración de la sustancia nigra otros núcleos son afectados por la fisiopatología de la Enfermedad de Parkinson incluyendo el segmento interno del

globo pallidum, olfatorio, pedunculo pontino tegmental y algunos núcleos talámicos. (Henderson *et al.*, 2000; Camicioli *et al.*, 2003.).

2.5 Fisiopatología

La fisiopatología de la Enfermedad de Parkinson no se había entendido hasta principios del siglo XX, cuando el patólogo alemán Frederick Lewy en 1912 informó la inclusión de cuerpos citoplasmáticos en regiones neuronales del cerebro.

En 1919 Tretiakoff observó que la anomalía más crítica en la Enfermedad de Parkinson fue la pérdida de neuronas en la sustancia nigra del mesencéfalo.

En 1950 los avances en investigación descubrieron la importancia de la dopamina y su agotamiento en los ganglios basales como clave para la comprensión de la fisiopatología y la bioquímica patológica de la Enfermedad de Parkinson (Hornykiewicz 2006).

Las causas de la Enfermedad de Parkinson son multifactoriales, pero notables avances en el descubrimiento sobre la anatomía y función de los ganglios basales ha hecho una mejor caracterización de alteraciones neuropatológicas y neuroquímicas de esta enfermedad. A continuación, mencionare brevemente algunos procesos fisiopatológicos que caracterizan esta enfermedad.

2.5.1 Cuerpos de Lewy

La mayoría de los investigadores creen que los cuerpos de Lewy, llamado así por Frederick Lewy, constituyen la característica patológica de la enfermedad de Parkinson. se observan en la sustancia nigra, corteza cerebral (Wakabayashi *et al.*, 2007).

Los cuerpos de Lewy son inclusiones neuronales intracitoplasmáticas de 3 a 25 nm de diámetro con un núcleo denso granular (1-8 nm) y los elementos fibrilares libremente dispuestas que se extienden hacia un “halo” periféricamente. Estudios inmunohistoquímicas han demostrado que los cuerpos de Lewy se componen principalmente de alfa-sinucleína, ubiquitina, y también contienen calbindina,

proteínas del complemento, subunidades de microfilamentos, tubulina, asociada a microtúbulos de proteínas 1 y 2, y una proteína sustrato parkin llamado Pael-R.

Los cuerpos de Lewy no son específicos para la Enfermedad de Parkinson debido a que se encuentran hasta en el 10 por ciento de los cerebros de los adultos mayores normales y en pacientes con otras enfermedades neurodegenerativas, como la neurodegeneración con acumulación de hierro, la ataxia-telangiectasia, parálisis supranuclear progresiva, la degeneración corticobasal, síndrome de Down y la enfermedad de Alzheimer (Popescu A, *et al.*, 2004).

2.5.2 Degeneración neuronal

Aunque los mecanismos precisos de la neurodegeneración en la Enfermedad de Parkinson todavía no se entienden, lo más probable es la implicación de una cascada de eventos que incluye interacción entre factores genéticos y anomalías en el procesamiento de proteínas, estrés oxidativo, disfunción mitocondrial, excitotoxicidad, inflamación y regulación inmunitaria.

Una hipótesis emergente menciona que la neurodegeneración en la Enfermedad de Parkinson es generada por una disrupción en el transporte de vesículas resultado de una desestabilización de microtúbulos, algunos autores mencionan el trabajo fundamental que desempeñan los astrocitos en procesos neurodegenerativos (Feng *et al.*, 2006).

Autores como (Logroscino *et al.*, 2005) sugiere que la Enfermedad de Parkinson se asocia a eventos prenatales que predisponen una anomalía de los genes que codifican factores importantes en el desarrollo del sistema dopaminérgico.

2.5.3 Plegamiento y agregación inadecuada de proteínas

Las mutaciones en el gen 4q21, 3q22 que codifican para alfa-sinucleína se han convertido en uno de los elementos más importantes de la muerte celular en diversas enfermedades neurodegenerativas. Conocidos en conjunto como sinucleinopatías este podría ser un mecanismo fisiopatológico que demuestre una teoría de la Enfermedad de Parkinson (Maries *et al.*, 2003).

El papel de la alfa-sinucleína parece que está involucrado en la función sináptica y en la plasticidad cerebral, las mutaciones de esta proteína generan mal plegamiento de proteínas y posterior formación de agregados proteicos insolubles (cuerpos de Lewy) que dan lugar a la estructura anormal del producto del gen (Calo *et al.*, 2016; Feany 2004).

2.5.4 Disfunción mitocondrial

El papel de la mitocondria en la patogénesis de la Enfermedad de Parkinson fue sugerida por primera vez al descubrir la asociación entre el análogo de la meperidina 1-metil-4fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina (MPTP) y el parkinsonismo (Bové *et al.*, 2005; Przedborski *et al.*, 2004).

La oxidación del MPTP produce 1-metil-4fenilpiridinium este es tomado por las terminales dopaminérgicas inhibiendo selectivamente la actividad del complejo I mitocondrial, perturbando la regulación de calcio e induciendo estrés en el retículo endoplasmático lo que genera daño a nivel celular (Przedborski *et al.*, 2004; Selvaraj *et al.*, 2012).

La evidencia de la disfunción mitocondrial se apoya por el hallazgo de que la actividad del complejo I se reduce en un 38 por ciento en la sustancia nigra de los pacientes con enfermedad de Parkinson (Schapira *et al.*, 1989; Greenamyre y Hastings 2004).

Estos diferentes procesos causan la muerte celular. En consecuencia la disfunción mitocondrial y el metabolismo de la dopamina son responsables para el estrés oxidativo en la sustancia nigra de los pacientes con Enfermedad de Parkinson (Fukae *et al.*, 2007; Perier *et al.*, 2005).

2.5.5 Estrés oxidativo

Diferentes tipos de daño oxidativo están presentes en la sustancia nigra de pacientes con Enfermedad de Parkinson: incremento de hierro, oxidación de proteínas, peroxidación lipídica y alteraciones del material genético.

La hipótesis del estrés oxidativo postula la producción inapropiada de especies reactivas de oxígeno que conducen a la neurodegeneración, se conoce que la dopamina no solamente se metaboliza por oxidación enzimática sino también por auto-oxidación para formar neuromelanina (pigmento de la sustancia nigra) propiciando especies reactivas de oxígeno (Greenamyre y Hastings 2004; Ahlskog 2005).

La neuromelanina parece tener una doble función puede ser un neuroprotector evitando la acumulación tóxica de metabolitos del grupo catecol y de metales reactivos, pesticidas u otros oxidantes, las neuronas que mueren pueden liberar neuromelanina y conducir a la inflamación crónica (Hirsch *et al.*, 2005).

Estas rutas metabólicas generan subproductos como el peróxido de hidrógeno, aniones superóxido y radicales hidroxilos. Los radicales libres interactúan con los lípidos de las membranas proceso conocido como peroxidación lipídica. Productos de estas reacciones generan especies tóxicas que se han encontrado en la sustancia nigra del cerebro de pacientes con enfermedad de Parkinson.

Por tanto, los productos oxidantes pueden causar neurotoxicidad y desempeñar un papel importante en el desarrollo de la enfermedad de Parkinson, siendo posible que el incremento del estrés oxidativo también contribuya al mal plegamiento de proteínas.

3.0 Cobre en el humano

El cobre es el tercer elemento más abundante en el cuerpo después del hierro y el zinc. Su contenido normal es 1.4-2.1ppm (partes por millón) y está distribuido principalmente en musculo, hueso, hígado y sangre (O Dell,1976) se absorbe en el intestino delgado y parte proximal del estómago, el ambiente ácido del estómago facilita su absorción, por un transporte activo saturable y por difusión pasiva a altas concentraciones. Posteriormente el cobre absorbido se une a la albumina plasmática y es llevado al hígado. (Mason,1979; Turnlund 2006). En el hígado el cobre se incorpora a la ceruloplasmina para iniciar su biodistribución en los tejidos periféricos, aproximadamente el 50 por ciento del cobre se excreta en la bilis mientras que la mitad restante se excreta por otras secreciones gastrointestinales. (Wapnir, 1998). Se considera un metal que juega un rol fundamental en el transporte o transferencia de electrones en varios procesos bioquímicos Figura 1. Algunas proteínas han sido identificadas como responsables en la distribución y captación de cobre hacia el interior celular incluyendo a los transportadores de cobre (CTR1 alta afinidad) CTR2 (baja afinidad) las Cu-ATPasas (ATP7A-ATP7B) y las proteínas chaperonas de cobre Atox1, Cox17, SCO1, SCO2 (Gupta y Lutsenko 2009). En la tabla 1 se muestran las principales proteínas y su función en el consumo de cobre

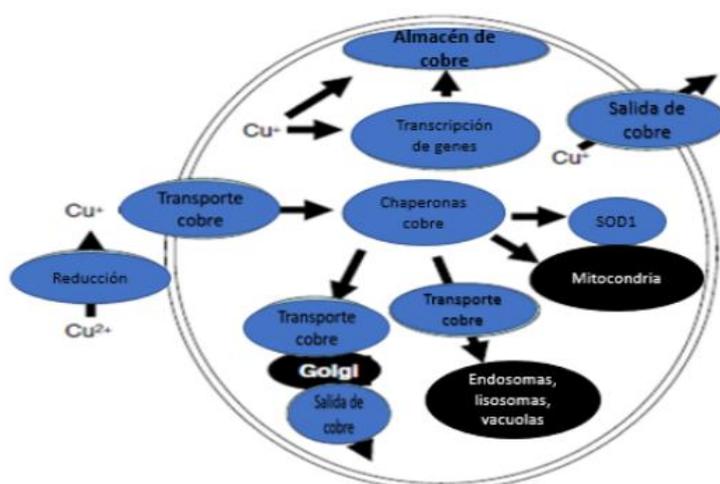


Figura 1 esquema que representa la homeostasis del cobre en células eucarióticas tomado de (Macreadie 2008)

Tabla (1) principales proteínas implicadas en la fisiología del cobre. Imagen tomada de (Macreadie 2008)

| FUNCION | PROTEINA EN HUMANO |
|-----------------------------|---------------------------|
| Reducción de Cobre | Steap1-4 |
| Transporte de hierro | Ceruloplasmina |
| Captación de cobre | CTR1, CTR2 |
| Chaperonas de cobre | Atox1, Cox11, Sco1 |
| Transporte interno de cobre | Atp7A, Atp7B |
| Almacén de cobre | Metalotioneína |

3.1 Consumo de Cobre en cerebro

El cobre del cerebro proviene del cobre periférico que se transporta a través de los vasos sanguíneos hasta llegar a la barrera hematoencefálica y / o la barrera sangre líquido cefalorraquídeo, barreras implicadas en los espacios del cerebro (Zheng y Monnot, 2012).

En ambas barreras el cobre se transporta principalmente como ion libre, aunque la captación de cobre en los capilares cerebrales es mucho más lenta que en el plexo coroideo, el cobre adquirido por los capilares cerebrales parece transportarse más fácilmente al parénquima cerebral que el cobre del plexo coroideo al líquido cefalorraquídeo (Choi y Zheng, 2009). De hecho, la evidencia indica que el papel de la barrera hematoencefálica en la homeostasis del cobre cerebral es más para sacar cobre del líquido cefalorraquídeo a la sangre, que ingresar cobre (Monnot *et al.*, 2011). El cobre en el líquido cefalorraquídeo puede ser absorbido por células epiteliales coroides, desde donde puede ser almacenado o exportado a la sangre. Así, mientras que la barrera hematoencefálica determina la afluencia de cobre al cerebro, la barrera sangre líquido cefalorraquídeo contribuye al mantenimiento de la homeostasis del cobre en los fluidos extracelulares cerebrales, ver figura 2 (Telianides *et al.*, 2013).

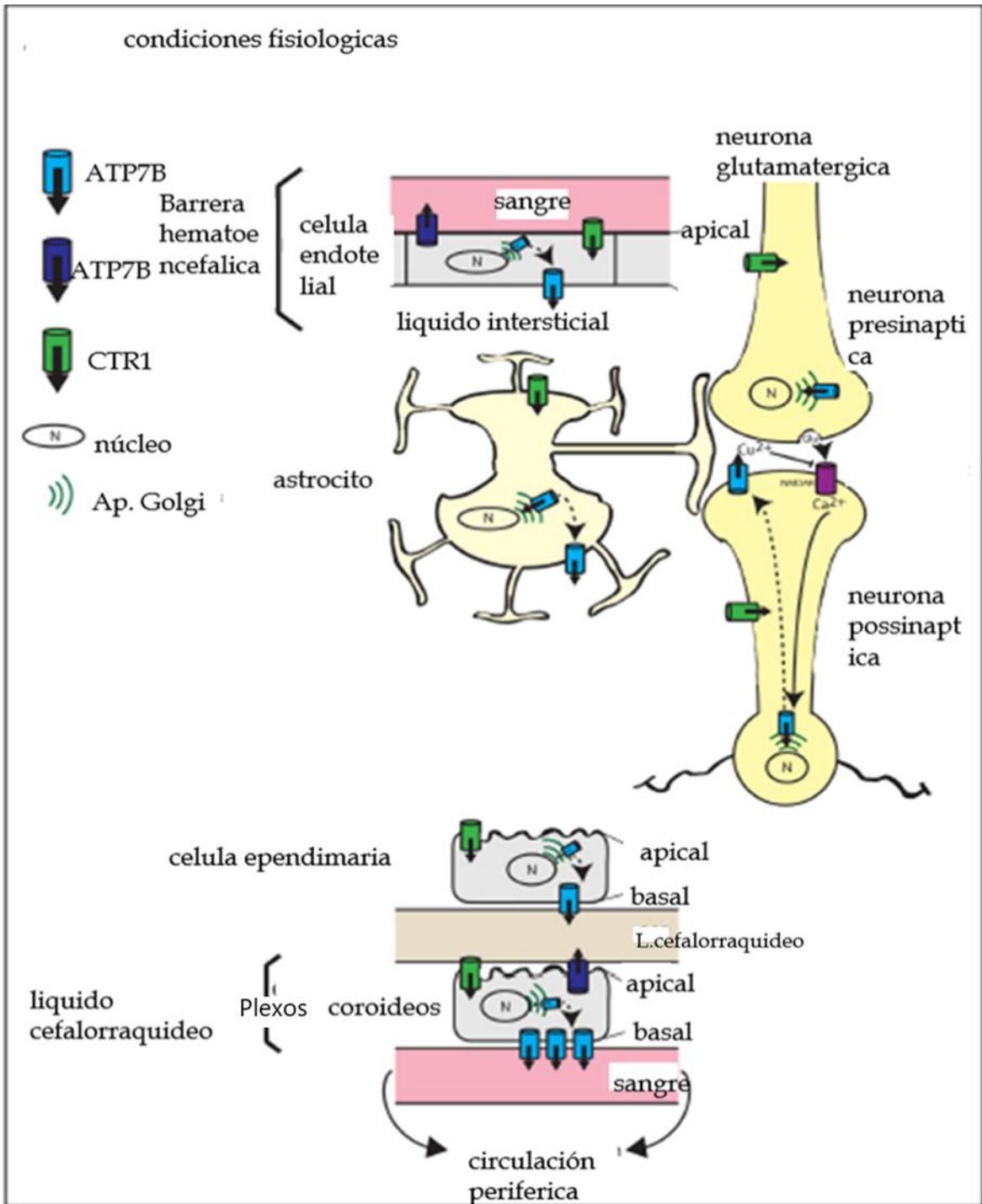


Figura 2. Mecanismos implicados en el transporte de Cobre en cerebro. Tomada de (Telianides *et al.*, 2013)

3.2 Distribución de cobre en cerebro

El contenido de cobre estimado en el cerebro humano oscila entre 3.1 y 5.1 $\mu\text{g} / \text{g}$ de peso húmedo (Davies *et al.*, 2013, 2014), el líquido cefalorraquídeo contiene cobre en una concentración de 0,3-0,5 μM . Sin embargo, la concentración extracelular de cobre en el tejido cerebral puede ser mayor de hasta 250 μM (Forte *et al.*, 2004, Nischwitz *et al.*, 2008).

En general el contenido de cobre es mayor en la materia gris 1,6-6,5 $\mu\text{g} / \text{g}$ de peso húmedo, que en la sustancia blanca 0,9-2,5 $\mu\text{g} / \text{g}$ de peso húmedo (Becker *et al.*, 2005). Las cuantificaciones de cobre en secciones de cerebro humano han demostrado que el cobre se encuentra en la sustancia nigra, tejido pigmentado que contiene células dopaminérgicas.

En comparación con otras regiones de la materia gris, el tálamo contiene niveles de cobre más bajos e Investigaciones con técnicas histoquímicas mostraron que el contenido de cobre en el cerebro es mayor en las células gliales que en neuronas, tanto en condiciones normales como patológicas (Becker y Salber, 2010, Popescu *et al.*, 2009). Se tiene que entender que el contenido de cobre en el cerebro como su distribución, cambian durante el desarrollo, la edad y en enfermedades neurodegenerativas (Wang *et al.*, 2010).

3.3 Captación celular de cobre

Se sabe que el transportador CTR1 humano está compuesta por 190 aminoácidos, tiene una masa molecular de 23 kDa y comparte más del 90% de identidad de secuencia con los homólogos Ctr1 de ratón y rata (Lee *et al.*, 2000). Los receptores CTR1 de mamíferos tienen una arquitectura global que consiste en un extremo N extracelular, un bucle intracelular que conecta el primer y segundo dominio transmembrana, tres hélices alfa que atraviesan la membrana y un extremo C intracelular (Eisses y Kaplan, 2002).

Debido a que tres alfa-hélices son insuficientes para formar un poro de translocación, los CTR1 tiene que oligomerizarse para proporcionar un poro que permita que el cobre pase a través de la membrana plasmática. De hecho, estudios bioquímicos, genéticos y de microscopía electrónica han demostrado que los CTR1 forman homotrímeros y que la oligomerización es esencial para la funcionalidad (Aller *et al.*, 2006, De Feo *et al.*, 2007).

En las células del cerebro al igual que las células periféricas, el transporte de cobre está regulado por los transportadores CTR1 siendo probablemente la vía principal para la entrada de cobre en el cerebro. Los CTR1 median la captación de cobre con un valor K_M aparente de 1 - 8 μM (Eisses y Kaplan, 2002, 2005).

En el cerebro humano los CTR1 se distribuyen de manera no homogénea, siendo su expresión más abundante en el plexo coroideo y en las células endoteliales de los capilares, se conoce que la expresión de CTR1 en células endoteliales de capilares cerebrales y células epiteliales de plexos coroides, está implicada en el transporte de cobre desde la periferia hacia el cerebro (Zheng y Monnot, 2012), también en la corteza visual, córtex cingulado anterior, caudado y el putamen mientras que en el cerebelo la expresión de CTR1 esta restringida (Davies *et al.*, 2013).

Se ha identificado en humanos un segundo miembro de la familia CTR, (CTR2) que también media la captación de cobre. Sin embargo, transportan cobre con menor afinidad en comparación con CTR1, siendo su localización predominantemente en compartimentos intracelulares (Bertinato *et al.*, 2008, Zhou y Gitschier, 1997).

También se conoce que el transportador de metal divalente (DMT1), se expresa en células cerebrales y está implicado en la captación de cobre apical por células intestinales (Pelizzoni *et al.*, 2012).

4.0 Enfermedad de Parkinson y Cobre

Estudios recientes sugieren una fuerte evidencia de anomalías en la homeostasis del cobre con la Enfermedad de Parkinson, se ha demostrado que el cobre se une a la alfa sinucleína soluble y se liga a la membrana celular funcionando como una forma neurotóxica de alfa sinucleína (Brown, 2010).

La evidencia argumenta que un déficit regional de cobre, contribuye a la patogénesis de la Enfermedad de Parkinson. Por tanto, mientras el contenido total de cobre en el cerebro de pacientes con Enfermedad de Parkinson es similar al de los controles sanos, los niveles de cobre en la sustancia nigra de pacientes con Enfermedad de Parkinson son sustancialmente más bajos (Davies *et al.*, 2014).

Se han establecido vínculos entre el metabolismo del cobre y las enfermedades neurológicas, pero se sabe que el cobre es un metal esencial, para el desarrollo del cerebro, necesario para la respiración celular y síntesis de neurotransmisores (Tainer *et al.*, 1983; Prohaska 1990; Schlieff y Gitlin 2006). La deficiencia de cobre se ha asociado a enfermedades neurológicas como enfermedad de Menkes, déficits cognitivos y alteraciones motoras (Penland y Prohaska 2004). La oligomerización de α -sinucleína implicada en la patogenia de la Enfermedad de Parkinson (Paik *et al.*, 1999). Como el inapropiado metabolismo de monoaminas y un daño en la regulación de receptores gabaérgicos (Jomova y Valko 2011; Pfeiffer y Mailloux 1978).

Actualmente estudios han demostrado la disminución de cobre en pacientes con Enfermedad de Parkinson uno de estos comparo el metabolismo de cobre en diez pacientes con enfermedad de Parkinson y diez controles sanos con la ayuda de un radioisotopo de cobre, utilizando espectrometría de masas cuantificaron los niveles de $^{65}\text{Cu}/^{63}\text{Cu}$, los resultados indicaron que el metabolismo de cobre en pacientes con Enfermedad de Parkinson se encuentra alterado (Larner *et al.*, 2013).

El cobre no solo participa como cofactor de la enzima superóxido dismutasa o de algunos citocromos también contribuye en el transporte electrónico dentro de la

cadena respiratoria en los complejos I, III, IV en el interior de la membrana mitocondrial (Schapira *et al.*, 1989; Greenamyre y Hastings 2004). También participa en la síntesis de neurotransmisores como cofactor de la β -hidroxilasa enzima limitante en la síntesis de dopamina o en la inducción de la expresión de proteínas reguladoras de cobre (Alcaraz-Zubeldia *et al.*, 2001).

Davies y colaboradores utilizaron microscopía de fluorescencia de rayos X para demostrar que hay una reducción significativa en el contenido de cobre en cerebros de pacientes con Enfermedad de Parkinson, además encontraron una disminución significativa en la cantidad del transportador de cobre CTR1 en las neuronas de estas regiones, lo que sugiere un compromiso de la homeostasis del cobre en las regiones cerebrales vulnerables a la enfermedad de Parkinson (Davies *et al.*, 2014).

Además, se ha reportado que la expresión de CTR1 se encuentra en citoplasma de células de la corteza visual, corteza anterior del cíngulo, caudado, putamen, sustancia nigra (Becker *et al.*, 2005). Incluso son quienes regulan la pigmentación en esta región anatómica. En consecuencia, la reducción de los CTR1 es importante porque el tejido neural es sensible a la pérdida funcional de estos receptores, en consecuencia, existe una regulación a la baja y un menor consumo de cobre en pacientes con enfermedad de Parkinson (Zheng y Monnot, 2012). Se considera que algunos estos mecanismos pueden ser normalizados con una suplementación de cobre (Montes *et al.*, 2014).

Un reciente estudio demostró el efecto neuro protector que genera el cobre. Se utilizaron 2 grupos de ratas en las que se indujo Parkinson por medio de MPP+ un grupo fue suplementado con (CuSO_4) y el otro no, se demostró que en el grupo suplementado no disminuye la actividad de los complejos I,II,IV,V de la cadena transportadora de electrones, además de que la actividad de la enzima super oxido dismutasa no modifico su actividad. (Rubio *et al.*,2017)

Algunos autores sugieren que el tratamiento de la Enfermedad de Parkinson se proyecta en el uso de antioxidantes o moléculas capaces de reducir el estrés oxidativo, algunos estudios han utilizado: melatonina, ácido alfa lipoico y beta carotenos, sin embargo, no han sido eficaces para reducir los efectos de la enfermedad (Chiurciu *et al.*, 2016).

Por esto es necesario desarrollar nuevos manejos o soluciones terapéuticas para la Enfermedad de Parkinson. Por qué la incidencia de esta enfermedad es mayor a nivel mundial al aumentar la esperanza de vida

5.0 PET Cerebral con ⁶⁴Cobre

La imagen molecular es un área de investigación en rápido desarrollo que permite de manera no invasiva visualizar procesos moleculares o celulares *in vivo* a partir de registrar la distribución espacio-temporal de radiofármacos específicos.

A nivel mundial, la Tomografía por Emisión de Positrones (PET por sus siglas en inglés) ha demostrado una relevante utilidad en la detección y el seguimiento de un gran número de patologías oncológicas, neurológicas y cardiológicas, utilizando para ello herramientas desarrolladas por la biología molecular, utilizando métodos *in vivo* no invasivos.

En las técnicas de imagenología molecular, se utilizan radiofármacos específicos contra blancos biológicos, con el fin de obtener una imagen que permita estudiar procesos celulares y/o moleculares en su medio natural intacto o en el característico de un proceso patológico (Mari, 2006). Estos vectores moleculares utilizan como componente de detección un radionuclido, cuyas emisiones pueden ser fotones de la aniquilación positrón/electrón, los cuales se detectan mediante PET.

Los radiofármacos usados en PET constan de una molécula específica, que determina la ruta metabólica, unida a un átomo radioactivo emisor de positrones que permite la detección externa de la biodistribución del radiofármaco dentro del organismo.

La selección del radionúclido apropiado para aplicaciones radio farmacéuticas es de especial importancia debido a diferentes factores. La vida media de los radionúclidos debe permitir suficiente captación y decaimiento para proporcionar imágenes de buena calidad con un buen contraste. Los radionúclidos más comúnmente utilizados en aplicaciones PET son ^{11}C ($T_{1/2}=20$ min), ^{13}N (10 min) y ^{18}F (110 min) ya que pertenecen a elementos biológicos nativos que permiten el radiomarcado de una gran variedad de moléculas de interés biológico.

Sin embargo, en los últimos años los llamados radionúclidos no-convencionales han captado la atención de la comunidad científica, particularmente aquéllos pertenecientes a los metales de transición. Éstos incluyen ^{45}Ti , $^{60/61/62/64}\text{Cu}$, ^{68}Ga , ^{86}Y , ^{89}Zr y $^{94\text{m}}\text{Tc}$, todos emisores de positrones con aplicaciones en PET y algunos de ellos con buenas características para radioterapia (Avila-Rodriguez *et al.*, 2008). Una de las ventajas que ofrecen estos radionúclidos no convencionales es que con ellos se pueden marcar moléculas que por sus características farmacocinéticas pueden requerir de varias horas o días para alcanzar la captación óptima en sus respectivos receptores, razón por la cual los radionúclidos convencionales para PET de vida media corta (10-110 minutos) no son óptimos en estas aplicaciones.

Debido a la gran variedad de isótopos de cobre con diferentes vidas medias, energía y tipos de emisión, así como a la bien conocida química de coordinación de este elemento que reacciona con una gran variedad de agentes quelantes bifuncionales con capacidad para conjugar diferentes moléculas de interés biológico como péptidos, proteínas y anticuerpos, los radioisótopos de cobre son en los que se ha puesto más atención y esfuerzo, ver Tabla 2.

Tabla 2. Propiedades físicas de decaimiento de los diferentes radionúclidos de cobre (Lederer y Shirley, 1978)

| Radionúclido | $t_{1/2}$ | Fuente |
|---------------------|-----------------------------|---------------------|
| ^{60}Cu | 23.4 min | Ciclotrón |
| ^{61}Cu | 3.4 h | Ciclotrón |
| ^{62}Cu | 9.7 min | Ciclotrón/generador |
| ^{64}Cu | 12.7 h | Ciclotrón |
| ^{66}Cu | 5.1 min | Ciclotrón/reactor |
| ^{67}Cu | 62 h | Ciclotrón/reactor |

6.0 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La Enfermedad de Parkinson es considerada una patología neurodegenerativa y progresiva cuya prevalencia aumenta conforme envejece la población, actualmente representa un reto epidemiológico de salud en años futuros.

Estudios han demostrado que alteraciones en la homeostasis del cobre, puede desencadenar alteraciones a nivel de sistema nervioso central, incluyendo la Enfermedad de Parkinson.

En la actualidad, el tratamiento farmacológico de la Enfermedad de Parkinson es sintomático y no está dirigido en detener la progresión de la enfermedad por lo que va perdiendo su efecto terapéutico generando un deterioro en la calidad de vida del paciente.

Enzimas limitantes en la síntesis de dopamina como la tirosina hidroxilasa requieren como cofactor el cobre, se ha descrito que este podría estar disminuido en ganglios basales de pacientes con Enfermedad de Parkinson.

Uno de los principales mecanismos fisiopatológicos de la Enfermedad de Parkinson es la acumulación de hierro en estructuras cerebrales lo que lleva a una disfunción celular y en consecuencia su muerte. El cobre está involucrado en diversas vías que mejoran el transporte de hierro, así como en mecanismos que favorecen diversos procesos bioquímicos neuro protectores.

Con base en esta información, el presente estudio tiene como objetivo evaluar la biodistribución del ⁶⁴Cobre emisor de positrones en los ganglios basales de pacientes con Enfermedad de Parkinson y compararlos con sujetos sanos. Esto aportaría una primera evidencia para entender la participación del cobre en la terapia farmacológica de la Enfermedad de Parkinson.

7.0 HIPÓTESIS

Si los pacientes con Enfermedad de Parkinson tienen menor cantidad de cobre en los ganglios basales entonces se observará menor captación por ⁶⁴Cobre cuantificada por tomografía de emisión de positrones acoplada a tomografía computada (PET/CT) al ser comparado con sujetos sanos.

8.0 OBJETIVO GENERAL

Comparar la biodistribución de ⁶⁴Cobre evaluada por tomografía de emisión de positrones acoplada a tomografía computada (PET/CT) en ganglios basales de pacientes con Enfermedad de Parkinson y compararla con la observada en sujetos sanos.

9.0 OBJETIVOS PARTICULARES

1. Seleccionar pacientes y controles utilizando la evaluación de UPDRS (Escala unificada para la Enfermedad de Parkinson).
 2. Evaluar la captación de ⁶⁴Cobre evaluada por tomografía de emisión de positrones acoplada a tomografía computada (PET/CT) (bulbo olfatorio, caudado, putamen, pallidum) relacionadas con la Enfermedad de Parkinson.
 3. Realizar la normalización de las imágenes utilizando el software SPM12 Y PMOD
- 7.1.

4. Establecer las diferencias en la capacidad de captación de $^{64}\text{Cobre}$ evaluada por tomografía de emisión de positrones acoplada a tomografía computada (PET/CT) en ganglios basales de pacientes con enfermedad de Parkinson vs sujetos sanos.

10.0 METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

Todos los estudios se realizaron de acuerdo a las especificaciones técnicas de la producción y cuidados de la NOM (008-013-026-031 NUCL) cuyo objetivo es garantizar las condiciones de seguridad y salud en los centros de trabajo donde se manejen fuentes de radiación ionizante. El estudio con los sujetos fue revisado y autorizado por el comité de Ética de la división de Investigación del Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía Manuel Velasco Suarez. El estudio de PET/CT se realizó en el Instituto Nacional de Cancerología Ciudad de México.

10.1 Captación de pacientes para la administración de $^{64}\text{Cobre}$

Se realizó un estudio prospectivo de pacientes con Enfermedad de Parkinson idiopática comparado con controles provenientes de la consulta externa del Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía “Manuel Velasco Suárez”.

Población y muestra

- Se seleccionaron 5 pacientes con la Enfermedad de Parkinson y 6 voluntarios sanos.
- Se utilizó la escala UPDRS (escala unificada de calificación de la Enfermedad de Parkinson por sus siglas en inglés) para el diagnóstico y como criterio de inclusión de pacientes.

- Durante la consulta a ambos grupos se les invito verbalmente a participar explicando el tipo y objetivos del proyecto y se les proporciono un Consentimiento Informado por escrito con la descripción detallada del proyecto, así como de su participación, estudios a realizar y métodos para la vigilancia de posibles efectos adversos durante el tiempo de estudio.

10.2 Criterios de inclusión

- Pacientes que cumplan con los criterios clínicos para una probable Enfermedad de Parkinson provenientes de la consulta externa del Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía “Manuel Velasco Suárez”.
- Diagnostico de Enfermedad de Parkinson como mínimo de 5 años.
- Edad de 30 años o mayor.
- Pacientes que decidan aceptar y firmar el consentimiento informado del estudio.

Criterios de exclusión:

- Edad menor a 30 años.
- Declinación del consentimiento informado.
- Parkinsonismo debido a medicamentos incluyendo neurolépticos, alfa-metildopa, reserpina, metoclopramida o ácido valproico.
- Uso de antioxidantes o inhibidores del al MAO-B (como selegilina o rasagilina), suplementos de vitaminas o minerales.
- Otros desordenes parkinsonianos.
- Pacientes con deterioro cognitivo.
- Pacientes con depresión.
- Historia de enfermedad vascular cerebral.
- Cambios en la medicación dopaminérgica en los últimos 60 días antes de la visita inicial o basal.

- Otras enfermedades graves, incluyendo enfermedades psiquiátricas o hepatopatías crónicas o agudas.
- Pacientes con una enfermedad cardiovascular, vascular periférica o cerebrovascular activa.
- Anormalidades clínicas severas en los estudios de laboratorio o electrocardiograma.
- Uso de metilfenidato, cinarizina, reserpina, anfetaminas o inhibidores de la MAO-A dentro de los 6 meses anteriores.
- Dosis inestables de terapias para el Sistema Nervioso Central o Periférico. (p.ej. antidepresivos, antiepilépticos, inmunomoduladores e inmunosupresores).
- Uso de supresores de apetito dentro de los 60 días anteriores.
- Historia de epilepsia activa dentro de los últimos 5 años.
- Participación en otros estudios de medicamentos u drogas en investigación.
- Historia de terapia electroconvulsiva.
- Historia de cirugía cerebral para Enfermedad de Parkinson.
- Historia de enfermedad estructural cerebral como un trauma previo que causara daño detectado por un tomografía computada o Imagen de Resonancia Magnética, hidrocefalia o neoplasia cerebral previa.

Consideraciones éticas

El protocolo se realizará de acuerdo a los principios básicos científicos aceptados en las declaraciones sobre investigación biomédica en seres humanos de Helsinki II en 1975, Venecia en 1983, Hong Kong en 1989, Sudáfrica en 1996, Edimburgo en 2000 subsecuentes revisiones hasta Fortaleza en 2013. Se someterá al Comité de Investigación como el Comité de Bioética. Se aplicará a cada paciente invitado a participar el proceso de obtención del consentimiento informado

10.3 Síntesis de ⁶⁴Cobre:

La producción de ⁶⁴Cobre se realizó vía reacciones nucleares $^{64}\text{Ni}(p,n)^{64}\text{Cobre}$ (Avila-Rodriguez *et al.*, 2007). Los blancos de níquel isotópicamente enriquecidos fueron electrodepositados en discos de oro de alta pureza y fueron irradiados con un haz de protones de 11 MeV en el ciclotrón de la Facultad de Medicina de la UNAM. Las actividades de saturación al final del bombardeo de estas reacciones nucleares son de 76 y 170 mCi/mA para la producción de ⁶⁴Cobre, respectivamente (Nickles, 2003).

Al final del bombardeo los materiales blancos fueron tratados con ácido clorhídrico concentrado y la separación radioquímica de los productos de activación y el material blanco se realizó utilizando un método de cromatografía de intercambio iónico en resina catiónica AG1-X8.

De esta forma los radioisótopos de cobre se obtendrán en la forma química de [⁶⁴Cu]CuCl₂. Para convertir el CuCl₂ a sulfato de cobre éste se tratará con una solución 0.1N de sulfato de amonio [(NH₄)₂SO₄]. La pureza radionuclídica del ⁶⁴Cobre se determinará por espectrometría gamma utilizando un detector de germanio hiperpuro en el Instituto de Física de la UNAM. Mientras que la actividad específica será determinada mediante un método de titulación usando cantidades conocidas del agente quelante bifuncional TETA y radiocromatografía de capa fina para cuantificar el porcentaje de formación de complejo ⁶⁴Cu-TETA.

10.4 Biodistribución de ⁶⁴Cobre en ganglios basales de sujetos sanos vs pacientes con Enfermedad de Parkinson.

Actualmente el desarrollo de nuevos radiofármacos en medicina nuclear, tanto para diagnóstico como terapia implica un estudio detallado sobre su biodistribución. Se realizaron estudios PET-CT a 6 voluntarios asintomáticos y 5 pacientes con Enfermedad de Parkinson recibiendo una inyección intravenosa de ⁶⁴CuCl₂ y se adquirieron imágenes PET-CT de cabeza.

Características de los sujetos implicados en el estudio ⁶⁴Cobre

Seis voluntarios sanos (3 hombres y 3 mujeres) de peso promedio 78.03 ± 12.9 kg, edad 54 ± 9 años y 5 pacientes con enfermedad de Parkinson (3 hombres y 2 mujeres) de peso 68.6 ± 18.1 kg y edad 53 ± 11 años fueron reclutados en el Instituto Nacional de Neurología para la presente investigación. Previamente firmaron un consentimiento informado.

Preparación del paciente

Los sujetos control como los pacientes tuvieron que realizar un ayuno previo a la administración del radiofármaco de 8 horas, no consumir suplementos de hierro, evitar el consumo de carne res, pollo, pescado, frijoles, lentejas, pan blanco y leche. En ningún momento se suspende el tratamiento de enfermedad de base.

Durante su estancia en la unidad de Cancerología se les hizo pasar a una habitación iluminada con mínimo ambiente de ruido y un asiento reclinable.

Se registran sus datos personales y se les coloca un catéter en la vena antecubital del brazo derecho se verifica que la vía sea permeable asiendo pasar solución fisiológica al 0.9 por ciento.

Se administró, vía intravenosa en antebrazo una actividad de 310 ± 50 MBq (4 MBq/kg) del radiofármaco [⁶⁴Cu] CuCl₂ en solución salina.

Posterior a la administración del radiofármaco, se indicó dieta normal tratando de evitar los alimentos previamente mencionados. También se informó si presentaban dolor de cabeza, dolor abdominal, diarrea, nausea o vomito reportar inmediatamente.

10.5 Estudio PET/CT

Las imágenes fueron realizadas en una cámara PET/CT mCT 20 (Siemens Medical Solutions, USA) en el Instituto Nacional de Cancerología.

Tabla 3. Características principales del equipo PET/CT

| | |
|---------------------------------|-------------------------|
| EQUIPO | Siemens Biograph mCT20 |
| Diámetro del anillo detector cm | 70 |
| Numero de anillos | 39 |
| Numero de detectores por anillo | 624 |
| Cristales por bloqueo | 169 |
| Tamaño del cristal mm | 1.0x4.0x20 |
| Material del cristal | Ortosilicato de Lutecio |
| Campo de visión axial mm | 162 |

EQUIPO PET-CT

Todos los estudios PET-CT fueron realizados en el equipo de la unidad PET-CT del Instituto Nacional de Cancerología ciudad de México que es un equipo Siemens Biograph mCT20 figura 3.0.



Figura 3 Equipo PET-CT Siemens Biograph mCT20 Instituto Nacional de Cancerología.

Antes de iniciar la administración del radiofármaco, se realiza un topograma para establecer la zona anatómica de exploración.

Después se realiza una tomografía computada (CT) a dosis baja para adquirir la localización anatómica y realizar corrección por atenuación. En seguida se adquiere un PET de cráneo figura 4.

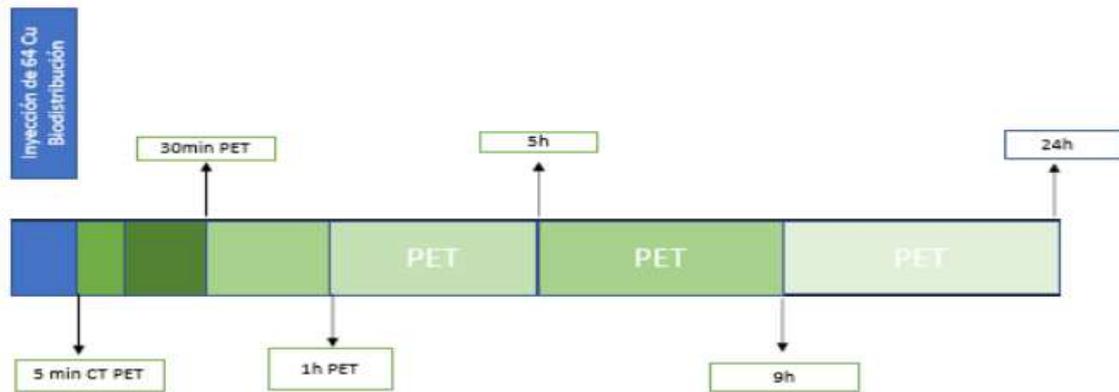


Figura 4 Protocolo de adquisición de estudios PET-CT

Se tomaron imágenes a los 5, 30 y 60 minutos además de 5, 9, 24 horas. Las imágenes fueron adquiridas a distintos tiempos: 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5 y 4 minutos correspondientes a cada tiempo de adquisición.

10.6 Análisis de imágenes

Plataforma de visualización OsiriX

Las imágenes PET-CT se analizaron utilizando el software osiriX MD, un software que corre en el sistema operativo Mac OSX y que está diseñado para visualizar, interpretar y procesar imágenes creadas por equipos médicos como PET-CT. Esta herramienta es muy útil para crear y almacenar ROIs en imágenes y aplicar después a cualquier otra serie de imágenes como en el caso de las PET-CT.

Posteriormente las imágenes PET fueron reconstruidas utilizando el método iterativo 2D (OSEM2D) y corregidas tiempo en cama y decaimiento por atenuación con su tomografía computada correspondiente.

Todas las imágenes PET/CT fueron adquiridas en formato de imagen digital y comunicación en medicina (DICOM por sus siglas en inglés) y posteriormente fueron analizadas usando software PMOD (V3.8 SWI).

10.7 Obtención de la biodistribución

Las imágenes fueron normalizadas anatómicamente en un atlas estándar de resonancia magnética (MNI 152), esta se realizó para localizar las regiones de interés (VOIs) que incluyen bulbo olfatorio, putamen, pallidum, caudado. La normalización se llevó a cabo utilizando el software SPM12 y PMOD 7.1. Posteriormente cada imagen fue suavizada 6mm con un filtro Gaussiano en PMOD.

A partir de las VOIs se obtuvo la biodistribución representada por la razón de actividad. Cada estructura se normalizó a la captación de la estructura vermis 10 AAL para poder realizar una comparación inter sujetos.

Graficas de tiempo- PET razón de actividad

En estas se muestra la biodistribución de cada región de interés, para construir estas curvas se obtuvo un cociente de actividad representado por la siguiente fórmula

$$\text{razón de actividad} = \frac{\text{region de interes}}{\text{vermis 10}}$$

el resultado es un coeficiente que determina la variabilidad de la dosificación entre los diferentes sujetos participantes. Los resultados se expresan como captación relativa de concentración de actividad.

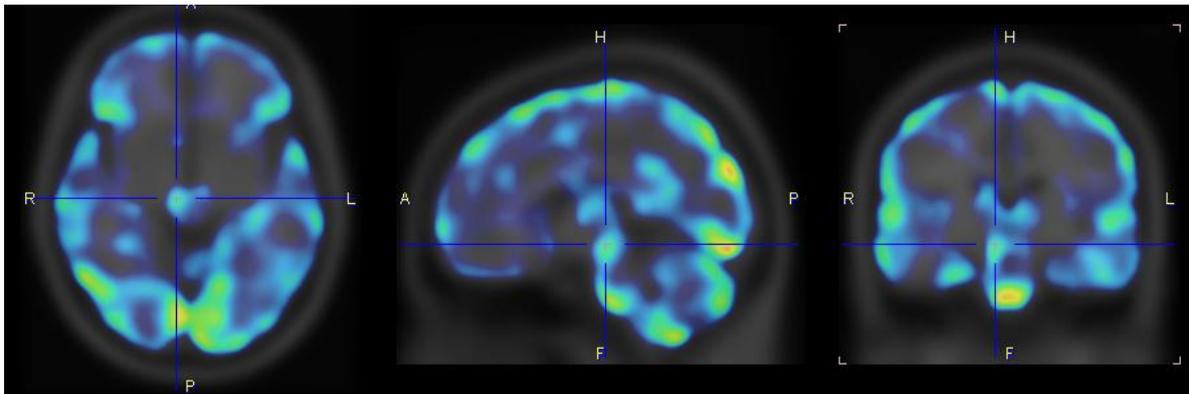
10.8 Análisis Estadístico

A nuestra variable de estudio (Biodistribución) se le realizó un análisis exploratorio para determinar si existía o no una distribución normal, aplicando la prueba de Kolmogorov smirnov y una prueba del Test de Levene para evaluar la homogeneidad de las varianzas. Una vez determinado esto se empleó la prueba paramétrica de t-student para grupos independientes en todos los casos se tomó como diferencia significativa un $P \leq 0.05$ para evaluar la diferencia inter grupo. Los resultados son expresados como el valor promedio \pm Error estándar. Los datos obtenidos fueron analizados en IBM SPSS versión 22.

11.0 RESULTADOS

En la figura 5 se observa la biodistribución de ^{64}Cu en cerebro de pacientes con enfermedad de Parkinson parte superior y controles parte inferior a las 24 horas posterior a la administración del radiofármaco.

[^{64}Cu]-Paciente 24 h



[^{64}Cu]-Sujeto control 24 h

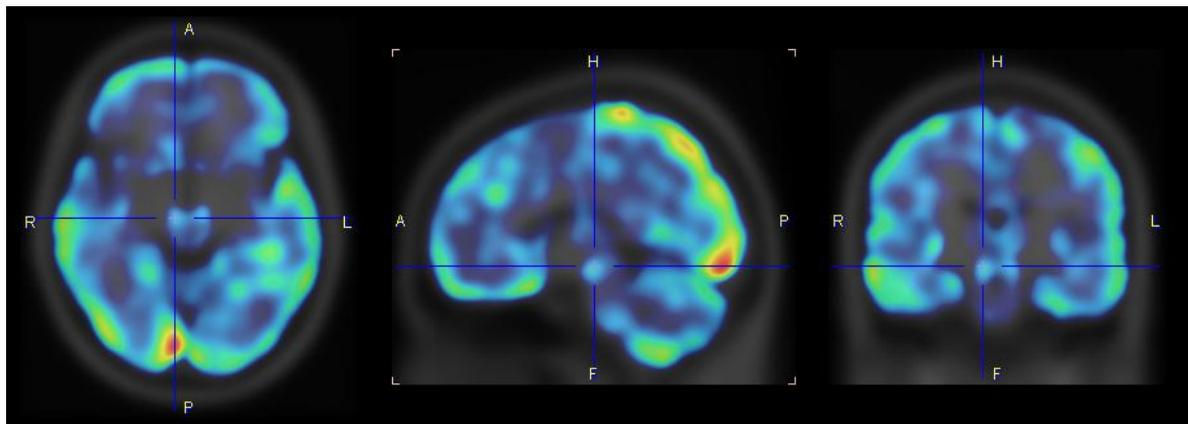


Figura 5. Biodistribución de ^{64}Cu a 24 horas en cerebro. La parte superior muestra un sujeto control y la parte inferior un paciente con enfermedad de Parkinson

En esta imagen se observa una representación de la biodistribución del radionúclido en cerebro de tres diferentes cortes anatómicos (coronal, axial y sagital). Estas imágenes son obtenidas con el software PMOD, este nos permite realizar cortes en las regiones de interés. En esta imagen los colores son representativos de la captación específica del radiofármaco, sin embargo, esto es algo cualitativo por esto es que se requiere acoplarlo a un atlas de Resonancia magnética para determinar la biodistribución (captación específica) de manera cuantitativa. Los colores indican

una mayor captación en orden decreciente rojo, amarillo, verde, azul. Se observa una tendencia de mayor captación del radiofármaco en los controles comparada con los pacientes.

Posteriormente se analizó cada estructura de interés por separado (putamen, pallidum, caudado y olfatorio) en un atlas de resonancia magnética, determinando la razón de actividad (biodistribución) y realizando su grafico correspondiente.

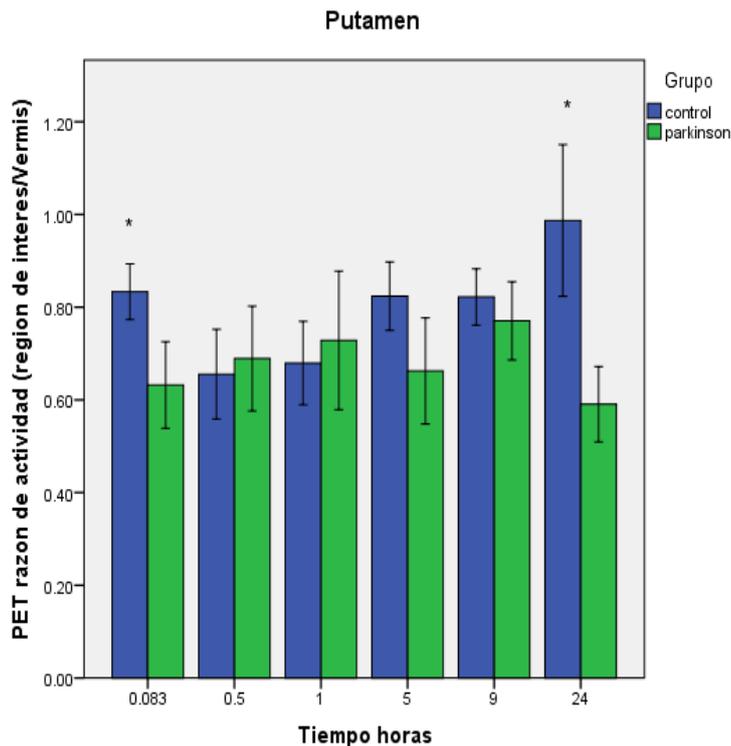


Figura 6. Curso temporal de la Captación relativa (razón de actividad) en el putamen a distintos tiempos (5min,30 min, 1h, 5h, 9h, 24 h) de ^{64}Co . Grupo control (azul) y pacientes Enfermedad de Parkinson (verde). Se muestra la razón de actividad (captación relativa) de la estructura el putamen, de controles vs pacientes con Enfermedad de Parkinson, los resultados están expresados en razón de actividad (región de interes/vermis), representan el valor promedio \pm Error estándar de 6 controles y 5 pacientes por grupo. t-Student *P \leq 0.05.

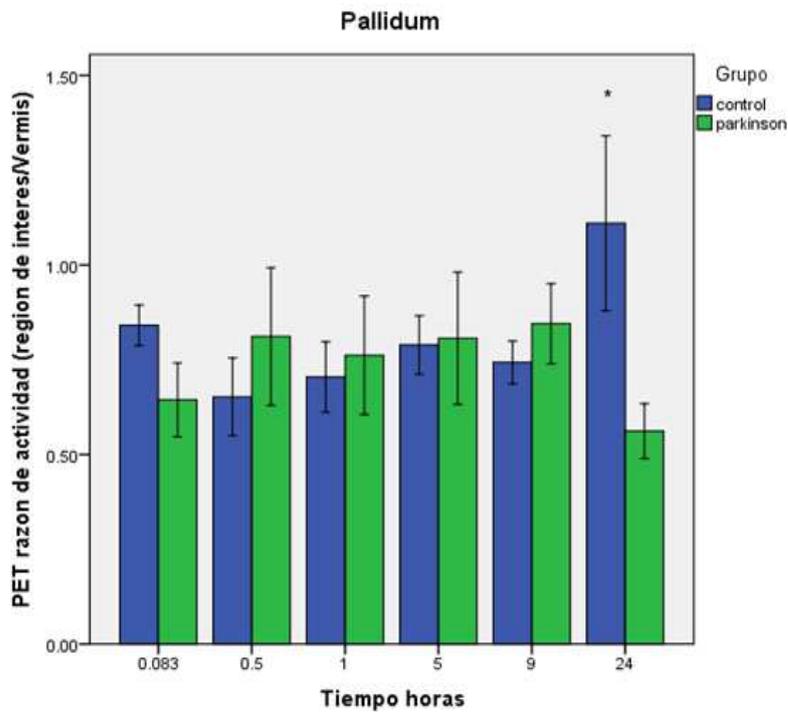


Figura 7 curso temporal de la captación relativa (razón de actividad) en pallidum a distintos tiempos (5min,30 min, 1h, 5h, 9h, 2 h) de $^{64}\text{Cobre}$. Grupo control (azul) y pacientes Enfermedad de Parkinson (verde). Se muestra la captación relativa de la estructura pallidum de controles vs Pacientes con Enfermedad de Parkinson, los resultados están expresados en razón de actividad (región de interes/vermis), representan el valor promedio \pm Error estándar de 6 controles y 5 pacientes por grupo. t-Student *P \leq 0.05.

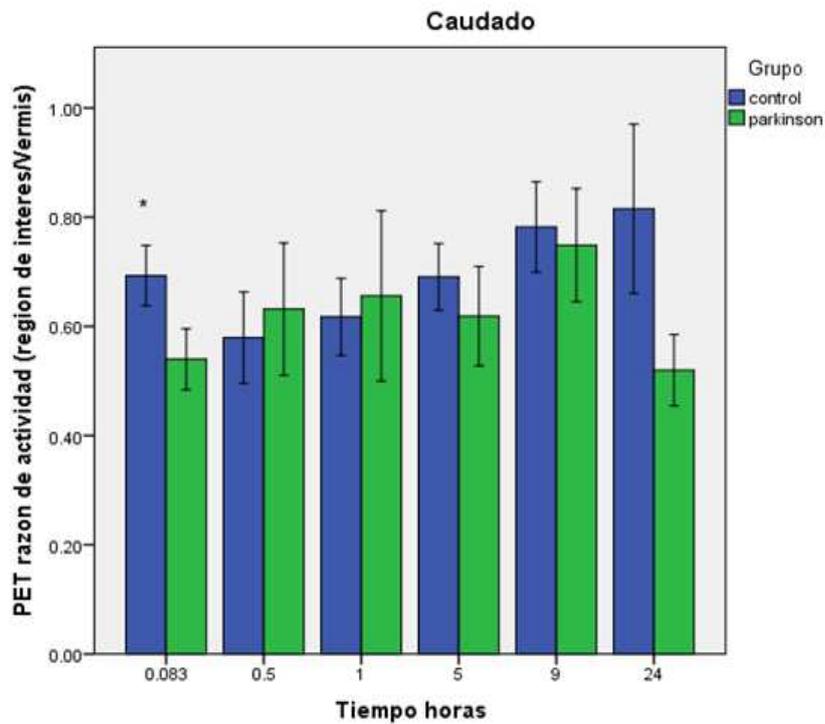


Figura 8 curso temporal de la razón de actividad (captación relativa) en caudado a distintos tiempos (5min,30 min, 1h, 5h, 9h, 24 h) de ^{64}Cu . Grupo control (azul) y pacientes Enfermedad de Parkinson (verde). Se muestra la captación relativa de la estructura caudado de controles vs Pacientes con Enfermedad de Parkinson, los resultados están expresados en razón de actividad (región de interés/vermis), representan el valor promedio \pm Error estándar de 6 controles y 5 pacientes por grupo. t-Student *P \leq 0.05.

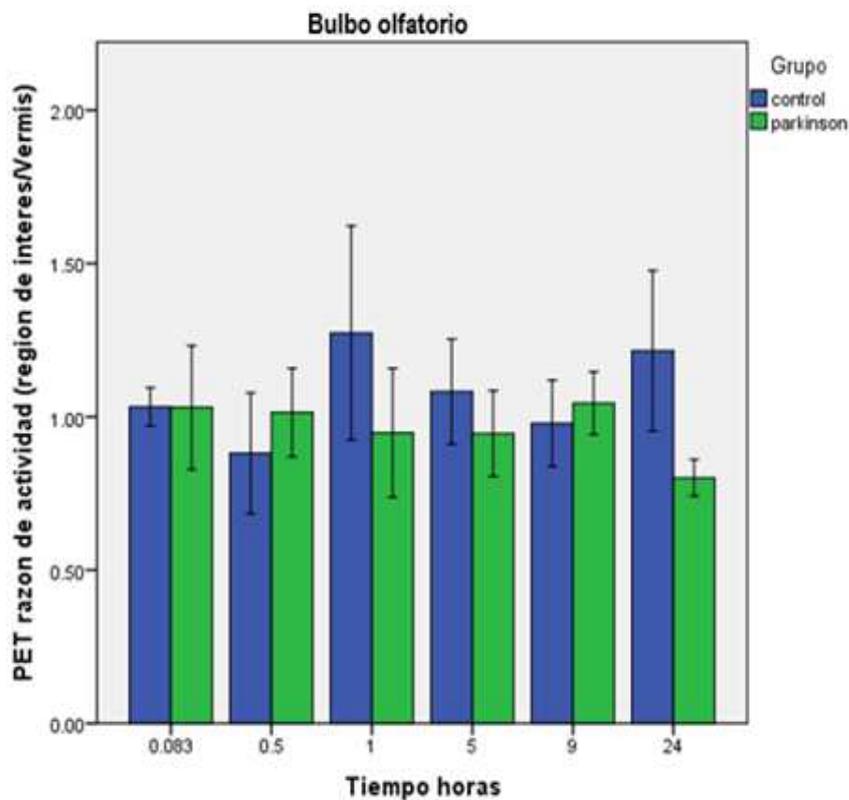


Figura 9 Curso temporal de la captación relativa (razón de actividad) en bulbo olfatorio a distintos tiempos (5min,30 min, 1h, 5h, 9h, 24 h) de $^{64}\text{Cobre}$. Grupo control (azul) y pacientes Enfermedad de Parkinson (verde). Se muestra la captación relativa en bulbo olfatorio de controles vs pacientes con Enfermedad de Parkinson, los resultados están expresados en razón de actividad (región de interes/Vermis), representan el valor promedio \pm Error estándar de 6 controles y 5 pacientes por grupo. t-Student *P \leq 0.05.

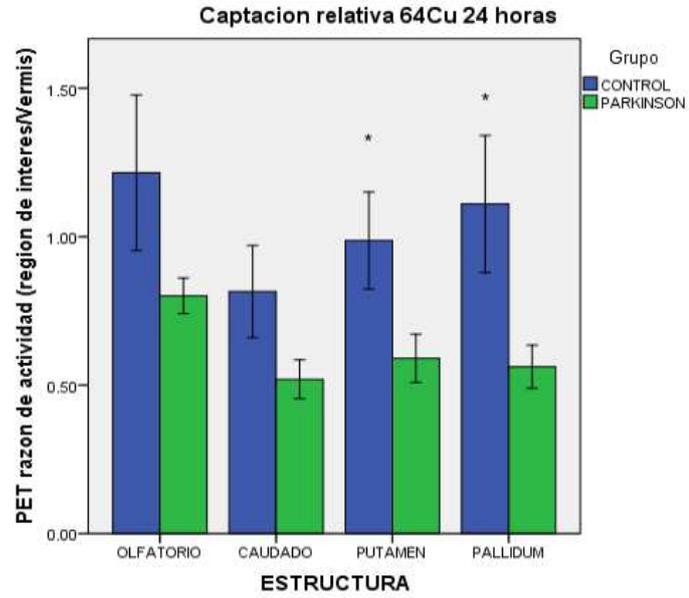
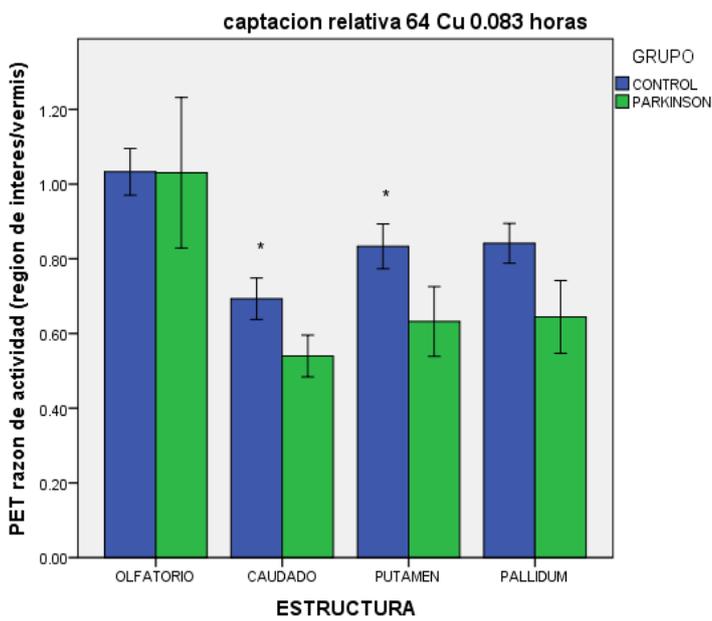


Figura 10(a) izquierda y 10(b) derecha, curso temporal de captación relativa (razón de actividad) de estructuras en estudio a los 5min (0.083h) y 24 horas de ⁶⁴Cobre. grupo control (azul) y pacientes Enfermedad de Parkinson (verde). Se muestran las estructuras que representaron una captación mayor a los 5 minutos y 24 horas. caudado, el putamen y pallidum mostraron una diferencia estadísticamente significativa (*) en el grupo controles versus sujetos con Enfermedad de Parkinson.

En la tabla número cuatro se muestra la biodistribución (captación relativa) a los diferentes tiempos de estudio del ⁶⁴Cobre en los ganglios basales de pacientes con Enfermedad de Parkinson vs controles.

Tabla 4. Biodistribución de ⁶⁴Cobre en ganglios basales durante tiempos de estudio (KBq/cc)

| PACIENTES | | | | | | |
|------------|---------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|---------------------|
| Estructura | 5 min | 30 min | 60 min | 5 h | 9 h | 24 h |
| Olfatorio | 1.030±0.451 | 1.01±0.288 | 0.947±0.420 | 0.945±0.313 | 1.044±0.229 | 0.800±0.133 |
| Caudado | 0.539 ±0.125 | 0.631±0.242 | 0.655±0.311 | 0.618±0.203 | 0.748±0.231 | 0.519±0.146 |
| Putamen | 0.631 ±0.208 | 0.689±0.226 | 0.728±0.298 | 0.662±0.256 | 0.770±0.188 | 0.590 ±0.181 |
| Pallidum | 0.644±0.218 | 0.811±0.363 | 0.761±0.312 | 0.806±0.390 | 0.845±0.236 | 0.561 ±0.162 |
| CONTROLES | | | | | | |
| Olfatorio | 1.032±0.153 | 0.881±0.483 | 1.273±0.856 | 1.082±0.419 | 0.978±0.344 | 1.215±0.641 |
| Caudado | 0.693 ±0.135 | 0.579±0.205 | 0.617±0.173 | 0.690±0.149 | 0.782±0.202 | 0.815±0.379 |
| Putamen | 0.833 ±0.147 | 0.655±0.237 | 0.679±0.220 | 0.823±0.180 | 0.821±0.149 | 0.987 ±0.401 |
| Pallidum | 0.841±0.130 | 0.652±0.251 | 0.704±0.227 | 0.789±0.188 | 0.743±0.137 | 1.110 ±0.565 |

En esta tabla se muestra la razón de actividad (captación relativa) del radionúclido ⁶⁴Cobre emisor de positrones en diferentes tiempos. Se obtuvo en algunos tiempos una mayor captación del radionúclido en ganglios basales (caudado, putamen, pallidum) de controles comparado con pacientes diagnosticados con Enfermedad de Parkinson. A los 5min la captación fue mayor para caudado y el putamen de sujetos sanos lo mismo ocurrió a las 24 horas para pallidum y el putamen.

12.0 DISCUSIÓN DE RESULTADOS

La Enfermedad de Parkinson es considerado un padecimiento neurodegenerativo y progresivo, cuya fisiopatología es multifactorial; sin embargo, el rol que determina el cobre es fundamental para su entendimiento.

Se conoce que el cobre en cerebro no se encuentra totalmente libre, ya que existen reguladores proteicos como son transportadores que se encargan de la homeostasis en diversas estructuras cerebrales, una disminución o pérdida en estos, podría estar asociada a la Enfermedad de Parkinson (Davies *et al.*, 2013, 2016).

Investigaciones han demostrado que el cobre libre en líquido cefalorraquídeo, puede estar elevado. Acompañado de una disminución de proteínas transportadoras de cobre. Que determinan un rol importante en la retención, distribución y almacenamiento (Boll *et al.*, 2008).

En este estudio evaluamos la biodistribución de ⁶⁴Cobre en ganglios basales, de pacientes con Enfermedad de Parkinson vs sujetos sanos cuyos resultados se observan en la tabla número tres. En donde medimos la biodistribución por medio de la actividad relativa en la región de interés (caudado, el putamen, pallidum y bulbo olfatorio) representada en las figuras de la 4 a 9.

Evaluamos que la captación de ⁶⁴Cobre en ganglios basales es mayor desde los 5 minutos en caudado y el putamen de controles comparados con los resultados obtenidos en los pacientes con Enfermedad de Parkinson.

Lo mismo sucedió a las 24 horas para el palladium y el putamen, encontrando una mayor captación relativa de ⁶⁴Cobre para controles vs sujetos con Enfermedad de Parkinson, estos hallazgos concuerdan con un estudio previamente reportado por Popescu y colaboradores (2009), en este estudio utilizaron un método de fluorescencia de rayos X de barrido rápido y evaluaron el contenido de zinc, hierro y cobre en estructuras subcorticales de pacientes con Enfermedad de Parkinson, los resultados demostraron que existía una diferencia entre la concentración de

metales en ganglios basales de pacientes con Enfermedad de Parkinson vs sujetos sanos. Por otra parte, es pertinente destacar que en este estudio se realizó una evaluación curso temporal de la captación relativa de cobre, ya que se desconocía el tiempo de máximo captación en los ganglios basales, con este dato fue posible entender su comportamiento y biodistribución tanto en voluntarios sanos como en pacientes con Enfermedad de Parkinson.

Para evaluar la biodistribución de $^{64}\text{Cobre}$ en ganglios basales, esta se determinó a partir de las imágenes PET adquiridas en el protocolo previamente descrito, en 6 voluntarios sanos y 5 pacientes con Enfermedad de Parkinson.

Donde la figura numero 3 muestra tres proyecciones de máxima intensidad, el promedio de los 6 sujetos sanos y 5 pacientes con Enfermedad de Parkinson a 24 horas. Realizando un análisis visual de las imágenes, revela que la captación del radionúclido en las regiones subcorticales de controles es mayor que la de pacientes, distinguible por la intensidad de color y emisión de radiación.

Considerando el color como la emisión de radiación se aprecia claramente una mayor acumulación en estructuras cerebrales de controles vs pacientes.

Esto puede ser por una mejor captación en controles y la poca expresión de transportadores de cobre, en ganglios basales de pacientes con Enfermedad de Parkinson. Debido a que estos determinan la homeostasis de cobre en cerebro. Se conoce que algunos Transportadores como CTR1, ATPTB, ATOX1 están implicados en el transporte de cobre en el cerebro distribuidos de manera no homogénea (Skjorringe *et al.*, 2012).

Los CTR1 se consideran unos de los principales transportadores de cobre en cerebro, y están presentes en diferentes estructuras subcorticales, como son corteza visual, cíngulo, caudado, el putamen y sustancia negra. Y son quienes determinan la captación específica de $^{64}\text{Cobre}$ (Choi y W. Zheng 2009, Kuo *et al.*, 2006, Zheng y Monnot 2012).

También encontramos que la captación relativa de $^{64}\text{Cobre}$ fue mayor a los 5 minutos en caudado y el putamen en controles vs sujetos con Enfermedad de Parkinson $P \leq 0.05$, lo mismo sucedió a las 24 horas para pallidum y el putamen. Estos resultados muestran semejanza a lo que realizó Genoud y colaboradores (2017), en este trabajo evaluaron en tejido post mortem de pacientes con Enfermedad de Parkinson vs controles, el contenido de metales (zinc, manganeso, hierro y cobre) en sustancia negra, giro fusiforme y corteza occipital, encontrando un incremento en el contenido de hierro y una disminución de cobre, los resultados en los controles mostraron una mayor concentración de cobre en comparación con los pacientes. Esto nos puede indicar que la participación del cobre contribuye selectivamente a la vulnerabilidad neuronal en la Enfermedad de Parkinson. Podemos mencionar que el $^{64}\text{Cobre}$ tiene sitios específicos donde puede permanecer acumulado durante el transcurso del tiempo tabla número cuatro. Esto puede ser por el número de transportadores en esa estructura. Estudios previos han demostrado una correlación entre una disminución de transportadores y niveles bajos de cobre, en la sustancia negra de pacientes con Enfermedad de Parkinson. (Davies *et al.*, 2013). Así mismo, la reducción en los niveles de CTR1 puede ser muy importante porque el tejido neural es particularmente sensible a la pérdida de la función de CTR1 lo que ocasiona muerte celular (Mackenzie *et al.*, 2004).

En el bulbo olfatorio el curso temporal del $^{64}\text{Cobre}$ se muestra similar en ambos grupos, sin embargo, a las 24 horas el grupo control demostró un 33 por ciento de mayor captación. Esto puede significar una poca expresión de receptores implicados en la regulación de cobre.

En la figura número 4 se muestra el curso temporal de la captación de $^{64}\text{Cobre}$ en el putamen durante los tiempos evaluados. La captación a los 5min y a las 24 horas mostro ser estadísticamente significativo, mayor en controles vs pacientes con Enfermedad de Parkinson, mientras que en los otros tiempos pareciera un comportamiento similar en ambos grupos, a las 5 horas la captación fue 19 por ciento mayor en el grupo control.

En el grafico numero 5 el curso temporal de la captación de 64 cobre en la estructura pallidum mostro un incremento significativo a las 24 horas, mayor en controles que en pacientes. Siendo el pico máximo de captación para los controles a las 24 horas vs pacientes con Enfermedad de Parkinson a las 9 horas. Mostrando a los 5 minutos un 23 por ciento de mayor captación en controles.

En el grafico número 6 se muestra el curso temporal de la captación de caudado, en la que se observa que a los 30 y 60 minutos la captación es 9 y 6 por ciento mayor en pacientes con Enfermedad de Parkinson, mientras que a los 5 minutos y 24 horas la captación fue 22 y 37 por ciento mayor en controles. Con un pico máximo de captación a las 24 horas para controles vs 9 horas pacientes con Enfermedad de Parkinson. Resultados similares fueron observados por Loeffler y colaboradores (1996) donde evaluó los niveles de cobre en las terminales nerviosas de caudado, y el putamen, utilizando espectrometría por absorción atómica. En tejido post mortem de pacientes con Enfermedad de Parkinson vs controles, los autores encontraron disminución de cobre en el putamen de pacientes con Enfermedad de Parkinson.

En el grafico número 7 se muestra el curso temporal de la captación de 64 Cobre en bulbo olfatorio, la captación es similar a los 5 minutos en ambos grupos, existiendo 0.2 por ciento de mayor captación en controles. A los 30 minutos y 9 horas el grupo de pacientes con Enfermedad de Parkinson mostro un 13 y 6 por ciento mayor de captación. Mientras que a 1, 5 y 24 horas la captación fue 25, 12 y 33 por ciento mayor en controles.

Finalmente, los gráficos 8 y 9 muestran los resultados totales de la captación específica, donde se observa un incremento significativo en los tiempos de 5 minutos y 24 horas en los controles vs los pacientes con Enfermedad de Parkinson, estos hallazgos concuerdan con los resultados dados a conocer por Davies y colaboradores (2014) utilizando microscopía de fluorescencia de rayos X, inmunofluorescencia y técnica de Western blott, demostraron que hay una reducción significativa en el contenido de cobre en la substancia negra, corteza occipital y el locus ceruleus en pacientes con Enfermedad de Parkinson, además

encontraron una disminución significativa en la cantidad del transportador de cobre CTR1 en las neuronas de estas regiones, lo que sugiere un compromiso de la homeostasis del cobre en las regiones cerebrales vulnerables a la enfermedad de Parkinson.

El cobre está implicado en enfermedades neurodegenerativas como lo es la Enfermedad de Parkinson, sin embargo, todo parece indicar que cambios o alteraciones en los transportadores CTR1 son los que llevan a estos cambios en la biodistribución del cobre en los pacientes, esto apoyado por los estudios de Haywood y Vaillant (2014), en este reporte mencionan que estudiando los transportadores de cobre CTR1, por medio de inmunohistoquímica y cortes histopatológicos, encontraron que las enfermedades neurodegenerativas se asocian con una desregulación de los CTR1, debido a que la disminución de estos, propicia una disfunción en el contenido de cobre lo que genera toxicidad neuronal.

Nuestros resultados muestran que la captación a los 5 minutos en caudado y el putamen es significativamente mayor en controles vs pacientes, lo mismo a las 24 horas en pallidum y el putamen.

Tomando en cuenta la información anteriormente expuesta y con los resultados obtenidos en este trabajo, pudimos demostrar de manera cuantitativa que hay una disminución en el contenido de cobre en las regiones cerebrales involucradas en el desarrollo de la Enfermedad de Parkinson, aportando evidencia solida que indica que hay una clara asociación ante la disminución de cobre y la fisiopatología de la Enfermedad.

13.0 CONCLUSIÓN

El presente trabajo es el primer estudio en el mundo en evaluar la biodistribución de ⁶⁴Cobre, en ganglios basales de sujetos sanos y compararlos con pacientes Enfermedad de Parkinson.

Los estudios de biodistribución comprueban que la captación de ⁶⁴Cobre es específica en ganglios basales, dichas regiones fueron detectadas utilizando el software PMOD (V3.8 SWI). Además de ser normalizadas para poder comparar ambos grupos. Sin embargo, a nivel clínico esto no es muy utilizado debido a la dificultad en la aplicación del software.

Aunque existe una gran diferencia en la captación de las regiones estudiadas, siempre se mostró una mayor captación en el grupo control vs pacientes con Enfermedad de Parkinson.

En este estudio demostramos que la captación relativa de ⁶⁴Cobre en caudado, pallidum, bulbo olfatorio y el putamen, es mayor en controles comparado con la de pacientes con Enfermedad de Parkinson.

A los 5 minutos los controles demostraron una captación de 24 % para putamen y 22% para caudado, mayor que los pacientes con Enfermedad de Parkinson.

A las 24 horas demostramos una captación de 40% para putamen y 49% para pallidum, mayor en controles que los pacientes con Enfermedad de Parkinson.

Debido a los resultados obtenidos podemos decir que el ⁶⁴Cobre emisor de positrones puede ser útil para el estudio de Enfermedad de Parkinson, por su afinidad por transportadores en ganglios basales. Sin embargo, se tiene que mencionar que puede existir cierta variabilidad en la captación por factores que no se pueden controlar como son estadio de la enfermedad, sexo, edad, alimentación, etc.

14.0 BIBLIOGRAFÍA

Ahlskog JE. Challenging conventional wisdom: the etiologic role of dopamine oxidative stress in Parkinson's disease. *Mov Disord* 2005. 20:271.

Alcaraz-Zubeldia M, Montes S, Ríos C. Participation of manganese-superoxide dismutase in the neuroprotection exerted by copper sulfate against 1-methyl 4-phenylpyridinium neurotoxicity. *Brain Res Bull.* 2001 May 15;55(2):277-9.

Aller SG, Unger VM. Projection structure of the human copper transporter CTR1 at 6-Å resolution reveals a compact trimer with a novel channel-like architecture. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2006. 103, 3627-3632.

Avila-Rodriguez MA, Nye JA, Nickles RJ. Simultaneous production of high specific activity ^{64}Cu and ^{61}Co with 11.4 MeV protons on enriched ^{64}Ni nuclei. *Appl Radiat Isot.* 2007 Oct;65(10):1115-20.

Avila-Rodríguez MA, McQuarrie SA. The role of non-standard PET radionuclides in the development of new radiopharmaceuticals. *AIP Conference Proceedings* 2008; (1032): 25-30.

Bamford NS, Robinson S, Palmiter R.D, et al. Dopamine modulates release from corticostriatal terminals. *J Neurosci* 2004; 24:9541.

Becker JS, Zoriy MV, Pickhardt C, palomero-Gallagher N, Zilles K. Imaging of copper, Zinc, and other elements in thin section of human brain samples (hippocampus) by laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry. *Anal. Chem.* 2005 (77): 3208-3216.

Becker JS, Salber D. New mass spectrometric tools in brain research. *TrAC Trends Anal. Chem.* 2010 (29): 966-979.

Bertinato J, Swist E, Plouffe LJ, Brooks SP, Labbe MR. Ctr2 is partially localized to the plasma membrane and stimulates copper uptake in COS-7 cells. *Biochem.J.* 2008 (409): 731-740.

Boll C, Zubeldia A, Montes S, Rios C. Free Copper, Ferroxidase and SOD1 Activities, Lipid Peroxidation and NOx Content in the CSF. A Different Marker Profile in Four Neurodegenerative Diseases. *Neurochem Res* 2008 33:1717–1723

Bové J, Prou D, Perier C, Przedborski S. Toxin-induced models of Parkinson's disease. *Neuro Rx* 2005; 2:484.

Braak H, Del TK, Rub U. Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson's disease. *Neurobiol Aging* 2003 (24):197–211.

Brown K, Mastrianni JA. The prion diseases. *Psychiatry Neurol.* 2010 (23) 277-298.

Donsante A, Johnson P, Jansen LA, Kaler SG. Somatic mosaicism in Menkes disease suggests choroid plexus-mediated copper transport to the developing brain. *Am. J. Med. Genet.* 2010 (152A) 2529-2534.

Calo L, Wegrzynowicz M, Santivañez-Perez J, Grazia Spillantini M. Synaptic failure and α -synuclein. *Mov Disord* 2016; 31:169.

Camicioli R, Moore MM, Kinney A, Corbridge E, Glassberg K, Kaye JA Parkinson's disease is associated with hippocampal atrophy. *Mov Disord* 2003; 18:784.

Chiurchiu V, Orlacchio A, Maccarrone M. Is modulation of oxidative stress an answer? the state of the art of redox therapeutic actions in neurodegenerative diseases, *Oxid. Med. Cell. Longev.* (2016) *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, Article ID 7909380, 11 pag.

Choi BS, Zheng W. "Copper transport to the brain by the blood-brain barrier and blood-CSF barrier," *Brain Research*, vol. 1248, pp. 14–21, 2009.

Danks DM, Copper Deficiency in human *Rev. Nutr.* 1988. 8.235-57

Davies K, Bohic R. "Copper pathology in the vulnerable substantia nigra in Parkinson's disease," *Movement Disorders*, vol. 28, supplement 1, article 1024, 2013.

Davies KM, Hare DJ, Cottam V, Chen N, Hilgers L, Halliday G, et al. Localization of copper and copper transporters in the human brain. *Metallomics* 2013; 5: 43–51.

Davies KM, Bohic S, Carmona A, Ortega R, Cottam V, Hare DJ, Finberg JP, Reyes S, Halliday GM, Mercer JF, Double KL. Copper pathology in vulnerable brain regions in Parkinson's disease. *Neurobiol Aging*. 2014;35(4):858-66

Davies KM, Mercer JF, Chen N, Double KL. Copper dyshomeostasis in Parkinson's disease: implications for pathogenesis and indications for novel therapeutics. *Clin Sci (Lond)*. 2016 Apr;130(8):565-74

De Feo CJ, Aller SG, Unger VM. A structural perspective on copper uptake in eukaryotes. *Biometals* 2007; 20: 705-716.

Dexter, D.T., Wells, F.R., Lees, A.J., Agid, F., Agid, Y., Jenner, P. and Marsden. Increased nigral iron content and alterations in other metal ions occurring in brain in Parkinson's disease. *J. Neurochem.* (1989) 52, 1830–1836

Dexter DT, Jenner P. Parkinson disease: from pathology to molecular disease mechanisms, *Free Radic. Biol. Med.* 2013; 62: 132–144.

Dickson DW, Braak H, Duda JE, Duyckaerts C, Gasser T, Halliday GM, Hardy J, Leverenz JB, Del Tredici K, Wszolek ZK, Litvan I. Neuropathological assessment of Parkinson's disease: refining the diagnostic criteria, *Lancet Neurol*. 2009; 12: 1150–1157.

Eisses JF, Kaplan JH. Molecular characterization of hCTR1, the human copper uptake protein. *J. Biol. Chem.* 2002; 277: 29162-29171.

Eisses JF, Kaplan JH. The mechanism of copper uptake mediated by human CTR1: a mutational analysis. *J. Biol. Chem.* 2005; 280: 37159-37168.

Feany MB. New genetic insights into Parkinson's disease. *N Engl J Med* 2004; 351:1937

Feng J. Microtubule: a common target for parkin and Parkinson's disease toxins. *Neuroscientist* 2006; 12:469.

Fearnley JM, Lees AJ. Ageing and Parkinson's disease: substantia nigra regional selectivity, *Brain* 1991 2283–2301.

Forte G, Bocca B, Senofonte O, Petrucci F, Brusa L, Stanzione P, Zannino S, Violante N, Alimonti A, Sancesario G. Trace and major elements in whole blood, serum, cerebrospinal fluid and urine of patients with Parkinson's disease. *J. Neural Transm.* 2004; 111: 1031-1040.

Fukae J, Mizuno Y, Hattori N. Mitochondrial dysfunction in Parkinson's disease, *Mitochondrion* 2007; 7: 58–62

Gelb DJ, Oliver E, Gilman S. Diagnostic criteria for Parkinson disease. *Arch Neurol* 1999; 56(1):33-9

Genoud S, Roberts BR, Gunn AP, Halliday GM, Lewis SJG, Ball HJ, Hare DJ, Double KL. Subcellular compartmentalisation of copper, iron, manganese, and zinc in the Parkinson's disease brain. *Metallomics.* 2017 Oct 18;9(10):1447-1455.

Gerfen CR. Molecular effects of dopamine on striatal-projection pathways. *Trends Neurosci* 2000; 23: 64

Gillies GE, Pienaar IS, Vohra S, Qamhawi Z. Sex differences in Parkinson's disease 2014. *Front Neuroendocrinol* 2014; 35:370–84

Greenamyre JT, Hastings TG. Biomedicine. Parkinson's--divergent causes, convergent mechanisms. *Science* 2004; 304:1120.

Gupta A, Lutsenko S. Human copper transporters: mechanism, role in human diseases and therapeutic potential. *Future Med. Chem.* 2009; 6: 1125–1142

Haaxma CA, Bloem BR, Borm GF, Oyen WJ, Leenders KL, Eshuis S, Booij J, Dluzen DE, Horstink MW. Gender differences in Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2007; 78:819–24

Haywood S, Vaillant C. Overexpression of copper transporter CTR1 in the brain barrier of North Ronaldsay sheep: implications for the study of neurodegenerative disease. *J Comp Pathol.* 2014 Feb-Apr;150(2-3):216-24

Hely MA¹, Reid WG, Adena MA, Halliday GM, Morris JG. The Sydney multicenter study of Parkinson's disease: the inevitability of dementia at 20 years. *Mov Disord* 2008;23:837–44

Henderson JM, Carpenter K, Cartwright H, Halliday GM. Degeneration of the centré median-parafascicular complex in Parkinson's disease. *Ann Neurol* 2000; 47:345

Hirsch EC, Hunot S, Hartmann A. Neuroinflammatory processes in Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord* 2005; 11 Suppl 1:S9

Hornykiewicz O. The discovery of dopamine deficiency in the parkinsonian brain. *J Neural Transm Suppl* 2006; 9

Hughes AJ, Ben-Shlomo Y, Daniel SE, Lees AJ. What features improve the accuracy of clinical diagnosis in Parkinson's disease: a clinicopathologic study. *Neurology.* 2001; 57(10 Suppl 3):S34-8.

Jomova K, Valko M. Advances in metal-induced oxidative stress and human disease. *Toxicology* 2011; 283, 65–87.

Kuo Y, Gybina A, Pyatskowitz J, Gitschier J, Prohaska J, “Copper transport protein (Ctr1) levels in mice are tissue specific and dependent on copper status,” *Journal of Nutrition*, vol. 136, no. 1, pp. 21–26, 2006.

Langston JW. The Parkinson's complex: parkinsonism is just the tip of the iceberg. *Ann Neurol* 2006; 59:591

Larner F, Sampson B, Rehkämper M, Weiss DJ, Dainty JR, O’Riordan S, Panetta T, Bain PG. High precision isotope measurements reveal poor control of copper metabolism in parkinsonism. *Metallomics*. 2013; 5(2):125-32.

Lau LM, Breteler MM. Epidemiology of Parkinson's disease. *Lancet Neurol* 2006; 5:525

Lee J, Prohaska JR, Dagenais SL, Glover TW, Thiele DJ. Isolation of a murine copper transporter gene, tissue specific expression and functional complementation of a yeast copper transport mutant. *Gene*. 2000 Aug 22;254(1-2):87-96.

Lee A, Gilbert RM. Epidemiology of Parkinson disease, *Neurol Clin*. 2016; 34: 955–965

Lederer MC, Shirley VS. *Table of Isotopes 7th Ed.*, John Wiley & Sons, Inc., New York, 1978.

León CE, Ontiveros UP, Ruiz CJ. La enfermedad de Parkinson. *Salud mental* 2013;36:315-324.

Litvan I, Aarsland D, Adler C, et al. MDS task force on mild cognitive impairment

in Parkinson's disease: critical review of PD-MCI. *Mov Disord* 2011;26:1814–24.

Loeffler, D.A., LeWitt, P.A., Juneau, P.L., Sima, A.A., Nguyen, H.U., DeMaggio, A.J., Brickman, C.M., Brewer, G.J., Dick, R.D., Troyer, M.D. and Kanaley, L. Increased regional brain concentrations of ceruloplasmin in neurodegenerative disorders. *Brain Res.* (1996) 738, 265–274

Logroscino G. The role of early life environmental risk factors in Parkinson disease: what is the evidence? *Environ Health Perspect* 2005; 113:1234.

Macreadie IG. Copper transport and Alzheimer's disease. *Eur Biophys J.* 2008 Mar;37(3):295-300. Epub 2007 Nov 15. Review

Mackenzie NC, Brito M, Reyes AE, Allende ML, "Cloning, expression pattern and essentiality of the high-affinity copper transporter 1 (ctr1) gene in zebrafish," *Gene*, vol. 328, no. 1-2, pp. 113–120, 2004.

Mari Aparici C. Introduction to the molecular imaging. *Rev Esp Med Nucl.* 2006;25(6):394-409.

Maries E, Dass B, Collier TJ, Kordower JH, Steece-Collier K. The role of alpha-synuclein in Parkinson's disease: insights from animal models. *Nat Rev Neurosci* 2003; 4:727

Martinez-Martin P, Schapira AH, Stocchi F, Sethi K, Odin P, MacPhee G, Brown RG, Naidu Y, Clayton L, Abe K, Tsuboi Y, MacMahon D, Barone P, Rabey M, Bonuccelli U, Forbes A, Breen K, Tluk S, Olanow CW, Thomas S, Rye D, Hand A, Williams AJ, Ondo W, Chaudhuri KR. Prevalence of nonmotor symptoms in Parkinson's disease in an international setting; study using nonmotor symptoms questionnaire in 545 patients. *Mov Disord* 2007;22:1623–9.

Martinez-Martin P1, Falup Pecurariu C, Odin P, van Hilten JJ, Antonini A, Rojo-Abuin JM, Borges V, Trenkwalder C, Aarsland D, Brooks DJ, Ray Chaudhuri K. Gender-related differences in the burden of non-motor symptoms in Parkinson's disease. *J Neurol* 2013;259: 1639–47

Mason k, A Conspectus of Research on Copper Metabolism and Requirements of Man. *J. Nutr.* 1979 109: 11 1979-2066

Monnot AD, Behl M Ho, Zheng W. Regulation of brain copper homeostasis by the brain barrier systems: effects of fe-overload and Fe-deficiency. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2011; 256: 249-257.

Montes S, Rivera-Mancia S, Diaz-Ruiz A, Tristan-Lopez L, Rios C. Copper and copper proteins in Parkinson's disease. *Oxid Med Cell Longev.* 2014;2014:147251

Nickles RJ. The production of a broader palette of PET tracers, *J. Label Comp. Radiopharm.* 2003 (46): 1-27.

Nischwitz, V, Berthele A, Michalke B 2. Speciation analysis of selected metals and determination of their total contents in paired serum and cerebrospinal fluid samples: an approach to investigate the permeability of the human blood-cerebrospinal fluid-barrier. *Anal. Chim.* 2008; 627: 258-269.

Nowacka B, Lubinski W, Honczarenko K, Potemkowski A, Safranow K. Ophthalmological features of Parkinson disease. *Med Sci Monit* 2014;20:2243–9

O'Dell BL. Biochemistry of copper. *Med. Clin.* 1976; 60 (4), 687–703

Paik SR, Shin HJ, Lee JH, Chang CS, Kim J. Copper(II)-induced self-oligomerization of alpha-synuclein. *Biochem J* 1999; 340:821–828

Parkinson J. *An Essay on the Shaking Palsy*, Sherwood, Neely, and Jones, London 1981

Pelizzoni, I, Zacchetti D, Smith CP, Grohovaz F, Codazzi F. Expression of divalent metal transporter 1 in primary hippocampal neurons: reconsidering its role in non-Transferrin-bound iron influx. *J. Neurochem.* 2012; 120: 269-278.

Penland JG, Prohaska JR. Abnormal motor function persists following recovery from perinatal copper deficiency in rats. *J. Nutr.* 2004; 134: 1984–1988.

Perier C, Tieu K, Guegan C, Caspersen C, Jackson-Lewis V, Carelli V, Martinuzzi A, Hirano M, Przedborski S, Vila M. Complex I deficiency primes Bax-dependent neuronal apoptosis through mitochondrial oxidative damage. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2005; 52:19126–19131

Peter Valkovic, Michal Minar, Helena Singliarova, Jan Harsany, Marta Hanakova, Jana Martinkova, Jan Benetin. Pain in Parkinson's disease: a cross-sectional study of its prevalence, types, and relationship to depression and quality of life. *PLoS One* 2015;10(8)

Pfeiffer CC, Mailloux R. Excess copper as a factor in human-diseases. *J. Orthomol. Med.* 1978; 2: 171–182.

Pfeiffer RF. Non-motor symptoms in Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord* 2016;22(Suppl 1):S119–22

Popescu A, Lippa CF, Lee VM, Trojanowski JQ. Lewy bodies in the amygdala: increase of alpha-synuclein aggregates in neurodegenerative diseases with tau-based inclusions. *Arch Neurol* 2004; 61:1915

Popescu BF, George MJ, Bergmann U, Garachtchenko AV, Kelly ME, McCrea RP, Lüning K, Devon RM, George GN, Hanson AD, Harder SM, Chapman LD, Pickering IJ, Nichol H. Mapping metals in Parkinson's and normal brain using rapid-scanning x-ray fluorescence. *Phys Med Biol*. 2009 Feb 7;54(3):651-63.

Popescu BF, Robinson CA, Rajput A, Rajput AH, Harder SL, Nichol H. Iron, copper, and zinc distribution of the cerebellum. *Cerebellum*. 2009 Jun;8(2):74-9.

Pringsheim T, Jette N, Frolkis A, Steeves TD. The prevalence of Parkinson's disease: a systematic review and meta-analysis. *Mov Disord* 2014; 29:1583

Prohaska J. R. Biochemical changes in copper deficiency. *J. Nutr. Biochem*. 1990; 1: 452–461.

Przedborski S, Tieu K, Perier C, Vila M. MPTP as a mitochondrial neurotoxic model of Parkinson's disease. *J Bioenerg Biomembr* 2004; 36:375

Reijnders JS, Ehrt U, Weber WE, Aarsland D, Leentjens AF. A systematic review of prevalence studies of depression in Parkinson's disease. *Mov Disord* 2008;23:183-9

Rubio-Osornio M, Orozco-Ibarra M, Díaz-Ruiz A, Brambila E, Boll MC, Monroy-Noyola A, Guevara J, Montes S, Ríos C. Copper sulfate pretreatment prevents mitochondrial electron transport chain damage and apoptosis against MPP⁺-induced neurotoxicity. *Chem Biol Interact*. 2017 Jun 1;271:1-8.

Ross GW, Abbott RD. Living and dying with Parkinson's disease. *Mov Disord* 2014; 29:1571

Selvaraj S, Sun Y, Watt JA, Wang S, Lei S, Birnbaumer L, Singh BB. Neurotoxin-induced ER stress in mouse dopaminergic neurons involves downregulation of TRPC1 and inhibition of AKT/mTOR signaling. *J Clin Invest* 2012; 122:1354

Schapira AH, Cooper JM, Dexter D, Clark JB, Jenner P, Marsden CD. Mitochondrial complex I deficiency in Parkinson's disease. *Lancet* 1989; 1:1269

Scheiber I, Dringen R, Mercer JF. "Copper: effects of deficiency and overload," in *Interrelations between Essential Metals and Human Diseases*, eds A. Sigel, H. Sigel, and R. K. O. Sigel (Dordrecht: Springer) (in press) (2013).

Schlieff ML, Gitlin JD. Copper homeostasis in the CNS: a novel link between the NMDA receptor and copper homeostasis in the hippocampus. *Mol. Neurobiol.* 2006; 33: 81–90.

Skjorringe T, Moller L, Moos T, "Impairment of interrelated iron- and copper homeostatic mechanisms in brain contributes to the pathogenesis of neurodegenerative disorders," *Frontiers in Pharmacology*, vol. 3, article 169, 2012

Sun X, Anderson CJ. Production and application of copper-64 radiopharmaceuticals. *Meth. Enzymol.* 2004; (386): 237-261.

Sung VW, Nicholas AP. Nonmotor symptoms of Parkinson's disease. *Neurol Clin* 2013;31:1–16.

Surmeier DJ, Graves SM, Shen W. Dopaminergic modulation of striatal networks in health and Parkinson's disease. *Curr Opin Neurobiol.* 2014; 29C:109-117.

Tainer JA, Getzoff ED, Richardson JS, Richardson DC. Structure and mechanism of copper, zinc superoxide dismutase. *Nature* 1983; 306: 284–287.

Telianidis J, Hung YH, Materia S, Fontaine LS. Role of the P-type ATPases, ATP7A and ATP7B in brain copper homeostasis. *Front. Aging Neurosci.* 2013;5:44.

Turnlund JR. Cobre. En: nutrición moderna en salud y enfermedad, décimo, Shils ME, Shike M, Ross AC, et al (Eds), Lippincott Williams y Wilkins, Baltimore 2006. p.286.

Van Den Eeden SK, Tanner CM, Bernstein AL, Fross RD, Leimpeter A, Bloch DA, Nelson LM. Incidence of Parkinson's disease: variation by age, gender, and race/ethnicity. *Am J Epidemiol* 2003; 157:1015

Wakabayashi K, Tanji K, Mori F, Takahashi H. The Lewy body in Parkinson's disease: molecules implicated in the formation and degradation of alpha-synuclein aggregates. *Neuropathology* 2007; 27:494

Wang LM, Becker JS, Wu Q, Oliveira MF, Bozza FA, Schwager AL, Hoffman JM, Morton KA. Bioimaging of copper alterations in the aging mouse brain by autoradiography, laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry and immunohistochemistry. *Metallomics*. 2010;2: 348-353.

Wapnir RA, Copper absorption and bioavailability. *Am J Clin Nutr* 1998 67: 5

Zheng W, Monnot AD. Regulation of brain iron and copper homeostasis by brain barrier systems: implication in neurodegenerative diseases. *Pharmacol. Ther.* 2012; 133: 177-188.

Zhou B, Gitschier J. hCTR1: a human gene for copper uptake identified by complementation in yeast. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1997; 14: 7481–7486



CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Instituto Nacional
de Neurología y Neurocirugía
"Dr. Manuel Velasco Suárez"

PROTOCOLO DE INVESTIGACION CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Fecha: / /

He sido informado que padezco la enfermedad de Parkinson, enfermedad que se caracteriza por movimientos no voluntarios tipo temblor, rigidez y lentitud de movimientos. Este estudio se caracteriza por ser prospectivo y de investigación clínica.

OBJETIVO: El estudio al que se le está invitando a participar, tiene por objetivo demostrar el papel que desempeña el cobre en estructuras cerebrales implicadas en la enfermedad de Parkinson.

COMO PARTICIPAR: Si usted acepta participar se le realizara una tomografía por emisión de positrones de cerebro a diferentes tiempos.

PROCEDIMIENTOS A REALIZARSE

- 1) Examen neurológico: Se aplicará después de la historia clínica la escala unificada de la enfermedad de Parkinson ó –MDS-UPDRS.
- 2) Estudios de Gabinete: Se realizarán pruebas de imagen por Tomografía de emisión de positrones, para establecer algunas características de su enfermedad.

EFFECTOS INDESEABLES Y RIESGOS

Cuando la formulación es administrada, usted podrá experimentar un leve dolor en el sitio de punción venosa. Raras veces ocurren infecciones o inflamación local.

Estos riesgos se reducen al emplear personal altamente calificado para administrar la formulación.

BENEFICIOS PARA LAS PERSONAS PARTICIPANTES EN EL ESTUDIO

Los resultados se evaluarán en conjunto y, en suma con otros estudios, es posible que en un futuro ayuden al diagnóstico y seguimiento de los pacientes con este padecimiento.

Se le otorgarán: consulta neurológica, estudios de Laboratorio y Gabinete y consejos prácticos personalizados.

CONSIDERACIONES ECONÓMICAS

Ninguno de los procedimientos representará un gasto para Usted ya que el grupo de investigación absorberá todos los pagos.

Confidencialidad: Si usted acepta participar en este estudio, su expediente será revisado por los médicos e investigadores responsables del estudio, así como por el Comité de Ética para verificar que el estudio se está llevando de manera correcta. La información obtenida durante el estudio será almacenada sin incluir su nombre, sólo el número de paciente correspondiente al estudio. Los resultados que se obtengan durante el estudio pueden ser publicados en la literatura médica, pero su identidad no será revelada.

Participación voluntaria/retiro del estudio: Su participación en este estudio es completamente voluntaria. Si no acepta participar o si acepta participar pero en el transcurso del estudio desea retirarse del mismo, aún después de haber firmado esta carta, esto no afectará la aplicación del esquema de tratamiento convencional para pacientes con Enfermedad de Parkinson que usted recibirá, ni repercutirá sobre la calidad de la atención que se le brindará.

Gracias por leer esta información y por favor siéntase en la libertad de hacer las preguntas que sean necesarias al médico o investigador responsable antes de aceptar participar.

El grupo de investigación que participa en este proyecto se compromete a brindarle información sobre cualquier procedimiento alternativo adecuado que pudiera ser benéfico para su tratamiento, así como a responder cualquier pregunta y aclarar cualquier duda que le plantee aun y cuando esta información pudiera cambiar su parecer respecto a su permanencia en el estudio.

Personal de referencia: Para cualquier aclaración o duda, favor de comunicarse con:

Dr. Héctor Rubén Martínez Hernández, Médico Neurólogo Especialista adscrito en el Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía.

Declaración de consentimiento informado: Declaro que se me ha informado sobre los posibles riesgos, inconvenientes, molestias y posibles beneficios derivados de mi participación en este estudio. Se me han dado la oportunidad de hacer preguntas y todas mis preguntas han sido contestadas a mi satisfacción. Al firmar este formato estoy de acuerdo en participar en el estudio que aquí se describe.

Nombre del paciente _____

Nombre del representante legal (en caso de incapacidad del paciente)

Fecha _____

Firma del paciente _____

Firma del representante legal _____

Le he explicado al paciente y/o su representante legal sobre los posibles riesgos, inconvenientes, molestias y posibles beneficios derivados de su participación en este estudio y he contestado todas sus preguntas. Creo que el/ella entiende la información descrita en este documento y libremente da su consentimiento a participar en este estudio de investigación.

Nombre del investigador _____

Firma _____

Fecha _____

Nombre del primer testigo _____

Firma _____

Fecha _____

Nombre del segundo testigo _____

Firma _____

Fecha _____

Primer testigo

Relación de parentesco con el paciente: _____

Dirección: _____

Número telefónico de casa: _____

Número de teléfono móvil: _____

Segundo testigo

Relación de parentesco con el paciente: _____

Dirección: _____

Número telefónico de casa: _____

Número de teléfono móvil: _____