

PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN EN DROGODEPENDENCIAS

MEMORIA CIENTÍFICA DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

1ª ANUALIDAD

2ª ANUALIDAD

FINAL

Número Expediente: 2007/043

Investigador Principal: Manuel Desco Menéndez

Otros Investigadores: María Luisa Soto-Montenegro, Juan José Vaquero López, Celso Arango López, Javier Pascau González-Garzón, Marina Benito Vicente, Gonzalo López Montoya, Verónica García Vázquez.

Título Proyecto: Efectos cerebrales de la cocaína: estudio experimental mediante técnicas de imagen in vivo (PET, SPECT y Resonancia)

Título Proyecto coordinado en el que se integra (Sólo en caso de ser un subproyecto)

Organismo: Fundación para la Investigación Biomédica del Hospital Gregorio Marañón

Centro: Hospital General Universitario Gregorio Marañón

Departamento: Unidad de Medicina y Cirugía Experimental. Laboratorio de Imagen Médica

Comunidad Autónoma: Madrid

Duración: 3 años

Fecha de inicio: 2007

Fecha de finalización: 2010

Año Convocatoria: 2007

Área Temática:

Palabras Clave: FDG, PET, CT; cannabis, cocaína, Resonancia, SPECT

RESUMEN: (Objetivo, ámbito de estudio, sujetos de estudio, instrumentalización, resultados, conclusiones. Máximo 2.000 palabras.)

En este trabajo se pretende evaluar los cambios cerebrales a corto y largo plazo en el metabolismo cerebral de ratas que hayan sido o no expuestas a cannabis en la adolescencia, a las que se administra cocaína en su etapa adulta. Para ello se realizarán estudios cerebrales longitudinales no destructivos utilizando diversas técnicas de imagen: Tomografía por Emisión de Positrones (PET), Tomografía por Emisión de Fotón Único (SPECT) y Resonancia Magnética (RM), que proporcionan todas ellas información funcional (PET y SPECT) y estructural (RM).

Los objetivos concretos del estudio son:

1. Estudiar *in vivo* el efecto a corto y largo plazo de la cocaína sobre el metabolismo cerebral de la glucosa en función del sexo.
2. Estudiar *in vivo* el efecto a corto y largo plazo de la cocaína sobre los receptores de dopamina y el transportador DAT en función del sexo.
3. Comprobar la existencia de sensibilización inducida por cannabis.
4. Estudiar la duración de los daños ocurridos tras la administración de cocaína.
5. Estudiar la posibilidad de reversibilidad de estos cambios cerebrales en relación con el sexo, gracias al diseño longitudinal no destructivo.

Tenemos cuatro factores de estudio: sexo [macho y hembra] y drogas administrada en el pre-tratamiento [vehículo, cannabis], droga administrada en el tratamiento [salino, cocaína] y día .

El agonista cannabinoide (CP) (0.4 mg/Kg) i.p.) o su correspondiente vehículo (VH) se administra una vez al día desde el día 28 al 38 postnatal.

En el día 100, comienza la administración de cocaína (5mg/kg) durante 21 días.

Tendremos los siguientes grupos de estudio: VH+salino macho (n=8); VH+salino hembra (n=8); VH+cocaína macho (n=8); VH+cocaína hembra (n=8); CP +salino macho (n=8); CP+salino hembra (n=8); CP+cocaína macho (n=8) and CP+cocaína hembra (n=8).

Los estudios de imagen se realizarán a tiempo basal (día 100), 21d, y 42 d, para valorar efectos a corto plazo; y a 8 y 16 semanas para valorar efectos a más largo plazo.

Este estudio pretende aprovechar la oportunidad de contar con la única instalación en el país que dispone de CT/PET, SPECT y RM para animales y el trabajo multidisciplinar de investigadores básicos y clínicos.

Así pues, el propósito principal de este estudio es combinar diferentes técnicas de imagen para evaluar el daño de las neuronas dopaminérgicas teniendo en cuenta factores tales como el sexo y la exposición a cannabinoides durante la adolescencia, además de determinar si existe recuperación de las neuronas tras el daño inducido por cocaína.

ARTÍCULOS PUBLICADOS COMO CONSECUENCIA DE LA ACCIÓN: (Se adjuntarán tres separatas de cada uno de ellos)

Artículos enviados

J Klein, M Soto, J Pascau, L Günther, A Kupsch, M Desco, C Winter. A novel approach to investigate neuronal network activity patterns affected by deep brain stimulation in rats. **Journal of Psychiatric Research**.

Artículos

A Higuera-Matas, ML Soto-Montenegro, GL Montoya, V García-Vázquez, J Pascau, M Miguéns, N del Olmo, JJ Vaquero, C García-Lecumberri, M Desco, E Ambrosio. Chronic Cannabinoid Administration to Periadolescent Rats Modulates the Metabolic Response to Acute Cocaine in the Adult Brain. **Molecular Imaging and Biology**, Published online 31 July, 2010.

M Michaelides, J Pascau, JD Gispert, F Delis, DK Grandy, GJ Wang, M Desco, M Rubinstein, ND Volkow, PK Thanos. Dopamine D4 receptors modulate brain metabolic activity in the prefrontal cortex and cerebellum at rest and in response to methylphenidate. **Eur J Neurosci**, 32: 668-676, 2010.

E Lage, JL Villena, G Tapias, NP Martínez, ML Soto-Montenegro, M Abella, A Sisniega, F Pino, D Ros, J Pavía, M Desco, JJ Vaquero. A SPECT Scanner for Rodent Imaging Based on Small-Area Gamma Cameras. **IEEE T Nucl Sci**, 57(5): 2524-2531, 2010.

Proceedings

M Benito, A Rodríguez-Ruano, C Chavarrías, P Montesinos, M Desco. Vessel contrast in Susceptibility Weighted Imaging (SWI) under inhaled anesthesia with different oxygen pressure. **Proc Intl Soc Mag Reson Med**, 18: 4451, 2010.

Presentado como póster en The ISMRM-ESMRMB Joint Annual Meeting, Stockholm, Sweden, 1-7 may, 2010

V García-Vázquez, GL Montoya, ML Soto-Montenegro, J Pascau, A Higuera-Matas, M Benito, E Ambrosio, M Desco. Análisis de Imágenes PET utilizando SPM: Aplicación en Estudios sobre Drogas. **Proceedings del XXVIII Congreso Anual de la Sociedad Española de Ingeniería Biomédica (CASEIB 2010)**, Madrid, 24-26 nov, 2010.

ML Soto, J Klein, J Pascau, L Günther, A Kupsch, C Winter, M Desco. Estimulación cerebral profunda del núcleo subtalámico en ratas: estudio funcional piloto con FDG-PET. **Proceedings del XXVIII Congreso Anual de la Sociedad Española de Ingeniería Biomédica (CASEIB 2010)**, Madrid, 24-26 nov, 2010.

Abstracts

E Ambrosio, GL Montoya, ML Soto-Montenegro, V García-Vázquez, J Pascau, M Miguéns, A Higuera-Matas, N Del Olmo, JJ Vaquero, C García-Lecumberri, M Desco. Brain metabolism in Lewis and Fischer 344 rats after morphine self-administration and extinction: A PET imaging study. **CPDD 72nd Annual Scientific Meeting**, 3, 2010. Presentado como comunicación oral en CPDD 72nd Annual Scientific Meeting, Scottsdale, Arizona, 12-17 June, 2010

V García-Vázquez, GL Montoya, ML Soto-Montenegro, J Pascau, A Higuera-Matas, M Benito, E Ambrosio, M Desco. Análisis de Imágenes PET utilizando SPM: Aplicación en Estudios sobre Drogas. **Libro de Actas del XXVIII Congreso Anual de la Sociedad Española de Ingeniería Biomédica (CASEIB 2010)**, 245, 2010. Presentado como comunicación oral en el XXVIII Congreso Anual de la Sociedad Española de Ingeniería Biomédica (CASEIB 2010), 24-26 de noviembre de 2010.

ML Soto, J Klein, J Pascau, L Günther, A Kupsch, C Winter, M Desco. Estimulación cerebral profunda del núcleo subtalámico en ratas: estudio funcional piloto con FDG-PET. **Libro de Actas del XXVIII Congreso Anual de la Sociedad Española de Ingeniería Biomédica (CASEIB 2010)**, 238, 2010. Presentado como comunicación oral en el XXVIII Congreso Anual de la Sociedad Española de Ingeniería Biomédica (CASEIB 2010), 24-26 de noviembre de 2010.

Diploma de Estudios Avanzados (DEA)

**Monitorización in vivo del daño cerebral producido por éxtasis, mediante tomografía por emisión de positrones. Diploma de Estudios Avanzados (DEA) de Lorena Cussó. Directores: M Desco, ML Soto-Montenegro, MA Pozo. **presentado en julio de 2010.

MODIFICACIONES DE LA METODOLOGÍA Y PLAN DE TRABAJO SOBRE LOS PROYECTADOS Y SU JUSTIFICACIÓN:

Durante la realización del proyecto no ha habido modificaciones en la metodología ni en el plan de trabajo.

Sin embargo, hay que comentar que durante el año 2009 se produjo una pérdida del sistema de SPECT y de PET/CT, debido a un incendio. De modo que los estudios de PET/CT y de SPECT se han retrasado, habiendo terminado en este año todos los estudios PET/CT (puesto que la adquisición de este sistema se produjo en el mismo año 2009), pero no así los estudios de SPECT (cuya adquisición se ha producido durante el año 2010).

OBJETIVOS PLANTEADOS: (Transcribir los del proyecto original)

El objetivo general de este estudio es estudiar los efectos agudos, crónicos, y recuperación tras la administración de cocaína mediante distintas técnicas de imagen (PET, SPECT y RM). Se evaluarán los cambios del metabolismo cerebral de la glucosa y el daño producido en las neuronas dopaminérgicas teniendo en cuenta factores como sexo y tipo de droga administrada, cannabis y/o cocaína. Además, determinar si existe recuperación de las neuronas tras el daño inducido por cocaína.

Los objetivos concretos del estudio son:

1. Estudiar *in vivo* el efecto a corto y largo plazo de la cocaína sobre el metabolismo cerebral de la glucosa en función del sexo.
2. Estudiar *in vivo* el efecto a corto y largo plazo de la cocaína sobre los receptores de dopamina y el transportador DAT en función del sexo.
3. Comprobar la existencia de sensibilización inducida por cannabis.
4. Estudiar la duración de los daños ocurridos tras la administración cocaína.
5. Estudiar la posibilidad de reversibilidad de estos cambios cerebrales en relación con el sexo, gracias al diseño longitudinal no destructivo.

OBJETIVOS CONCRETOS ALCANZADOS: (Ordenar de igual forma que los planteados. En el caso de proyectos coordinados, el coordinador deberá describir además el desarrollo de la coordinación entre subproyectos en este año, y los resultados de dicha coordinación con relación a los objetivos globales del proyecto)

1. Durante este año del proyecto de investigación se ha terminado la realización de todos los estudios de imagen PET/CT y de Resonancia, de acuerdo al estudio randomizado de diseño de bloques para asignar los animales a los diferentes grupos de estudio (4 grupos x 2 sexos). Previo al inicio de los estudios de imagen, todos los animales se manipularon diariamente (*handling*) para habituar a los animales y evitar que el estrés generara falsos positivos durante los estudios PET.

Los grupos de estudio han sido los siguientes, donde figura el número de animales por grupo:

| Tratamiento | Machos | Hembras |
|---------------|--------|---------|
| VEH + salino | 6 | 8 |
| CP + salino | 6 | 6 |
| VEH + cocaína | 7 | 6 |
| CP + cocaína | 7 | 5 |

El agonista cannabinoide CP 55,940 (0.4 mg/kg) o su correspondiente vehículo (VH) [ethanol:cremophor:salino (1:1:18) (cremophor, Fluka BioChemiKa)] se administró diariamente i.p., desde el día 28 al 38 PN (11 inyecciones) en un volumen de 2 ml/kg. La dosis de CP se ha elegido basado en estudios previos (Biscaia et al. 2003).

La cocaína (5mg/kg) o salino se administra diariamente i.p. desde el día 100 al 121 PN. Este protocolo se ha elegido en función de estudios previos (Higuera-Matas et al. 2007).

La inyección del trazador FDG (~ 750 µCi) se realizó por la vena de la cola y tras un periodo de captación de 45 minutos, se procedió a realizar los estudios de imagen. Durante el periodo que dura la exploración, el animal estuvo anestesiado con isoflurano, que es un anestésico inhalatorio, de modo que su recuperación tras la anestesia se ve favorecida.

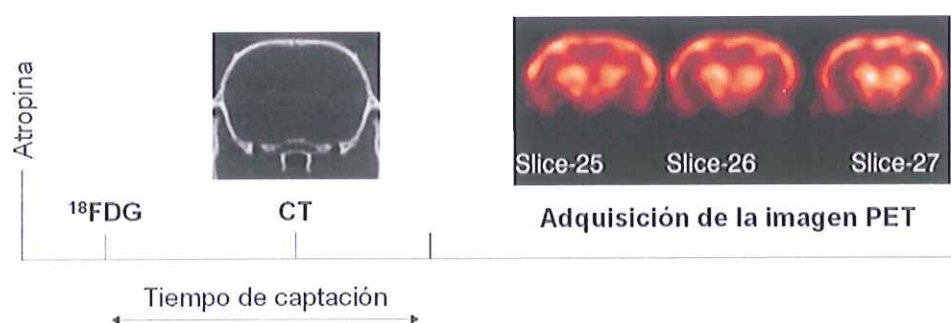


Figura 1. Esquema de la adquisición de las imágenes. Una vez transcurridos los 30 primeros minutos de captación del trazador FDG se procede a la adquisición de una imagen CT de duración aproximada de 20 minutos, tras lo cual se comienza el estudio PET.

Las imágenes de resonancia se han realizado en un macho y en una hembra para cada tiempo. Estas imágenes se han utilizado como plantilla anatómica donde se han dibujado las regiones de interés y además ha servido como plantilla para localizar las estructuras que han sido estadísticamente significativas en el estudio de SPM.

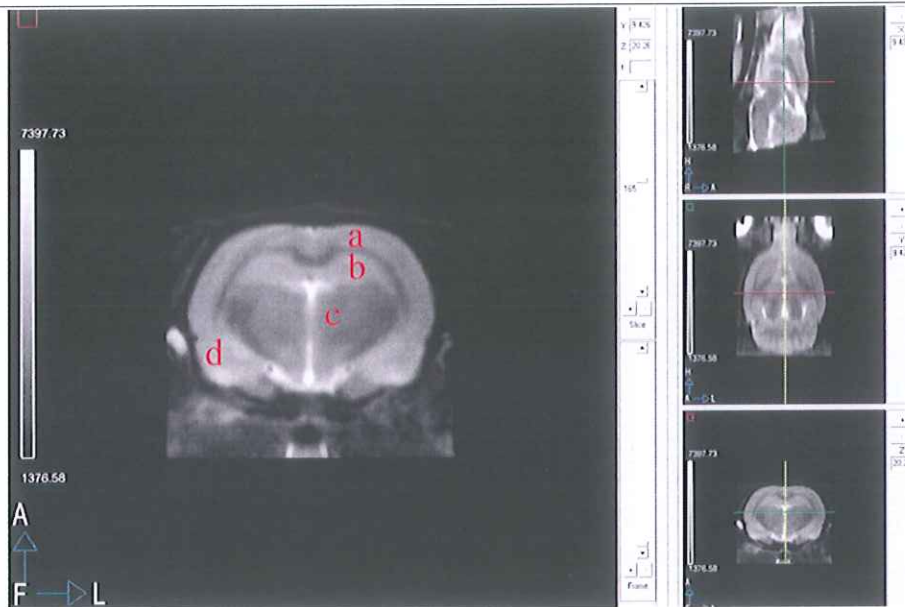


Figura 2. Imagen de resonancia. A la izquierda se presenta el corte axial, en ella se pueden diferenciar la corteza motora (a), hipocampo (b), tálamo (c) y amígdala (d). A la derecha, se muestran además del corte sagital, el corte coronal y axial de la imagen.

2. Tras la adquisición de los estudios de imagen se procede a la reconstrucción y procesamiento de las imágenes. Una vez adquiridas las imágenes de PET/CT, se procede a su co-registro con la imagen de resonancia (RM). Este tipo de imágenes de RM presenta una alta resolución espacial y gran detalle anatómico, lo que permite una delineación fidedigna de dichas estructuras. Este co-registro elimina las diferencias de tamaño, posicionamiento, orientación o incluso distorsión espacial entre ellos para poder realizar el análisis adecuado. Para ello se hizo necesario el desarrollo y adaptación del software existente para procesamiento de imagen multimodalidad en pequeño animal.

J Pascau, JD Gispert, M Michaelides, PK Thanos, ND Volkow, JJ Vaquero, M Soto-Montenegro, M Desco. "Automated method for small-animal PET image registration with intrinsic validation. *Molecular Imaging and Biology* 2009 Mar-Apr;11(2):107-13.

Abella M, Vaquero JJ, Soto-Montenegro ML, Lage E, Desco M. Sinogram bow-tie filtering in FBP PET reconstruction. *Med Phys.* 2009 May;36(5):1663-71.

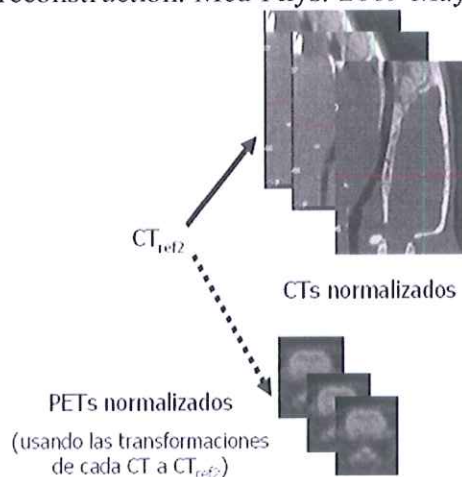


Figura 3. Esquema del procesado de las imágenes. Registro de los CTs y PETs para poder realizar el estudio de SPM y de ROIs

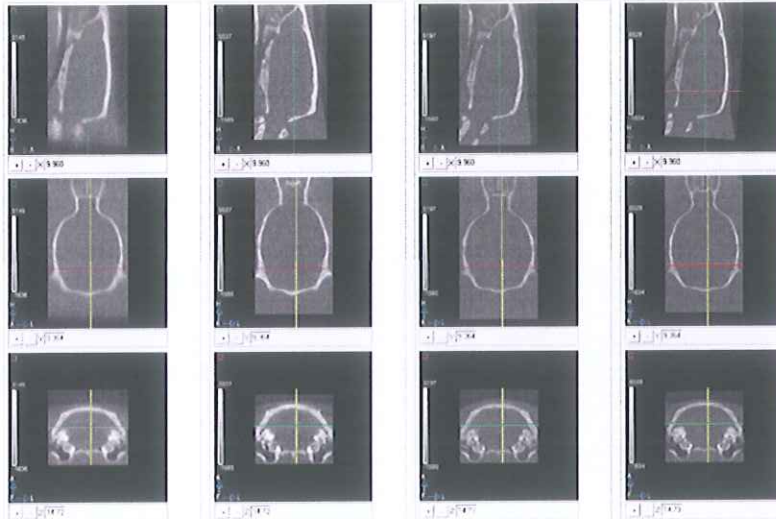


Figura 4. Comparación de las imágenes CT de todos los animales. A la izquierda se muestra el CT_{ref} . Las otras tres columnas muestran tres CT diferentes correspondientes a tres animales diferentes. Se comprobó que todos los CT están correctamente registrados al CT_{ref} .

Una vez registradas todas las imágenes se ha procedido al estudio de mapas paramétricos estadísticos (SPM), que es una técnica habitual en estudios clínicos con humanos, pero que ha tenido que ser adaptada en el caso de animal pequeño, como es nuestro caso (J Pascau et al 2009).

3. Efectos de la droga en el metabolismo cerebral de glucosa: Estudio de SPM

Hasta el momento se han analizado las imágenes de los machos y hembras correspondientes a día 0 (basal), día 1 (tras la administración de la droga durante 21 días) y día 2 (tras el período de extinción de otros 15 días). El resto de análisis comparativos se realizarán en lo que queda de este año y durante el primer trimestre del año 2011, por lo que la entrega completa de resultados de este estudio se realizará en el primer trimestre de 2011.

El análisis estadístico empleado ha consistido en un análisis de varianza (ANOVA) de tres factores fijos con medidas repetidas en uno de ellos: Pretratamiento (CP, VH), tratamiento (Salino, Cocaína) y día (factor intra-sujeto, niveles: Día 0, Día 1, Día 2). La matriz de diseño (especificación del modelo general lineal al cual se ajustan los valores de cada vóxel e implementada en SPM5 mediante la opción "Flexible Factorial") ha incluido también el factor sujeto y las interacciones dos a dos de los tres factores fijos mencionados anteriormente. Se ha considerado significativo para una $p < 0.005$ sin corregir y un tamaño de cluster de 20.

Hay que destacar que el estudio que hemos realizado presenta varias limitaciones. 1) Los resultados que se han obtenido mediante el estudio de mapas paramétricos estadísticos (SPM) son bastante inestables debido al bajo número de sujetos que se han empleado en este estudio. El modelo estadístico empleado de "Flexible Factorial" es muy complicado y requiere de un mayor número de animales para estimar mejor los estadísticos. Hemos obtenido diferencias significativas en ciertas regiones pero en muchos casos son muy sutiles.

Por todo ello, se hace necesario el análisis de regiones de interés (ROIs) que no implica un análisis vóxel a vóxel, como realiza SPM ya que el promedio de metabolismo cerebral en las regiones puede presentar menos variabilidad comparado con el valor de metabolismo cerebral de vóxeles individuales.

Para ello, primero se segmentarán las regiones de interés en la imagen de resonancia y después la máscara se superpondrá en la imagen de PET. 2) Debido al incendio producido en el año 2009, los estudios PET se han realizado en 3 máquinas diferentes, lo que nos ha obligado a tener que realizar una normalización en intensidad de las imágenes PET al nivel medio global de metabolismo cerebral en los sujetos. Con esta normalización mantenemos información a nivel regional, sin embargo perdemos la información a nivel global.

3.1 Estudiar in vivo el efecto a corto y largo plazo de la cocaína sobre el metabolismo cerebral de la glucosa en función del sexo

El análisis de SPM de los animales macho vehículo (sin pre-tratamiento con el derivado cannabinoide) que fueron tratados con cocaína en la etapa adulta presentan disminución en el metabolismo de la glucosa en el núcleo accumbens, septo hipocampal y área enthorinal izquierda, todas ellas, áreas relacionadas con el sistema de recompensa y de adicción a drogas; y que parece que recuperan valores normales tanto el septo hipocampal como el núcleo accumbens tras 15 días de extinción (Figura 5). Por otro lado, los animales mostraron hiperactivación en cerebelo tras la administración de la cocaína.

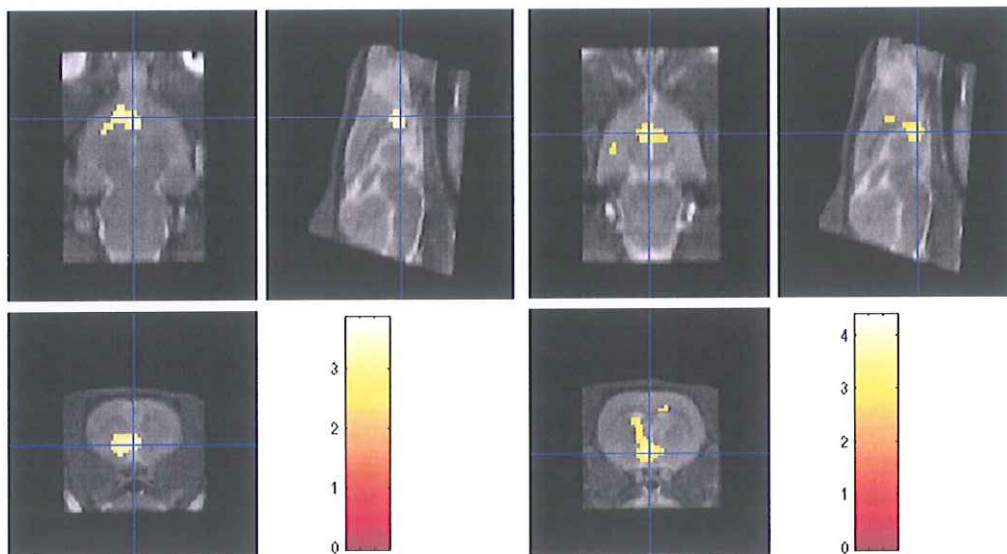


Figura 5. Izquierda: Estudio comparativo de SPM del grupo VH-salino a día 0 y VH-cocaína a día 1 en machos: corte coronal, sagital y axial del cerebro de rata donde se aprecia un hipometabolismo en el núcleo accumbens, área enthorinal izquierda y septo hipocampal. Derecha: Estudio comparativo de SPM del grupo VH-cocaína a día 1 y VH-cocaína a día 2 en machos: corte coronal, sagital y axial del cerebro de rata donde se aprecia un hipermetabolismo en el núcleo accumbens y septo hipocampal tras los 15 días de extinción ($p < 0.005$, $K = 20$).

En el caso de las hembras, el análisis de SPM de los animales vehículo (sin pre-tratamiento con el derivado cannabinoide) que fueron tratados con cocaína en la etapa adulta presentaron cambios significativos de hipoactivación en la amígdala (Figura 6), que forma parte del sistema límbico y con gran relevancia en la adicción a drogas. No encontramos diferencias significativas de aumento de metabolismo en ninguna región.

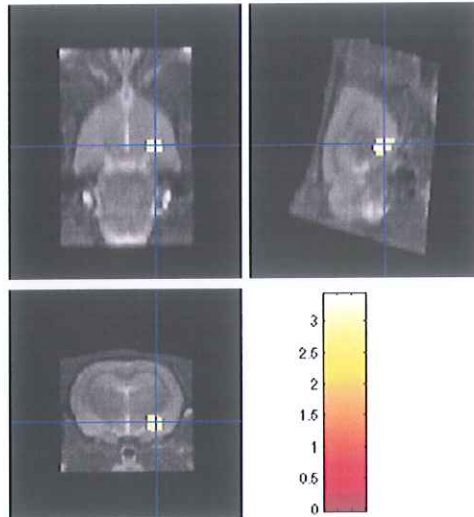


Figura 6. Estudio comparativo de SPM del grupo VH-salino a día 0 y VH-cocaína a día 1 en hembras: corte coronal, sagital y axial del cerebro de rata donde se aprecia un hipometabolismo en la amígdala izquierda tras la administración de cocaína ($p < 0.005$, $K = 20$).

Con el estudio longitudinal programado podremos determinar si existe o no reversión de las alteraciones que hemos observado.

3.2. Estudiar *in vivo* el efecto a corto y largo plazo de la cocaína sobre los receptores de dopamina y el transportador DAT en función del sexo

Debido al incendio producido en el año 2009 y la adquisición de un nuevo sistema SPECT durante el año 2010, los estudios de SPECT se han retrasado. Durante este año hemos realizado las oportunas calibraciones del sistema y hemos realizado varias pruebas en animales control sin ningún tipo de tratamiento, del mismo peso y edad que los incluidos en el presente estudio, con el trazador propuesto [^{123}I]ioflupano (DaTSCAN, GE Healthcare). Ioflupano es un radioligando del transportador de dopamina (DaT) que es capaz de detectar pérdida funcional de las terminaciones dopaminérgicas.

En la figura 7 se observan los cortes sagital, coronal y axial de un cerebro de un animal al que se le ha inyectado este trazador y co-registrado con su correspondiente estudio de resonancia. Se puede apreciar una hipercaptación del trazador a nivel de los caudados, región con alta densidad de DaT.

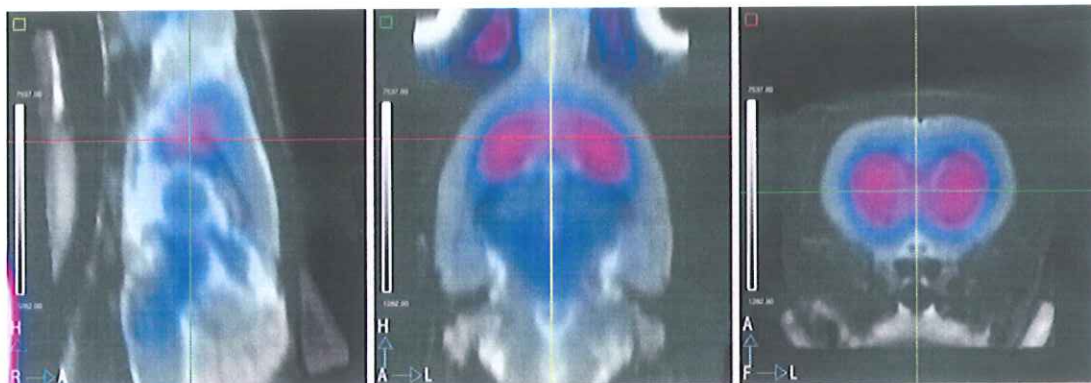


Figura 7. Estudio de [^{123}I]ioflupano (DaTSCAN) en un animal control.

3.3. Comprobar la existencia de sensibilización inducida por cannabis

El análisis de SPM de los animales machos que fueron tratados en la adolescencia con el derivado cannabinoide muestran diferencias significativas de aumento de metabolismo de la glucosa en el hipocampo, tronco y corteza frontal (Figura 8) a nivel basal (día 0 de imagen) comparado con los animales tratados con vehículo. No se observan diferencias de hipometabolismo de la glucosa en los animales tratados con el derivado cannabinoide.

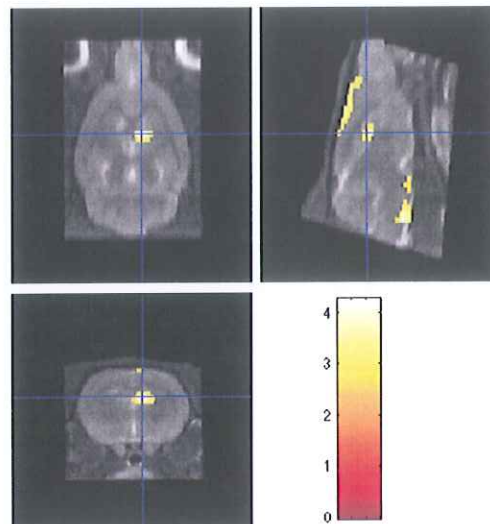


Figura 8. Estudio comparativo de SPM del grupo CP-salino a día 0 y VH-salino a día 0 en machos: corte coronal, sagital y axial del cerebro de rata donde se aprecia un hipermetabolismo en corteza frontal, hipocampo izquierdo y tronco ($p < 0.005$, $K = 20$).

En el caso de las hembras, el análisis de SPM de los animales que fueron tratados en la adolescencia con el derivado cannabinoide muestran diferencias significativas de aumento de metabolismo de la glucosa en corteza somatosensorial derecha y tálamo medio (Figura 9) a nivel basal (día 0 de imagen) comparado con los animales tratados con vehículo. Tampoco se observan diferencias de hipometabolismo de la glucosa en los animales tratados con el derivado cannabinoide, al igual que en los machos.

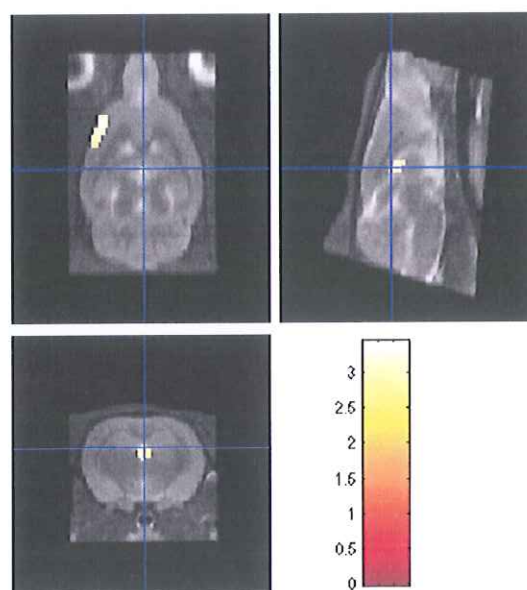


Figura 9. Izquierda: Estudio comparativo de SPM del grupo CP-salino a día 0 y VH-salino a día 0 en hembras: corte coronal, sagital y axial del cerebro de rata donde se aprecia un hipermetabolismo en corteza somatosensorial y tálamo medio ($p < 0.005$, $K = 20$).

Con el estudio longitudinal programado podremos determinar si existe o no reversión de la alteración que hemos observado.

Con respecto a la posible influencia del pre-tratamiento con un derivado cannabinoide durante la adolescencia en el metabolismo cerebral de animales adultos que han sido sometidos a administración de cocaína, sigue en estudio. Estos datos se entregarán en el informe final entregado dentro primer trimestre de 2011.

3.4. Estudiar la duración de los daños ocurridos tras la administración cocaína

Estos resultados se incluirán en el informe que entregaremos con todos los resultados durante el primer trimestre de 2011.

3.5. Estudiar la posibilidad de reversibilidad de estos cambios cerebrales en relación con el sexo, gracias al diseño longitudinal no destructivo

Estos resultados se incluirán en el informe que entregaremos con todos los resultados durante el primer trimestre de 2011.

4. Efectos de la droga en el metabolismo cerebral de glucosa: Estudio de regiones de interés (ROIs) en la imagen de resonancia

El estudio de ROIs requiere en primer lugar la segmentación de las regiones de interés en la imagen de resonancia y después la máscara se superpondrá en la imagen de PET. Un paso más será el de registrar nuestra Resonancia con el Atlas de Schwarz*, que se trata de una reconstrucción volumétrica del Atlas del cerebro de rata de Paxinos y Watson. Una vez segmentado el template del Atlas de Schwarz se podrá extrapolar a nuestra resonancia y a nuestro PET, de manera que de una manera automática tengamos segmentados los volúmenes de nuestras estructuras. Es en este estado en el que nos encontramos ahora.

**A stereotaxic MRI template set for the rat brain with tissue class distribution maps and co-registered anatomical atlas: Application to pharmacological MRI. Schwarz et al. NeuroImage 32 (2006) 538 – 550.*

Para verificar la reproducibilidad en la localización de las ROIs seleccionadas, dos individuos han dibujado las mismas ROIs en la resonancia de cada animal y se han comparado los resultados, calculando así la variabilidad inter-individuo. Hemos calculado el porcentaje de solapamiento entre un operador y otro, obteniendo ambos un porcentaje mayoritario de solapamiento entre el 80 y 90% para las estructuras de corteza, hipocampo y cerebelo

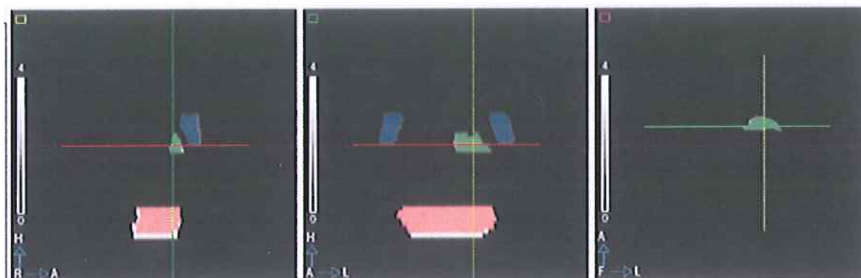


Figura 10: Corte axial, coronal y sagital donde se puede ver segmentada la corteza (azul), hipocampo dorsal (verde) y cerebelo (rojo). Se observa que el solapamiento entre unas estructuras y otras es muy alto.

Por otro lado, también se han dibujado las mismas ROIs en la resonancia de un solo individuo, y se han llevado estas máscaras a las imágenes PET de los diferentes animales para verificar que con una sola máscara dibujada se puede trasladar al resto de las imágenes; además hay que comprobar que la localización es correcta.

En la siguiente tabla se muestra el cálculo de diferencias en actividad en % (mean/cc) en cuatro animales hembras y 3 animales macho entre la utilización de una máscara común para todas ellas (lo que denominaríamos método semi-automático de segmentación) o la utilización de una máscara segmentada para cada animal (método manual de segmentación). Observamos que las diferencias en actividad son bastante bajas. Tan sólo encontramos mayores diferencias en corteza, y éstas se encuentran por debajo del 4%. Es probable que se deban a las diferencias en el tamaño de vóxel entre la imagen de resonancia y la de PET. Nos proponemos en un siguiente paso realizar un cambio en el tamaño de vóxel de las imágenes y realizar comparativa.

| | corteza | hipocampo | tálamo | caudado-putamen |
|-----|-------------|-------------|-------------|-----------------|
| h22 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| h23 | 2,801721886 | -1,1927331 | -0,3424102 | 0,368780092 |
| h25 | 3,168628991 | -0,90463808 | -0,31776236 | -1,004446111 |
| h26 | 2,433138067 | 0,180732668 | -1,22547325 | -2,307329555 |
| m22 | 1,840290767 | 1,302139363 | -1,29232916 | -2,851075286 |
| m23 | 4,366680379 | -0,1974966 | -0,24377313 | -0,440685385 |
| m26 | 2,439919079 | -0,23566417 | -0,95650117 | -2,942970119 |

Los resultados finales del análisis de ROIs se incluirán en el informe que entregaremos con todos los resultados durante el primer trimestre de 2011.

APLICABILIDAD Y UTILIDAD PRÁCTICA DE LOS RESULTADOS EN EL ÁREA DE LAS DROGODEPENDENCIAS. (En caso de memoria final)

El principal interés científico de este estudio es la posibilidad de extrapolar estos resultados de forma fidedigna a humanos. La posibilidad del empleo combinado de tres técnicas de imagen ofrece la ventaja de ser un trabajo pionero en el campo de la evaluación longitudinal en el uso prolongado de drogas. Hay que destacar que los estudios realizados con humanos presentan la limitación de no conocer exactamente la cantidad de droga consumida (las cantidades se miden por lo que los sujetos pagaron por la droga, sin conocer su pureza) y el tiempo real transcurrido desde el último consumo. Otro aspecto importante es la reversibilidad de estos efectos dependiendo de la cantidad consumida, para ello deberían acometerse estudios longitudinales, con todos los problemas éticos que conlleva su realización con humanos.

Mediante este estudio se pretende evaluar las diferencias regionales del cerebro tras la administración de cannabis y/o cocaína y el estudio de su interacción explotando las características que aporta cada una de las tres técnicas, PET, SPECT y RM como herramientas funcionales y RM además como herramienta estructural.

El trabajo realizado en ratas ayudará a discernir y evaluar las anomalías cerebrales producidas por administración de ambas droga. Además, teniendo en cuenta que la vida media de una rata (3.5–4 años) y extrapolando al humano (75–80 años), un estudio de 16 semanas equivaldría al seguimiento del estudio de aproximadamente a 5 años, tiempo suficiente para comprobar si existe o no reversión de los daños cerebrales producidos.

Por otro lado, este estudio permitirá la optimización de los protocolos de adquisición, definiendo las mejores técnicas que pueden ser utilizadas en futuros estudios relacionados con drogodependencias y abuso de drogas.

El conocimiento de las variables asociadas a la falta de reversibilidad de los cambios cerebrales observados después del consumo de cocaína tiene una gran utilidad en las campañas de prevención e información que se hagan de la droga y por lo tanto son capitales para las políticas de salud pública.

PATENTES U OTROS RESULTADOS EXPLOTABLES COMERCIALMENTE QUE SEAN CONSECUENCIA DEL PROYECTO. (En caso de memoria final)

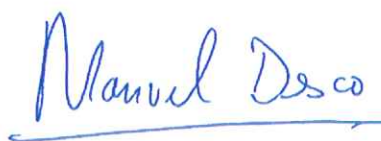
OTRAS CONSIDERACIONES QUE SE DESEE HACER CONSTAR.

Colaboraciones: Durante el proyecto se ha conseguido la colaboración de diferentes grupos:

- Dr. Emilio Ambrosio, Departamento de Psicobiología de la UNED.
- Dr. Ignacio Casals. Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas (CNIO).
- Dr. Mariano Barbacid. Centro Nacional Investigaciones Oncológicas (CNIO).
- Dra. Raquel Ábalo, Universidad Rey Juan Carlos, Madrid.
- Dra. María L de Ceballos. Instituto Cajal, CSIC, Madrid.
- Dr. Juan Antonio Micó, Departamento de Neurociencia, Universidad de Cádiz.
- Dr. Julian Scott, Hospital Nacional de Paraplégicos de Toledo.
- Dr. Evan Balaban. McGill University, Montreal, Canadá.
- Dr. José María Zubeldia. Laboratorio de Alergia. Unidad de Medicina y Cirugía Experimental. HGUGM.

En Madrid a 7 de diciembre de 2010

FIRMA



Manuel Desco Menéndez
Investigador principal