



ORIGINAL/Sección Biológica

El envejecimiento y la ovariectomía causan una disminución del consumo cerebral de glucosa *in vivo* en ratas Wistar

Raúl López-Grueso, Consuelo Borrás, Juan Gambini y José Viña *

Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad de Valencia, Valencia, España

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 2 de noviembre de 2009

Aceptado el 15 de diciembre de 2009

On-line el 4 de marzo de 2010

Palabras clave:

Tomografía por emisión de positrones

Hembras

Envejecimiento

Metabolismo cerebral

Estrógenos

RESUMEN

Introducción: La esperanza de vida de la población ha ido incrementándose en el siglo xx en ambos sexos. La supervivencia de las mujeres ha sido siempre mayor respecto a los hombres, aunque estas diferencias de longevidad se reproducen en otras especies animales, como las ratas. Debe existir alguna base biológica que sustente dichas diferencias entre sexos, las cuales pueden ser explicadas por la acción de los estrógenos, ya que la ovariectomía (OVX) anula las ventajas en el sexo femenino asemejándolo al masculino.

Objetivos: Nuestros objetivos fueron estudiar el consumo cerebral de glucosa *in vivo* en ratas hembras Wistar jóvenes y viejas (V), además de evaluar el efecto de la OVX sobre dicha captación cerebral de glucosa.

Material y métodos: Usamos ratas hembras Wistar, divididas en grupos jóvenes (4–7 meses), jóvenes Control (Sham), ovariectomizadas (3 y 6 semanas) y V (22–24 meses). Tras la administración intravenosa de 18F-fluorodeoxiglucosa se midió la captación de glucosa cerebral *in vivo* mediante tomografía por emisión de positrones.

Resultados: Se produjo una disminución significativa en el consumo cerebral de glucosa en las ratas V respecto a las jóvenes. Resultados similares hallamos en la captación de glucosa entre las ratas Control y ovariectomizadas de 3 y de 6 semanas.

Conclusiones: El envejecimiento produce una disminución en el metabolismo cerebral de glucosa. La OVX reduce el consumo cerebral de glucosa significativamente respecto a las ratas Control de manera similar al envejecimiento.

© 2009 SEGG. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

Aging and ovariectomy cause a decrease in brain glucose consumption *in vivo* in Wistar rats

ABSTRACT

Introduction: The life expectancy of the population has been increased steadily over the twentieth century in both genders. The survival of women has always been higher compared to men and these differences in longevity are reproduced in other animal species such as rats.

There must be some biological basis to support the differences in longevity between males and females. Differences can be explained by the effects of estrogens because ovariectomy cancels out the benefits shown in females compared to males.

Aim: Our aims were to study the cerebral glucose consumption *in vivo* in young and old female Wistar rats and evaluate the effect of ovariectomy on the brain glucose uptake.

Material and methods: We used female Wistar rats, divided into young (4–7 months), young control (Sham) and ovariectomized (3 or 6 weeks) and old (22–24 months) groups. After intravenous administration of 18F-fluorodeoxyglucose (FDG) the cerebral glucose uptake was measured *in vivo* by Positron Emission Tomography (PET).

Results: There was a significant decrease in cerebral glucose consumption in old rats compared with young rats. Similar results were found in glucose uptake when comparing control rats with ovariectomized rats, i.e., ovariectomy significantly reduces the brain glucose consumption.

Conclusions: Aging causes a decrease in cerebral glucose metabolism. Ovariectomy reduces cerebral glucose consumption significantly compared to control rats and is similar to the old group.

© 2009 SEGG. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Keywords:

Positron emission tomography

Females

Aging

Cerebral Metabolism

Estrogens

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: jose.vina@uv.es (J. Viña).

Introducción

Es un hecho contrastado que las hembras viven más que los machos en muchas especies, incluida la humana^{1,2}. Nuestro interés es estudiar los mecanismos por los cuales las hembras de muchas especies viven un 10% más que los machos¹. Esto tiene una gran importancia desde el punto de vista teórico como práctico. Desde el punto de vista teórico, el hecho de que en la misma especie solo la diferencia de sexo determine una diferencia de longevidad del 10%, nos permitirá entender mecanismos básicos de envejecimiento.

Por otro lado, el interés práctico de estos estudios es encontrar alguna sustancia que permita alargar la vida a la población masculina.

Basándonos en la acción favorable de los estrógenos y, en concreto, a su interacción con los receptores estrogénicos, las MAP kinasas, el factor nuclear kappa B y la expresión de genes antioxidantes, asociadas a la longevidad, podemos trazar una posible vía^{1,3-8}.

En las últimas décadas, a través de los equipos de tomografía de emisión de positrones (PET) y los diferentes radiofármacos (como el análogo de la glucosa, la 18F-fluorodesoxiglucosa [18F-FDG]) podemos realizar estudios *in vivo*, no invasivos, para ver cómo afecta el envejecimiento al cerebro humano y al de animales de experimentación⁹⁻¹⁷.

De hecho, y por ser la glucosa (en esta técnica, la 18F-FDG) uno de los principales sustratos energéticos del organismo, la 18F-FDG ha sido y es la más común entre los diferentes radiofármacos, y es aceptado para detectar y para valorar los procesos tumorales, así como la enfermedad de Alzheimer en humanos y otra multitud de investigaciones en animales.

Esta tecnología se basa en evaluar qué áreas cerebrales se ven afectadas en su función, tanto en estudios longitudinales^{18,19} como valorando las pautas temporales de dichos cambios.

Han sido varios los estudios llevados a cabo en los que se ha demostrado que la captación de glucosa disminuye a medida que el cerebro envejece^{20,21}. Además, también se ha observado que el descenso en el consumo de glucosa se relaciona con un mayor estrés oxidativo, como ha publicado nuestro grupo recientemente¹⁷.

Incluso en aquellas poblaciones con una mayor longevidad (japoneses) se ha confirmado este declinar de la función metabólica cerebral²².

El estudio de aquellas áreas cerebrales que se ven alteradas en su funcionamiento con el paso de la edad²⁰⁻²² y en situaciones patológicas (enfermedad de Alzheimer, etc.)^{23,24} nos permite conocer realmente cómo se modula la actividad cerebral en el envejecimiento^{15,20}. Asimismo, resulta interesante el estudio del metabolismo cerebral de la glucosa en una situación como la menopausia, a partir de la cual se incrementa la incidencia de enfermedades en la mujer, como la enfermedad de Alzheimer, sobre todo en el caso de que haya historia materna de dicha enfermedad^{25,26}.

El objetivo, por tanto, de este estudio fue evaluar el efecto del envejecimiento sobre la captación cerebral de glucosa *in vivo* en ratas y tras la inducción de la menopausia (por medio de la ovariectomía [OVX]).

Material y métodos

Animales de experimentación. Se emplearon ratas Wistar hembras de edades comprendidas entre 4-7 meses para los grupos Control (Sham) y OVX, y entre 22-24 meses para el grupo de ratas viejas (V). El estudio se realizó de acuerdo con lo establecido en el Real Decreto 1201/2005, del 10 de octubre, sobre protección de los animales utilizados para experimentación y otros fines científicos (BOE, 21 de octubre de 2005).

Los animales se mantuvieron en el animalario de la Unidad Central de Investigación de la Facultad de Medicina, bajo condiciones de temperatura ($23 \pm 1^\circ\text{C}$), humedad relativa (60%) y ciclos de luz/oscuridad (12/12 h) constantes. Se alimentaron con una dieta de laboratorio estándar (que contenía 590 g de carbohidratos, 30 g de lípidos y 160 g de proteínas por kilogramo de dieta) y agua del grifo sin restricción en la ingesta.

Los animales se dividieron en los siguientes grupos de experimentación: control (Sham), a los que se realizó la cirugía de manera similar a los grupos de OVX, pero sin llegar a retirar los ovarios. Los animales se sacrificaron tres semanas después de realizar la OVX (grupo OVX 3, n = 5) o tras seis semanas (grupo OVX 6, n = 5); ratas hembras viejas (grupo V, n = 5).

La OVX se llevó a cabo cuando las hembras tenían entre 4 y 7 meses de vida. Para ello, se anestesiaron mediante la administración de isoflurano vaporizado con oxígeno al 2% (Isoflo[®], Veterinaria Esteve).

Tras anestesiar a los animales se realizaron 2 pequeñas incisiones longitudinales (8 mm) en el lomo de las ratas, a unos 2 cm de la línea media a través de la piel y la pared muscular. Una vez localizados los ovarios, se ató firmemente una sutura de seda (Silkam[®], Braun-Aesculap, Alemania) alrededor del oviducto y los vasos sanguíneos ováricos, seccionando después el oviducto distalmente a la sutura y extrayendo los ovarios. Al grupo control (Sham) se le realizó el mismo procedimiento, pero sin llegar a retirarle los ovarios.

A continuación, se suturó la pared muscular con una sutura sintética reabsorbible (Safil[®], Braun-Aesculap, Alemania) y se cerró la piel con grapas metálicas (Medicon, Instrumente, Alemania). Todos los animales recibieron analgesia postoperatoria mediante 0,1 ml de ketoprofeno (Ketofen[®] al 1%, Merial, Francia) durante la recuperación anestésica.

Imagen cerebral. Estudio del consumo de glucosa *in vivo* mediante PET en ratas. Entre 3-5 días antes del sacrificio de cada grupo de animales, se procedió a realizar en cada uno de ellos un estudio PET (Albira small animal PET, Oncovision, GEM-Imaging) de cuerpo completo, utilizando como radiotrazador la 18F-FDG. La 18F-FDG fue sintetizada siguiendo el protocolo de Hamacher²⁷. Se mantuvo a los animales entre 8-14 h en ayuno antes de anestesiarnos, inyectarles a través de la vena safena el radiotrazador (30-40 MBq) e introducir al animal en la cámara PET. Se realizó un protocolo dinámico de adquisición de eventos por secuencias de 1, 2 y 5 min hasta completar un período de distribución del radiotrazador por todo el cuerpo de 30 min. Seguidamente, el escáner inicia automáticamente otra adquisición dinámica por secuencias, hasta completar 20 min, que será la medida tomada para cuantificar el consumo cerebral de glucosa de cada animal estudiado.

Posteriormente, tras finalizar el estudio, los animales se mantuvieron 12 h en sus jaulas con comida y agua *ad libitum* para eliminar cualquier traza de radiactividad residual, antes de devolverlos a las jaulas con el resto de su grupo.

Análisis de imágenes. El archivo de datos de cada adquisición es reconstruido por el *software* que proporciona la casa comercial del aparato, mediante un algoritmo MLEM de 12 iteraciones en el cual se hace una corrección por decaimiento (puesto que la FDG tiene una vida media de 109,8 min). No se hizo corrección por coincidencias aleatorias, dispersión y atenuación.

Tras reconstruir el archivo de datos se genera un archivo de imagen «img.hdr», que se utiliza para cuantificar las regiones de interés o volúmenes de interés (VOI). En nuestro estudio se ha analizado el volumen cerebral de cada rata por completo, por lo que se realizó un VOI en el cual quedaba excluida la parte correspondiente al cerebelo y el resto de las regiones con hipercaptación de la cabeza, como las glándulas de Harder.

El VOI construido para cada cerebro es analizado mediante el software comercial PMOD 2.8 (2006, Suiza). La actividad cuantificada en cada uno de los VOI analizados es la suma de todos los eventos captados por cada uno de ellos en ese período de tiempo (20 min) expresada en milicurios por unidad de volumen (cm^3). Esta captación de FDG (standardized uptake value [SUV]) es corregida por la dosis inyectada y el peso del animal (g) mediante la siguiente fórmula:

$$\text{SUV} = \frac{\text{actividad captada en el volumen de interés (mCi/cm}^3) \times \text{peso (g)}}{\text{ID (mCi)}}$$

$$\text{SUV} = \frac{\text{VOI} \times \text{Peso}}{\text{ID}} = \frac{(\text{mCi/cm}^3) \times \text{g}}{\text{mCi}}$$

SUV: standardized uptake value. ID: injected dose. mCi: milicurio.

Análisis estadístico de los resultados. Para el análisis estadístico de los resultados, primero se realizó un análisis de la varianza. La hipótesis nula fue aceptada para todos los valores de aquellos grupos en los cuales F no fue significativa para un valor $p \leq 0,05$. Luego, el grupo de datos para los que F fue significativa fueron analizados por el test de la t de Student. La simbología empleada en el presente trabajo es la siguiente: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

Resultados

En la figura 1 se muestra el consumo cerebral de glucosa *in vivo* de ratas jóvenes (4–7 meses) y V (22–24 meses) y, como se puede comprobar, este disminuye significativamente con la edad ($3,9 \pm 1,43$ vs. $1,99 \pm 1,66$ SUV; $p < 0,05$). El cerebro de las ratas jóvenes consume alrededor del doble de glucosa en comparación con las ratas V. Por tanto, el envejecimiento interfiere con el consumo cerebral de glucosa en las ratas.

La figura 2 muestra el consumo cerebral de glucosa *in vivo* del grupo de ratas con OVX 3 y su disminución respecto al grupo

Control ($3,9 \pm 1,43$ vs. $0,94 \pm 0,23$ SUV; $p < 0,01$). Así pues, la OVX disminuye el consumo cerebral de glucosa.

A continuación, cuando se compara el efecto de la OVX 3 con el grupo de ratas V y el de ratas Control se puede observar (fig. 3) cómo el consumo cerebral de glucosa *in vivo* está disminuido en el grupo de OVX 3 y de ratas V respecto al grupo control ($3,9 \pm 1,43$ y $0,94 \pm 0,23$ SUV [$p < 0,01$] vs. $1,99 \pm 1,66$ SUV [$p < 0,05$]). Así pues, la OVX ejerce un efecto similar al envejecimiento.

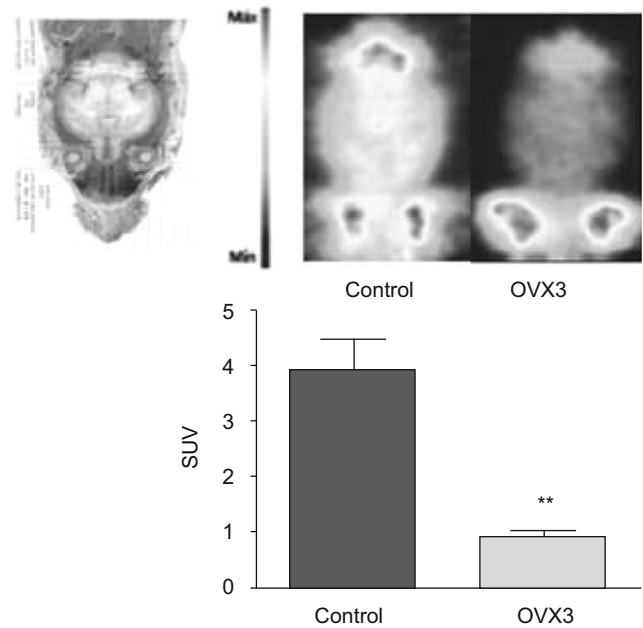


Figura 2. Consumo cerebral de glucosa *in vivo* en ratas jóvenes (4–7 meses) y OVX 3. Imagen coronal del cerebro (intensidad expresada como «máxima captación por corte»). Metabolismo cerebral de glucosa (18F-FDG) expresado como standardized uptake value (SUV). Valores expresados como media \pm SD (n=6). La diferencia estadística está expresada como ** $p < 0,01$ vs. control.

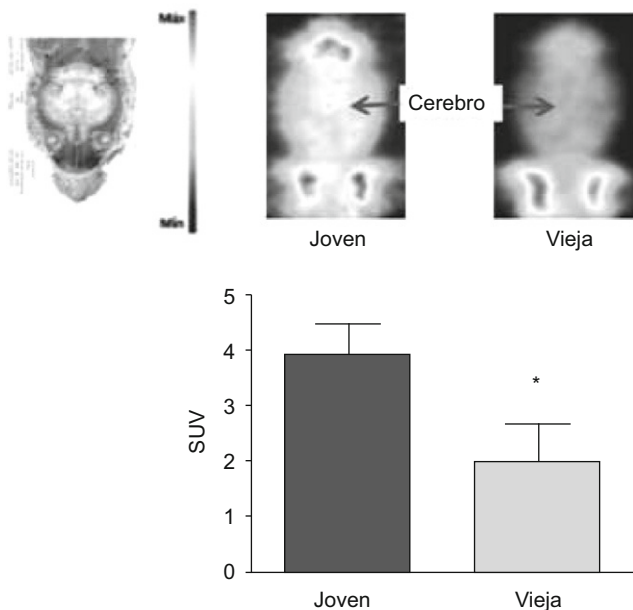


Figura 1. Consumo cerebral de glucosa *in vivo* en ratas jóvenes (4–7 meses) y viejas (22–24 meses). Imagen coronal del cerebro (intensidad expresada como «máxima captación por corte»). Metabolismo cerebral de glucosa (18F-FDG) expresado como standardized uptake value (SUV). Valores expresados como media \pm SD (n=6). La diferencia estadística está expresada como * $p < 0,05$ vs. control.

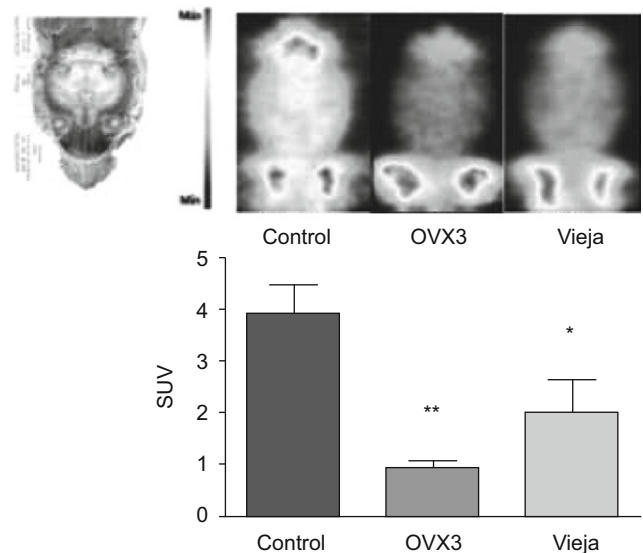


Figura 3. Consumo cerebral de glucosa *in vivo* en ratas jóvenes (4–7 meses), OVX 3 y viejas (22–24 meses). Imagen coronal del cerebro (intensidad expresada como «máxima captación por corte»). Metabolismo cerebral de glucosa (18F-FDG) expresado como standardized uptake value (SUV). Valores expresados como media \pm SD (n=6). La diferencia estadística está expresada como * $p < 0,01$; ** $p < 0,05$ vs. control.

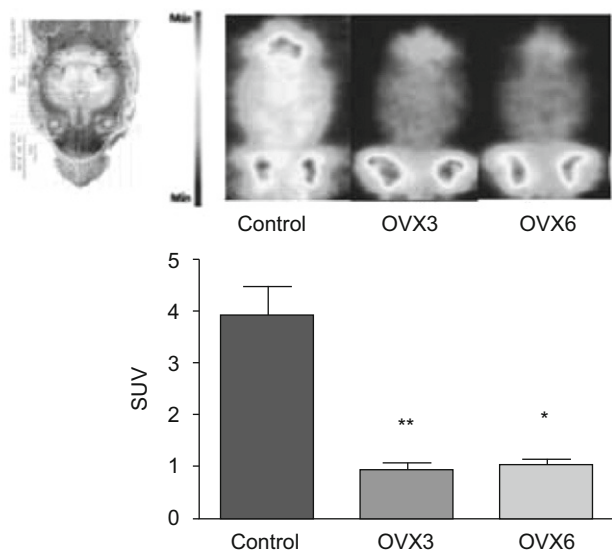


Figura 4. Consumo cerebral de glucosa *in vivo* en ratas jóvenes (4-7 meses), ovariectomizadas durante 3 y 6 semanas (OVX 3 y OVX 6). Imagen coronal del cerebro (intensidad expresada como «máxima captación por corte»). Metabolismo cerebral de glucosa (18F-FDG) expresado como standardized uptake value. Valores expresados como media \pm SD (n=6). La diferencia estadística está expresada como **p < 0,01; *p < 0,05 vs. control.

Con los anteriores resultados veíamos el efecto que producía la OVX, es decir, la inducción de la menopausia en ratas a corto plazo (3 semanas). Con los siguientes grupos (OVX 6) vemos que dicho efecto negativo sobre el consumo cerebral de glucosa *in vivo* se mantiene disminuido si este período de OVX se alarga en el tiempo (6 semanas [fig. 4]).

En dichas gráficas observamos que esta disminución es consistente y representa un cambio significativo del grupo de OVX 6 respecto al grupo control ($3,9 \pm 1,43$ vs. $1,06 \pm 0,17$ SUV; $p < 0,05$), al igual que con el grupo de OVX 3 ($3,9 \pm 1,43$ vs. $0,94 \pm 0,23$ SUV; $p < 0,01$ con el grupo de OVX 6 (vs. $1,06 \pm 0,17$ SUV; $p < 0,05$); con el grupo de ratas V (vs. $1,99 \pm 1,66$ SUV; $p < 0,05$). Así pues, tras 6 semanas de OVX no se produce ninguna recuperación del consumo cerebral de glucosa, por tanto, no hay ninguna adaptación.

Discusión

Desde hace más de 2 décadas se están llevando a cabo estudios en los que se analiza y se evalúa el consumo metabólico de glucosa a nivel fisiológico y/o fisiopatológico con la técnica de PET^{28,29}, sobre todo en los cambios que acontecen con el envejecimiento⁹⁻¹⁴.

Los equipos de PET han ido evolucionando y perfeccionándose cada vez más, tanto en su tecnología y programas informáticos como en la planificación de los estudios y el análisis de sus resultados. Sin embargo, hoy día se plantean aún dudas respecto a la metodología que se usa para extraer los resultados^{30,31}, el manejo de los animales en dichos estudios^{32,33}, etc.

Existen muchos estudios que relacionan el consumo cerebral de glucosa con diversas enfermedades relacionadas con el envejecimiento, especialmente la enfermedad de Alzheimer²³⁻³⁴.

Como publicó recientemente nuestro grupo, se da una correlación en el envejecimiento entre un mayor estrés oxidativo y una disminución en el consumo cerebral de glucosa¹⁷.

Nuestro objetivo en este estudio fue evaluar el consumo cerebral de glucosa en ratas Wistar entre jóvenes y V, para

corroborar ese dato publicado en ratones de un modelo de envejecimiento acelerado. Pero también, analizar si la inducción de la menopausia en ratas mediante la OVX provocaba un descenso en el consumo cerebral de glucosa, puesto que son bastantes los estudios que abogan por el uso de estrógenos en mujeres posmenopáusicas para revertir el efecto negativo de la menopausia en el consumo cerebral de glucosa, especialmente relacionado con aquellas áreas afectadas en la enfermedad de Alzheimer³⁵.

Como muestran nuestros resultados, en primer lugar hay un descenso con el envejecimiento sobre el consumo cerebral de glucosa en ratas hembra. Dato que confirma que el metabolismo cerebral se ve afectado con el envejecimiento no sólo en animales¹⁷, sino también en humanos²².

Además, se observa como la OVX de 3 y de 6 semanas en ratas hembra produce un descenso global en el consumo cerebral de glucosa, similar a las ratas V.

Estos datos parecen señalar la menopausia como un periodo crítico en el cambio que se produce en el metabolismo cerebral de las hembras.

Así, actualmente estamos realizando estudios para ver el efecto de la administración de estrógenos y su efecto sobre ratas ovariectomizadas, ya que se hacen necesarios estudios para analizar si se revierte el efecto de la menopausia, se relaciona con la longevidad, la aparición de enfermedades neurodegenerativas, tumores y otras patologías de alta prevalencia en el organismo envejecido.

Financiación

El trabajo de los autores está financiado por el proyecto SAF 2004-03755 a José Viña y por la beca BES-2005-9599 a Raúl López Grueso.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

- Borrás C, Sastre J, García-Sala D, Lloret A, Pallardó FV, Viña J. Mitochondria from females exhibit higher antioxidant gene expression and lower oxidative damage than males. *Free Radic Biol Med.* 2003;34:546-52.
- Fernández-Ballesteros R, Díez-Nicolás J, Ruíz-Torres A. *Spain Aging in Europe*. En: Schroots J, Fernández Ballesteros R, Rudinger G, editores. IOS Press, Amsterdam, Berlín, Oxford, Tokyo, Washington DC. 1999; 107-121.
- Viña J, Sastre J, Pallardó F, Borrás C. Mitochondrial theory of aging: Importance to explain why females live longer than males. *Antioxid Redox Signal.* 2003;5:549-56.
- Viña J, Borrás C, Gambini J, Sastre J, Pallardó FV. Why females live longer than males? Importance of the upregulation of longevity-associated genes by oestrogenic compounds. *FEBS Lett.* 2005;579:2541-5.
- Viña J, Borrás C, Gambini J, Sastre J, Pallardó FV. Why females live longer than males: Control of longevity by sex hormones. *Sci Aging Knowledge Environ.* 2005;23:pe17.
- Viña J, Sastre J, Pallardó FV, Gambini J, Borrás C. Role of mitochondrial oxidative stress to explain the different longevity between genders: Protective effect of estrogens. *Free Radic Res.* 2006;40:1359-65.
- Borrás C, Gambini J, Viña J. Mitochondrial oxidant generation is involved in determining why females live longer than males. *Front Biosci.* 2007;12:1008-13.
- Viña J, Sastre J, Pallardó FV, Gambini J, Borrás C. Modulation of longevity-associated genes by estrogens or phytoestrogens. *Biol Chem.* 2008;389:273-7.
- Kushner M, Tobin M, Alavi A, Chawluk J, Rosen M, Fazekas F, et al. Cerebellar glucose consumption in normal and pathologic states using fluorine-FDG and PET. *J Nucl Med.* 1987;28:1667-70.
- Loessner A, Alavi A, Lewandrowski KU, Mozley D, Souder E, Gur RE. Regional cerebral function determined by FDG-PET in healthy volunteers: Normal patterns and changes with age. *J Nucl Med.* 1995;36:1141-9.

11. Ishii K, Sasaki M, Kitagaki H, Yamaji S, Sakamoto S, Matsuda K, et al. Reduction of cerebellar glucose metabolism in advanced Alzheimer's disease. *J Nucl Med.* 1997;38:925–8.
12. Garraux G, Salmon E, Dequedre C, Lemaire C, Laureys S, Franck G. Comparison of impaired subcortico-frontal metabolic networks in normal aging, subcortico-frontal dementia, and cortical frontal dementia. *Neuroimage.* 1999;10:149–62.
13. Mosconi L, Perani D, Sorbi S, Herholz K, Nacmias B, Holthoff V, et al. MCI conversion to dementia and the APOE genotype: A prediction study with FDG-PET. *Neurology.* 2004;63:2332–40.
14. Pardo JV, Lee JT, Sheikh SA, Surerus-Johnson C, Shah H, Munch KR, et al. Where the brain grows old: Decline in anterior cingulate and medial prefrontal function with normal aging. *Neuroimage.* 2007;35:1231–7.
15. Mosconi L, De Santi S, Li J, Tsui WH, Li Y, Boppana M, et al. Hippocampal hypometabolism predicts cognitive decline from normal aging. *Neurobiology of Aging.* 2008;29:676–92.
16. Driscoll I, Howard SR, Stone JC, Monfils MH, Tomanek B, Brooks WM, et al. The aging hippocampus: A multi-level analysis in the rat. *Neuroscience.* 2006;139:1173–85.
17. Borrás C, Stvolinsky S, López-Gruoso R, Fedorova T, Gambini J, Boldyrev A, et al. Low in vivo brain glucose consumption and high oxidative stress in accelerated aging. *FEBS Lett.* 2009;583:2287–93.
18. Beason-Held LL, Kraut MA, Resnick SM. Longitudinal changes in aging brain function. *Neurobiol Aging.* 2008;29:483–96.
19. Beason-Held LL, Kraut MA, Resnick SM. Temporal patterns of longitudinal change in aging brain function. *Neurobiol Aging.* 2008;29:497–513.
20. De León MJ, Convit A, Wolf OT, Tarshish CY, De Santi S, Rusinek H, et al. Prediction of cognitive decline in normal elderly subjects with 2-[18F]fluoro-2-deoxy-D-glucose/positron-emission tomography (FDG/PET). *Proc Natl Acad Sci USA.* 2001;98:10966–71.
21. Mosconi L, De Santi S, Li J, Tsui WH, Li Y, Boppana M, et al. Hippocampal hypometabolism predicts cognitive decline from normal aging. *Neurobiol Aging.* 2008;29:676–92.
22. Yanase D, Matsunari I, Yajima K, Chen W, Fujikawa A, Nishimura S, et al. Brain FDG PET study of normal aging in Japanese: Effect of atrophy correction. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 2005;32:794–805.
23. Small GW, Kepe V, Ercoli LM, Siddarth P, Bookheimer SY, Miller KJ, et al. PET of brain amyloid and tau in mild cognitive impairment. *N Engl J Med.* 2006;355:2652–63.
24. Kepe V, Barrio JR, Huang SC, Ercoli L, Siddarth P, Shoghi-Jadid K, et al. Serotonin 1A receptors in the living brain of Alzheimer's disease patients. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2006;103:702–7.
25. Mosconi L, Brys M, Switalski R, Mistur R, Glodzik L, Pirraglia E, et al. Maternal family history of Alzheimer's disease predisposes to reduced brain glucose metabolism. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2007;104:19067–72.
26. Mosconi L, Mistur R, Switalski R, Brys M, Glodzik L, Rich K, et al. Declining brain glucose metabolism in normal individuals with a maternal history of Alzheimer disease. *Neurology.* 2009;72:513–20.
27. Hamacher K, Coenen HH, Stocklin G. Efficient stereospecific synthesis of non-carrier-added 2-[18F]-fluoro-2-deoxy-D-glucose using aminopolyether supported nucleophilic substitution. *J Nucl Med.* 1986;27:235–8.
28. Phelps ME, Huang SC, Hoffman EJ, Selin C, Sokoloff L, Kuhl DE. Tomographic measurement of local cerebral glucose metabolic rate in humans with (F-18)2-fluoro-2-deoxy-D-glucose: Validation of method. *Ann Neurol.* 1979;6:371–88.
29. Huang SC, Phelps ME, Hoffman EJ, Sideris K, Selin CJ, Kuhl DE. Noninvasive determination of local cerebral metabolic rate of glucose in man. *Am J Physiol.* 1986;238:E69–82.
30. Yamaji S, Ishii K, Sasaki M, Mori T, Kitagaki H, Sakamoto S, et al. Evaluation of standardized uptake value to assess cerebral glucose metabolism. *Clin Nucl Med.* 2000;25:11–6.
31. Keyes Jr JW. SUV: Standard uptake or silly useless value? *J Nucl Med.* 1995;36:1836–9.
32. Fueger BJ, Czernin J, Hildebrandt I, Tran C, Halpern BS, Stout D, et al. Impact of animal handling on the results of 18F-FDG PET studies in mice. *J Nucl Med.* 2006;47:999–1006.
33. Schiffer WK, Mirrione MM, Dewey SL. Optimizing experimental protocols for quantitative behavioral imaging with 18F-FDG in rodents. *J Nucl Med.* 2007;48:277–87.
34. De León MJ, Mosconi L, Logan J. Seeing what Alzheimer saw. *Nat Med.* 2007;13:129–31.
35. Rasgon NL, Silverman D, Siddarth P, Miller K, Ercoli LM, Elman S, et al. Estrogen use and brain metabolic change in postmenopausal women. *Neurobiol Aging.* 2005;26:209–35.