



**FACULTAD DE FARMACIA  
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

**TRABAJO FIN DE GRADO**

**TÍTULO:**

**USO DE RESONANCIA MAGNÉTICA EN  
INVESTIGACIÓN FARMACÉUTICA**

Autor: Alberto Casado Álvarez

D.N.I.: 71158363c

Tutor: Ignacio Rodriguez Ramirez de Arellano

Convocatoria: Junio 2015-2016

**ABSTRACT:** Esta revisión presenta una visión general de algunas técnicas de resonancia magnética (RM) para usos en investigación biomédica. RM tiene las ventajas de no ser invasiva y no exponer a los sujetos a radiaciones ionizantes; en este artículo hablaremos sobre la espectroscopia de resonancia magnética (MRS), y la resonancia magnética de imagen (MRI); y como técnicas derivadas de estas, como MRSI, MRI de difusión, MRI en tiempo real, y MRI en combinación con perfusión entre ellas, pueden ser aplicadas al estudio de los procesos que tienen lugar en el ser humano, como es el caso de MRSI y MRI entre otros, a la hora de estudiar las funciones cerebrales; la metabolómica a la hora de entender los cambios bioquímicos; Flash MRI en el estudio de las articulaciones y movimientos mecánicos del cuerpo humano; o MRI de cuerpo entero, a la hora de obtener información más general de cara a un diagnóstico, son algunas de las técnicas y aplicaciones que veremos. En conclusión, los nuevos avances en RM nos permiten obtener nueva información sobre los mecanismos biológicos en el ser humano, lo que es de vital importancia a la hora de desarrollar nuevos tratamientos y comprender el funcionamiento de los desequilibrios causados por las enfermedades.

## **INTRODUCCIÓN:**

La resonancia magnética es considerada uno de los avances más importantes del siglo pasado, esto se debe a que ha permitido estudiar la estructura y función del cuerpo humano de una forma, que era impensable hace unos años.

La Resonancia Magnética Nuclear es una espectroscopia de absorción, la cual se fundamenta en la absorción de energía (radiofrecuencias) por un núcleo magnéticamente activo<sup>5</sup>, para ello se alinea el núcleo con un campo magnético externo, y después se perturba este alineamiento mediante un campo electromagnético; la respuesta resultante a esta perturbación es lo que se utiliza en la Resonancia magnética nuclear de espectroscopia, y en la en la Resonancia magnética nuclear de imagen. Las partes fundamentales de un espectrómetro de RMN son; 1) un imán, actualmente una bobina superconductor, que suministra el campo magnético principal, 2) un oscilador de radio-

frecuencias que suministra la energía necesaria para cambiar la orientación de los núcleos, 3) una bobina detectora que recibe las señales, 4) un sistema informatizado que gobierna todo el aparato y que incluye un sistema de amplificación y registro. Los núcleos de los compuestos orgánicos que se suelen considerar poseedores de una actividad radio magnética relevante son: el protón ( $^1\text{H}$ ), carbono ( $^{13}\text{C}$ ), nitrógeno ( $^{15}\text{N}$ ), fósforo ( $^{31}\text{P}$ ) y flúor ( $^{19}\text{F}$ ). Las muestras, generalmente, son disoluciones en disolventes que no contengan átomos de protio ( $^1\text{H}$ ), siendo los más utilizados el deuterocloroformo, hexadeuterodimetilsulfóxido, óxido de deuterio, deuterobenceno, y deuteropiridina entre otros. Los espectros más utilizados son representaciones de la intensidad de absorción frente a la frecuencia de resonancia (generalmente a través del parámetro  $\delta$ ) y presentan señales cuya posición, forma y tamaño están íntimamente relacionadas con la estructura molecular. El análisis detallado de estos espectros proporciona valiosa información

estructural y estereoquímica. Espectros bidimensionales permiten establecer relaciones entre distintos núcleos o distintas magnitudes del mismo núcleo<sup>1</sup>.

Actualmente los datos resultantes de la RMN, se dividen en RMN de imagen, y en la RMN de espectroscopia; La primera toma excelentes imágenes de tejido blando, mientras que la segunda se utiliza para obtener identificaciones cuantitativas de especies químicas en tejidos y fluidos. Generalizando, se puede decir que la MRI nos permite ver la anatomía de un tejido, mientras que MRS nos permite ver el contenido químico de las células.

También hay que resaltar una nueva tecnología que combina la MRI con microscopía para obtener imágenes muy parecidas a las que se obtiene con un MRI, pero a una escala más pequeña<sup>2</sup>.

Finalmente indicar que el objetivo de este trabajo es describir algunas de las técnicas más relevantes de MRI y MRS utilizadas en la investigación farmacéutica y biomédica, y algunas de sus aplicaciones.

## **MÉTODOS DE RESONANCIA MAGNÉTICA ESPECTROSCOPIA POR RESONANCIA MAGNÉTICA (MRS)**

La espectroscopia por resonancia magnética (MRS), nos permite obtener información bioquímica. Tradicionalmente esta información se ha obtenido mediante MRS de alta resolución de suspensiones celulares, extractos de tejidos, y finalmente, células y órganos pre fundidos. Estos estudios también pueden ser llevados a cabo en vivo, dándonos la oportunidad de investigar las

concentraciones y distribución de metabolitos. Esta técnica ha sido utilizada para el análisis de metabolitos en diferentes zonas como, musculo esquelético<sup>3</sup> (Fosforo MRS), o cáncer (fosforo, carbón, flúor y protón MRS)<sup>4,5-8</sup>. Mencionar que se producirá un ensanchamiento en las líneas del espectro adquirido in vivo o ex vivo, respecto a los cultivos celulares y órganos perfundidos.

Hay que tener en cuenta, que en los estudios de alta resolución realizados en fluidos o soluciones de extractos químicos, el resultado puede variar dependiendo de la forma de extracción y químicos utilizados, además, es un proceso que requiere mucho tiempo, por otro lado, cuando se intenta mejora los proceso in vivo mediante el incremento de los tiempo de eco, o reducir los tamaños de los voxel, resulta en una pérdida significativa de señal<sup>9</sup>.

Recientemente, el problema de la variabilidad debido a la fuente y forma de extracción de las muestras, ha sido mitigado gracias al uso de MAS (magic angle spinning procedures), que han sido aplicados con diferentes objetivos (diagnosis, estudios toxicológicos, farmacológicos, ect.). MAS permite minimizar las principales fuentes de line broadening en el espectro, como chemical shift anisotropy, acoplamientos dipolares, y variaciones magnéticas en el tejido, al girar la muestra alrededor de un eje que produce un “ángulo mágico” de  $\cos^{-1} \sqrt{1/3}$ , siendo aproximadamente 54,7° con respecto al campo magnético estático. Este proceso ha sustituido a métodos de extracción que en muchas ocasiones resultaban en problemas de pérdida de información y en la presencia de artefactos asociados a la preparación de la muestra<sup>9</sup>.

Además, la mejora de la intensidad de la señal, gracias a los avances en el diseño de imanes (hasta 1000 MHz el espectroscopio NMR más potente)<sup>10</sup> y la mejora de las sondas, nos ha permitido reducir los volúmenes de muestra a menos de 3ml de tejido, y aumentar el número de aplicaciones en fluidos de difícil obtención ( como el fluido cerebroespinal).

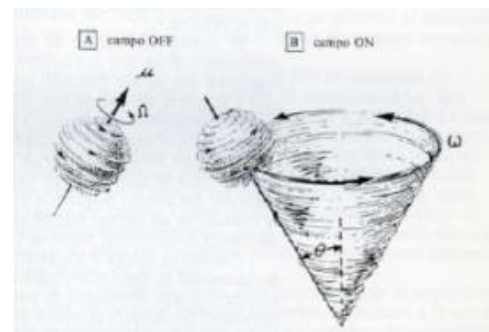
Es importante resaltar, que en el diagnóstico de la enfermedad mediante MRS, es necesario desarrollar una clasificación de los componentes que se obtienen en la espectrometría, ya que la mayoría de los datos serán irrelevantes. Remarcar también, que un buen diagnóstico debe depender de más de una sola fuente de observación, pero no demasiadas, para evitar el sobreajuste. Habrá que decir qué resonancias son las más indicativas de la enfermedad, y una vez decidido las resonancias más adecuadas y qué componentes espectrales son los determinantes en cada enfermedad, cuantificar la sensibilidad, especificidad y fiabilidad de las decisiones a las que se alcancen mediante el uso de MRS. Dado que el objetivo de esta revisión no es profundizar en la estadística implicada en las estrategias de clasificación de la información en MRS, indicar, que se puede encontrar información más detallada<sup>11</sup>.

## RESONANCIA MAGNÉTICA DE IMAGEN

### Conceptos básicos

En el interior del organismo hay millones de átomos, y estos átomos están compuestos por protones y electrones que rodean al núcleo. El protón tiene una carga positiva y da vueltas sobre sí mismo, es decir tiene un espín (*spin*). Como la carga positiva se mueve con el protón, cada protón

genera una corriente eléctrica que va acompañada de un pequeño campo magnético; en otras palabras, cada protón puede ser visto como un imán. Cuando el paciente es introducido en un imán de gran potencia, los protones se alinean con el campo magnético externo. Además del espín, tendrán un movimiento alrededor del eje mayor del campo magnético externo (movimiento de precesión); de forma gráfica, el movimiento del protón en ese momento es como el de una peonza al lanzarla al suelo, gira sobre sí misma y sobre un eje vertical al suelo<sup>12</sup>.

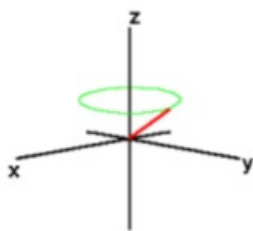


La mayoría de los protones se alinea en la dirección del campo magnético producido por el imán del equipo, y aunque algunos se alinean en sentido contrario, el efecto neto es que los protones del paciente crean un campo magnético que tiene la misma dirección que la del imán del equipo (magnetización longitudinal), por lo que no puede medirse directamente. Entonces, el equipo emite una ráfaga de pulsos de radiofrecuencia para transmitir energía a los protones, y cambiar la dirección de su campo magnético. Comentar, que solamente los pulsos con la misma frecuencia que la de la precesión de los protones pueden transmitirles energía, y la frecuencia de precesión la calcularemos con la ecuación de Larmor:  $\omega_0 = \gamma B_0$  donde ( $\omega_0$ ) es la frecuencia de precesión, ( $\gamma$ ) es el radio giromagnético que varía para los diferentes

materiales, y ( $B_0$ ), la fuerza del campo magnético externo. Al enviar pulsos de radiofrecuencia con la misma frecuencia de precesión calculada con la ecuación de Larmor estamos transfiriendo energía a los protones (fenómeno de resonancia), de tal forma que la magnetización longitudinal disminuye y aparece una magnetización transversal<sup>12</sup>.

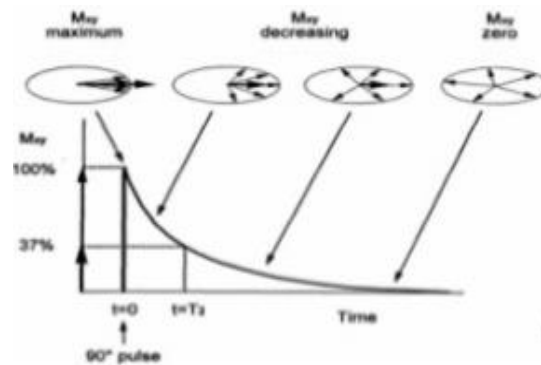
Cuando la ráfaga de pulsos de radiofrecuencia cesa, los fenómenos de magnetización vuelven a la situación inicial.

**Relajación longitudinal-T1:** Es el tiempo que tarda un tejido en recuperar el 63 % de su magnetización longitudinal (eje z) original, que aumenta de nuevo, y depende principalmente de la relación entre el protón y el medio que lo rodea. T1 presenta muy buena correspondencia anatómica pero poca sensibilidad a los cambios patológicos. A T1 más cortos, mayor intensidad de señal<sup>14</sup>.



15

**Relajación transversal-T2:** Tiempo que tarda un tejido en perder el 63 % de su magnetización transversal, y depende principalmente de la relación entre el protón y los protones vecinos. T2 es más sensible a cambios patológicos, pero no representa bien la anatomía (esto se debe a que la mayoría de las patologías implica un cambio en la distribución de agua, la cual es híper intensa en T2)<sup>14</sup>.



15

Para un determinado tejido, T1 es más largo que T2; y, en general, el agua y los tejidos con alto contenido líquido tienen tiempos de relajación más largos que la grasa. Los pulsos de radiofrecuencia se diferencian por la cantidad de energía que transfieren a los protones, es decir, por el grado de relajación provocado. Así, los pulsos se definen por la capacidad de hacer girar la magnetización de los protones desde su posición inicial, medida en ángulos.

Una secuencia en RM consta, generalmente, de varios pulsos de radiofrecuencia que además pueden ser diferentes entre sí. La diferencia entre unas secuencias y otras depende del tipo de pulsos de radiofrecuencia utilizados y del tiempo que hay entre ellos. Al combinar estas variables se obtienen secuencias cuyo resultado puede ser diferenciar sobre todo los tejidos según su T1 (imágenes potenciadas en T1) o según su T2 (imágenes potenciadas en T2).

**Espín ecos:** Los ecos pueden ser generados a través de dos técnicas de excitación de los espines. La primera utiliza una pareja de impulsos de radiofrecuencia y produce el llamado eco de Hahn, mientras que la segunda recurre a una inversión de los gradientes de campo magnético y produce el eco. La secuencia de Hahn o secuencia espín-eco propone la aplicación de dos pulsos de radiofrecuencia. El primero es un pulso de 90°;

después de este pulso, diversos fenómenos físicos que se conocen colectivamente como relajación espín-espín harán que los diferentes momentos magnéticos de la muestra se vayan dispersando progresivamente, y pequeñas variaciones locales o gradientes del campo harán que unos espines precesen ligeramente más rápido que otros, y por tanto dejen de estar alineados. Tras un cierto tiempo ( $t$ ), se aplica un pulso de  $180^\circ$  (refocusing pulse); esto permite que progresivamente los momentos más rápidos alcancen al momento principal, y que los más lentos sean alcanzados por el momento principal, permitiendo finalmente la focalización de los espines y por tanto la medida del tiempo de relajación  $T_2$ , evitando así los efectos de las inhomogeneidades que hacen decaer más rápidamente la magnetización transversal.

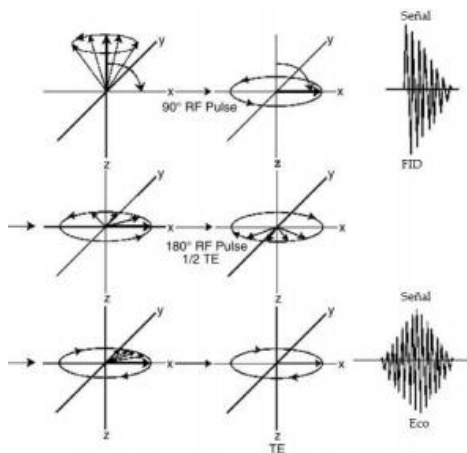
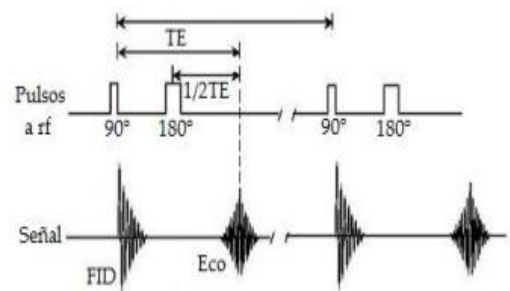


Diagrama que muestra la evolución del vector magnetización en una secuencia espín-eco y las señales correspondientes. La coherencia de fase se consigue gracias al pulso de  $90^\circ$ , después del cual comienza el desfase. Se aplica entonces un pulso de  $180^\circ$  que invierte la dirección de los espines permitiendo que en el máximo del eco todos los espines se encuentren en fase.

La secuencia eco de gradiente genera la señal de eco a través de una secuencia de gradientes de campo magnético. A diferencia de la anterior esta no produce la compensación de las

inhomogeneidades del campo magnético ya que no tiene un pulso de reenfoque de  $180^\circ$ , por lo que el decaimiento de la magnetización transversal permite determinar el tiempo de relajación  $T_2^*$ . Destacar, que la señal de eco contiene información de toda la muestra. Ilustramos a continuación los conceptos de tiempo de repetición (TR) y tiempo de eco (TE), fundamentales en MRI. Utilizamos para ello la secuencia de pulsos espín-eco. El tiempo de repetición TR es el tiempo entre dos pulsos de excitación, mientras que el tiempo de eco TE es el tiempo entre la aplicación del pulso de  $90^\circ$  y el máximo del eco.

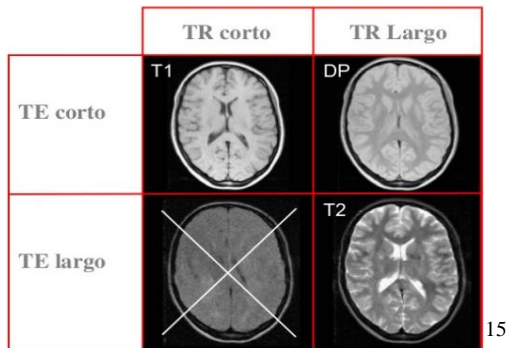


Secuencia espín-eco. La figura muestra los pulsos a rf junto con las señales correspondientes.

Mediante esta y otras secuencias podemos también generar distintos contrastes en la imagen modificando los tiempos característicos de la secuencia TE y TR. Así, podemos obtener imágenes ponderadas en  $T_1$ , en  $T_2$  o en densidad protónica (DP).

En este caso concreto, cuanto menor sea el tiempo de eco TE, menor desfase de los espines se producirá y menor efecto tendrá en la imagen el tiempo de relajación  $T_2$  asociado a dicho desfase. Cuanto mayor sea el tiempo de repetición TR, mayor será la magnetización recuperada al inicio de la nueva secuencia de pulsos y menor efecto tendrá en la imagen el tiempo de relajación  $T_1$ . Si conseguimos eliminar el efecto de los tiempos  $T_1$

y T2 de la imagen esta mostrará diferencias en función de la densidad de protones del tejido, es decir, la imagen estará ponderada en densidad protónica. De otra forma, la imagen estará ponderada en T1 o en T2 <sup>16</sup>.



Estos métodos se pueden utilizar para obtener imágenes 2D, como la vista arriba, y 3D. Remarcar, que obtener varias imágenes 2D de una muestra es diferente a obtener una imagen 3D, ya que requiere un menor tiempo de obtención y presenta una menor cantidad de ruido (SNR) en proporción con la información obtenida, y por supuesto la reconstrucción de la información se hace de forma diferente. En una MRI la resolución espacial, orientación y campo de visión no tiene por qué ser isotrópico. La resolución espacial no depende de la longitud de onda del campo de radio frecuencia, y sus limitaciones se deben al hardware y a las propiedades físicas de la muestra <sup>17,18</sup>. Otras técnicas de imagen muy utilizadas son la fluoroscopia, radiografía, tomografía computerizada, medicina nuclear, tomografía de emisión de fotón única computerizada (SPECT), tomografía de emisión de positrones (PET), e imágenes de ultrasonidos (US). También comentar que las técnicas tomográficas muestran mejor contraste que las no-tomográficas. Radiografía, fluoroscopia, mamografía y CT dan información anatómica,

siendo muy sensibles a la densidad del tejido y composición. La medicina nuclear, SPECT y PET, dan información funcional. US da información de los límites entre tejidos (es en las superficies de los tejidos donde las ondas de ultrasonido son reflejadas) resaltar también que el efecto Doppler puede ser usado para medir el movimiento <sup>19</sup>. La gran ventaja que presenta MRI es su versatilidad, y por encima de todo, su sensibilidad al contraste. Las MRI pueden ser sensibles a tiempos de relajación, movimiento del spin, tanto coherente (fluir) o incoherente (difusión), desplazamiento químico, etc.... Por si esto no fuera suficiente, muchos de los parámetros como la resolución de la imagen, el tiempo de adquisición, el campo de visión, SNR, etc... pueden ser modificados, aunque normalmente, la mejora en uno de estos parámetros, implica el empeoramiento de otros, viéndonos obligados a tomar una decisión.

El resultado de todo esto es, que debido a la gran cantidad de opciones que ofrece, puede resultar difícil decidir cuál de las propiedades hay que utilizar para cada caso en particular, por ello, los escáneres MRI suelen traer librerías con diferentes protocolos (set programado de gradientes magnéticos, cada secuencia tendrá un número de parámetros, y múltiples secuencias son agrupadas juntas en un protocolo de MRI), para que el profesional sanitario solo tenga que escoger la secuencia en función del contraste que desee.

Existen numerosos estudios en los que MRI se ha combinado con otras técnicas de imagen para el estudio de enfermedades como infartos <sup>20</sup>, obstrucción pulmonar crónica <sup>21</sup>, tumores <sup>22</sup>.

## **Microscopía de resonancia magnética**

Es una técnica derivada de la MRI, posee una mayor resolución y usa un campo magnético más intenso (por encima de 3T).

### **Imagen molecular:**

El objetivo en los estudios de imagen molecular, es visualizar eventos relativos a moléculas, o dianas celulares de enfermedades de interés, in vivo. Técnicas de imagen molecular están siendo aplicadas de forma efectiva para la investigación biomédica y para valorar intervenciones farmacológicas y genéticas. Normalmente las dianas celulares de las técnicas de imagen molecular, son expresadas de forma abundante, y sólo en casos de enfermedad, por ello, las dianas de estas técnicas suelen ser proteínas intracelulares, uniones de membrana y proteínas extracelulares. Normalmente estas dianas son susceptibles a señales de amplificación (químicas o biológicas): como en el caso de los agentes activables de proteasas para imagen óptica, acceso a agua enzimo-dependiente para MRI, unión a receptores internos, o moléculas de adhesión en células vasculares, concentración de nanopartículas de oxidebased iron con endosomas o uniones covalentes a agentes de imagen.

### **Mejora de contraste**

Los agentes que se utilizan para la imagen molecular, normalmente constan de 2 componentes: el componente que emite la señal, y el ligando que reconoce la molécula diana. En el caso de MR la señal de fondo ya está presente, y por tanto el objetivo de los agentes suministrados busca mejorar el contraste de imagen, o poner algún proceso químico en evidencia. La

clasificación síntesis y caracterización de estos componentes puede encontrarse en otro lugar<sup>13</sup>. Los agentes que mejoran el contraste en MRI (llamados CA), son compuestos químicos capaces de mejorar la señal al modificar una o varias de las características físicas que determinan el efecto de resonancia; por ejemplo, la densidad de protones, tiempo de relajación longitudinal, tiempo de relajación transversal o el ratio de difusión en agua. Esto permite una mayor sensibilidad, especificidad, y una mejor caracterización del tejido, lo que permite el estudio de un gran número de procesos bioquímicos gracias a los CA. Algunos de los agentes actúan como CA inteligentes, cambiando su comportamiento según las características del ambiente fisiológico donde se encuentran. Históricamente los CAs han sido clasificados en dos grandes grupos según causen cambios en T1/T2. Este tipo de clasificación ha permitido la identificación de los complejos de Gadolinio y las Cas relacionadas, considerados como agentes T1, y las nanopartículas superparamagnéticas de óxido de hierro (SPIO) como agentes T2/T2\*. Los nuevos complejos supramoleculares de metales como Dy se consideran agentes T2, junto con los agentes de intercambio químico de transferencia de saturación (CEST). Actualmente, esta clasificación ha dejado de ser válida, y hoy en día clasificamos los Cas en función de su comportamiento magnético, propiedades químicas y biodistribución<sup>9</sup>.

## **DIFUSIÓN POR RM**

La difusión por RM se basa en la detección del movimiento aleatorio de las moléculas de agua en los tejidos, si tenemos un recipiente con agua en el



laboratorio, debido a la agitación térmica, las moléculas tendrán un movimiento browniano, esto es, al azar. Este movimiento browniano se puede considerar equivalente a la difusión libre. En cambio, las moléculas de agua en el organismo tienen difusión restringida como consecuencia de la presencia de macromoléculas y membranas celulares.

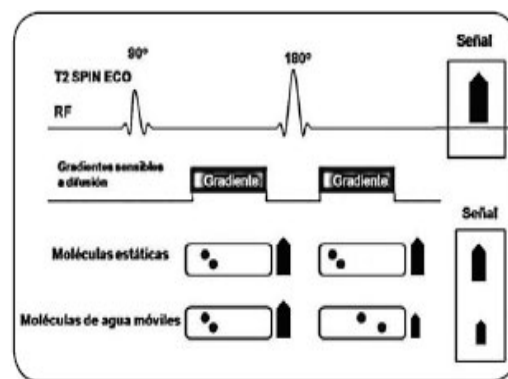
Es importante destacar que la RM es el único método capaz de detectar y medir la difusión molecular in vivo, esto es, la traslación de las moléculas.

La señal de difusión en tejidos se obtiene a partir del movimiento molecular en tres compartimientos: 1). Espacio extracelular, 2). Espacio intracelular 3). Espacio intravascular. De estos tres compartimientos, es el intravascular el que muestra una mayor difusión, dada por el flujo sanguíneo o perfusión. Por esta razón, tumores con una importante vascularización muestran una alta señal en difusión<sup>23</sup>.

Por otra parte, el grado de restricción a la difusión es proporcional a la celularidad tisular y a la integridad de las membranas. Así, tejidos (especialmente tumorales) tienen restricción a la difusión si es que son celularmente densos.

Stejskal y Tanner<sup>24</sup> describieron el método que utilizamos en la actualidad para cuantificar la difusión in vivo. Para ello, adaptaron una secuencia T2 SE añadiendo un par de gradientes bipolares. La razón por la cual se escogió una secuencia potenciada en T2 es que se requiere un tiempo de eco (TE) lo suficientemente largo como para poder intercalar dos gradientes. Las moléculas de agua en movimiento, a diferencia de

aquellas que están estáticas, no logran retasarse tras la aplicación de la segunda gradiente, por lo que se produce un cambio de señal, que es proporcional a la amplitud de los gradientes. Asimismo, la sensibilidad de la secuencia de difusión al movimiento molecular se puede cambiar modificando la amplitud de los gradientes bipolares, así como su duración. El parámetro que se usa para variar la amplitud y duración de los gradientes bipolares se denomina valor b (b-value). En la práctica clínica, la sensibilidad de la secuencia se modifica con el valor b, siendo éste inversamente proporcional<sup>25</sup>.



Esquema de la secuencia de SE EP DWI de acuerdo a Stejskal y Tanner<sup>81</sup>

## Interpretación de la señal de difusión

Cada vez que usamos la secuencia de difusión, en la práctica empleamos dos valores b, típicamente  $0 \text{ s/mm}^2$  y otro entre  $1$  y  $1000 \text{ s/mm}^2$ .

En general a mayor valor b, mayor atenuación de las moléculas de agua. Por ejemplo, un tumor con necrosis central mostrará alta señal en su componente celular con valores b altos, indicando restricción a la difusión, mientras que su parte necrótica mostrará atenuación de la señal debido a difusión facilitada o menos restringida.

No obstante, es necesario comprender que la intensidad de señal que vemos en la secuencia de

difusión es una mezcla de la difusión como tal y del tiempo de relajación T2 de los tejidos. Este efecto T2, que puede ser confundido con restricción a la difusión se llama "*shine-through*". Una forma de reducir este efecto indeseable es reduciendo el TE y aumentando el valor b, aunque nunca se puede eliminar completamente<sup>25</sup>.

### Análisis cuantitativo de la difusión

Para cuantificar la difusión se utiliza el coeficiente de difusión aparente (Apparent Diffusion Coefficient-ADC). Este resulta de la pendiente de la línea que une el logaritmo de la intensidad de señal para los dos valores b escogidos, típicamente 0 y otro entre 0 y 1000 mm<sup>2</sup>

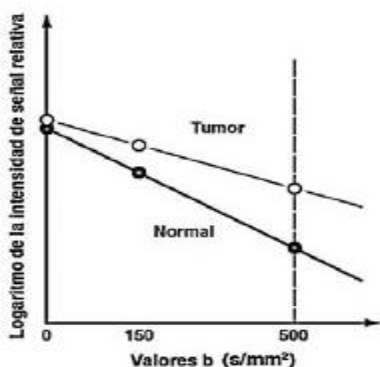
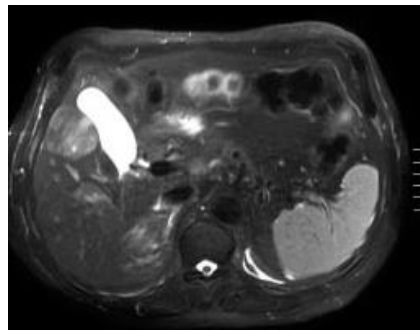


Diagrama que muestra el gráfico del logaritmo de las intensidades relativas de señal de un tejido (y) para diferentes valores b (x). La pendiente de la línea entre ambos valores, es el valor de ADC.

El ADC es un valor independiente de la intensidad del campo magnético y contribuye a reducir el efecto shine through. El computador calcula el ADC para cada pixel de la imagen y lo muestra como un mapa paramétrico, en color o escala de grises. Manualmente, es posible dibujar un área de interés (ROÍ) sobre la imagen y así obtener el valor de ADC para un determinado tejido

Las áreas tisulares de difusión restringida, debido a una alta celularidad, muestran valores de ADC bajos, por lo que en general, hay que comprender que la señal de difusión es inversa a la señal del mapa de ADC.



Hepatocarcinoma del LHD. Imagen potenciada en T2<sup>25</sup>

Es interesante notar que el ADC refleja la suma de dos fenómenos que ocurren simultáneamente dentro del voxel: La difusión propiamente como tal y la perfusión, que es la traslación molecular que se genera en la microcirculación. Afortunadamente, el efecto de la perfusión sólo tiene relevancia en valores b bajos, por esa razón se confía más en valores b altos que minimizan la señal derivada de la perfusión<sup>25</sup>.

### METABONÓMICA (MRS)

La metabonómica se basa en el estudio sistemático del conjunto de metabolitos (metaboloma) que se encuentran en una muestra biológica, consiste en dos pasos secuenciales: 1) técnica experimental, basada en espectrometría de masas o NMR, y 2) Análisis aplicando reconocimiento de patrones y métodos estadísticos de análisis multivariable<sup>26</sup>.

El Metaboloma representa un set completo de metabolitos de bajo peso molecular (normalmente menor de 1500 Da), estos metabolitos son el

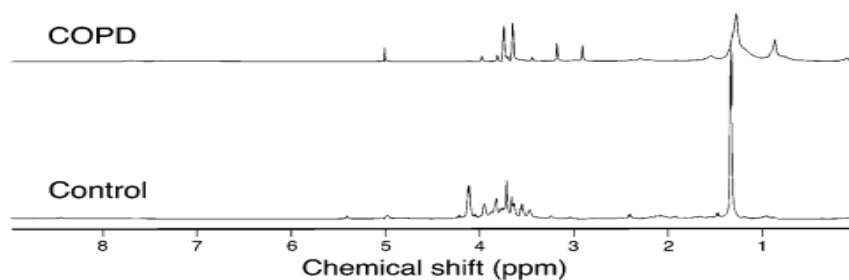
producto final de la expresión genética; y por lo tanto el metaboloma puede considerarse un espejo que refleja el estado fisiológico, evolutivo y patológico de un sistema. Al analizar el metaboloma, se nos permite ver el genoma y su interacción con el medio, es decir, podemos estudiar el estado metabólico de un ser vivo en relación a su entorno. Los análisis metabólicos se pueden clasificar en *targeted* o *untargeted*. Los primeros se centran en la caracterización de un grupo específico de metabolitos y son utilizados para medir la concentración de un número determinado de metabolitos de forma precisa. Mientras que la metabólica *untargeted*, se centra en obtener un perfil metabólico sin intentar precisar o cuantificar todos los metabolitos de la muestra (muy útil para descubrir biomarcadores, diagnóstico y revelar patrones metabólicos específicos de una enfermedad)<sup>26</sup>.

La nueva información que se está obteniendo hoy en día gracias a la metabolómica mediante NMR,

deriva de la mejora en sensibilidad y resolución espectral, además de los diferentes tipos de muestras que se pueden estudiar (orina, hígado, riñones, fracciones microsomiales<sup>9</sup>, a todo esto, hay que añadirle el avance de las técnicas de separación como cromatografía de alta afinidad<sup>9</sup>).

Un ejemplo, son los estudios recientes con condensados de exhalado<sup>27</sup>, demostrando posibles aplicaciones en el campo de los biomarcadores, mediante la observación de los cambios que se dan en respuesta a enfermedades o exposición a químicos. Esto podría ser de un valor incalculable como una fuente de biomarcadores, y como método no invasivo para monitorizar la inflamación y estrés oxidativo en los pulmones<sup>28</sup>.

Debido a la naturaleza multidimensional de la información estadística espectral, y a que las modificaciones fisiológicas, y los efectos tóxicos suelen ocurrir en direcciones diferentes del hiperespacio metabólico, podemos construir modelos para su diagnóstico y predicción.



Espectro protónico de condensados de la respiración humana. Este espectro puede ser utilizado para caracterizar diferentes enfermedades, o para estudiar la evolución de ciertas terapias. La imagen muestra el espectro de 2 grupos, uno de no fumadores sanos, y otro de pacientes con enfermedad obstructiva crónica severa. Se puede ver la variación en la concentración de lactato (1.33ppm), y la presencia de múltiples resonancias (0.86, 1.28, 1.58, etc.) de productos finales aldehídicos procedentes de la peroxidación de lípidos en los espectros del grupo que sufre la enfermedad<sup>9</sup>.

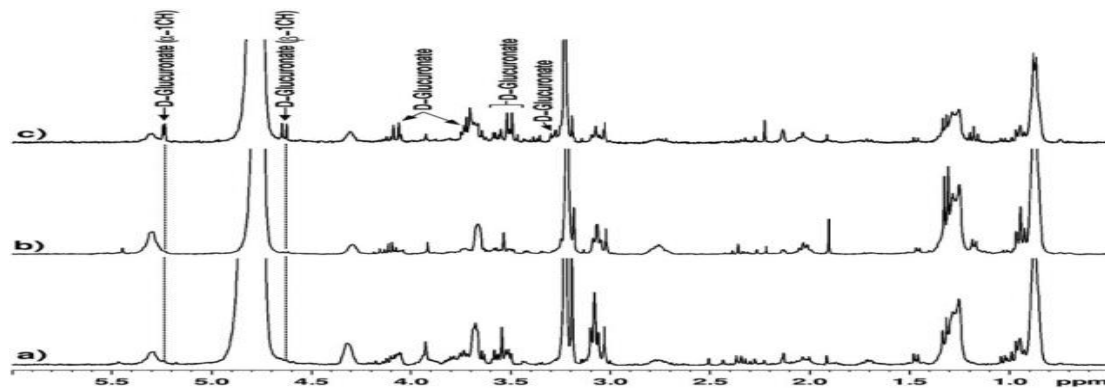
## CÁNCER (MRS)

Uno de los campos en los que la metabolómica está evolucionando a mayor velocidad, es en el diagnóstico del cáncer. Podemos encontrar estudios sobre los cambios metabólicos en

enfermedades hepato biliarias<sup>29</sup> siendo capaces de distinguir el tejido normal del hígado del HCC con un 100% de acierto<sup>30</sup>. Otros estudios basados en <sup>1</sup>H MRS realizados sobre el diagnóstico del colangiocarcinoma<sup>31-34</sup>, utilizando las bilis,

demonstraron ser capaces de diferenciar el CC de enfermedades benignas con una precisión del 88%<sup>32,34</sup>. Estudios sobre el cáncer de páncreas han demostrado ser capaces de distinguir pacientes con cáncer de páncreas, de pacientes sanos con una precisión del 92% utilizando <sup>1</sup>H MRS de

extractos de plasma<sup>35</sup>, muchos estudios también se han centrado en el estudio de la bilis para distinguir el cáncer de páncreas de pancreatitis<sup>33,37</sup>.



<sup>1</sup>H MRS (360 MHz) de bilis de pacientes (a) control, (b) pancreatitis crónica y (c) cáncer de páncreas mostrando niveles relativos de D-Glucuronato. Se puede observar que los niveles de D-Glucuronato son altamente elevados en el paciente con cáncer de páncreas.<sup>37</sup>

En un estudio, aspirados hechos con una aguja, tomados de tumores de pecho, fueron sometidos a un análisis de <sup>1</sup>H MRS, siendo capaces de distinguir el tejido maligno de las lesiones con una exactitud del 93%. Es más, fueron capaces de identificar la participación del nódulo linfático con una exactitud del 95% y la invasión vascular del tumor con una exactitud del 94%<sup>36</sup>.

### NUTREOBOLÓMICA (MRS)

Un área emergente de gran interés es la nutreobolómica, que estudia el metaboloma del ser humano en función del estado nutricional. A través de la nutreobolómica y combinándola con la nutreogenómica, es posible evaluar los cambios inducidos por la dieta en la expresión genética, e intervenir en la interacción entre nutrientes y el cuerpo humano para mantener un buen estado de salud<sup>38,39</sup>. Es decir, nos permite conocer el estado nutricional de una persona, y entender como los diferentes nutrientes afectan a la regulación metabólica, personalizando las dietas, lo que, si se

hace desde una temprana edad, puede ayudar a prevenir enfermedades como la diabetes, obesidad o enfermedades inflamatorias en la edad adulta<sup>40</sup>. A esto se le suma que la comprensión de los cambios en los perfiles metabólicos a lo largo de la vida de un individuo, representan una importante referencia para llegar a la comprensión de los mecanismos fundamentales metabólicos y las consecuencias de su alteración.

Estudios recientes, han demostrado que algunas patologías crónicas, no están sólo condicionadas por las condiciones postnatales, sino también por la exposición a factores epigenéticos que pueden influir y alterar permanentemente la “programación” fetal<sup>41-43</sup>. Varios estudios parecen indicar que la malnutrición fetal, tanto por exceso como por defecto, altera los procesos metabólicos del feto, aumentando el riesgo de enfermedades crónicas en la edad adulta. Un metabolismo glucídico alterado durante el desarrollo fetal en neonatos, con retraso del crecimiento intrauterino

(IUGR), se cree que podría llevar a un aumento del mioinositol extracelular, que para muchos, puede ser considerado un marcador predictivo válido en el desarrollo de obesidad tipo 2 y diabetes en adultos<sup>44,45</sup>. De hecho el inositol se considera un mensajero secundario de la señal de transducción de insulina; y también se sabe que la insulina juega un papel importante en el metabolismo de los lípidos, y promueve la síntesis y el crecimiento celular<sup>46</sup>. En el caso de la malnutrición fetal, es posible pensar que en el nacimiento hay una sensibilidad reducida a la insulina, la cual se puede revelar en forma de un incremento del inositol extracelular. Recientemente, el acercamiento por parte de la metabolómica se ha basado en analizar los perfiles NMR de muestras de orina en neonatos “grandes” para su edad gestacional (LGA) y neonatos IUGR, para buscar patrones metabólicos asociados a dichas patologías<sup>47</sup>. El análisis metabolómico ha hecho posible identificar moléculas responsables de los diferentes perfiles metabólicos IUGR y LGA en recién nacidos con respecto a un grupo control. Entre estos metabolitos el mioinositol sobresale.

Si la genética regula la respuesta de un individuo frente a la comida (nutrigenética), entonces los nutrientes pueden controlar la expresión genética (nutreogenómica) y los productos del metabolismo (nutreometabolismo)

### MRS IN VIVO

El uso de MRS in vivo, ha visto grandes avances gracias a la mejora tecnológica de los aparatos y sistemas usados para su obtención.

Normalmente primero obtendremos imágenes anatómicas a través de MRI, y las usaremos como guía para seleccionar el lugar de donde obtendremos el MRS. Normalmente obtendremos una forma de MRS llamada single voxel spectroscopy (SVS), que consiste en realizar una MRS en un punto del tejido donde creamos que el metabolismo estará alterado.

Esta técnica está demostrando ser de gran interés en el estudio de enfermedades cerebrales (mediante el estudio de metabolitos como N-acetil aspartato (NAA), creatina (Cre), y colina (Cho))<sup>48</sup>. Un ejemplo es el estudio del NAA, considerado un marcador neuronal, el cual se sintetiza en las mitocondrias neuronales, y es transportado a lo largo de los axones. La concentración de NAA se ve reducida en caso de situaciones de degeneración neuronal, varias enfermedades de la masa blanca y en tumores cerebrales<sup>49,50,51</sup>.

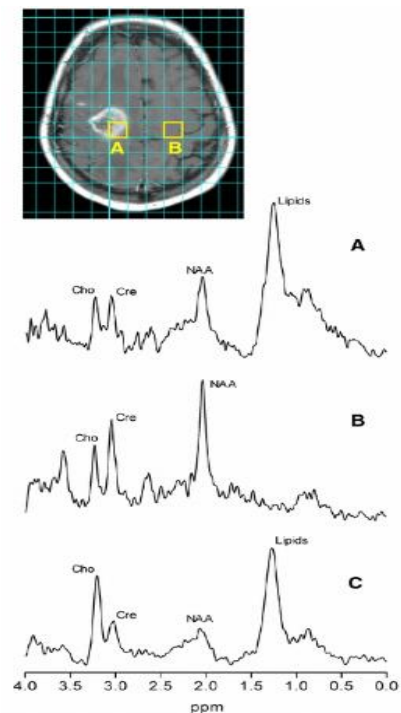


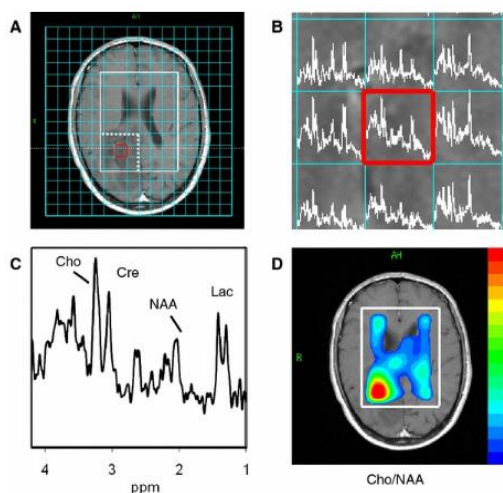
Imagen MR con intensidad de señal mejorada tras la administración de contraste, la cual puede deberse a la presencia de una metástasis o radionecrosis; junto con una cuadrícula MRSI (TE=20ms).

**a** Espectro de un voxel de la zona de interés con unas intensidades relativamente normales de los principales metabolitos del cerebro: creatina, colina y NAA; y una gran resonancia lipídica. **b** Espectro de un voxel contralateral en tejido sano, mostrando un patrón normal de señales de metabolitos cerebrales. **c** Espectro de una metástasis obtenida de otro paciente. Basándonos en los patrones del espectro **a**, se podría realizar un diagnóstico de radionecrosis<sup>48</sup>.

Por otro lado, el aumento de NAA es un signo específico de la enfermedad de Canavan (enfermedad relacionada con neurotransmisores)<sup>49,50</sup>.

### MRSI (MRS + MRI)

MRSI permite construir un mapa en el que se muestre la distribución espacial o proporción de un metabolito.



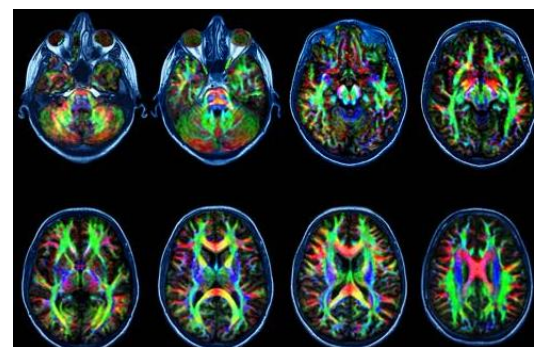
MRSI de un paciente con un tumor cerebral (oligodendroglioma de bajo nivel). **a** Imagen MR con el volumen de interés seleccionado mediante STEAM en blanco, y un cuadrante bidimensional de MRSI en azul. Los espectros e MRSI han sido obtenidos de los voxels de MRSI en el volumen de interés. La línea de puntos en **a** indica los MRSI voxels mostrados en **b**. **b** parte de la imagen espectral mostrando voxels MRSI con su espectro correspondiente. **c** ampliación del espectro obtenido del voxel marcado en rojo en **b** y **c**. El espectro (TE = 20ms) muestra el patrón clásico para un tumor de bajo nivel, con un aumento en la colina, y una disminución en el NAA, y un doblete en el lactato. **d** Mapa de los metabolitos mostrando el ratio de colina respecto a NAA en el volumen de interés, con la zona de máxima intensidad mostrada en rojo, en la posición del tumor<sup>48</sup>.

Un ejemplo de la utilidad de esta técnica, son los tumores cerebrales, que suelen ser heterogéneos, podemos utilizar MRSI multivoxel para descubrir la parte más agresiva del tumor. Además, los

tumores de alto grado, pueden infiltrar el tejido subyacente, y esto solo se hace patente mediante el uso de MRSI, que muestra espectros con patrones anormales fuera de la lesión. Por lo tanto esta técnica nos podría permitir diferenciar entre gliomas de alto grado (suelen mostrar infiltraciones), y metástasis (restringido espacialmente). Finalmente indicar, que el ratio entre la intensidad de señal del Metileno lipídico a 1.3 ppm y a 0.9 ppm, parece ser mayor en metástasis, que en gliomas de alto grado<sup>52</sup>.

### IMAGEN DE TENSOR DE DIFUSIÓN

La imagen de tensor de difusión es una forma más compleja de RM de difusión, siendo la principal diferencia el tratamiento de los datos obtenidos. Es una técnica no invasiva e in vivo, que permite mapear las trayectorias de las fibras de la materia blanca en el cerebro y en la espina dorsal. Esta información puede ser de vital importancia a la hora de ver las relaciones entre un tumor y la materia blanca que lo rodea<sup>53</sup>.



**Imagen de tensor de difusión:** las fibras de materia blanca (axones) permiten la comunicación entre las diferentes regiones del cerebro y la médula espinal. Daños en este tipo de tejido, pueden tener consecuencias serias, y de larga duración. En esta imagen los axones están coloreados de acuerdo a su orientación. Las fibras que van entre la zona frontal y la posterior son azules, las que van entre derecha e izquierda rojas, y las que se mueven entre el interior y exterior cerebral, se muestran en verde<sup>53</sup>.

## **PERFUSIÓN MRI**

Esta técnica permite de forma no invasiva, evaluar la hemodinámica cerebral en situaciones clínicas definidas. MRI combinado con la perfusión cerebral permite ver el paso de sangre a través de la red vascular del cerebro. Implica la inyección de un agente de contraste que es seguido mediante MRI a su paso por el tejido cerebral. Esta técnica se ha convertido en un componente vital a la hora de evaluar tumores cerebrales, y en combinación con técnicas de difusión de imagen, es utilizado en casos de infarto cerebral agudo, para determinar el tejido en riesgo de morir (penumbra), si el infarto continúa sin una recanalización; una inversión de la penumbra, se asocia con una disminución de la mortalidad y morbilidad)<sup>53</sup>.

## **MRI FUNCIONAL (f MRI)**

MRI funcional, hace referencia a la relación entre las funciones cerebrales y la locación de la actividad neuro-anatómica en tiempo real. La mayoría de estos estudios se realizan mediante el uso de BOLD que mide el nivel de oxígeno en sangre y requiere de la detección de señales de muy baja intensidad, con cambios de intensidad de señal de entre 0% y 3% a 1.5T, y hasta 6% en 3T para volúmenes de voxel tan pequeños como 3x3x5 mm. El principio de la técnica BOLD en f MRI, es que la realización de ejercicios cognitivos predefinidos, lleva a un incremento de la actividad neuronal regional, lo que implica cambios localizados en la hemodinámica cerebral, que se pueden ver mediante MRI<sup>53</sup>.

## **MRI INTRAOPERATIVA**

Desde hace ya algún tiempo, la planificación de procedimientos en cirugía cerebral, se basa en

imágenes obtenidas mediante MR. Pero los cambios que se dan en las dinámicas cerebrales durante el curso de la operación, no pueden ser previstas con las imágenes pre-operacionales. El desarrollo de técnicas intraoperativas de MRI, permite al cirujano ver el cerebro en tiempo real durante toda la operación, lo que facilita retirar los tumores sin dañar el tejido adjunto, y saber si todo el tumor ha sido extraído sin tener que esperar a imágenes post operacionales. En la sala de operaciones, el escáner MRI se encuentra integrado en la sala de operaciones, durante la operación el paciente es situado en una mesa rotatable, de forma que en cualquier momento la cirugía puede ser interrumpida, y el paciente puesto en la máquina de MRI mediante el giro la mesa de operaciones<sup>54</sup>.

## **MIELO-RESONANCIA MAGNÉTICA**

La RM mielografía se trata de una técnica que proporciona información anatómica del espacio subaracnoideo. Resaltar como una gran ventaja, que no hace falta administrar contraste por vía intratecal. La técnica proporciona una visualización de todo el saco tecal, incluso si hay estenosis, bloqueo o adherencias que hubieran condicionado un bloqueo del contraste en la mielografía radiográfica. La ventaja de la técnica es su aplicación conjuntamente con las secuencias clásicas de cualquier estudio de RM, sin necesidad de estudios suplementarios y que puede realizarse en un único examen de RM. Las posibles indicaciones para utilizar esta secuencia suplementaria son en valoraciones de variantes anatómicas radicales, anomalías congénitas, pseudomeningoceles postraumáticos, aracnoiditis adhesiva, tumores, hernias discales, estenosis de

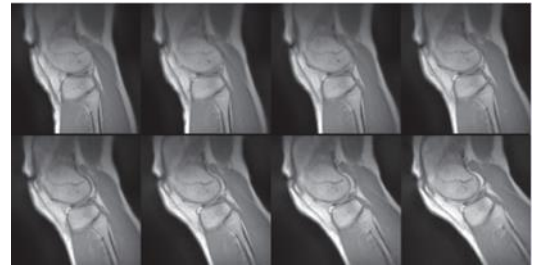
canal degenerativa o malformaciones arteriovenosas<sup>56</sup>.

## MRI EN EL PULMÓN

Realizar MRI en el pulmón tiene el problema de una baja intensidad de señal debido a la baja densidad de protones, y al alto grado de inhomogeneidades microscópicas que degradan la señal de la RM; Pero estos problemas han podido ser minimizados gracias al avance del software y el hardware. Las técnicas más recientes se centran en medir la perfusión regional, ventilación, difusión de gases, el ratio de ventilación-perfusión, la presión parcial del oxígeno y el agua en los pulmones<sup>54</sup>.

## RADIAL FLASH (MRI EN TIEMPO REAL)

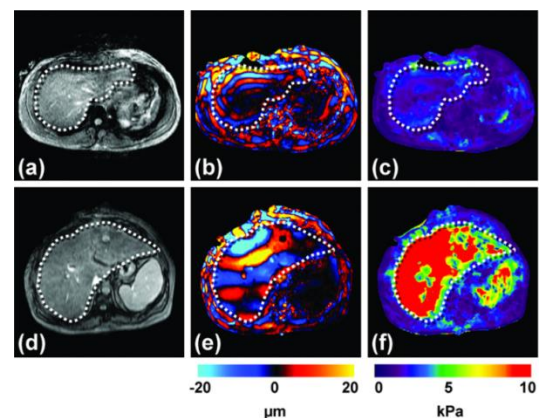
La técnica emplea una secuencia de disparos rápidos y ángulo bajo de T1, contraste T2/T1, o densidad protónica. Esto hay que combinarlo con una codificación radial de los datos espaciales, que hacen a las imágenes, insensibles a los movimientos. Un algoritmo de reconstrucción iterativa estima la imagen como la solución de un problema no lineal invertido y asegura la fidelidad de la imagen mediante regularización temporal, la cual explota la continuidad temporal de fotogramas sucesivos durante imagen dinámica. Esta técnica resulta interesante para observar el movimiento articular, además de poder obtener imágenes fidedignas en problemas relacionados con procesos rápidos como el habla y tragar, debido a que la velocidad de estos movimientos dificulta obtener MRIs tradicionales. Y posibles aplicaciones para el estudio de órganos con un movimiento autónomo rápido como el corazón<sup>54</sup>.



MRI en tiempo real de la rodilla de un voluntario, flexionándose después de haber sufrido una contusión ligera. Las imágenes elegidas fueron tomadas cada 4 s y sacadas de dos grabaciones diferentes a 333 ms, con una resolución temporal (3 fps) adquirida usando una secuencia de disparos de ángulo bajo<sup>54</sup>.

## MR ELASTOGRAPHY (MRE)

Es una técnica de imagen que estudia las propiedades del tejido de forma cuantitativa. Se podría considerar el equivalente a la información que se obtendría tradicionalmente mediante palpación. Se basa en la emisión de shear waves (ondas rotacionales), y después utilizar la MR para determinar la propagación de esas ondas en el tejido, generando así imágenes de la “dureza” del tejido. Esta técnica puede ser utilizado en el diagnóstico de la cirrosis. El hígado sano es suave a la palpación, en contraste, en pacientes con cirrosis se vuelve duro. Las pruebas clínicas han demostrado que la MRE puede ser utilizado para diagnosticar cirrosis, ya que el grado de dureza es proporcional al grado de fibrosis<sup>53,55</sup>.



MRE de un paciente con un hígado sano (fila superior), y MRE de un paciente con cirrosis hepática (fila inferior). (a,d) son MRI del hígado de los dos pacientes sin mostrar ninguna diferencia significativa. (b,e) ondas de



imagen adquiridas gracias a MRE 60 Hz, mostrando shear waves con una duración inferior en el primer paciente. (c,f) los correspondientes elastogramas, mostrando que c es normal, y f cirrótico<sup>55</sup>.

## RESONANCIA MAGNÉTICA DE CUERPO ENTERO

La progresiva evolución tecnológica de la RM han hecho posible la utilización de la técnica de RM como un método de imagen rápido y eficaz para valorar todo el cuerpo<sup>57</sup>. El protocolo de estudio es variable, y de aquí también la dificultad en implantar la técnica de forma habitual, precisamente por la falta de estandarización entre los distintos equipos de RM. Es imprescindible realizar secuencias potenciadas en T1 y STIR (*short tau inversion recovery*), principalmente en el plano coronal de todo el cuerpo y sagital de la columna para una adecuada valoración del marco óseo. Para un estudio de las vísceras abdominales y del cerebro es necesario realizar adquisición con técnica gradiente ecopotenciada en T1 tridimensional (3D) tras administrar contraste intravenoso de forma dinámica desde la cabeza hasta la pelvis. De forma adicional puede utilizarse la secuencia de difusión de cuerpo entero. Los primeros resultados han demostrado la mejor eficacia de la RM de cuerpo entero comparada con la gammagrafía en la detección de metástasis óseas utilizando secuencias de difusión<sup>58</sup>. El tiempo aproximado de un estudio de cuerpo entero sin contraste es de 25 a 35min, y con la secuencia 3D tras administrar contraste el tiempo aproximado es de 45min. Las principales indicaciones para evaluar a un paciente en RM de cuerpo entero son en el campo de la oncología (detección de metástasis óseas, extensión tumoral global de neoplasia primaria, extensión ósea en la paciente embarazada...); también tiene

aplicaciones en el campo no oncológico como en casos de enfermedad benigna multifocal osteomuscular (infección, inflamatoria, depósito, idiopática), investigación: autopsias virtuales, grasa corporal, etc., y cribado preventivo (angio RM cardiovascular). Hay suficientes pruebas de la utilidad de la

técnica de la RM de cuerpo entero para decir que una buena alternativa a otras técnicas de imagen de cuerpo entero utilizadas que poseen un menor rendimiento<sup>59</sup>.

## CONCLUSIÓN

Esta revisión ha presentado algunas de las aplicaciones de las técnicas NMR en el campo de la investigación farmacéutica, algunas son utilizadas de forma rutinaria, como fMRI; mientras que otras como MRE, están lejos de ser utilizadas de forma generalizada, debido a diferentes factores como poca disponibilidad y accesibilidad de la técnica, escasa difusión a los clínicos, poca uniformidad de la técnica entre los distintos equipos, o desconocimiento de los especialistas. Pero debido a la gran necesidad de obtener información en el campo de la investigación farmacéutica y médica, y la utilidad que estas técnicas han demostrado tener; se puede suponer que el uso e importancia de estas técnicas, no hará más que aumentar en el futuro.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Resonancia magnética nuclear (s.f) recuperado el 2 de Mayo de 2016 de <https://investigacion.us.es/scisi/sgi/servicio/s/rmn>
2. Mamin H, Poggio M, Degen CL, Rugar D. 2007. Nuclear magnetic resonance imaging with 90-nm resolution. *Nature Nanotechnol* 2:301–306.
3. Hoult DI, Busby SJ, Gadian DG, Radda GK, Richards RE, Seely PJ. 1974. Observation of tissue metabolites using <sup>31</sup>P nuclear magnetic resonance. *Nature* 252:285–287.
4. Gillies RJ, Morse DL. 2005. In vivo magnetic resonance spectroscopy in cancer. *Ann Rev Biomed. Eng* 7:287–326.
5. Dadiani M, Furman-Haran E, Degani H. 2006. The application of NMR in tumor angiogenesis research. *Prog NMR Spectr* 49:27–44.
6. Whitehead TL, Kieber-Emmons T. 2005. Applying in vitro NMR spectroscopy and <sup>1</sup>H NMR metabonomics to breast cancer characterization and detection. *Prog NMR Spectr* 47:165–174.
7. Cheng LL, Burns MA, Taylor JL, He W, Halpern EF, McDougal WS, Wu CL. 2005. Metabolic characterization of human prostate cancer with tissue magnetic resonance spectroscopy. *Cancer Res* 65:3030–3034.
8. Aboagye EO, Artemov D, Senter PD, Bhujwalla ZM. 1998. Intratumoral conversion of 5-fluorocytosine to 5-fluorouracil by monoclonal antibody-cytosine deaminase conjugates: Noninvasive detection of pro-drug activation by magnetic resonance spectroscopy and spectroscopy imaging. *Cancer Res* 58:4075–4078.
9. I. Rodríguez, S. Pérez Rial, J. González Jimenez, J.M. Pérez-Sánchez, F. Herranz, N. Beckmann, J. Ruíz-Cabello. 2008. Magnetic Resonance Methods and Applications in Pharmaceutical Research. *Journal of pharmaceutical sciences*, Vol. 97, N°. 9, September 2008
10. Most Powerful NMR Spectrometer Now Operational (s.f) recuperado el 2 de Mayo de 2016 de <http://www2.cnrs.fr/en/1654.htm>
11. Tedros Bezabeh, Omkar B Ijare, Alexander E Nikulin, Rajmund L Somorjai, and Ian CP Smith 2014
12. MRS-based Metabolomics in Cancer Research Magn Reson Insights. 2014; 7: 1–14. Published online 2014 Feb 13
13. Fundamentos del RM (s.f) recuperado el 2 de Mayo de 2016 de <http://es.slideshare.net/llueveenparis/resonancia-magntica-12970285>
14. RMN relajación y potenciación, 24 de agosto de 2012, recuperado el 2 de Mayo de 2016 de <http://es.slideshare.net/Facu885/relajacion-y-potenciacion-885>
15. Resonancia magnética 16 de mayo de 2014, recuperado el 2 de Mayo de 2016 de [http://es.slideshare.net/alexray2/resonancia-magntica-34785088?next\\_slideshow=1](http://es.slideshare.net/alexray2/resonancia-magntica-34785088?next_slideshow=1)
16. Rosa Gantes Cabrera 2008/2009 Master en físicas biomédicas, 10-11. Recuperado el 2 de mayo de 2016 <http://nuclear.fis.ucm.es/research/thesis/TM-Rosa-Gantes.pdf>
17. Haacke EM. 1999. Magnetic resonance imaging: Physical principles and sequence design. First edition. New York: Wiley. p xxvii, 914 p.
18. Vlaardingerbroek MT, Boer JAD. 1996. Magnetic resonance imaging: Theory and practice. Third edition. Berlin; New York: Springer. p xxiii, 520 p.
19. Bushberg JT. 2002. The essential physics of medical imaging. 2nd edition. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins. p xvi, 933 p.
20. Higashida R, Furlan A, Roberts H, Tomsick T, Connors B, Barr J, Dillon W, Warach S, Broderick J, Tilley B, Sacks D. 2003. Trial design and reporting standards for intraarterial cerebral thrombolysis for acute ischemic stroke. *J Vasc Interv Radiol* 14:S493–S494.
21. Ley-Zaporozhian J, Leys, Kauczor HU. 2007. Morphological and functional imaging in COPD with CT and MRI: Present and future. *Eur Radiol* (2008) 18: 510–521
22. Rockall AG, Reznik RH. 2007. Imaging of neuroendocrine tumours (CT/MR/US). *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 21:43–68.
23. Thoeny HC, De Keyzer F, Vandecaveye V, Chen F, Sun X, Bosmans H, Hermans R, et al. Effect of vascular targeting agent

- in rat tumor model: dynamic contrast-enhanced versus diffusion-weighted MR imaging. *Radiology* 2005; 237(2): 492-499.
24. Stejskal EO, Tanner JE. Spin diffusion measurements: spin-echo in the presence of a time dependent field gradient. *J Chem Phys* 1965; 42: 288-292.
  25. Dr. Pablo Soffia S. 2009. Difusión por resonancia magnética: bases y aplicaciones oncológicas en órganos extracraneanos. *Rev. chil. radiol.* v.15 supl.1 Santiago s17-s24.
  26. Angelica Dessì, Flaminia Cesare Marincola, et. al. *Clinical Metabolomics and Nutrition: The New Frontier in Neonatology and Pediatrics*. Biomed Res Int. 2014; 2014: 981219.
  27. Carraro S, Rezzi S, Renieron F, Heberger K, Giordano G, Zanconato S, Guillou C, Baraldi E. 2007. Metabolomics applied to exhaled breath condensate in childhood asthma. *Am J Resp Crit Care Med* 175:986–990.
  28. Kharitonov SA, Barnes PJ. 2002. Biomarkers of some pulmonary diseases in exhaled breath. *Biomarkers* 7:1–32.
  29. Ijare OB, Smith ICP, Mohajeri S, Bezabeh T. Magnetic resonance spectroscopy of bile in the diagnosis of hepatopancreaticobiliary diseases: past, presence and future. In: Khetrapal CL, Kumar A, Ramanathan KV, editors. *Future directions of NMR*. Vol. 1. New Delhi: Springer (India); 2011. pp. 45–53.
  30. Soper R, Himmelreich U, Painter D, et al. Pathology of hepatocellular carcinoma and its precursors using proton magnetic resonance spectroscopy and a statistical classification strategy. *Pathology*. 2002;34:417–22.
  31. Albiin N, Smith ICP, Arnelo U, et al. Detection of cholangiocarcinoma with magnetic resonance spectroscopy of bile in patients with and without primary sclerosing cholangitis. *Acta Radiol*. 2008;49:855–62.
  32. Wen H, Yoo SS, Kang J, et al. A new NMR-based metabolomics approach for the diagnosis of biliary tract cancer. *J Hepatol*. 2010;52:228–33.
  33. Khan SA, Cox IJ, Thillainayagam AV, Bansil DS, Thomas HC, Taylor-Robinson SD. Proton and phosphorus-31 nuclear magnetic resonance spectroscopy of human bile in hepatopancreaticobiliary cancer. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2005;17:733–38.
  34. Sharif AW, Williams HRT, Lampejo T, et al. Metabolic profiling of bile in cholangiocarcinoma using in vitro magnetic resonance spectroscopy. *HPB*. 2010;12:396–402.
  35. Beger RD, Schnackenberg LK, Holland RD, Li D, Dragan Y. Metabonomic models of human pancreatic cancer using 1D proton NMR spectra of lipids in plasma. *Metabolomics*. 2006;2:125–134.
  36. Mountford CE, Somorjai RL, Malycha P, et al. Diagnosis and prognosis of breast cancer by magnetic resonance spectroscopy of fine-needle aspirates analysed using a statistical classification strategy. *Br J Surg*. 2001;88(9):1234–40.
  37. Bezabeh T, Ijare OB, Albiin N, Arnelo U, Lindberg B, Smith ICP. Detection and quantification of D-glucuronic acid in human bile using 1H NMR spectroscopy: relevance to the diagnosis of pancreatic cancer. *MAGMA*. 2009;22:267–75.
  38. Fanos V, Antonucci R, Atzori L. Metabolomics in the developing infant. *Current Opinion in Pediatrics*. 2013;25(5):604–611.
  39. Makarov VG, Makarova MN, Rydlovskaya AV, Tesakova SV. Nutrimetabolomics from the points of systemic estimation of function of metabolomic complexes. *Voprosy Pitaniia*. 2007;76(3):4–10.
  40. Dessì A, Puddu M, Ottonello G, Fanos V. Metabolomics and fetal -neonatal nutrition: between “not enough” and “too much” *Molecules*. 2013;18:11724–11732.
  41. Barker DJP. Fetal origins of coronary heart disease. *British Medical Journal*. 1995;311(6998):171–174.
  42. Dessì A, Ottonello G, Fanos V. Physiopathology of intrauterine growth retardation: from classic data to metabolomics. *Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine*. 2012;25(5):13–18.
  43. Berti C, Cetin I, Agostoni C, et al. Pregnancy and infants' outcome: nutritional and metabolic implications. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2014
  44. Bertram HC, Nissen PM, Nebel C, Oksbjerg N. Metabolomics reveals relationship between plasma inositols and

- birth weight: possible markers for fetal programming of type 2 diabetes. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*. 2011;2011:8 pages.378268
45. Dess A, Atzori L, Noto A, et al. Metabolomics in newborns with intrauterine growth retardation (IUGR): urine reveals markers of metabolic syndrome. *Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine*.2011;24(2):35–39.
  46. Dessì A, Fanos V. Myoinositol: a new marker of intrauterine growth restriction? *Journal of Obstetrics & Gynaecology*. 2013;33:776–780.
  47. Barberini L, Noto A, Fattuoni C, et al. Urinary metabolomics reveals that low and high birth weights infants share elevated inositol concentrations at birth. *Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine*. In press.
  48. Marinette van der Graaf . 2010. In vivo magnetic resonance spectroscopy: basic methodology and clinical applications *Eur Biophys J*. 2010 Mar; 39(4): 527–540.
  49. Cecil KM. MR spectroscopy of metabolic disorders. *Neuroimaging Clin N Am*. 2006;16:87–116. doi: 10.1016/j.nic.2005.10.004.
  50. Cecil KM, Salomons GS, Ball WS, Wong B, Chuck G, Verhoeven NM, Jakobs C, DeGrauw TJ. Irreversible brain creatine deficiency with elevated serum and urine creatine: a creatine transporter defect? *Ann Neurol*. 2001;49:401–404. doi: 10.1002/ana.79.
  51. Dra. Pilar Dies Suárez, Dr. Juan José Ortíz Retana, et.al. 2002. Espectroscopía In vivo por Resonancia Magnética de Protones en la diferenciación de esclerosis múltiple de exacerbación-remisión y esclerosis múltiple crónica progresiva secundaria. *Anales de Radiología México* 2002;2:397-402
  52. Scheenen TW, Klomp DW, Wijnen JP, Heerschap A. Short echo time 1H-MRSI of the human brain at 3T with minimal chemical shift displacement errors using adiabatic refocusing pulses. *Magn Reson Med*. 2008;59:1–6. doi: 10.1002/mrm.21302.
  53. Deepak Patkar, Vijay Jadhav, Chetan Jathar. 2013. New Advances in MRI. *JIMSA January-March 2013 Vol. 26 No. 1, 59-64*
  54. Martin Uecker , Shuo Zhang , Dirk Voit, Klaus Dietmar Merboldt & Jens Frahm.2012. Real-time MRI: recent advances using radial FLASH. *Imaging Med*. (2012) 4(4), 461–476
  55. Yogesh K Mariappan, Kevin J Glaser, Richard L Ehman. 2010. MAGNETIC RESONANCE ELASTOGRAPHY: A REVIEW. *Clin Anat*. 2010 Jul; 23(5): 497–511.
  56. M. Nagayama,Y. Watanabe,A. Okumura,Y. Amoh,S. Nakashita,Y. Dodo High-resolution single-slice MR myelography *AJR Am J Roentgenol*, 179 (2002), pp. 515-521
  57. T.C. Lauenstein,R.C. Semelka Emerging techniques: Whole-body screening and staging with MRIJ *Magn Reson Imaging*, 24 (2006), pp. 489-498
  58. J. Barceló,J.C. Vilanova,E. Riera,E. Balliu,I. Peláez,J. Martí Diffusion-weighted whole-body MRI (virtual PET) in screening for osseous metastases *Radiologia*, 49 (2007), pp. 407-415
  59. Joan C. Vilanova. 2008 New advances on diagnostic imaging in spinal pathology. *Reumatol Clin*. 2010;6:49-52