

# Imagen molecular por resonancia magnética

María L. García Martín

BIONAND, Centro Andaluz de Nanomedicina y Biotecnología. Junta de Andalucía, Universidad de Málaga. Centro de Investigación Biomédica en Red de Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina, CIBER-BBN

## INTRODUCCIÓN ¿QUÉ ES LA IMAGEN MOLECULAR?

La definición más reciente y que ha sido ampliamente aceptada por la comunidad científica, es la siguiente: “La imagen molecular es la visualización, caracterización y medición de procesos biológicos a nivel molecular y celular en seres humanos y otros organismos vivos”. Además, esta definición añade los siguientes detalles: “La imagen molecular típicamente incluye imágenes bi- o tridimensionales, así como cuantificación temporal. Las técnicas utilizadas incluyen imagen de radiotrazadores/imagen nuclear, imagen por resonancia magnética (MRI), espectroscopía por resonancia magnética (MRS), imagen óptica, ultrasonidos y otras”.

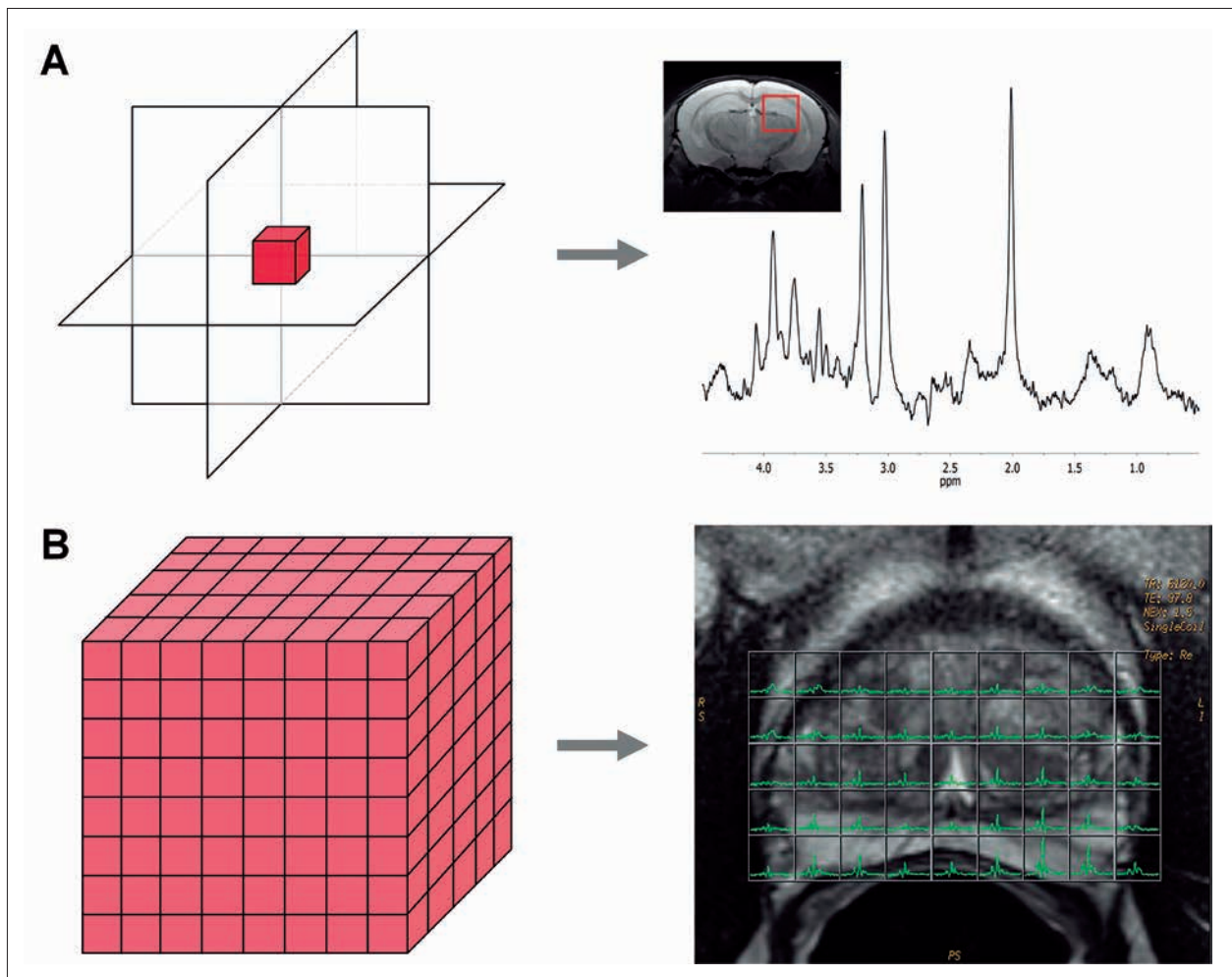
De acuerdo a esta definición, la imagen molecular por resonancia magnética puede dividirse en dos modalidades: i) la imagen espectroscópica o imagen metabólica, que se obtiene a partir de espectros de resonancia magnética *in vivo*; y ii) la imagen molecular propiamente dicha o mMRI (*molecular Magnetic Resonance Imaging*).

## CONCEPTOS GENERALES DE RESONANCIA MAGNÉTICA

El fenómeno de resonancia magnética, descubierto por Bloch y Purcell en 1946, se basa en la interacción de los momentos magnéticos que poseen los núcleos de ciertos átomos con campos magnéticos externos. El momento magnético de un núcleo está determinado por el llamado espín nuclear, que viene definido por el número cuántico de espín, denominado I. El espín nuclear de un átomo con número par de neutrones y protones es cero, y por tanto no poseen momento magnético. Sin embargo, los átomos con un número impar de protones o neutrones presentan un espín distinto de cero y en consecuencia un momento magnético. Tras su descubrimiento, la resonancia magnética nuclear (NMR) sólo era utilizada por los físicos para medir los momentos magnéticos de diversos núcleos. Fue poco después, con el descubrimiento del desplazamiento químico y de las constantes de acoplamiento al comienzo de los 50, cuando comenzaron sus aplicaciones químicas y con ello la espectroscopía como tal. Pero la gran revolución vino de la mano Ernst y Anderson cuando en 1966 introdujeron la NMR pulsada en combinación con la

transformada de Fourier, que constituye la base de la resonancia moderna. A las aplicaciones químicas le siguieron las aplicaciones biomédicas. Así, en los años 70 aparecen ya los primeros trabajos sobre espectroscopía aplicada al estudio de organismos vivos. Aunque existe un gran número de elementos con momento magnético, son muy pocos los que tienen interés en biomedicina, y menos aún los que tienen interés para aplicaciones *in vivo*. Desde el punto de vista bioquímico, cabe destacar cuatro elementos por su abundante presencia en las biomoléculas que constituyen los seres vivos, el carbono, el nitrógeno, el fósforo y el hidrógeno. De ellos, sólo dos tienen isótopos con momento magnético que presenten una abundancia natural suficiente, el  $^1\text{H}$ , con una abundancia natural de más del 99,98%, y el  $^{31}\text{P}$ , cuya abundancia natural es del 100%. Por tanto, la espectroscopía *in vivo* se reduce prácticamente al  $^1\text{H}$  y el  $^{31}\text{P}$ .

En cuanto a la imagen por resonancia magnética, su nacimiento se produjo en 1973, de la mano de Paul Lauterbur y Peter Mansfield, galardonados con el premio nobel por este descubrimiento en 2003. A diferencia de la espectroscopía, en la que se busca la identificación y cuantificación de diferentes moléculas observando espectros complejos, la imagen se basa en la medida de la distribución espacial de una sola señal, la de los  $^1\text{H}$  de la molécula más abundante en los organismos vivos, el agua. La codificación espacial de esta señal se consigue mediante el uso combinado de pulsos de radiofrecuencia y gradientes de campo. Desde su descubrimiento, la MRI ha evolucionado enormemente hasta llegar a convertirse en la técnica líder del diagnóstico por imagen. La razón por la que la MRI ha tenido tanto éxito sin duda está en la extraordinaria combinación de cualidades que posee. Por un lado, no utiliza radiación ionizante, a diferencia de otras técnicas de imagen diagnóstica, como la tomografía computarizada, que emplea rayos-X, o la imagen nuclear, que necesita trazadores radiactivos. Por otro lado, la MRI proporciona un altísima calidad de imagen con un excelente detalle anatómico, especialmente de tejidos blandos. Pero además, la MRI posee la gran ventaja de ser capaz de proporcionar información funcional, además de la información morfológica. Por supuesto, también tiene algunas desventajas, principalmente su baja sensibilidad en comparación con otras técnicas, como la



**Figura 1**

Espectroscopía *in vivo*. A) Espectroscopía monovoxel con un ejemplo de un espectro de cerebro de rata. B) Espectroscopía multivoxel 3D con un ejemplo de un estudio de próstata de un ser humano.

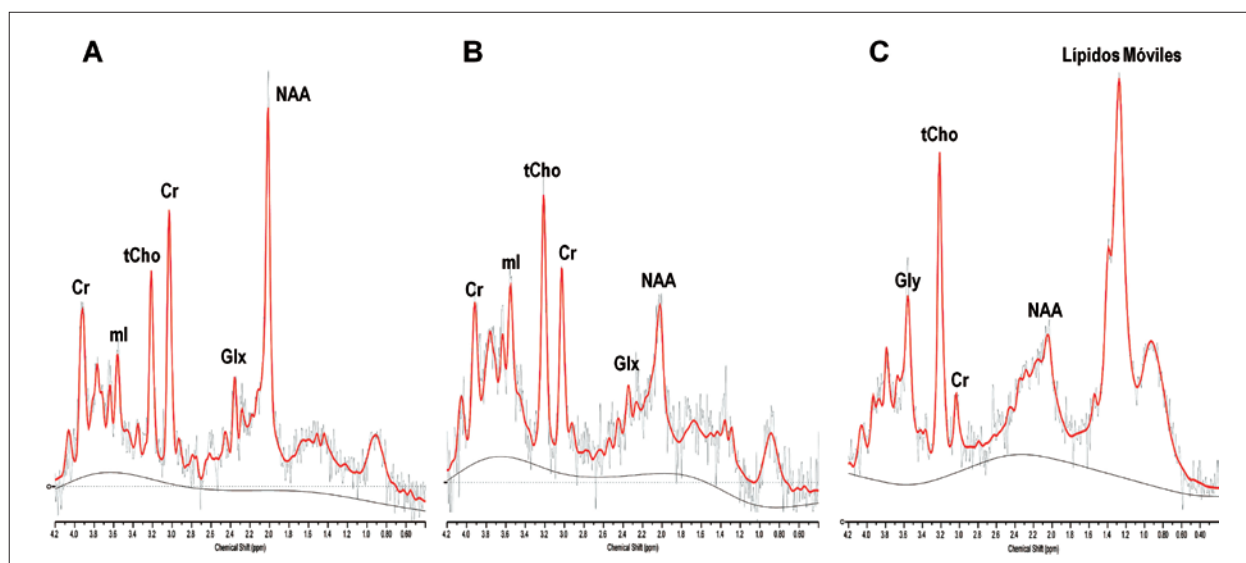
imagen nuclear. Esta situación puede ser compensada, al menos en parte, mediante el uso de agentes de contraste. Sin embargo, los agentes de contraste que actualmente se utilizan en la clínica tienen otra desventaja, su falta de especificidad. Este último aspecto es crítico en la imagen molecular, como se comentará más adelante. Por ello, desde que surgió la nanomedicina, con las enormes posibilidades que ofrece, se ha llevado a cabo una ingente labor de investigación orientada al desarrollo de una nueva generación de agentes de contraste con mayor sensibilidad y especificidad.

### ESPECTROSCOPÍA IN VIVO: IMAGEN ESPECTROSCÓPICA

La espectroscopía *in vivo* actualmente se lleva a cabo utilizando técnicas de espectroscopía localizada, es decir, técnicas que utilizan gradientes de campo en combinación con pulsos de radiofrecuencia para seleccionar un

volumen de interés (vóxel) en una determinada región anatómica, a partir del cual se obtiene uno (monovoxel) o múltiples (multivoxel) espectros. En ambos casos la información que se obtiene es el perfil metabólico promedio del tejido contenido dentro del volumen seleccionado. En el caso de la espectroscopía monovoxel (*Figura 1A*) este volumen suele estar en torno a los 8 cm<sup>3</sup> en la clínica y alrededor de los 27-64 mm<sup>3</sup> en los estudios preclínicos (ratón y rata). Por su parte, la espectroscopía multivoxel, que puede ser bi- o tri-dimensional se basa en la selección de un volumen mucho mayor que se subdivide en pequeños vóxeles, dando lugar a matrices de espectros codificados espacialmente (*Figura 1B*).

Como ya se mencionó en la introducción, existen varios elementos con momento magnético que resultan de interés biológico, sin embargo, debido a su mayor sensibilidad, la inmensa mayoría de los estudios que se llevan



**Figura 2**

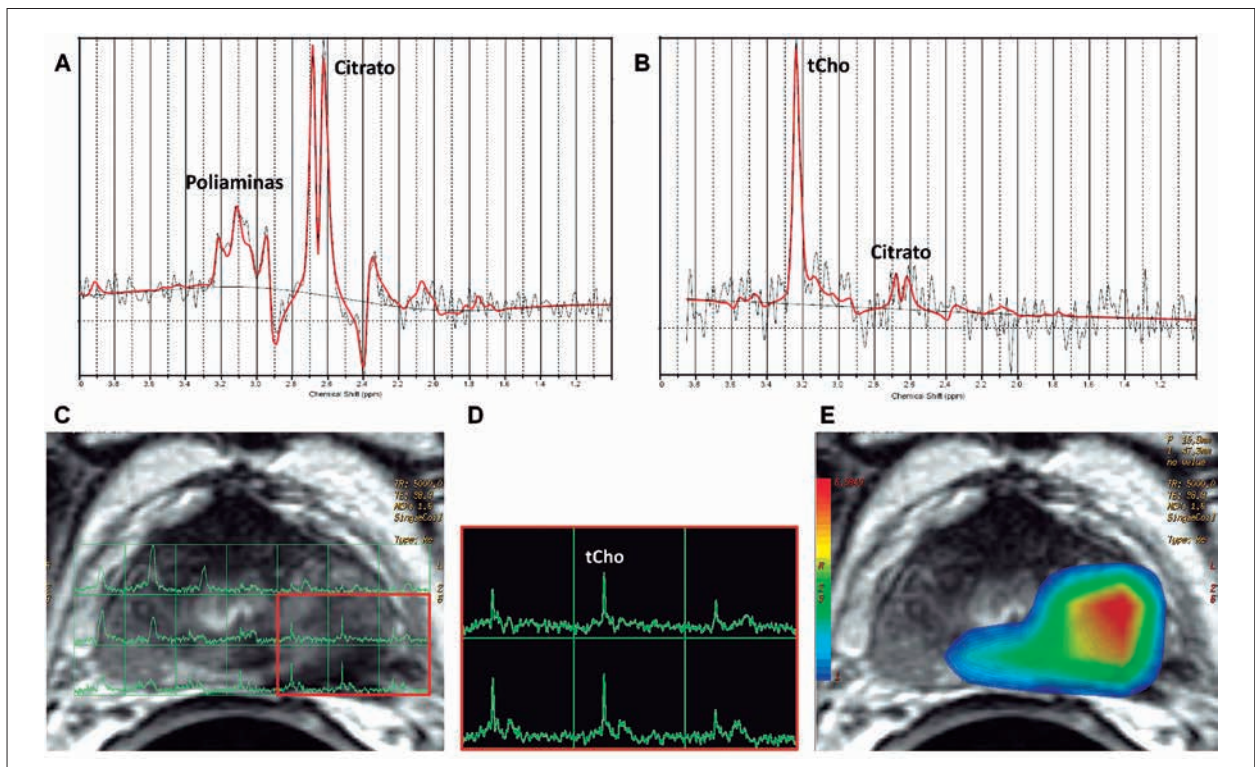
Espectros de cerebro humano obtenidos mediante espectroscopía monovoxel de  $^1\text{H}$ . (A) Espectro control, (B) Glioma de bajo grado y (C) Glioblastoma multiforme (alto grado).

a cabo, tanto en la clínica como en la preclínica, son de espectroscopía de  $^1\text{H}$ , o de protón, como se denomina comúnmente. Por tanto, el resto de este apartado estará centrado exclusivamente en la espectroscopía de  $^1\text{H}$ .

Los principales metabolitos que se pueden detectar en estudios de  $^1\text{H}$  MRS *in vivo* son los siguientes: el ácido N-acetil aspártico (NAA), considerado el marcador neuronal por excelencia; varios intermediarios del metabolismo de la fosfatidilcolina, la fosfocolina (PC) y la glicerofosfocolina (GPC), que junto con la colina libre dan lugar a un pico que suele denominarse colina total (tCho) y cuyo aumento se relaciona con un aumento de la actividad proliferativa, en el caso de los tumores; la creatina y la fosfocreatina, que dan lugar a un solo pico que suele identificarse como Cr y cuyos niveles se ven afectados como consecuencia de patologías hepáticas o alteraciones del metabolismo energético; el lactato, que aumenta en situaciones de hipoxia o también por el efecto Warburg en los tumores; el *myo*-Inositol (mI), cuya concentración es mucho mayor en las células gliales; el glutamato (Glu) y la glutamina (Gln), cuyas señales aparecen solapadas en los espectros *in vivo* y se identifican como Glx; el citrato (Cit), que aparece muy elevado en condiciones normales en la glándula prostática debido a una inhibición de la aconitasa mitocondrial mediada por zinc, y que desciende drásticamente en las células del carcinoma de próstata al desaparecer dicha inhibición; lípidos móviles, que corresponden a triglicéridos y ésteres de colesterol, que forman “gotas lipídicas” que se acumulan en el citoplasma de células intactas o bien en el espacio extracelular en áreas necróticas tumorales.

La espectroscopía localizada *in vivo* se utiliza ampliamente tanto en la investigación preclínica como en la clínica. Algunas de las aplicaciones más comunes en la investigación preclínica son los estudios en modelos animales de enfermedades que afectan al sistema nervioso central (isquemia, esclerosis múltiple...), modelos de cáncer, metabolismo energético muscular, etcétera.

En cuanto a las aplicaciones clínicas, la inmensa mayoría de los estudios está centrada en la evaluación de patologías cerebrales o de próstata, y con mucha menos frecuencia, de mama. Aunque son muy diversas las patologías que se pueden evaluar por MRS, sin duda la mayor parte de los estudios que se realizan en el entorno clínico gira en torno al metabolismo tumoral. Un ejemplo de espectroscopía monovoxel se muestra en la *Figura 2*, en la que aparecen los perfiles metabólicos correspondientes al córtex de un cerebro humano sano, un glioma de bajo grado y un glioblastoma multiforme. En el cerebro sano puede apreciarse el perfil normal (*Figura 2A*), en el que se observan claramente picos que corresponden a los metabolitos descritos anteriormente, NAA, Glx, Cr, tCho y mI, siendo el pico el del NAA (marcador neuronal) el más prominente. El perfil metabólico de un tumor glial de bajo grado (*Figura 2B*) se caracteriza por descenso drástico del NAA, aumento de la tCho, asociado a un aumento de la actividad proliferativa, y aumento del mI, debido a la proliferación de células de glia aún no muy desdiferenciadas. En el caso de los tumores gliales de alto grado (*Figura 2C*), como el glioblastoma multiforme, se observa una disminución aún más acusada de NAA, junto con un drástico aumento de tCho, así como presencia de una cantidad



**Figura 3**

Espectroscopía multivoxel 3D de próstata. A) Espectro representativo de glándula periférica sana; B) Espectro representativo de CaP; C) Imagen anatómica ponderada en T2 de un corte transversal de la glándula prostática y matriz de espectros correspondientes a este corte superpuestos sobre la imagen anatómica; D) Selección de 6 voxels en los que se muestran los perfiles metabólicos de esta región, dominados por el pico de tCho, correspondientes a un CaP; E) Imagen espectroscópica en color que representa la distribución espacial del pico de tCho, superpuesta sobre la imagen anatómica.

significativa de lípidos móviles, característicos de los tumores gliales de alto grado.

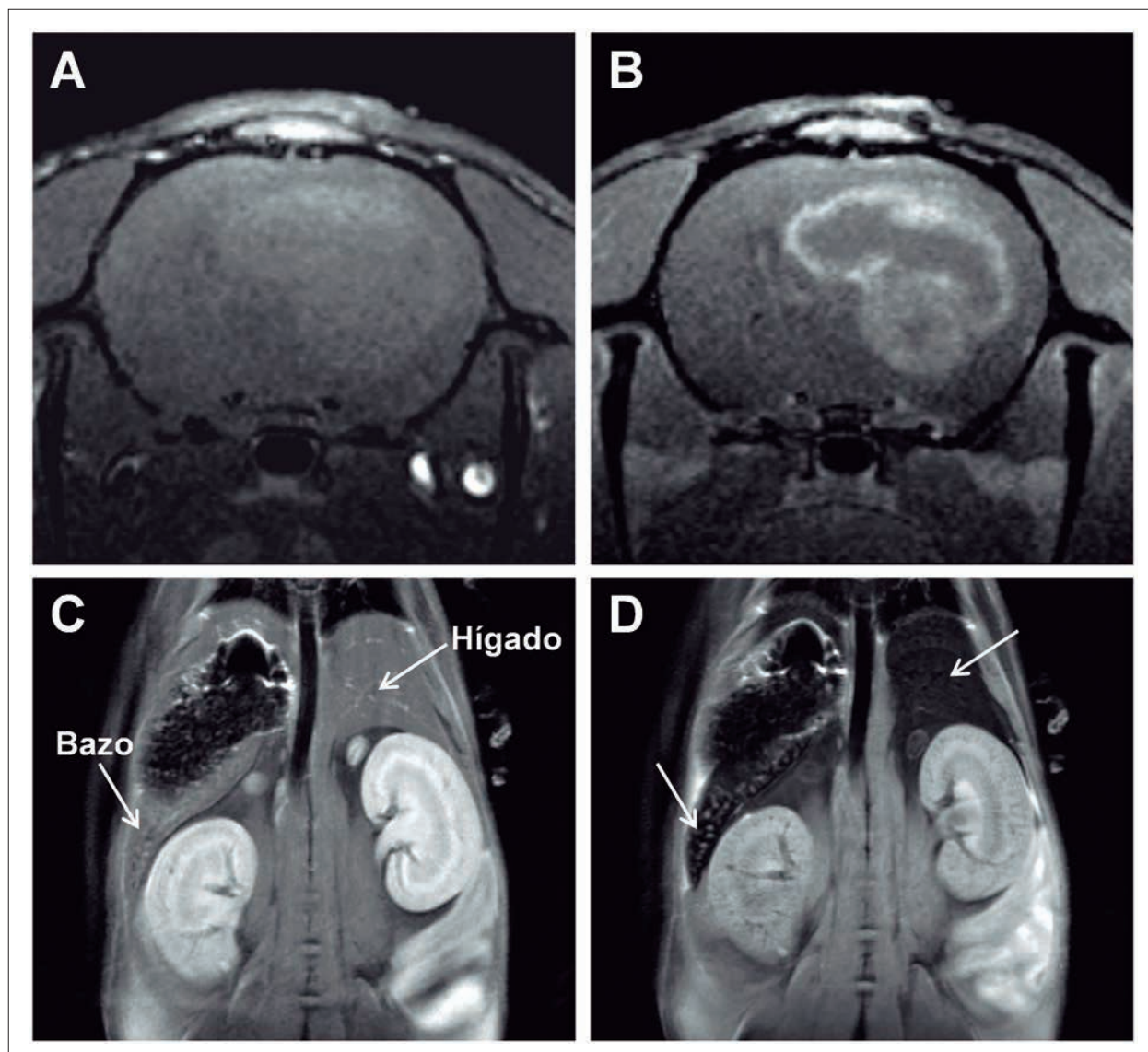
Si bien es cierto que la espectroscopía monovoxel nos permite detectar metabolitos *in vivo*, no puede considerarse como una técnica de imagen molecular, ya que no nos proporciona una imagen, sino un perfil metabólico único. Por el contrario, la espectroscopía multivoxel proporciona una matriz de espectros a partir de la cual se pueden generar imágenes de la distribución espacial de cada uno de los metabolitos observados. En la *Figura 3* se muestra un ejemplo de espectroscopía multivoxel 3D, correspondiente a un estudio de un paciente con adenocarcinoma de próstata (CaP). A diferencia de lo que ocurre en cerebro, en la próstata no siempre se ve con claridad en las imágenes anatómicas dónde se encuentra la lesión tumoral, por lo que lo más recomendable es mapear el metabolismo de toda la glándula, lo que requiere el uso de la espectroscopía multivoxel. A partir de los espectros multivoxel, mediante la integración de un pico determinado, se puede obtener un mapa de color que

representa la cantidad de ese metabolito en cada vóxel, y esto es lo que realmente se denomina imagen espectroscópica, aunque con frecuencia se usa este término para referirse a la espectroscopía multivoxel en general. En la *Figura 3E* puede observarse la imagen espectroscópica correspondiente al pico de tCho, que es el biomarcador de proliferación y cuyos niveles están relacionados con la agresividad tumoral.

### IMAGEN MOLECULAR DE RESONANCIA MAGNÉTICA (MMRI)

Para entender en qué consiste la mMRI es necesario primero aclarar algunos conceptos básicos del funcionamiento de la MRI convencional. La imagen por resonancia magnética se basa en la detección y codificación espacial de la señal proveniente de los protones del agua de los tejidos, cuya concentración está en torno a 35 M. Esto contrasta con la espectroscopía descrita en el apartado anterior, donde es necesaria la supresión de la señal del agua para poder observar correctamente las señales provenientes de diversos





**Figura 4**

Agentes de contraste para MRI. A) Imagen de resonancia magnética ponderada en T1 antes de la inyección del agente de contraste; B) Imagen de resonancia magnética ponderada en T1 10 minutos después de la inyección intravenosa de un quelato de Gd, donde se puede apreciar el aumento de señal (contraste positivo) en el tumor (modelo de glioblastoma multiforme), permitiendo distinguir la periferia tumoral y el núcleo necrótico; C) Imagen de resonancia magnética ponderada en T2 antes de la inyección del agente de contraste; D) Imagen por resonancia magnética ponderada en T2 1 hora después de la inyección intravenosa de nanopartículas superparamagnéticas, donde se observa la acumulación de las mismas en hígado y bazo como consecuencia de la captación por parte del sistema fagocítico mononuclear.

metabolitos. Por tanto, la primera idea que hay que tener en mente a la hora de entender los fundamentos de la MRI, es que la imagen no se basa en la observación de múltiples señales, sino en la distribución espacial de una sola, la del agua. Respecto a la forma de conseguir la codificación espacial de la señal del agua, simplemente diremos que se consigue mediante el uso

de gradientes de campo magnético y pulsos selectivos de radiofrecuencia, sin entrar en una discusión detallada, que está fuera del alcance de este artículo. En cuanto al contraste que se observa en las imágenes de resonancia magnética, en la mayoría de los casos se trata de contraste intrínseco, que tiene su origen en las diferencias locales en el contenido de agua, el

movimiento del agua y los tiempos de relajación magnética, T1 y T2, de los protones del agua. Aunque el contraste intrínseco es suficiente para la mayoría de las aplicaciones de MRI, a menudo se requiere el uso de agentes de contraste (AC) exógenos para mejorar la especificidad diagnóstica. La mayor parte de los agentes de contraste para MRI se pueden clasificar dentro de dos grandes grupos, los quelatos de gadolinio y las nanopartículas magnéticas, fundamentalmente de óxido de hierro. Los primeros son paramagnéticos y dan lugar a un aumento de señal cuando se observan con secuencias ponderadas en T1, por lo que se conocen como AC positivos (*Figuras 4A y 4B*). Por otro lado, las nanopartículas de óxido de hierro son superparamagnéticas y dan lugar a un descenso de señal cuando se combinan con secuencias ponderadas en T2, por lo que se dice que son AC negativos (*Figuras 4C y 4D*). Al contrario de lo que pasa en otras modalidades de imagen, como la imagen óptica o la imagen nuclear (PET/SPECT), que se basan en la detección directa de compuestos marcados (fluoróforos, radioisótopos), la imagen de resonancia magnética es un método indirecto que detecta el efecto de los agentes de contraste sobre las propiedades magnéticas, tiempos de relajación, de las moléculas de agua circundantes. Este es un aspecto crucial para comprender las imágenes moleculares basadas en MRI, como se explica a continuación.

En términos generales, cuando se habla de mMRI, se hace referencia a la detección de un cambio de contraste en la imagen debido a la presencia de un agente de contraste que ha sido dirigido a una diana específica, como puede ser un receptor de membrana. Pues bien, teniendo en cuenta que, como hemos comentado, en resonancia lo que se detecta no es directamente el AC, sino el efecto que éste tiene sobre las moléculas de agua circundantes, cuanto mayor sea este efecto, mayor amplificación de señal tendremos y más probabilidad habrá de detectarlo. Por ello, los AC basados en nanopartículas superparamagnéticas son de especial interés en la mMRI. Por un lado, estos agentes actúan produciendo inhomogeneidades locales de campo magnético, las cuales afectan al T2 de un gran número de moléculas, dando así lugar a una gran amplificación de su efecto sobre el contraste. Por otro lado, gracias a la nanotecnología aplicada a la salud, resulta relativamente fácil funcionalizar estas nanopartículas magnéticas con diferentes moléculas para su direccionamiento a

dianas específicas. Así, en los últimos años ha habido una intensa actividad investigadora en este campo, con resultados prometedores, aunque aún quedan muchos aspectos que mejorar para conseguir que la mMRI llegue a convertirse en una herramienta de aplicación clínica. Para que un compuesto sea de utilidad real como AC para mMRI debe cumplir varias condiciones indispensables: ausencia de toxicidad *in*

**LA ESPECTROSCOPIA MULTIVOXEL,**  
proporciona una matriz de espectros a partir de la cual se pueden generar imágenes de la distribución espacial de cada uno de los metabolitos observados.

*vivo*, alta biocompatibilidad, tiempos de circulación en sangre suficientemente largos, ser lo más invisible posible al sistema inmune para evitar ser secuestrado por el sistema fagocítico mononuclear y, sobre todo, ser capaz de unirse de forma eficaz y selectiva a una diana específica. Además de esto, desde el punto de vista químico, su producción debe ser reproducible y escalable a nivel industrial. Aunque hasta el momento no se han superado todos los obstáculos, sí que es cierto que se han hecho importantes avances gracias al rápido crecimiento del campo de la nanomedicina y cabe esperar que la situación mejore y sea posible la traslación clínica de estas investigaciones en un futuro próximo. ■

#### PARA LEER MÁS

- Wu M, Shu J (2018). Multimodal Molecular Imaging: Current Status and Future Directions. *Contrast Media Mol Imaging* 2018:1382183. doi:10.1155/2018/1382183
- García Martín ML, López Larrubia P (eds) (2018). Preclinical MRI: Methods and Protocols, vol 1718. *Methods in Molecular Biology*. Springer Nature: New York, NY, USA.
- García Martín ML, Adrados M, Ortega MP, Fernández González I, López Larrubia P, Viano J, García Segura JM (2011). Quantitative (1)H MR spectroscopic imaging of the prostate gland using LCMoel and a dedicated basis-set: correlation with histologic findings. *Magn Reson Med* 65 (2):329-39. doi:10.1002/mrm.22631.
- Pernia Leal M, Rivera Fernández S, Franco JM, Pozo D, de la Fuente JM, García-Martín ML (2015). Long-circulating PEGylated manganese ferrite nanoparticles for MRI-based molecular imaging. *Nanoscale* 7 (5):2050-9. doi:10.1039/c4nr05781c.