

# RESONANCIA MAGNETICA EN EL ESTUDIO DEL METABOLISMO CELULAR

G. Gutiérrez y A.L. Acero

Pulmonary Divison, Department of Internal Medicine. University of Texas Health Science Center at Houston. Houston, Texas

Los últimos años han visto la introducción en la medicina crítica de un tipo de tecnología cuyo objetivo es cuantificar continuamente cambios fisiológicos y bioquímicos. Esta tecnología incluye la tomografía de emisión de positrones, los microelectrodos para medir la presión del oxígeno tisular, el espectrofotómetro de luz con frecuencia cerca de la banda infrarroja y la resonancia magnética nuclear (RMN).

En este escrito se discutirá la teoría en la cual está basada la resonancia magnética y cómo esta tecnología puede proveernos con un análisis cuantitativo del estado de la energética celular. La energética celular puede ser definida como el estudio de los procesos responsables por la producción y utilización de los compuestos bioquímicos de fósforo.

Empezaremos por definir resonancia magnética nuclear. En el año 1952, el premio Nobel de Física fue compartido por Bloch, de la Universidad de Stanford en California<sup>1</sup> y por Purcell, de la Universidad de Harvard<sup>2</sup> en Boston, por haber demostrado el fenómeno de la resonancia magnética en el núcleo del protón. En términos simples, un espectrómetro de resonancia magnética nuclear consiste de tres partes fundamentales. Estas son un transmisor de radio capaz de producir ondas de alta frecuencia, un imán con un poderoso y homogéneo campo magnético y una computadora. El radio envía onda de alta frecuencia hacia una porción de tejido localizada dentro del campo magnético. La absorción de la energía electromagnética por lo núcleos de los átomos tisulares produce una señal eléctrica. Esta señal eléctrica es utilizada por la computadora para producir un espectro. Por lo tanto, el RMN es un fenómeno físico, donde el núcleo de los átomos emiten radiación electromagnética, y no ionización, como aquella producida por los rayos X.

La producción de una señal eléctrica con RMN es posible debido a la existencia de ciertos núcleos atómicos que giran alrededor de sus ejes. Como lo enseña la figura 1, la electricidad de estos núcleos girantes produce una gran cantidad de pequeños campos magnéticos orientados al azar en el espacio. Cuando un tejido que contiene estos átomos girantes es colocado dentro de un imán, los pequeños campos magnéticos se orientan en una dirección paralela al poderoso campo magnético  $B_0$  producido por el imán (Fig. 2). Este es un fenómeno similar a la aguja de un compás, la cual se orienta con el campo magnético  $B_0$ , los núcleos girantes también adquieren un movimiento precesional de rotación, el cual describe la superficie de un cono. Este movimiento precesional es debido al momento magnético de los núcleos girantes, los que en forma análoga a un trompo, cuando son forzados a cambiar su orientación espacial, adquieren un movimiento rotativo inclinado a cierto ángulo del eje de rotación del núcleo.

La aplicación de un pulso de alta radio-frecuencia perturba la orientación espacial de los núcleos y hace que éstos se muevan en direcciones distintas a la del campo magnético

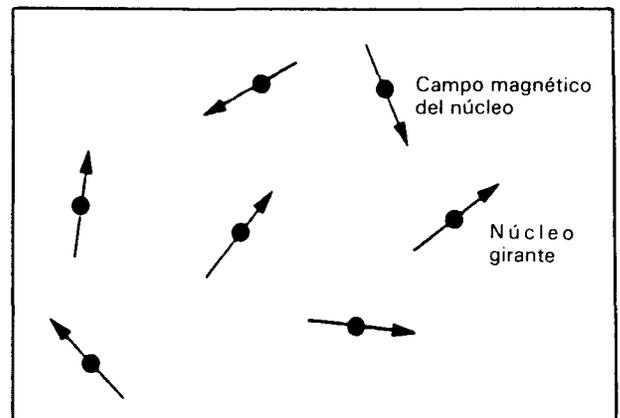


Fig. 1. Los átomos girantes y su magnetismo individual orientados en cualquier dirección, en ausencia de un campo magnético externo.

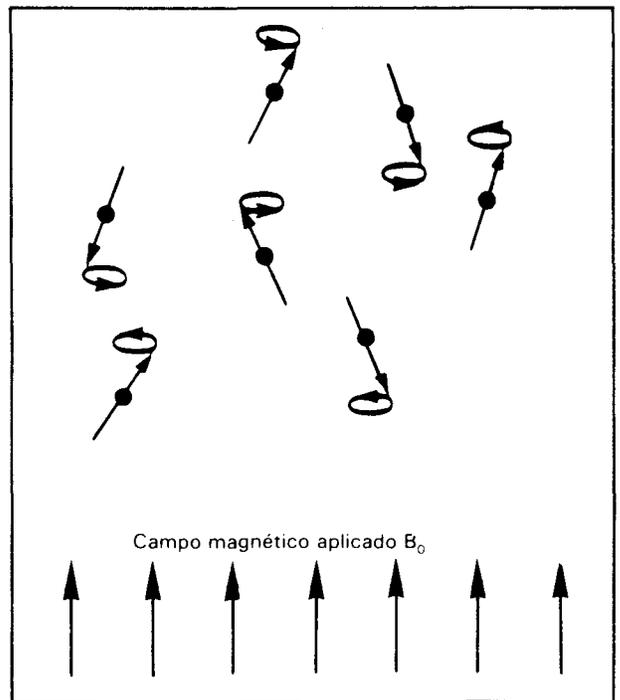


Fig. 2. Efecto de un campo magnético uniforme aplicado,  $B_0$ , sobre la orientación de los núcleos girantes. Nótese que los núcleos se alinean ellos mismos a lo largo o contra  $B_0$  dependiendo de su estado energético, con un estado de baja energía (a lo largo de la dirección del campo), siendo más populoso. También, ahora los núcleos tienen movimiento a lo largo del eje de  $B_0$ , describiendo la superficie de un cono.

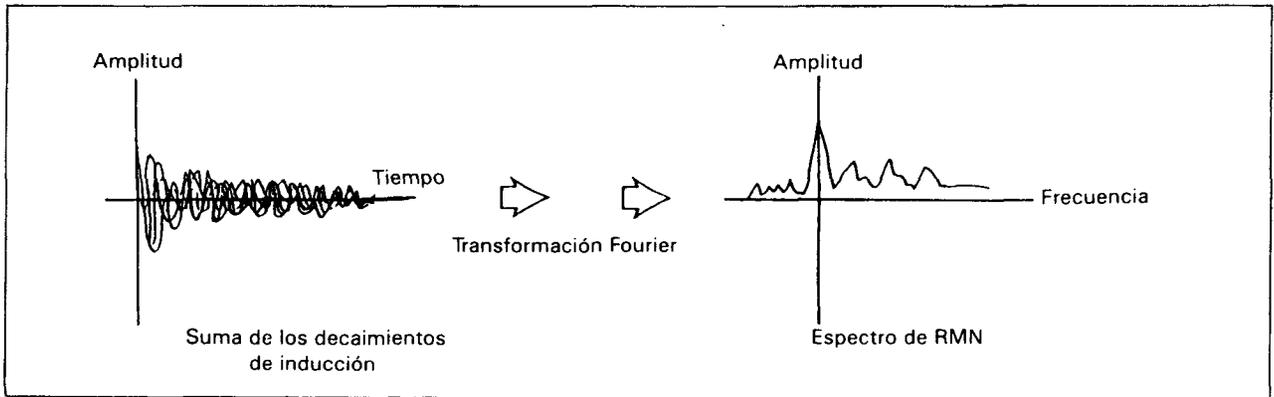
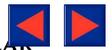


Fig. 3. La suma de los libres decaimientos de inducción, FID's, son transformados usando el análisis Fourier, a un espectro de frecuencia, el espectro RMN.

aplicado. La energía del pulso de radio-frecuencia se transmite optimamente a los núcleos girantes cuando la frecuencia del pulso es exactamente igual a la frecuencia de precesión, la llamada frecuencia Larmor. Cuando la frecuencia del pulso de radio-frecuencia es igual a la frecuencia de precesión, el sistema de átomo se encuentra en un estado de resonancia, lo que da lugar al término resonancia magnética nuclear.

Al final del pulso de radio-frecuencia, los núcleos regresan a sus posiciones originales, emitiendo una señal eléctrica que decae con el tiempo. Esta señal es llamada «libre decaimiento de inducción» (*free induction decay*, FID). Durante un experimento de RMN, muchas señales de FID son combinadas en una señal compuesta (Fig. 3). Esto se debe a que los FID individuales son señales débiles y por lo tanto la suma de muchos FID elimina una gran parte del ruido electrónico. Las frecuencias y amplitudes que forman la señal compuesta son obtenidas por el método matemático de transformación Fourier, dando lugar al espectro de RMN.

### ¿QUE PODEMOS MEDIR CON LA RESONANCIA MAGNETICA?

El espectro RMN contiene picos que corresponden a la frecuencias de los núcleos resonantes. Las señales emitidas por estos núcleos varían de acuerdo a las diferentes moléculas químicas de las cuales forman parte. Esto da lugar a un espectro donde la posición y el área bajo los picos sirven para identificar y cuantificar las moléculas que contienen a los átomos resonantes en el tejido bajo estudio. La posición de los picos en el espectro identifica al tipo de molécula, mientras que el área bajo estos picos es proporcional al número de núcleos resonantes, lo que sirve para cuantificar la concentración de los compuestos químicos. La figura 4 demuestra un espectro del isótopo fósforo-31 obtenido de un músculo estriado. El fósforo-31 es un isótopo que ocurre naturalmente en los tejidos, y por lo tanto no hay necesidad de inyectarlo en el paciente. Este isótopo forma parte de una gran cantidad de importantes moléculas relacionadas con el intercambio de la energía celular. Entre estas moléculas están el trifosfato, difosfato y monofosfato de adenosina (ATP, ADP y AMP) y la fosfocreatina (PCr). Los picos en este espectro corresponden a la resonancias de fosfato inorgánico (Pi), fosfocreatina, y las tres posiciones del fósforo en el ATP, gamma, alfa y beta. Integrando el área bajo estos picos resulta en la concentración relativa de estos metabolitos en el tejido. El pH intracelular también puede ser calculado por la separación en el espectro de los picos Pi y PCr<sup>3</sup>.

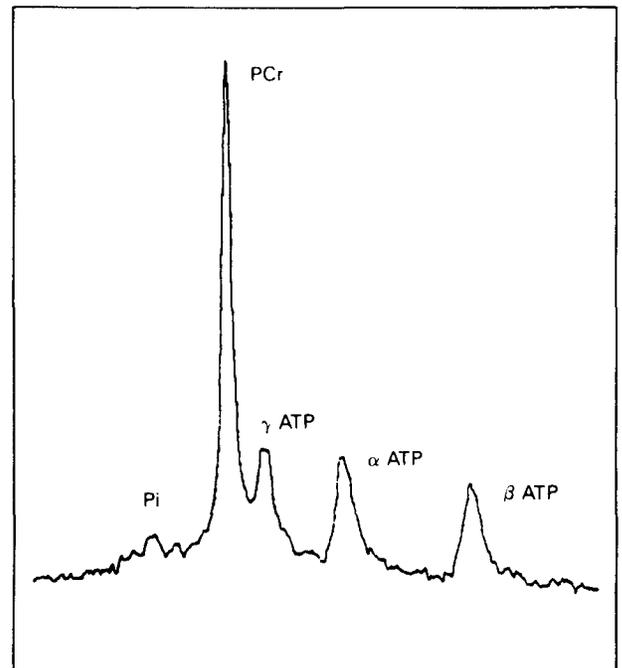


Fig. 4. Un espectro del isótopo fósforo-31 obtenido de un músculo estriado. El área debajo de los picos es proporcional a la concentración relativa de estos metabolitos en el tejido. El pH intracelular puede ser calculado por la separación de picos en el espectro (Pi y PCr).

Cambios en el área y posición de los varios picos en el espectro reflejan interacciones en el metabolismo celular.

Otros isótopos habitualmente utilizados en la medicina son el hidrógeno  $H^1$ , el sodio  $Na^{23}$  y el carbono  $^{13}$ . El  $H^1$  o protón, es un isótopo natural que forma parte del agua, la grasa y de un gran número de moléculas con actividad biológica. El espectro del protón se caracteriza por dos grandes picos que corresponden al agua y al tejido adiposo.

La RMN de protón es utilizada en la medicina clínica para producir imágenes tomográficas, debido a la gran cantidad de agua en los tejidos, y por lo tanto el núcleo del protón emite una de las señales de RMN más fuerte. El campo de imágenes tomográficas con RMN está creciendo rápidamente a medida que espectrómetros producidos por firmas comerciales son instalados en hospitales. En estos momentos, ésta es la técnica preferida en el diagnóstico de hemato-

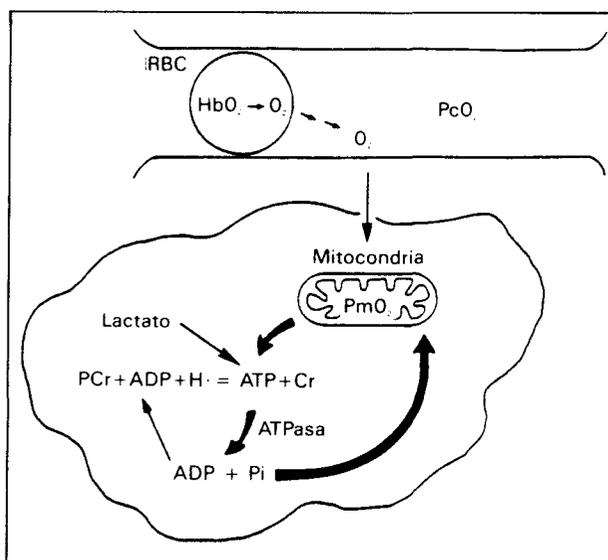


Fig. 5. Representación esquemática del efecto fisiológico de la bioenergética celular.

mas subdurales, adenomas de la pituitaria, enfermedades desmielinizantes, en la visualización de los discos intervertebrales, en la imagen del mediastino, donde esta técnica es excelente para demostrar aneurismas, y finalmente, aunque no exclusivamente, para visualizar los órganos de la pelvis<sup>4</sup>.

La espectroscopia de protón tiene un potencial extraordinario como resultado del gran número de moléculas bioquímicas que contienen este isótopo. Las resonancias de estas moléculas muchas veces no pueden ser distinguidas en un espectro debido a la gran concentración de protones en el agua y la grasa. Sin embargo, ya existen técnicas que varían la secuencia de los pulsos de radio-frecuencia. Estas técnicas sirven para eliminar los picos de agua y grasa en el espectro. Los espectros de protón son complejos y muy difíciles de interpretar. Hoy en día esta técnica está en su infancia, aunque ya hay estudio que utilizan la RMN de protón para medir la concentración del ácido láctico en los tejidos<sup>5</sup>.

Antes de discutir las aplicaciones médicas de la RMN de fósforo-31, discutiremos algunos conceptos básicos de la fisiología y bioquímica celular.

El estudio de la oxigenación de los tejidos en pacientes críticos ha sido enfocada hacia la adquisición y el análisis de variables fisiológicas, como la presión parcial del oxígeno en la sangre arterial y venosa mixta, en la cantidad de transporte y consumo de oxígeno, etc. La técnica de espectroscopia de resonancia magnética añade otra dimensión a esos estudios, al proveernos con medidas no invasivas del estado bioenergético celular.

La figura 5 demuestra en forma esquemática como estas variables fisiológicas afectan a la bioenergética celular. A medida que la sangre pasa por los capilares, el oxígeno se disocia de la hemoglobina y se dirige hacia las mitocondria obedeciendo un gradiente difusional. En la membrana interna de las mitocondria, el oxígeno acepta los electrones de la fosforilización oxidativa, produciendo así la ATP. Esta es utilizada como fuente de energía por los varios procesos celulares y es convertida en ADP y fosfato inorgánico por las ATPasas. Cuando el suministro de oxígeno y sustrato, así como la glucosa o ácidos grasos, es adecuado, ADP y Pi son convertidos de nuevo en ATP cerrando así, el ciclo energético aeróbico. Bajo estas condiciones, la producción del

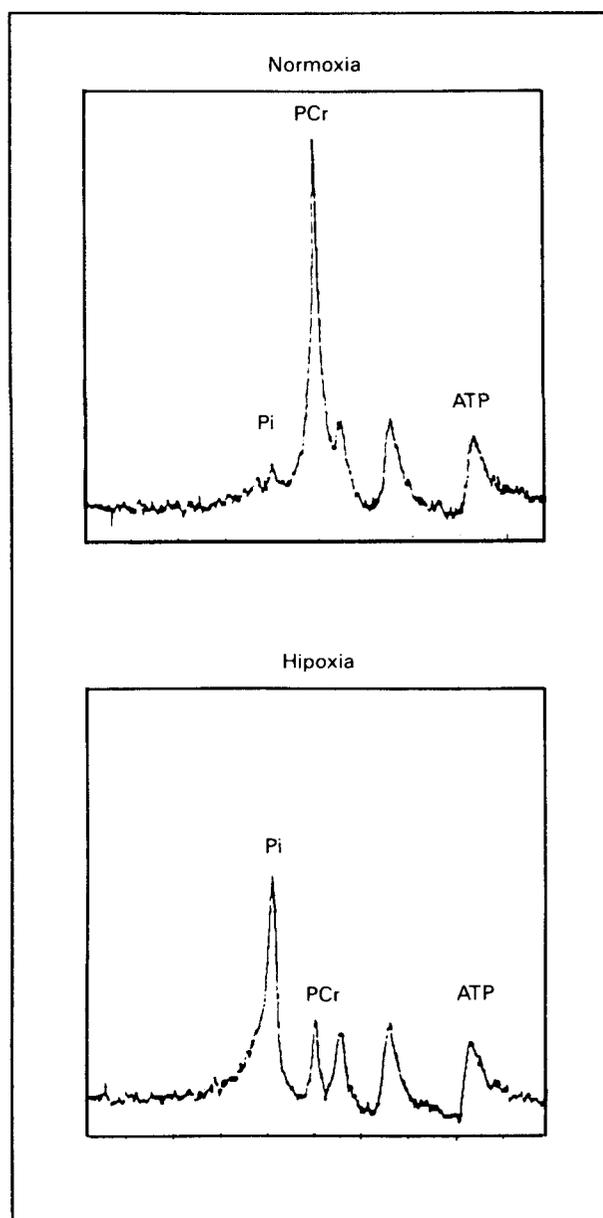
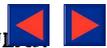


Fig. 6. Cambios típicos en el espectro P31 de un músculo estriado durante hipoxemia. Hay una reducción en el pico PCr con un aumento en Pi. La concentración ATP no cambia

ATP es proporcional a la utilización del oxígeno por la mitocondria y por lo tanto el consumo de oxígeno puede ser utilizado como índice de la demanda de energía celular.

Con grandes cambios en el transporte de oxígeno o en la utilización de la energía celular, así como la hipoxia o el ejercicio, los límites de la producción aeróbica de energía puede ser limitada. Entonces las células se ven forzadas a usar métodos anaeróbicos para suplementar el ATP producido por la fosforilización oxidativa y así mantener la producción de energía al mismo nivel que la demanda. Estos métodos anaeróbicos son la glucólisis y la fosforilización del ADP con la fosfocreatina. En esta reacción, el ADP, la fosfocreatina y unión de hidrógeno producen ATP y creatina. Esta reacción es capaz de ser volteada libremente y ocurre en el cerebro, el corazón y los músculos estriados.



Cuando la producción del ATP por las mitocondrias es menor que la utilización celular, entonces el fosfato inorgánico se empieza a acumular. Por lo tanto, el ejercicio o la hipoxia resulta en el decremento de la PCr, la acumulación de Pi. Además, la producción de lactato aumenta y el pH intracelular baja. Estos cambios pueden ser medidos consecutivamente con la RMN de fósforo-31. Esto resulta en un conjunto dinámico de los cambios en el estado de la energía celular. La figura 6 muestra dos espectros de fósforo-31 obtenidos de un músculo estriado antes y durante un episodio hipóxico. El músculo normóxico tiene una gran cantidad de fosfocreatina y poco fosfato inorgánico. Con hipoxia hay un aumento en Pi y el PCr disminuye sin notarse cambios en la ATP.

Los cambios producidos por la hipoxia celular en la PCr y Pi proveen un índice hipóxico de los tejidos, la proporción de PCr/Pi. Esta proporción refleja el potencial celular de fosfato,  $[ATP]/[ADP]/[Pi]^6$ , el cual representa el estado energético de la célula y parece regular la respiración celular<sup>7</sup>.

### LAS VENTAJAS Y LOS LIMITES DE LA RESONANCIA MAGNETICA NUCLEAR

Antes de la introducción de la resonancia magnética al estudio del metabolismo de los tejidos, los cambios metabólicos eran estudiados por medio de biopsias rápidamente congeladas con nitrógeno líquido. De esta forma, los procesos metabólicos podían ser interrumpidos antes del análisis químico. El método de biopsias no han encontrado mucha aceptación en la práctica médica por obvias razones. La espectroscopia de RMN es un técnica no-invasiva que percibe en forma consecutiva los cambios en metabolismo de los tejidos. Las concentraciones relativas de PCr, Pi y ATP ofrecen un cuadro dinámico del estado metabólico del paciente. Además, hasta ahora no hay en la literatura datos de efectos negativos en la salud producidos por los fuertes campos magnéticos.

Como toda técnica, la espectroscopia de RMN tiene ciertos límites. Los espectros obtenidos con RMN representan un promedio de las señales emitidas por el isótopo bajo estudio. Por lo tanto, con esta técnica no es fácil localizar y medir los cambios metabólicos en órganos internos<sup>7</sup>. Varios métodos electrónicos y matemáticos han sido empleados recientemente para proveer cierto grado de localización del espectro. Con estos métodos será posible obtener una imagen tomográfica y simultáneamente información metabólica de un órgano interno. Este tipo de tecnología podría ser invaluable en el diagnóstico no-invasivo del cáncer del pulmón. Por ejemplo, en el diagnóstico de un nódulo solitario se podría obtener una imagen de la masa sospechosa y entonces analizar el espectro, ya que el tejido canceroso demuestra una bioenergética distinta a los tejidos normales.

Las medidas de la RMN son afectadas en gran manera por la magnitud del ruido electrónico, que puede ser caracterizado como la proporción entre señal y ruido electrónico. Esta proporción depende de la concentración del isótopo de los tejidos y del tiempo empleado en acumular los FIDs. La RMN puede detectar metabolitos en concentraciones hasta de 1 mM, pero no puede medir aquellos presentes en pequeñas concentraciones, como hormonas o medicamentos y aquellos usados como trazadores metabólicos.

La espectroscopia con fósforo-31 ha sido extensivamente utilizada en el estudio de los cambios metabólicos en el músculo estriado. Un ejemplo es el síndrome de McArdle<sup>12</sup>, en el cual el músculo no produce lactato durante el ejercicio isquémico. Los espectros de los pacientes con el síndrome

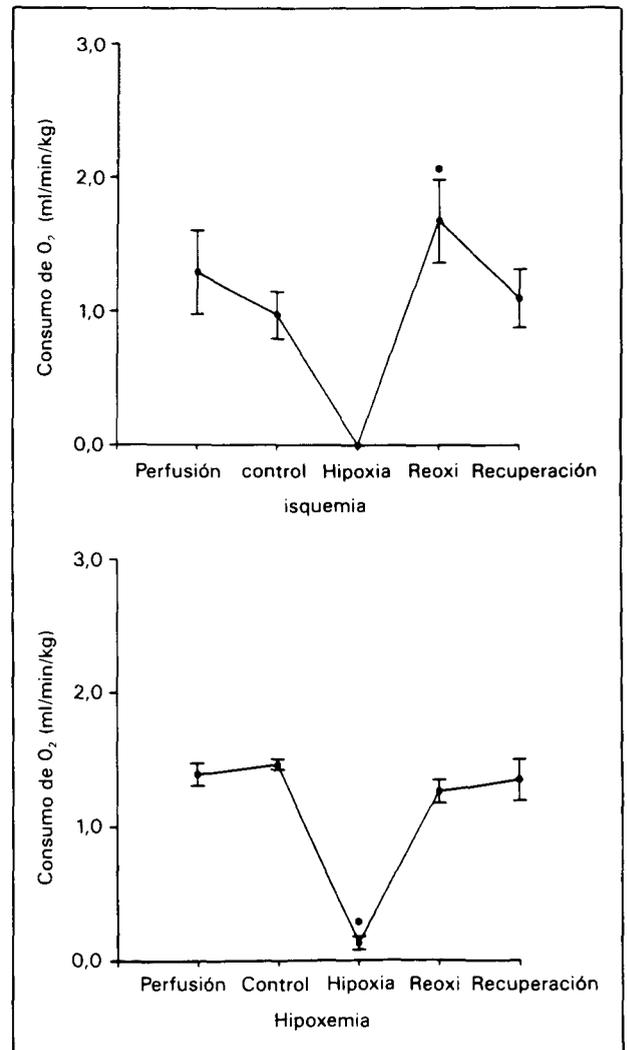


Fig. 7. El efecto de hipoxemia e isquemia en el consumo de oxígeno en una perfusión de músculo estriado. El consumo de oxígeno de los dos grupos regresa al nivel normal durante la recuperación.

de McArdle no demuestran decrementos en el pH intracelular cuando son comparados con los de un grupo normal. Weiner et al<sup>13</sup> demostraron con RMN que los pacientes con reducciones en el flujo cardíaco también demuestran un decremento en la proporción del PCr/Pi durante el ejercicio. Esto puede estar relacionado con alteraciones en la utilización de glucosa o una disminución en el número de mitocondrias.

El RMN de fósforo-31 también ha sido utilizado clínicamente en el estudio de los cambios vasculares periféricos<sup>14</sup> en pacientes con claudicaciones. Estos pacientes tienen un mayor grado de decremento en el PCr/Pi y en el pH intracelular durante ejercicio que un grupo normal. Esta diferencia fue eliminada después de un procedimiento quirúrgico-vascular. Estos investigadores no encontraron una relación entre el pH intracelular y el dolor de la claudicación.

En nuestro laboratorio usamos la RMN de fósforo-31 para estudiar los cambios metabólicos producidos en el músculo estriado por la hipoxemia ( $PO_2$  arterial menos de 9 mmHg), y por la isquemia total. Los experimentos fueron hechos en una preparación muscular con perfusión constante de sangre. El gráfico superior de la figura 7 muestra el

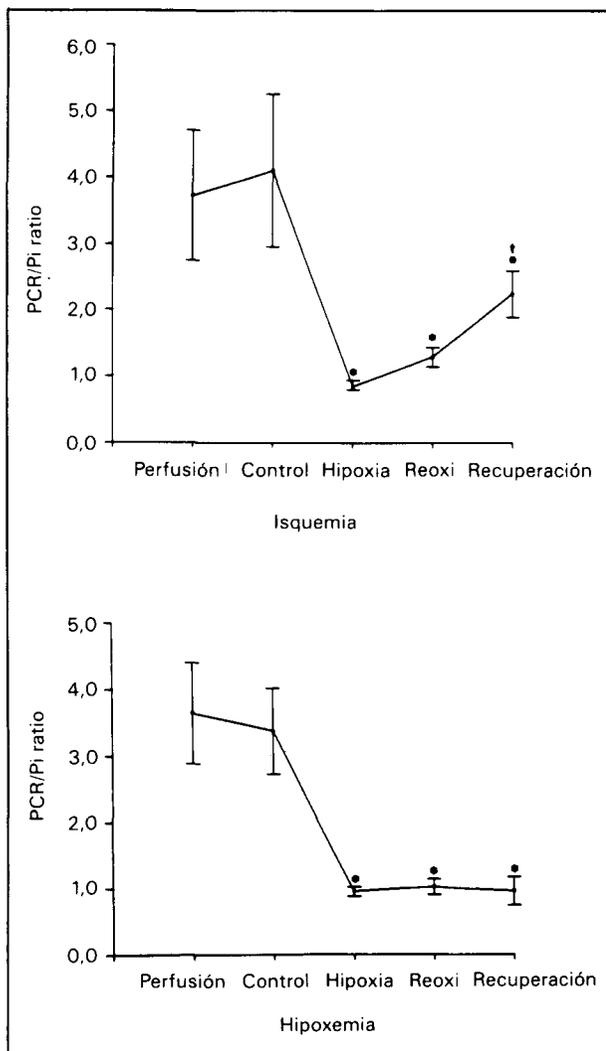
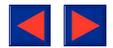


Fig. 8. El efecto de hipoxemia e isquemia en el PCR/Pi en una perfusión de músculo estriado. La proporción de PCR/Pi empieza a recuperarse siguiendo un período de isquemia, pero esto no sucede con la hipoxemia. El consumo de oxígeno vuelve al nivel normal en ambos casos.

efecto en el consumo de oxígeno de la isquemia total y en el gráfico inferior el efecto de la hipoxemia. El  $VO_2$  de los dos grupos regresa al nivel de control durante el período de recuperación, lo que sugiere que, a pesar de haber sufrido un gran insulto hipóxico, los dos grupos recobraron función metabólica. La figura 8 muestra los cambios en la PCR/Pi. En los grupos, la proporción PCR/Pi decae durante el período hipóxico. Durante el período de recuperación el PCR/Pi del grupo isquémico aumenta hacia el nivel normal. Esto no sucede en el grupo hipoxémico donde el PCR/Pi se mantienen el nivel hipóxico aunque el consumo de  $O_2$  regresa a control. Estos resultados sugieren que el metabolismo del grupo hipoxémico sufrió más daño que el grupo isquémico, a pesar de tener ambos grupos un consumo similar de oxígeno. Una interpretación de estos resultados es que la disminución del transporte de oxígeno puede tener distintos efectos en el metabolismo celular, dependiendo en la forma de efectuar este decremento. Además parece que el músculo estriado tolera la isquemia total mejor que la hipoxemia. Estas diferencias no son aparentes con medidas fisiológicas de transporte de oxígeno, pero fueron obtenidas fácilmente con RMN.

Hay datos clínicos de espectros de fósforo-31 obtenidos en recién nacidos hipóxicos. Cady et al<sup>17</sup> descubrieron un decremento en la proporción PCR/Pi en neonatos asfixiados al nacer. El PCR/Pi aumentó de nivel con el mejoramiento en la condición clínica de estos niños. En otro estudio, Hope y Reynolds<sup>19</sup> encontraron que una baja proporción PCR/Pi en neonatos asfixiados está relacionada con un mal pronóstico.

Estos resultados sugieren que la proporción PCR/Pi puede servir como un índice metabólico en el asesoramiento clínico de la hipoxia. Esto es debido a que las medidas fisiológicas de oxigenación son relativas al nivel de demanda de energía celular y por lo tanto pueden ser difíciles de interpretar. Por ejemplo, un similar consumo de oxígeno en un paciente hipoxémico y febril comparado con el de una persona sana puede tener distinto significado. Es posible que el metabolismo del paciente febril haya excedido los límites del transporte del oxígeno. Por lo tanto, bajo estas circunstancias, el consumo de oxígeno depende completamente del transporte, y el déficit energético recae sobre la glucólisis y la reacción de la fosfocreatina. Sin embargo, en un individuo normal, el mismo nivel de consumo de oxígeno puede corresponder al nivel de la demanda de energía celular. No obstante, la proporción PCR/Pi será normal en el individuo sano y estará disminuida en el enfermo, ya que esta proporción es una medida del potencial energético de los tejidos.

Es posible que en el futuro veamos la aplicación de la espectroscopia de la RMN en los pacientes críticos. Esta tecnología será difícil de introducir en la sala de terapia intensiva como consecuencia del tamaño y costo de estos instrumentos. Además, el fuerte campo electromagnético crea grandes dificultades, ya que instrumentos ferromagnéticos, monitores y ventiladores deberán de mantenerse relativamente lejos del espectrómetro. Sin embargo, el progreso en la tecnología de superconductores puede resultar en grandes cambios en el diseño y costo de estos instrumentos. Reducción en el tamaño de los imanes, mejores programas de computadoras y más poderosos microcomputadoras quizás resulten en la introducción del RMN en la medicina crítica como un monitor continuo de cambios metabólicos en el paciente.

Entre los posibles usos de la espectroscopia de la RMN en las unidades de terapia intensiva está la continua y no-invasiva observación de los cambios en el metabolismo del corazón y el cerebro. Esta información puede ser extremadamente importante para asesorar cómo el paciente responde a cambios en el flujo cardíaco, alteraciones en la presión arterial, cambios en la ventilación, etc. Otras aplicaciones serán la medición del sodio intra y extracelular para determinar el grado de fallo cardíaco, volumen de sangre y la función renal<sup>19,20</sup>. Es también posible medir el flujo sanguíneo con la RMN<sup>21</sup>, pero esta técnica no ha sido desarrollada suficientemente. Finalmente, el consumo regional de oxígeno podría ser medido con la RMN, dado que la deoxihemoglobina altera el tiempo de relajamiento en los protones del agua<sup>22</sup>, pero esto todavía queda en el campo de la teoría y no en la práctica.

#### BIBLIOGRAFIA

1. Bloch F, Hansen WW, Packard Me. Nuclear induction. *Physics Rev* 1946; 69:127-132.
2. Purcell EM, Torrey HC, Pound RV. Resonance absorption by nuclear magnetic moments in a solid. *Physiol Rev* 1946; 69:37-40.



3. Moon RG, Richards JH. Determination of intracellular pH by <sup>31</sup>P magnetic resonance. *J Biol Chem* 1973; 248:7.276-7.278.
4. Steiner RE. Present and future clinical position of magnetic resonance imaging. *Mag Res Med* 1986; 3:473-490.
5. Behar KL, Rothman DL, Shulman RG et al. Detection of cerebral lactate in vivo during hypoxemia by <sup>1</sup>H NMR at relatively low field strengths (1.9 T). *Proc Natl Acad Sci USA* 1983; 81:2.517-2.519.
6. Chance B, Leigh JS, Clark BJ et al. Control of oxidative metabolism and oxygen delivery in human skeletal muscle: A steady-state analysis of the work/energy cost transfer function. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985; 82:8.384-8.388.
7. Chance B, Leigh JS, Nioka S. Micro-heterogeneity - The «Achilles heel» of NMR spectroscopy and imaging: Some calculations for brain ischemia and muscle exercise. *News Metab Res* 1985; 2:26-31.
8. Dawson MJ, Gadian DG, Wilkie DR. Living muscle studied by <sup>31</sup>P nuclear magnetic resonance. *J Physiol Lond* 1976; 258:82-88.
9. Meyer RA, Kushmerick MJ, Brown TR. Applications of <sup>31</sup>P NMR spectroscopy to the study of striated muscle metabolism. *Am J Physiol* 1982; 242:C1-11.
10. Wilkie DR. The control of glycolysis in living muscle studied by nuclear magnetic resonance and other techniques. *Biochem Soc Trans* 1983; 3:244-246.
11. Meyer RA, Brown TR, Kushmerick MJ. Phosphorus nuclear magnetic resonance of fast- and slow-twitch muscle. *Am J Physiol* 1985; 248:C279-287.
12. Ross BD, Radda GK, Gadian DG et al. Examination of a case of suspected McArdle's syndrome by <sup>31</sup>P nuclear magnetic resonance. *New Eng J Med* 1985; 304:1.338-1.343.
13. Weiner DH, Fink LI, Maris J et al. Abnormal skeletal muscle bioenergetics during exercise in patients with heart failure: role of reduced muscle blood flow. *Circulation* 1986; 73:1.127-1.136.
14. Hands LJ, Bore PJ, Galloway G et al. Muscle metabolism in patients with peripheral vascular disease investigated by <sup>31</sup>P nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Clin Sci* 1986; 71:283-290.
15. Gutierrez G, Pohil RJ, Strong R et al. Skeletal muscle O<sub>2</sub> consumption and bioenergetics during progressive hypoxemia. A <sup>31</sup>P-NMR study. *Am Rev Respir Dis* 1986; 133:A201.
16. Gutierrez G, Pohil RJ, Strong R et al. Bioenergetics of rabbit skeletal muscle during hypoxemia and ischemia. *J Appl Physiol* (en prensa).
17. Cady EB, Costello AM de L, Dawson MJ et al. Noninvasive investigation of cerebral metabolism in newborn infants by phosphorus nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Lancet* 1983; 1:1.059-1.062.
18. Hope PL, Reynolds EOR. Investigation of cerebral energy metabolism in newborn infants by phosphorus nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Clin Perinatol* 1985; 12:261-275.
19. Marchandise X, Graff R, Epstein F et al. <sup>23</sup>Na NMR observation of intra-/extracellular sodium in the isolated perfused rat kidney. *J Magn Reson Med* 1983; 1:96-101.
20. Dedrick DF, Springer CS, Pike MM et al. <sup>23</sup>Na MNR studies of halothane-induced depression in isolated perfused heart. *Soc Magn Reson Med* 1984; 3:183-189.
21. Battocletti JH, Halbach RE, Sances A et al. Flat crossed coil detector for blood flow measurement using nuclear magnetic resonance. *Med Biol Eng Comput* 1979; 17:183-191.
22. Thulborn KR, Waterton JC, Styles P et al. Rapid measurement of blood oxygenation and flow by high field <sup>1</sup>H NMR. *Biochem Soc Trans* 1981; 9:233-234.

#### Referencias Generales

- Bore PJ. The role of magnetic resonance spectroscopy in clinical medicine. *Mag Res Imaging* 1985; 3:407-413.
- Bradbury EM. Nuclear magnetic resonance techniques in medicine. *Davis Conference. Ann Intern Med* 1983; 98:514-529.
- Brady TJ, Koutcher JA. Nuclear magnetic resonance (NMR) in clinical diagnostic. *Adv Intern Med* 1986; 31:419-446.
- Chan L. The current status of magnetic resonance spectroscopy. Basic and clinical aspect. *West J Med* 1985; 143:773-781.
- Chance B, Eleff S, Leigh JS. Noninvasive, nondestructive approaches to cell bioenergetics. *Proc Natl Acad Sci. USA* 1980; 77:7.430-7.443.
- Gadian DG. Nuclear magnetic resonance and its application to living systems. Oxford, Oxford University Press 1982.
- Gordon RE. Agnets, molecules and medicine. *Phys Med Biol* 1985; 30:741-770.
- Gutiérrez G, Andry JM. NMR measurements - Clinical application. *Crit Care Med* (en prensa)
- Radda GK. The use of NMR spectroscopy for the understanding of disease. *Science* 1986; 233:640-645.