

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON

FACULTAD DE MEDICINA



PARTICULAS DE OXIDO DE HIERRO COMO PROTOTIPO
DE AGENTE DE CONTRASTE SUPERPARAMAGNETICO
PARA LAS IMAGENES HEPATICAS OBTENIDAS CON LA
TECNICA DE RESONANCIA MAGNETICA NUCLEAR

POR

DR. GUILLERMO ELIZONDO RIOJAS

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL
GRADO DE DOCTOR EN CIENCIAS
CON ORIENTACION TERMINAL EN MORFOLOGIA

MARZO 2006

MARZO

DR. GUILLERMO ELIZONDO RIOJAS

TD

RC78

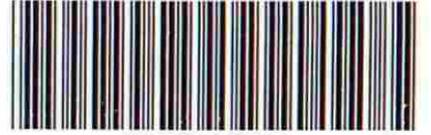
.7

.N83

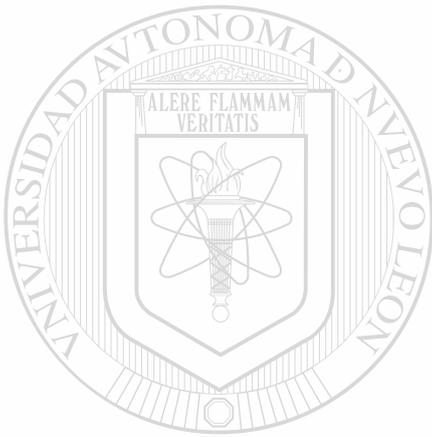
E4

2006

c.1



1080128593



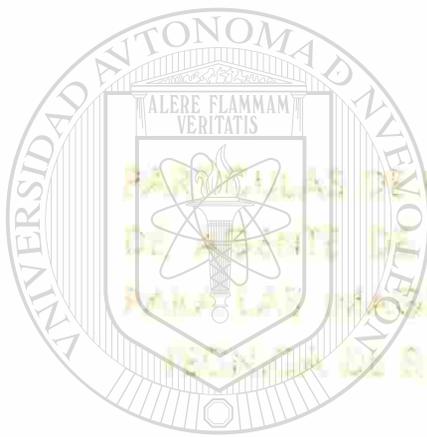
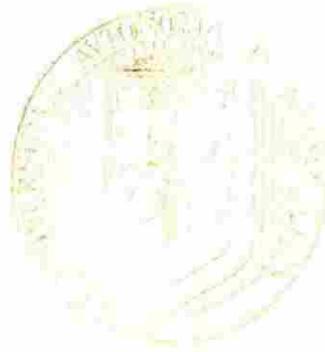
UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN [®]

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE MEDICINA



PARTÍCULAS DE ÓXIDO DE HIERRO COMO PROTOTIPO
DE AGENTE DE CONTRASTE SUPERPARAMAGNÉTICO
PARA LAS IMÁGENES HEPÁTICAS OBTENIDAS CON LA
TECNICA DE RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR

UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

®

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

DR. GONZALO ELIZONDO RICOJAS

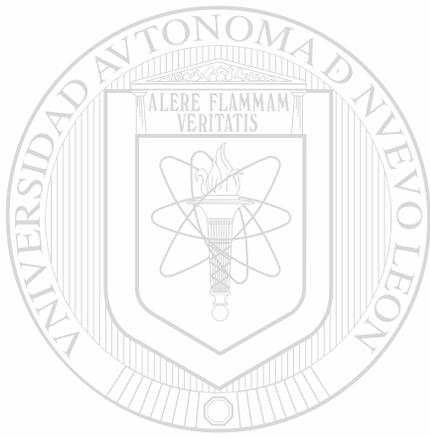
REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL

GRADO DE DOCTOR EN CIENCIAS

CON ESPECIALIZACIÓN TERMINAL EN MORFOLOGÍA

MARZO 2006

TD
RC78
.7
.N83
E4
2006



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

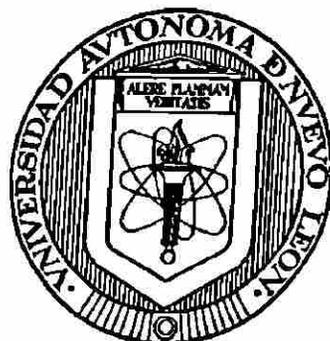
®

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON

FACULTAD DE MEDICINA



**Partículas de Oxido de Hierro como Prototipo de Agente de Contraste
Superparamagnético para las Imágenes Hepáticas obtenidas con la
Técnica de Resonancia Magnética Nuclear**



Por:
UANL

Dr. Guillermo Elizondo Riojas

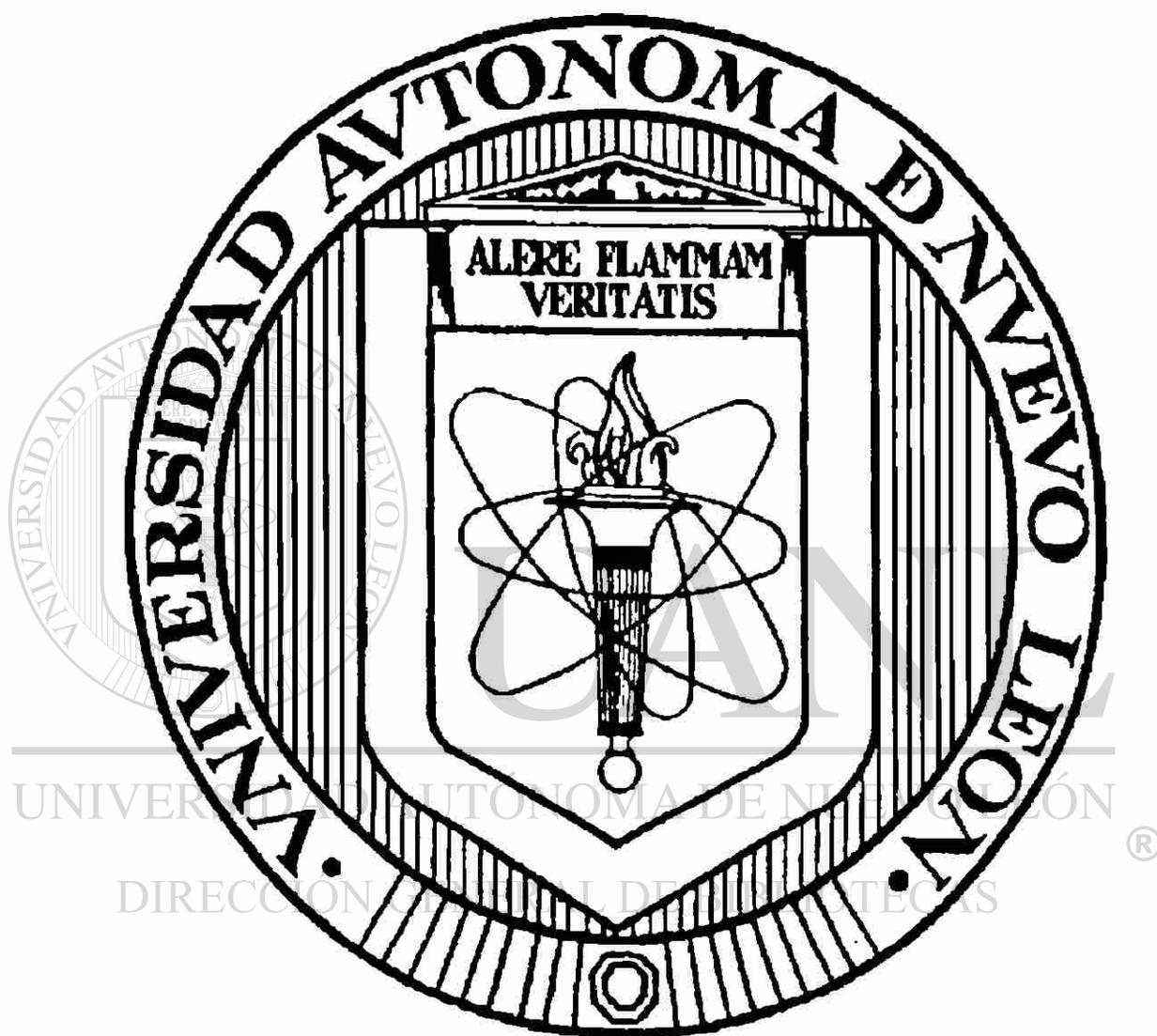
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

**Como requisito parcial para obtener el Grado de
DOCTOR EN CIENCIAS con Orientación Terminal en Morfología**

Marzo 2006

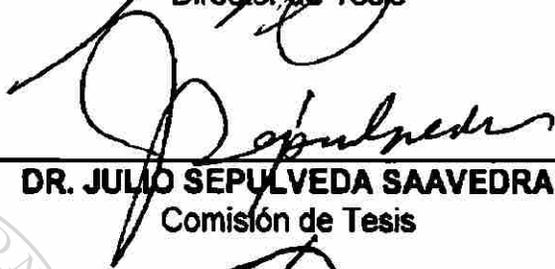


PARTÍCULAS DE ÓXIDO DE HIERRO COMO PROTOTIPO DE AGENTE DE CONTRASTE SUPERPARAMAGNÉTICO PARA LAS IMÁGENES HEPÁTICAS OBTENIDAS CON LA TÉCNICA DE RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR

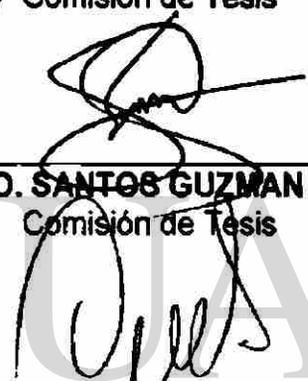
Aprobación de la Tesis:



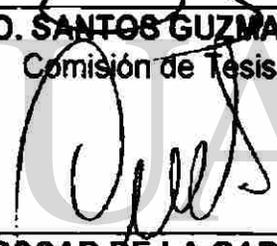
DRA. LINDA ELSA MÉNDEZ ESPINOSA
Director de Tesis



DR. JULIO SEPULVEDA SAAVEDRA
Comisión de Tesis



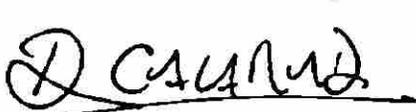
DR. MED. SANTOS GUZMAN LOPEZ
Comisión de Tesis



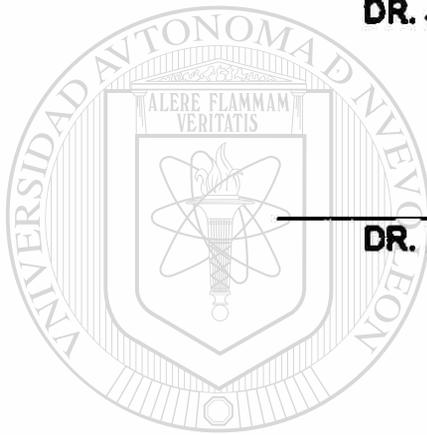
DR. MED. OSCAR DE LA GARZA CASTRO
Comisión de Tesis



DR. MED. MARIO ALBERTO GARZA ELIZONDO
Comisión de Tesis



DR. DIONICIO A. GALARZA DELGADO
Subdirector
de Estudios de Posgrado



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

®

**Partículas de Oxido de Hierro como Prototipo de Agente de Contraste
Superparamagnético para las Imágenes Hepáticas obtenidas con la
Técnica de Resonancia Magnética Nuclear**

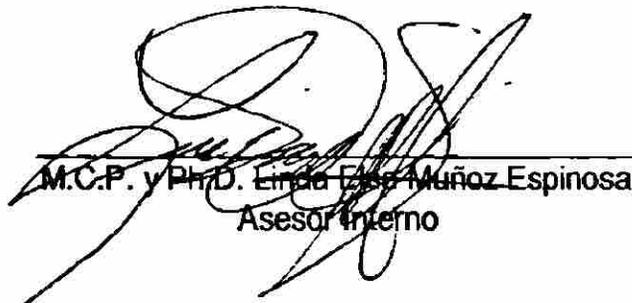
Presentado por M.C.P. Guillermo Elizondo Riojas

Este trabajo se realizó en el Departamento de Radiología del Massachussets General Hospital de la Universidad de Harvard, en Boston Massachussets, E.U.A. y en el Departamento de Radiología del Hospital Universitario "Dr. José Eleuterio González" de la Universidad Autónoma de Nuevo León, bajo la asesoría externa del Dr. Ralph Weissleder, y supervisada por la asesora interna Dra. Linda Elsa Muñoz Espinosa del la Unidad de Hígado del Hospital Universitario "Dr. José Eleuterio González" de la Universidad Autónoma de Nuevo León y co-asesor el Dr. Julio Sepúlveda Saavedra del Departamento de Histología de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Nuevo León.

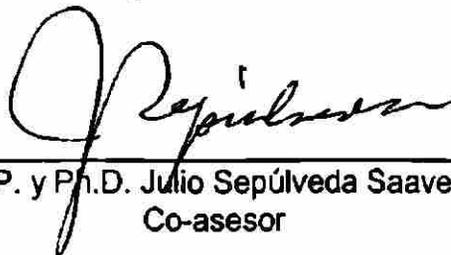


M.D., Ph.D. Ralph Weissleder
Asesor Externo

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



M.C.P. y Ph.D. Linda Elsa Muñoz Espinosa
Asesor Interno

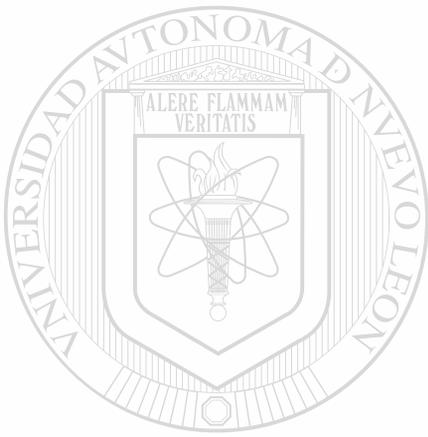


M.C.P. y Ph.D. Julio Sepúlveda Saavedra
Co-asesor

TABLA DE CONTENIDO

CAPITULO	PAGINA
1. INTRODUCCION.....	6
1.1. Antecedentes Históricos	6
1.2 Factibilidad de que el oxido de hierro superparamagnético pueda ser utilizado como agente de contraste para IRM	10
1.3 Hipótesis	15
1.4 Importancia y Justificación.....	15
1.5 Objetivo General	15
1.6 Objetivos Específicos.....	16
2. MATERIALES Y METODOS.....	17
2.1 Oxido de Hierro Superparamagnético	17
2.1.1 Farmacodinamia y Toxicidad	17
2.1.2 Estudios Específicos de Toxicidad Hepática	25
2.2 Evaluación Experimental de la Utilidad del Oxido de Hierro Superparamagnético en la detección de lesiones Focales Hepáticas	30
2.2.1 Partículas de Ferrita	30
2.2.2 Espectroscopía por Resonancia Magnética.....	32
2.2.3 Imagen por Resonancia Magnética.....	33
2.2.4 Análisis de las Imágenes.....	35
2.2.5 Análisis de los Tejidos.....	36
2.3 Aplicaciones Clínicas del Oxido de Hierro Superparamagnético como Agente de Contraste para la Imagen Por Resonancia Magnética.....	37
2.3.1 Oxido de Hierro	37
2.3.2 Pacientes.....	37
2.3.3 Imagen por Resonancia Magnética.....	38
2.3.4 Aclaramiento Sanguíneo	41
3. RESULTADOS	42
3.1 Oxido de Hierro Superparamagnético	42
3.1.1 Farmacocinética.....	42
3.1.2 Toxicidad	51
3.1.3 Estudios Específicos de Toxicidad Hepática	52
3.2 Evaluación Experimental de la Utilidad del Oxido de Hierro Superparamagnético en la detección de lesiones Focales Hepáticas	61
3.3 Aplicaciones Clínicas del Oxido de Hierro Superparamagnético como Agente de Contraste para la Imagen Por Resonancia Magnética del Hígado.....	68
4. DISCUSIÓN.....	77
4.1 Oxido de Hierro Superparamagnético	77
4.1.1 Farmacodinamia y Toxicidad	77
4.1.2 Toxicidad Hepática.....	81

4.2 Evaluación Experimental de la Utilidad del Oxido de Hierro Superparamagnético en la detección de lesiones Focales Hepáticas	86
4.3 Aplicaciones Clínicas del Oxido de Hierro Superparamagnético como Agente de Contraste para la Imagen Por Resonancia Magnética del Hígado.....	91
4.4 Evolución y Aplicaciones Clínicas Actuales	94
5. REFERENCIAS	96
6. APENDICE	110
6.1 Publicaciones Recientes sobre la Utilidad del OHSP en Investigación Básica y Clínica y en Aplicaciones Diagnósticas.....	110
6.2 Artículos Generados como Autor o Coautor por estas Investigaciones	134



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

RESUMEN

Guillermo Elizondo Riojas

Fecha de Graduación: Marzo 2006

Universidad Autónoma de Nuevo León
Facultad de Medicina

Título del Estudio:

**Partículas de Oxido de Hierro como
Prototipo de Agente de Contraste
Superparamagnético para las Imágenes
obtenidas con la Técnica de Resonancia
Magnética Nuclear**

Número de páginas: 153

Candidato para el grado de Doctor en
Ciencias con orientación en Morfología

Área de Estudio: Morfología

Propósito y Método del Estudio: Las partículas de óxido de hierro superparamagnético (OHSP) tienen en teoría dos características físicas, i.e. su tamaño y su profundo efecto en el tiempo de relajación T2, que las harían medios de contraste ideales para estudiar la patología de órganos que contienen células del Sistema Fagocítico Mononuclear (SFM), y que pudieran ser visualizadas por medio de las Imágenes por Resonancia Magnética. En el presente trabajo, caracterizamos las partículas de OHSP desde el punto de vista químico y físico, realizamos estudios preclínicos de eficacia, farmacodinamia, metabolismo, y toxicología, Se estudiaron en animales de laboratorio los efectos *in vitro* en la espectroscopía de RM e *in vivo* en las IRM. Posteriormente, se realizó una investigación preclínica en animales con lesiones focales del hígado, y finalmente se realizó la investigación en humanos sobre la utilidad del OHSP en la detección de neoplasias primaria y metastásica del hígado.

Conclusiones y Contribuciones: El secuestro de las partículas de OHSP en el SFM se confirmó por medio de microscopía de luz y electrónica. A pesar de la gran concentración de hierro en el hígado, no se encontró evidencia de alteración de la función de organelos, ni de peroxidación lipídica mitocondrial o microsomal. Debido a que las partículas de OHSP son fagocitadas por el SRE, la función hepatocelular no se ve afectada, y no se presentó la lesión hepática inducida por hierro. Se demostró el acortamiento importante en el T2 en los órganos que contienen SFM. En los estudios preclínicos en animales, se demostró una diferencia estadísticamente significativa en la capacidad de identificar lesiones focales y difusas del hígado. En los humanos, también se demostró el efecto importante en el T2 de los tejidos normales y por lo tanto la diferenciación con lesiones focales de órganos que contienen SFM. Consideramos que estos estudios demuestran que el OHSP es un agente de contraste potencial para el estudio de las patologías de los órganos que contienen SFM, que a diferencia de los contrastes intravenosos actuales, que no son selectivos, pueden ser utilizados para mejorar la sensibilidad y especificidad de la IRM como método de imagen diagnóstica en las patologías focales del hígado.

FIRMA DE LA DIRECTORA DE TESIS

DRA. LINDA ELSA MUÑOZ ESPINOSA

1. INTRODUCCION

1.1. Antecedentes Históricos

La imagen por resonancia magnética (IRM) proporciona un excelente contraste de los tejidos blandos en imágenes simples, y originalmente parecía que esto obviaría la necesidad de utilizar agentes de contraste para esta modalidad de imagen. Sin embargo, la experiencia clínica inicial con las IRM simples reveló que en ciertas situaciones, la tomografía computada (TC) con contraste era superior. Por ejemplo, en el sistema nervioso central, los meningiomas desafortunadamente tenían unos tiempos de relajación T1 y T2 similares a los del cerebro normal, lo cual resultaba en un pobre contraste y diferenciación tisular, y por lo tanto menor detección de esta patología con este método, en comparación con la TC contrastada. Las lesiones metastásicas pequeñas con muy poco o nulo edema también escapaban a la detección en las IRM simples. Ya que estos tumores usualmente producen disrupción de la barrera hematoencefálica en forma temprana en su evolución, resulta fácil su visualización en la TC con contraste. El uso generalizado de los agentes de contraste yodados en radiología general y en TC resultaba en una mejor certeza diagnóstica.

Por consiguiente, para mejorar la utilidad clínica de la resonancia magnética en estas situaciones y en muchas otras, el desarrollo de los agentes de contraste para las IRM se empezó prácticamente desde el inicio de esta tecnología.

El primer trabajo *in vitro* de resonancia magnética nuclear (RMN) en 1946 por Bloch, Hansen, y Packard [1] reveló que el tiempo de relajación nuclear T1 de los protones de agua podía ser acortado por la adición de agentes paramagnéticos tales como los nitratos férricos. Solomon en 1955 [2], describió el uso de los iones metálicos de transición en solución para reducir los tiempos de relajación T1 de los iones de hidrógeno, por lo cual él desarrolló una descripción matemática que fue modificada en 1957 por Bloembergen [3]. El uso de agentes de contraste paramagnéticos en animales experimentales fue descrito por Lauterbur [4] y Mendoca-Diez [5]. El primer uso del agente de contraste paramagnético parenteral en el hombre, Gadolinio-DTPA, ocurrió a principios de los 80's. Desde entonces, múltiples estudios clínicos y experimentales con ese tipo de agentes de contraste han mostrado que es seguro y que aumenta la sensibilidad y en algunas ocasiones la especificidad de lesiones, principalmente en el sistema nervioso central.

La habilidad del hierro para causar alteraciones profundas en la intensidad de la señal de resonancia magnética ha sido ampliamente reconocida [6]. Por ejemplo, se conocen artefactos importantes en la imagen que resultan de la presencia de cantidades muy pequeñas de óxido

ferromagnético dentro de varios implantes metálicos [7]. En la hemocromatosis, el hierro paramagnético causa una pérdida importante de la señal en los tejidos sobrecargados con hierro tales como el hígado, el bazo y el páncreas [8, 9]. Se han formulado numerosos agentes de contraste para resonancia magnética conteniendo hierro paramagnético con la finalidad de alterar la intensidad de la señal del sistema gastrointestinal, renal y hepatobiliar [10, 11, 12].

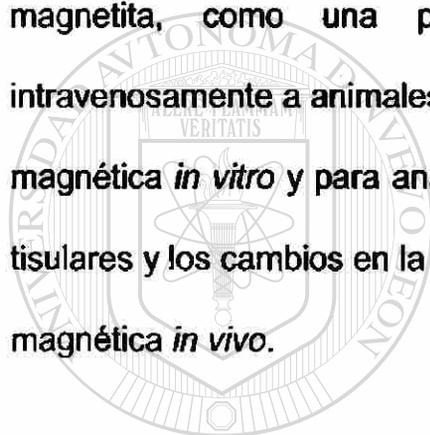
Las ferritas son óxidos de hierro cristalinos cuyas propiedades magnéticas fueron reconocidas por su importancia comercial desde 1933 [13]. Las ferritas tienen la fórmula general de $Fe^{+3} 2O_3 M^{+2}O$, donde M es un metal divalente como el manganeso, níquel, hierro, cobalto o magnesio. La magnetita es la ferrita de origen natural cuyo ión metálico (M) es el hierro ferroso (Fe^{+2}).

Los cristales de magnetita también son manufacturados comercialmente y pueden ser cubiertos con una variedad de sustancias hidrofílicas, las cuales permiten la formulación acuosa de las partículas con un rango de tamaño[®] preestablecido [14].

Las propiedades magnéticas de las ferritas se describen como superparamagnéticas, lo cual se refiere a unos momentos magnéticos extremadamente largos, que se adquieren en la presencia de campos magnéticos externos [13]. Esta propiedad de las ferritas ha sido explotada en la cromatografía por afinidad magnética, donde las biomoléculas unidas a magnetita pueden ser fácilmente extraídas de una solución simplemente

colocando la mezcla en un campo magnético [14]. Debido a que se conoce que los tiempos de relajación de los protones son alterados en la presencia de momentos magnéticos locales inducidos, se ha propuesto recientemente que las partículas de ferrita pueden utilizarse para la manipulación farmacéutica de la intensidad de la señal de resonancia magnética [15, 16, 17].

Emprendimos el presente estudio para determinar el potencial de las partículas de ferrita como agente de contraste de resonancia magnética. La magnetita, como una partícula de ferrita prototipo, se administró intravenosamente a animales de laboratorio para espectroscopía de resonancia magnética *in vitro* y para analizar las alteraciones en los tiempos de relajación tisulares y los cambios en la intensidad de la señal en la imagen por resonancia magnética *in vivo*.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

1.2 Factibilidad de que el óxido de hierro superparamagnético pueda ser utilizado como agente de contraste para IRM

Los agentes de contraste en resonancia magnética aumentan la velocidad de los tiempos de relajación y por consiguiente alteran la intensidad de la señal en las imágenes de resonancia magnética. Esta capacidad es fuertemente dependiente de la magnitud de los momentos magnéticos que esos materiales adquieren (susceptibilidad magnética, expresada en unidades electromagnéticas (UEM)/gramo) cuando se aplica un campo magnético externo. Por ejemplo, los materiales diamagnéticos, tales como el potasio o el hierro ferroso en su estado $S=0$, no alteran significativamente la intensidad debido a que su magnetización inducida es insignificante aún en presencia de campos magnéticos extremadamente grandes. En comparación, los materiales paramagnéticos, tales como el hierro férrico, tienen una susceptibilidad magnética mucho mayor, y se sabe que alteran la intensidad de la señal de resonancia magnética eficientemente (3, 4).

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Con los compuestos paramagnéticos, el incremento de la señal de los tejidos usualmente ocurre debido al efecto de acortamiento del T1 que es causado por la interacción dipolo-dipolo entre los protones y los iones paramagnéticos (2).

Los momentos magnéticos adquiridos por los materiales ferromagnéticos y superparamagnéticos son extremadamente grandes, aún en campos

magnéticos débiles. Esta sensibilidad única a los campos magnéticos es el resultado de su matriz cristalina, la cual facilita el alineamiento de los espines hacia el campo magnético aplicado. De hecho, este alineamiento es tan eficiente que aún a campos magnéticos bajos, todos los espines pueden ser reclutados, y no se obtiene una ganancia en la magnetización al aumentar la fuerza o la magnitud del campo magnético aplicado (3). Los materiales superparamagnéticos difieren de las sustancias ferromagnéticas debido a que, semejantes a los materiales diamagnéticos y paramagnéticos, ellos no retienen ninguna magnetización una vez que el campo magnético externo es removido. En contraste, una vez magnetizados, los materiales ferromagnéticos muestran una remanencia (ie, permanecen parcialmente magnetizados aún en la ausencia del campo magnético aplicado) y son por lo tanto utilizados para la fabricación de imanes permanentes y materiales magnéticos para grabación (cintas, disquetes, etc.) (18, 19).

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

En los tejidos, los momentos magnéticos grandes asociados con las partículas de hierro superparamagnéticos se cree que resultan de las inhomogeneidades locales del campo magnético. La difusión de agua a través de estas distorsiones en el campo local produce un desfase rápido de los protones, lo cual resulta en un acortamiento del T2 (20). Presumiblemente, el desfase de los protones (efecto T2*) es tan rápido que aún el reenfase del pulso de 180° no puede recuperar la pérdida de la señal. Recientemente, se ha observado un incremento idéntico en la relajación del T2 y en la pérdida de la señal de las secuencias de pulso dependientes de T2 a

causa de los depósitos de hierro férrico en los ganglios basales de individuos normales. La razón para el pequeño cambio en la relajación de T1 no es bien entendida. Puede ser posible, sin embargo, que los grandes cristales de ferrita no posean una frecuencia de resonancia que se sincronice con la de los protones, y por consiguiente, el incremento en la relajación en la dirección longitudinal no ocurre (no hay acortamiento del T1) (19).

En los estudios piloto en animales, los cambios inducidos por la ferrita en los tiempos de relajación y la intensidad de la señal se vieron únicamente en el hígado, bazo y médula ósea, tejidos que tienen una cantidad significativa de células fagocítico mononucleares. Las células del sistema fagocítico mononuclear tienen una función de fagocitosis, la cual efectivamente remueve materiales particulados de la circulación (20).

Ya que las partículas de ferrita (80nm) son más pequeñas que los eritrocitos (los cuales son de aproximadamente 5-7 μm), ellas pasan fácilmente los capilares pulmonares, por lo tanto evitando la toxicidad respiratoria aguda, y son rápidamente secuestrados por el sistema fagocítico mononuclear (21).

El sistema fagocítico mononuclear es particularmente susceptible para ser marcado por agentes de contraste debido a que las células constituyentes del mismo son altamente resistentes a las lesiones, y las técnicas de imagen que usan agentes de contraste específicos para el sistema fagocítico mononuclear son bien conocidas por los radiólogos. Ya que los tejidos

patológicos tales como los nódulos neoplásicos no poseen células fagocíticas mononucleares y por consiguiente no pueden atrapar materiales particulados pequeños, las ferritas podrían servir para aumentar el contraste de las lesiones focales que se originan en el hígado, bazo o médula ósea por medio de imágenes de resonancia magnética (21).

Las secuencias de pulso que enfatizan el contraste dependiente de T2 (TR largo-TE largo) son las óptimas para la imagen por resonancia magnética con ferrita debido a la disminución de la señal de los tejidos normales que es de hecho más baja que la intensidad de la señal de los tejidos patológicos (ej., metástasis hepática). Los resultados preliminares muestran que estos beneficios pueden ser obtenidos con dosis extremadamente pequeñas de partículas de ferrita (22).

Una ventaja importante de las partículas de ferrita es su efecto monofásico en la intensidad de la señal de los tejidos. Dosis progresivamente mayores de ferrita pueden únicamente reducir la intensidad de la señal hasta el nivel del "ruido" de fondo, y por lo tanto no se puede obtener mayor disminución en la intensidad de la señal. Esta propiedad es más simple y más fácilmente predecible que el efecto bifásico que los agentes de contraste paramagnéticos, tales como el gadolinio DTPA, tienen sobre la intensidad de la señal de los tejidos (23). Con tales compuestos paramagnéticos, el incremento en la señal ocurre a bajas dosis en donde predomina el efecto de T1. Sin embargo, a dosis altas (o quizá debido a consecuencias de hiperconcentración, como en la

médula renal) los efectos de T2 pueden predominar y de hecho disminuir la intensidad de la señal (24).

Debido a la presencia natural en los tejidos vivos, el hierro es un candidato ideal para la manipulación de la intensidad de la señal por resonancia magnética. De hecho, la magnetita ferrita es particularmente óptima debido a que el óxido de hierro ha sido aislado en ciertos pájaros, peces y bacterias donde su interacción con los campos magnéticos de la tierra se ha encontrado que juegan un papel crítico en su navegación, por ejemplo [18]. Los resultados preliminares sugieren que las partículas de ferrita pueden también jugar un papel importante en la manipulación farmacéutica de la intensidad de la señal de resonancia magnética para estudiar el hígado, bazo, médula ósea y ganglios linfáticos (23).

Las partículas de ferrita tienen un efecto extremadamente poderoso en la relajación de los protones, y esto es fácilmente comprobable, ya que aún con una pequeña dosis, localizada en una porción muy pequeña (aproximadamente 2%) del volumen celular hepático (i.e. células de Kupffer), influencia la intensidad de la señal de todo el hígado (25).

1.3 Hipótesis

El óxido de hierro superparamagnético (OHSP) es un material particulado, con profundos efectos sobre el T2, que podría ser utilizado como agente de contraste específico para el Sistema Fagocítico Mononuclear (SFM), y observar su efecto en las Imágenes por Resonancia Magnética (IRM).

1.4 Importancia y Justificación

Si el OHSP es fagocitado por el SFM, su efecto podría ser visto por IRM en órganos como el hígado, bazo, médula ósea, y ganglios linfáticos.

Las patologías específicas de estos órganos, como neoplasias o metástasis, al no contener SFM, no cambiarán su T2, i.e. la intensidad de su señal, y podrían ser detectadas por medio de las IRM.

1.5 Objetivo General

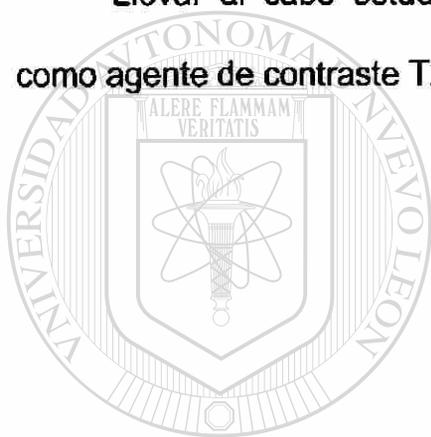
Evaluar el OHSP para ser utilizado como agente de contraste superparamagnético específico para las IRM.

1.6 Objetivos Específicos

Investigar los efectos in vitro sobre el T2 por medio de espectroscopía de RMN, e in vivo sobre la intensidad de la señal por medio de la IRM.

Estudiar los efectos del OHSP en modelos experimentales de lesiones focales del hígado.

Llevar al cabo estudios clínicos para demostrar la utilidad del OHSP como agente de contraste T2 específico para el SFM hepático.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

2. MATERIALES Y METODOS

2.1 Oxido de Hierro Superparamagnético

2.1.1 Farmacodinamia y Toxicidad

2.1.1.1 Oxido de Hierro

El óxido de hierro superparamagnético (AMI-25), preparado por la modificación del método de Whitehead et. al [26] fue sintetizado por Advanced Magnetics, Inc., Cambridge, MA. El material se proporcionó como un coloide acuoso estable con una concentración de 200 μ moles de Fe/ml. (11.2 mg. Fe/ml.). El diámetro volumétrico medio de las partículas fue de 80 nm medido por la dispersión de luz láser (Brookhaven BI-90 medidor de partículas, Brookhaven, N.Y.). La relajación de esta preparación fue de $3 \times 10^4 \text{ seg}^{-1} \text{ M}^{-1}$ para $1/T_1$ y $1 \times 10^5 \text{ seg}^{-1} \text{ M}^{-1}$ para $1/T_2$ en agua (20 MHz, 37°C). Las propiedades magnéticas de la preparación han sido reportadas previamente [27].

El AMI-25 radioactivo fue sintetizado al incorporar ^{59}Fe dentro de la porción central del óxido de hierro superparamagnético. La actividad específica fue de 8,460 $\mu\text{Ci}/\mu\text{mol}$ (313,020 kBq/ μmol) de Fe al momento de la calibración. Las partículas radiomarcadas fueron mezcladas con las partículas no marcadas para dar una actividad específica de 36 $\mu\text{Ci}/\mu\text{mol}$ (1332 kBq/ μmol) de Fe. Los

estudios farmacocinéticos fueron llevados al cabo a una dosis de 18 μmol de Fe/kg (equivalente a 1 mg de Fe/kg), similar a la dosis proporcionada para los estudios clínicos posteriores de resonancia magnética de 20 μmol Fe/kg. [28].

2.1.1.2 Animales

Ratas Sprague Dawley (Charles River Laboratories, Wilmington, MA.) fueron anestesiadas vía intraperitoneal de 30-50 mg/kg de pentobarbital sódico. 55 ratas Sprague Dawley macho (300-350 grs) fueron utilizadas para los estudios de radio trazadores (4 para estudios de eliminación corporal total, 48 para la biodistribución de órganos, y 3 para la incorporación a los eritrocitos), 39 para las mediciones de tiempo de relajación, y 7 para histología. Los estudios toxicológicos fueron llevados al cabo en 32 ratas Sprague Dawley machos y 32 hembras.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

La deficiencia de hierro fue producida al alimentar 30 ratas Sprague[®] Dawley (50-70 grs) (Zivic-Miller Allison Park, PA) con una dieta deficiente de hierro (low iron diet, ICN Nutritional Biochemical, Cleveland, OH.). Ocho animales controles recibieron una dieta estándar (Purina Rat chow, Ralston Purina, St. Louis, MO.). Los animales fueron conservados en cajas de polietileno con tapas de acero inoxidable.

Un total de 30 perros Beagle (15 machos, 15 hembras de 4 meses de edad) se utilizaron para los estudios de toxicología (Hazleton Research Animals, Cumberland, VA).

2.1.1.3 Estudios con radiotrazadores de ^{59}Fe

La biodistribución en los órganos fue determinada al inyectar ^{59}Fe -AMI-25 a una dosis de 18 μmol de Fe/kg . (2 $\mu\text{Ci}/\text{kg}$. (64 kBq/kg)). Los animales fueron sacrificados antes de la inyección y varios intervalos después de la inyección (7.5, 15 y 30 minutos; 1, 2, 4, 8 y 16 hrs.; y 2, 4, 7, 14, 36, 60 y 90 días; 3 animales en cada punto). Los órganos obtenidos para estudio fueron hígado, bazo, sangre, pulmón, riñón, y cerebro, y la radioactividad fue medida junto con los estándares de ^{59}Fe . La radioactividad fue corregida para cada punto de tiempo para el decaimiento de ^{59}Fe , y los resultados se expresan como el porcentaje de la dosis inyectada por órgano o gramo de tejido. Los valores fueron expresados como la media \pm la desviación estándar.

La incorporación a las células rojas del óxido de hierro fue determinada después de la administración intravenosa de ^{59}Fe -AMI-25 (18 μmol Fe/kg .) en 3 ratas. Se obtuvieron múltiples muestreos seriados de 0.2 ml de sangre después de 1, 2, 4, 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49 y 56 días. Después de que las muestras de sangre fueron centrifugadas y lavadas, se contaron 0.05 ml de eritrocitos. Al día 21, el volumen sanguíneo total fue determinado por la técnica

de dilución del radioisótopo ^{51}Cr . El volumen de células rojas fue calculado como el volumen sanguíneo total multiplicado por el hematocrito.

Los estudios de eliminación corporal total se realizaron en cuatro ratas, que fueron inyectadas con ^{59}Fe -AMI-25 a $18\ \mu\text{mol Fe/kg}$. ($2\ \mu\text{Ci/kg}$ ($64\ \text{kBq/kg}$)).

Las cuentas para cada rata se obtuvieron inmediatamente en una cámara de conteo (Tobor Nuclear Chicago, Il.), y entonces las ratas fueron colocadas en una caja metabólica. El conteo seriado fue llevado al cabo por dos horas, y a 2, 4, 7, 14 y 28 días. Las muestras separadas de heces y orina y la muestra estándar de ^{59}Fe fueron contadas a puntos idénticos en el tiempo.

2.1.1.4 Estudios de Deficiencia de Hierro

Las ratas pequeñas fueron divididas en cuatro grupos de cinco animales cada uno. El Grupo I recibió una dieta estándar (control normal), y los Grupos II al IV recibieron dietas de deficiencia de hierro. Después de cuatro semanas, las ratas en el Grupo I (control normal) y Grupo II (deficiencia de hierro) fueron sacrificadas para confirmar la presencia de deficiencia de hierro. Los animales en el Grupo III recibieron una inyección única intravenosa de hierro dextrán como un control positivo (Imferón, Merrel Dow Pharmaceuticals; $30\ \text{mg Fe/kg}$), y el Grupo IV recibió una inyección única de óxido de hierro

superparamagnético (AMI-25; 537 $\mu\text{mol Fe/kg}$ correspondiendo a 30 mg Fe/kg.). A los días 1, 3, 5, y 7 después de la administración de imferón y AMI-25, las ratas del Grupo III y del Grupo IV fueron sacrificadas por exanguinación vía punción cardiaca. El hematocrito [29], la hemoglobina [29], el hierro sérico [30], y la capacidad total de unión del hierro [31], fueron determinados usando métodos estándar. Las concentraciones de hierro del hígado fueron determinadas utilizando el método químico de Torrance y Bothwell [32].

Para evaluar el efecto de dosis en aliviar la anemia, llevamos al cabo un estudio separado. Se administraron a ratas anémicas varias dosis de AMI-25 (18, 89, 179, 357, Y 356 $\mu\text{mol Fe/kg}$ correspondiendo a 1, 5, 10, 20 y 30 mg de Fe/kg (N=3 para cada dosis). En este grupo de animales, únicamente el hematocrito y las concentraciones hepáticas de hierro fueron determinadas 7 días después de la administración.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

2.1.1.5 Medición de los Tiempos de Relajación

Los tiempos de relajación del hígado, bazo, pulmón, riñón, y músculo fueron determinados para medir el efecto de AMI-25 en cada tejido. El AMI-25 fue inyectado a una dosis de 18 $\mu\text{mol Fe/kg}$ en grupos (N=3) de animales sacrificándolos a los 7.5, 15, 30, 60, 120 y 240 minutos y al 1, 2, 4, 7, 14, 28 y 91 días después de la inyección. Los animales fueron sacrificados por exanguinación, y los órganos fueron removidos inmediatamente. Los tiempos

de relajación fueron medidos a 37°C en un lapso de una hora después del sacrificio. Los valores de T2 fueron obtenidos usando un espectrómetro de Resonancia Magnética Nuclear (PC20 Minispech IBM) operando a 0.47T correspondiendo a una frecuencia de resonancia de 20 MHz. Después de la calibración, el T2 fue obtenido del análisis de 10 puntos de datos generados con la secuencia de pulso de Carr-Purcell-Meiboom-Gill. Los valores de T2 fueron graficados como los valores recíprocos (1/T2)/tiempo.

2.1.1.6 Estudios Patológicos

El examen histológico del hígado fue llevado al cabo para documentar la desaparición del hierro teñible después de la administración de AMI-25. Las revisiones histológicas fueron llevadas al cabo antes, a las 3 hrs., y a los 1, 2, 9, 16, y 30 días después de la administración de AMI-25 (18 $\mu\text{mol Fe/kg}$; 1 mg Fe/kg). Las muestras de los hígados fueron fijadas en 10% de formalina, embebidas en parafina y teñidas con una tinción para hierro con el azul de Prusia de Perls. En este método histoquímico, el hierro férrico es disuelto de los complejos orgánicos (hemosiderina, ferritina, hierro dextrán, AMI-25, etc.) por el ácido clorhídrico, y entonces reacciona con el ferrocianuro de potasio ($\text{K}_4\text{Fe}(\text{Cn})_6$) para formar el precipitado azul, el ferrocianuro férrico ($\text{Fe}_4(\text{Fe}(\text{Cn})_6)_3$) [33]. Las secciones teñidas con azul de Prusia fueron codificadas al azar y posteriormente evaluadas para su contenido de hierro por un patólogo.

2.1.1.7 Toxicidad

Los estudios de toxicidad aguda fueron llevados al cabo en 18 ratas y en 12 perros Beagle. Los animales fueron inyectados con 500 $\mu\text{mol Fe/kg}$ (28 mg Fe/kg) o 3000 $\mu\text{mol Fe/kg}$ (168 mg Fe/kg de AMI-25). Los animales controles fueron manejados e inyectados en una manera similar pero no recibieron AMI-25. Los animales fueron observados por 14 días, sacrificados, y se les realizó autopsia.

Los estudios de toxicidad subaguda fueron llevados al cabo en 60 ratas y en 18 perros Beagle. Sobre un período de 3 semanas cada animal recibió un total de 9 inyecciones ya sea con 0.50 $\mu\text{mol Fe/kg}$ (2.8 mg Fe/kg), o 250 $\mu\text{mol Fe/kg}$ (14 mg Fe/kg) de AMI-25 por inyección. Todos los animales fueron revisados 2 veces al día para mortalidad y morbilidad, y se realizó un examen físico detallado antes del inicio del experimento y semanalmente posteriormente. Se examinaron muestras de sangre (hematocrito, hemoglobina, conteo de eritrocitos, conteo de leucocitos, diferencial, y plaquetas), suero (Na, K, Cl, Ca, albúmina, globulina, fosfatasa alcalina, bilirrubina, nitrógeno de la urea, glucosa, deshidrogenasa láctica, aminotransferasa de aspartato, aminotransferasa de alanina, colesterol y hierro sérico) y de orina, antes del estudio y en el último día de éste. Después de 3 semanas los animales fueron sacrificados y autopsiados. El examen macroscópico fue llevado al cabo en 41 muestras de tejido. La histología se realizó en los siguientes tejidos: hígado, bazo, pulmón, médula ósea, ganglios linfáticos, riñón, cerebro, médula espinal,

corazón, aorta, glándulas, testículos, ovarios, útero, intestino, páncreas, vejiga, músculo, y en el sitio de la inyección.

La mutagenicidad fue estudiada por el ensayo de mutación de la reversa microsomal de la *salmonella* de Ames, la cual mide la mutación que condiciona un regreso a la dependencia a la histidina en los mutantes de *salmonella typhimurium* [34]. Esta prueba es ampliamente utilizada y ha sido desarrollada para probar productos químicos en su capacidad para interactuar con el DNA o la mutagenicidad [35].

Se utilizaron cinco diferentes cepas de salmonella (TA-1535, TA-1537, TA-1538, TA-90 y TA-100) (B. Ames, University of California at Berkeley, Berkeley, CA) y fueron almacenadas como cultivos congelados. Diferentes dosis de óxido de hierro, con una concentración desde 0.143 a 214 μmol Fe/platina (0.008 a 12 mg Fe/platina) de AMI-25, fueron incubadas con colonias (10^9 bacterias) a 37°C por dos días. Posteriormente, se cuantificó el número de colonias por platina.

2.1.2 Estudios Específicos de Toxicidad Hepática

2.1.2.1 Animales y Dietas

Ratas macho (150-300 gr) de la cepa Sprague-Dawley fueron conservadas en un bioterio en cajas de polietileno con tapas de acero inoxidable. Se les permitió a las ratas el libre acceso al alimento (alimento para rata de Purina) y agua.

2.1.2.2 Partículas de ferrita

Las partículas de ferrita (4125; Advanced Magnetics Inc.) usadas en estos experimentos fueron Fe_3O_4 (Magnetita) con un tamaño promedio entre 0.5 a 1 micra en diámetro (incluyendo la cubierta de polímero). La partícula de polímero magnetita es 60% de hierro por peso.

2.1.2.3 Toxicidad Aguda

Para los estudios de toxicidad aguda, las ratas (N=9) fueron inyectadas intravenosamente (6 ml en dosis divididas sobre un período de 24 horas en la vena de la cola) con una suspensión de partículas de ferrita, recibiendo un total de 250 mg Fe/kg. (10 mg Fe/ml). Las ratas control (N=10) recibieron un volumen equivalente de solución salina. Las ratas experimentales y los

controles fueron manejados idénticamente. 48 horas después de la inyección de ferrita, las ratas fueron sacrificadas por exanguinación vía una punción cardiaca bajo el efecto de ligera anestesia con éter. Un grupo de las ratas inyectadas con ferrita (N=4), y sus controles respectivos (N=5), fueron usados para estudios de peroxidación lípida mitocondrial y metabolismo oxidativo mitocondrial (ver abajo). Las restantes ratas inyectadas con ferrita (N=5) y sus respectivos controles (N=5) fueron usados para estudios de peroxidación lípida microsomal y varios parámetros de función microsomal (ver abajo).

2.1.2.4 Toxicidad Crónica

Para los estudios de toxicidad crónica, las ratas (N=8) (peso medio:163 grs.) fueron inyectadas intravenosamente (a través de la vena de la cola) con una inyección única de 0.5 ml de la suspensión de partículas de ferrita (10 mg Fe/ml), recibiendo 30 mg Fe/kg. Las ratas usadas como controles no fueron tratadas pero fueron aproximadamente de la misma edad y peso al tiempo del sacrificio. Las ratas experimentales y de control fueron manejadas en forma idéntica. Un grupo de las ratas inyectadas con ferrita (N=4) y sus respectivos controles (N=4) fueron sacrificados (como se describió arriba) 10 semanas después de la inyección. Estas ratas fueron usadas para estudios de peroxidación lípida mitocondrial y metabolismo oxidativo mitocondrial (ver abajo). El resto de las ratas inyectadas con ferrita (N=4) y sus controles respectivos (N=4) fueron sacrificados 11 semanas después de la inyección y

fueron usadas para estudios de peroxidación lípida microsomal y varios parámetros de la función microsomal (ver abajo).

2.1.2.5 Estudios Bioquímicos

La evidencia de la peroxidación lipida mitocondrial y microsomal fue determinada por ensayos de dienes de lípidos conjugados como se ha descrito previamente [36].

La peroxidación lípida fue cuantificada por la diferencia en la absorción a 230 Nm-Mg del lípido extraído de las fracciones de los organelos entre las ratas experimentales y los controles, debido a la formación de dienes de lípidos conjugados. La función mitocondrial hepática fue evaluada al estudiar el metabolismo oxidativo (estado 3 y estado 4 de los ritmos respiratorios, relación del control respiratorio y relaciones de adenosina difosfato entre oxígeno) con glutamato y succinato como substratos [37]. La función microsomal hepática fue evaluada por la medición de la concentración de citocromo P 450 y de la demetilasa de aminopirina y la actividad de la glucosa 6 fosfatasa con métodos que han sido descritos previamente. Estos estudios bioquímicos fueron elegidos debido a que se ha probado que son indicadores sensitivos de la disfunción de los organelos hepatocelulares asociados con sobrecarga de hierro [36-38].

Las concentraciones de hierro no unidas a Hem fueron medidas en muestras de hígado, bazo, riñón y tejido pulmonar por el método de Torrance y Bothwell [32]. Los resultados son expresados como microgramos de Fe por gramo de tejido (peso húmedo). Las concentraciones de alaninaminotransferasa plasmática fueron medidas de acuerdo al método de Henry y cols. [39] en ratas tanto de los experimentos a corto como a largo plazo.

2.1.2.6 Microscopía de Luz

Los bloques de tejido se fijaron en formalina al 10%, deshidratados con series graduales de alcohol etílico, y posteriormente embebidos en parafina. Se prepararon secciones de 5µm y se tiñeron con hematoxilina y eosina. Se utilizó la tinción de azul de Prusia de Perls para hierro trivalente para evaluar el contenido de hierro.

2.1.2.7 Microscopía de Electrónica

Se fijaron fragmentos de hígado de 1 mm³ (tomados de una rata 24 horas después de la administración de 4 mg de Fe/kg de ferrita) con 1.25% de glutaraldeido y 1% de paraformaldeido en una solución buffer de 0.1 mol/L de cocodilato sódico a un pH de 7.4 con 0.05% de CaCl₂ por una hora, postfijado con 1% de tetraóxido de osmium en buffer por 1 hora. Las muestras fueron teñidas en bloque con acetato de uranil por una hora, deshidratadas con series graduadas de etanoles, infiltradas con óxido de propileno y una resina epóxica

Poly-Bed 812/Araldita, y curada por 48 horas a 60°C. Se cortaron secciones de 1 µm usando un ultramicrotomo LKB III y teñidas con azul de toluidina al 1%. Las secciones fueron cortadas aproximadamente a 70 nm, teñidas con acetato de uranil y citrato de plomo, y examinada con un microscopio electrónico de transmisión Philips 410 a un voltaje de aceleración de 80 kV.

2.1.2.8 Estudios Serológicos

Un tercer grupo de experimentos se llevó al cabo en el cual tres grupos de ratas (N=5, cada grupo) recibieron una inyección única intravenosa de partículas de ferrita (4 mg de Fe/kg, por la vena de la cola). La sangre fue obtenida antes de la inyección de las partículas de la ferrita y a los días 1 y 7 (Grupo 1), días 4 y 12 (Grupo 2), y días 7 y 25 (Grupo 3). Las muestras de suero fueron analizadas usando un analizador Technicon SMA 20 y fueron evaluadas para las concentraciones de sodio, potasio, cloro, CO₂, calcio, fósforo inorgánico, hierro, glucosa, nitrógeno de la urea, creatinina, ácido úrico, colesterol, triglicéridos, proteínas totales, albúmina, bilirrubina total, fosfatasa alcalina, alaninaminotransferasa, asparato de aminotransferasa y deshidrogenasa láctica.

2.1.2.9 Métodos Estadísticos

Los resultados son presentados como la media ± una desviación o un error estándar de la media. La significancia de las diferencias fue evaluada al usar la prueba de T de Student comparando las medias de los grupos.

2.2 Evaluación Experimental de la Utilidad del Oxido de Hierro Superparamagnético en la detección de lesiones Focales Hepáticas

2.2.1 Partículas de Ferrita

Los cristales de ferrita superparamagnéticos ($\text{Fe}^{+3}_2\text{O}_3 \cdot \text{Fe}^{+2}\text{O}$) de 100-200 Å en tamaño, fueron cubiertos ya sea con un material hidrofílico para producir partículas de 0.2-1.0 μm (Advanced Magnetics, Cambridge, Massachusetts) o partículas de albúmina de 2-5 μm (Molecular Biosystems, San Diego). El recubrimiento previene la agregación de los cristales y permite un control sintético del tamaño de las partículas, así como de la formulación de la suspensión acuosa que permite ser utilizada para inyección intravenosa. Las características físicas de estas partículas han sido descritas anteriormente.

Las partículas de ferrita fueron inyectadas dentro de la vena de la cola de las ratas en un bolo de 1 ml. Ya que las partículas tienden a sedimentarse en la solución, fueron suspendidas inmediatamente antes de la inyección por una agitación vigorosa. Para los estudios in vitro de ratas, utilizamos una dosis de 50 μmoles de Fe/kg, que es la dosis efectiva (DE 50) reportada para los agentes de contraste. La DE 50 se define como la dosis del agente de contraste de RM que reduce el tiempo de relajación T1 o T2 en un 50% [40].

Ya que la intensidad de la señal en las imágenes de resonancia magnética en vivo es aún más sensible a la dosis administrada, las imágenes

de resonancia magnética se realizaron con una dosis de 20 μ moles de Fe/kg en las ratas y en el conejo y de 10 μ m/kg en los experimentos en monos.

Inicialmente, empleamos un modelo de rata de cáncer hepático en el cual nódulos de tumor intrahepático fueron producidos por una implantación quirúrgica de un trocar con células de adenocarcinoma mamario de rata (R 3230 AC, Tumor Bank of the National Cancer Institute and EG&G Mason Research Institute, Worcester, MA.) en ratas Fisher 344 adultas femeninas (Charles River Riders, Wilmington, MA.) [41].

Esta línea tumoral es un modelo de laboratorio ideal, ya que el adenocarcinoma es la variedad histológica más común de metástasis hepáticas (ej. colon, páncreas, mama) y debido a que las masas tumorales crecen como nódulos solitarios completamente dentro del hígado y no metastatizan local o distalmente. La caracterización in vitro del crecimiento tumoral y los tiempos de relajación se han realizado en más de 100 ratas. Los nódulos tumorales se originan en más del 90% de las ratas que reciben los implantes y crecen a un ritmo uniforme. Las ratas fueron sacrificadas a los 7, 14, 21 y 28 días después de la implantación y tenían nódulos que eran de 0.5, 0.5-1.0, 1.0-1.5, y mayores de 2 cms en tamaño, respectivamente.

Únicamente las masas tumorales mayores de 2 cms. mostraron una variación considerable en sus tiempos de relajación T1 y T2 debido al desarrollo de necrosis central. Por consiguiente, nuestros experimentos se

condujeron 14 días después de la implantación tumoral, cuando los nódulos tumorales fueron de aproximadamente 0.5-1.0 cm. y no habían desarrollado liquefacción necrótica central.

Para los experimentos con las especies de un orden mayor, utilizamos conejos blancos de Nueva Zelanda de 1 Kg, 21 días después de una implantación intrahepática similar del carcinoma VX2, y monos Cynomologous de 2 a 3 Kg, 17 días después de la implantación intrahepática de células de fibrosarcoma.

2.2.2 Espectroscopía por Resonancia Magnética

La determinación espectroscópica por resonancia magnética de los tiempos de relajación tisulares se realizó en un Multispec PC-20 (IBM, Danbury, Connecticut). Esta magneto permanente opera con una fuerza de campo magnético de 0.47T (20 MHz). El T1 fue medido por un cálculo no lineal[®] de los últimos cuadrados de 8 puntos de datos, generado con una secuencia de pulso de recuperación de la inversión (RI) estándar. El T2 fue determinado por 10 puntos de datos, generados con una secuencia de Carr-Purcell-Meiboon-Gill. Todos los valores representan un promedio de 3 medidas consecutivas.

Los rangos normales de tiempos de relajación de T1 y T2 para el hígado y los tumores fueron determinados en 6 ratas controles que no recibieron

ferrita. Después de la administración intravenosa de $50\mu\text{mol. Fe/Kg.}$, los tiempos de relajación del hígado y del tumor fueron medidos en cuatro ratas. Los tiempos de relajación de los tejidos fueron determinados tres horas después de la inyección para asegurar un aclaramiento completo de la sangre debido a que las partículas secuestradas no son degradadas o eliminadas del hígado por al menos 21 días después de su administración, como se describió en la sección de farmacodinamia.

La significancia estadística se determinó por una prueba de t de Student.

2.2.3 Imagen por Resonancia Magnética

La imagen por resonancia magnética, tanto de las ratas como de los conejos fue practicada con una magneto superconductor (Technicare, Solom, Ohio) operando a una fuerza de 1.4T (61.4MHz). La técnica utilizada fue de una sola sección con un solo eco y las imágenes fueron obtenidas utilizando 128 niveles de gradientes de codificación de fase. Las imágenes reconstruidas tenían un grosor de sección de 3mm y una resolución submilimétrica en el mismo plano.

Las secuencias de pulso utilizadas fueron EE 250/15/6 (tiempo de repetición en milisegundos (TR), tiempo de eco en milisegundos (TE), adquisiciones (NEX)) y técnica de recuperación de la inversión de

1500/450/15/2 (TR, tiempo de inversión en milisegundos (TI), TE, NEX) para las dependientes de T1, EE de 1500/60/2 para las dependientes de T2 y EE 500/30/3 para las de densidad de protones. Cinco ratas (anestesiadas con 35 mg/kg de pentobarbital sódico inyectado en la cavidad peritoneal), y dos conejos (anestesiados con 10 mg/kg de ketamina inyectada intramuscularmente), fueron llevados a la magneto para practicárseles imagen de resonancia magnética antes de la administración de ferrita y se localizaron los tumores hepáticos. Sin mover los animales, las imágenes fueron obtenidas seriadamente 60 minutos después de la inyección de un bolo de 20 μ moles de Fe/kg. En una rata, se utilizó una dosis de 50 μ moles de Fe/kg. La presencia del tumor fue confirmada por necropsia en todos los animales.

La imagen por resonancia magnética se practicó en dos monos (anestesiados con ketamina-acepromasina inyectada intramuscularmente) con una antena de superficie (de cuello) en un sistema superconductor de cuerpo entero (Technicare), operando a una fuerza de campo magnético de 0.6T (24[®] MHz). Se utilizó una técnica de eco del espín con múltiples secciones y múltiples ecos, con un grosor de sección de 5 mm. y también con 128 pasos en la codificación de fase.

Se utilizaron secuencias dependientes de T2 (EE 1500/45, 90/2 y de densidad de protones (EE 500/30/6) para obtener las imágenes antes y 30 minutos después de la administración de 10 μ mol. Fe/g. Después de las

imágenes, los animales fueron sacrificados para obtener la correlación anatómica.

2.2.4 Análisis de las Imágenes

Las imágenes de las ratas fueron analizadas utilizando una región de interés seleccionada por el operador, y la media de la intensidad de la señal fue medida en el hígado, tumor, y en el ruido de fondo. El ruido de fondo intrínseco fue determinado al utilizar una región grande, elíptica, que excluía las imágenes fantasmas (artefacto por movimiento). El ruido de fondo total (i.e., ruido intrínseco + ruido fantasma) fue determinado al colocar una región redonda de interés directamente sobre las imágenes fantasmas. El ruido intrínseco fue sustraído del ruido de fondo total para calcular el ruido causado por el movimiento fisiológico. Debido a que las ratas estaban sujetas con cinta adhesiva para asegurar que no se movieran durante la imagen, y además fueron reanestesiadas antes de cada secuencia de pulso, todos los movimientos voluntarios resultantes de las diferencias en la profundidad de anestesia fueron minimizados.

La relación de las diferencias en la intensidad de la señal (IS) entre el tumor y el hígado con respecto al ruido de fondo (la relación de diferencia de la intensidad de la señal con el ruido fue medida utilizando la siguiente fórmula: $\text{contraste} = (\text{IS del tumor} - \text{IS del hígado}) - \text{IS del ruido}$). El contraste fue calculado separadamente para el ruido intrínseco y para el ruido de fondo total.

El contraste para las diferentes secuencias de pulso fue comparado después de corregir las variaciones en sus tiempos de estudio como sigue: $\text{contraste corregido} = a \text{ contraste} \times ((\text{tiempo de estudio estándar} - \text{tiempo de estudio actual})^{1/2})$. Esto permite una comparación de las secuencias de pulso con diferentes tiempo de estudio que resulta por las variaciones de los tiempos de repetición o el número de adquisición de datos [42, 43].

Las imágenes obtenidas antes y después de la administración de ferrita fueron reproducidas con un brillo y contraste óptimos para cada secuencia.

2.2.5 Análisis de los Tejidos

Los tejidos del hígado y del tumor fueron analizados para identificar la localización celular de las partículas de ferrita y para identificar cualquier evidencia de lesión celular. Se realizó microscopía electrónica de transmisión y la microscopía de luz (con tinción de azul de Prusia para hierro) en los especímenes de dos ratas tres horas después de la inyección de 330 $\mu\text{mol Fe/kg}$ y de un mono 24 horas después de la administración de 10 $\mu\text{mol Fe/kg}$. En las ratas, se utilizó una dosis seis veces mayor que la reportada para la DE 50 del hígado in vitro, con la finalidad de identificar una captación aún mínima si existiera por parte de las células no fagocítico mononucleares.

2.3 Aplicaciones Clínicas del Óxido de Hierro Superparamagnético como Agente de Contraste para la Imagen Por Resonancia Magnética del Hígado

2.3.1 Óxido de Hierro

El óxido de hierro superparamagnético cristalino preparado con una modificación del método de Whitehead et.al. [26], fue obtenido como AMI-25 de la Compañía Advanced Magnetics de Cambridge, Massachusetts. Como se mencionará en las secciones de toxicología y farmacodinamia de la Investigación Preclínica, estas partículas y partículas semejantes de hierro no han mostrado toxicidad y han sido efectivas como agentes de contraste en estudios animales. El diámetro medio de las partículas utilizadas en el presente estudio fue de 80 nm (con un rango de 50 a 100 nm) medido por el método de dispersión de luz láser, y en agua destilada las partículas forman un coloide estable. La concentración de hierro fue de 0.2 M.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



2.3.2 Pacientes

El protocolo de estudio fue aprobado por los Subcomités Éticos de investigación en estudios humanos del Hospital Universitario "Dr. José Eleuterio González" y del Massachusetts General Hospital. Todos los pacientes firmaron una hoja de consentimiento en donde se explicaban las características, posibles riesgos y ventajas del presente estudio.

Se seleccionaron 15 pacientes (8 hombres, 7 mujeres) entre 26 y 68 años de edad para este estudio. Todos los pacientes tenían metástasis hepáticas probadas por biopsia hepática o por biopsia del cáncer primario (6 tenían adenocarcinoma de colon, 3 tenían carcinoma de células de los islotes, 2 tenían melanomas, 1 tenía carcinoide, 1 tumor renal, 1 adrenal y 1 adenocarcinoma de mama) y se demostraron múltiples lesiones hepáticas ya sea con tomografía computada o ecografía. Todos los pacientes fueron observados por 2 horas después de la administración de la droga y fueron reexaminados un día después. Entrevistas de seguimiento, exámenes físicos, estudios rutinarios de laboratorio, y revisión de los expedientes médicos 3 a 6 meses después de la inyección fueron practicados en los 15 pacientes.

2.3.3 Imagen por Resonancia Magnética

Las imágenes fueron llevadas al cabo con una magneto permanente (Fonar β 3000) operando a 0.3 Tesla (13.3 MHz.), y en una magneto superconductor (Technicare) operando a 0.6 Tesla (25.1 MHz.). Las imágenes cuyo contraste dependía del T1 de los tejidos fueron obtenidas con la secuencia de pulso de eco del espín con un tiempo de repetición (TR) de 250 o 260 mseg, y con un tiempo de eco (TE) de 14 a 16 mseg. También se obtuvo una secuencia con un TR de 500 mseg y un TE de 28 mseg. Las imágenes cuyo contraste básicamente dependía del T2 de los tejidos fueron obtenidas con la misma secuencia de eco del espín pero con un TR de 1500 mseg y un

TE de 40 y 80 mseg. El tiempo de la imagen fue estandarizado a 7 minutos por secuencia, y cada secuencia produjo de 7 a 11 cortes axiales simultáneos.

Las imágenes de base sin contraste fueron obtenidas antes de la inyección intravenosa, la cual se llevó al cabo en un período de 90 segundos, y se administraron de 10 a 50 $\mu\text{mol/kg}$. de coloide sin diluir de la ferrita (10 pacientes recibieron 20 $\mu\text{mol/kg}$., 2 recibieron 30 $\mu\text{mol/kg}$., y dosis de 10, 40 y 50 $\mu\text{mol/kg}$. fueron administradas a 1 paciente cada una de ellas). Las imágenes contrastadas con ferrita fueron obtenidas 1 a 2 horas después, repitiendo las secuencias de base de 500 y 1500 mseg de TR.

Las imágenes fuertemente dependientes de T1 de 260 mseg no fueron utilizadas después de la administración de ferrita debido a que la teoría indica que esta sería una técnica muy poco sensible, ya que el agente de contraste básicamente altera el T2 de los tejidos como se demostró en la investigación preclínica. Se obtuvieron imágenes adicionales de 1 a 72 horas después de la administración de la droga en algunos pacientes. Sólo los datos de las imágenes que se obtuvieron 1 a 2 horas después de la administración de contraste en los 10 pacientes que recibieron los 20 $\mu\text{mol/kg}$ fueron incluidos en el análisis cuantitativo de este trabajo.

El análisis de las imágenes postcontraste de 1 a 2 horas después de la administración de AMI-25 fue realizado con el uso de técnicas cuantitativas bien estandarizadas. La medición de la intensidad de la señal se obtuvo en el

tumor, hígado, bazo, músculo, grasa, médula ósea, riñón, páncreas y ruido térmico de fondo. Las intensidades de los tejidos, en escala a la relación del ruido de fondo de la misma imagen, se expresan como la relación señal / ruido (S/R). La relación contraste / ruido (C/R) fue calculada como la diferencia entre la intensidad de la señal de la lesión menos el hígado escalada al ruido de la imagen, en donde se incluían también los artefactos por movimiento. La C/R es usada como una medida del desempeño del sistema de imagen y correlaciona con el valor diagnóstico de las diferentes técnicas de imagen por resonancia magnética [42, 44, 45].

El análisis subjetivo de las imágenes se realizó contando el número de metástasis visibles dentro de un grupo de imágenes con múltiples secciones y midiendo el tamaño de la lesión mas pequeña visualizada con cada secuencia de pulso. Para la mayoría de las lesiones la confirmación se basó en la visualización de la misma estructura en mas de una imagen, de una manera altamente subjetiva. Esta poca certeza es inevitable para la prueba de lesiones hepáticas individuales y ha sido bien discutida previamente en la literatura [44]. Los datos de las imágenes antes y después de la administración del contraste, (específicamente la S/R y C/R, los grados de detección de las lesiones, los tamaños mínimos para la detección de las lesiones), fueron analizados para los pacientes individuales con la prueba para muestras pares de Wilcoxon [46]. Específicamente, las imágenes antes y después de la administración de contraste fueron ordenadas en términos de estos valores, y la estadística fue aplicada a estos rangos.

2.3.4 Aclaramiento Sanguíneo

Se obtuvieron muestras de sangre antes de la administración de AMI-25 y seriadamente a intervalos que variaron de 2 minutos a 24 horas para los primeros cinco pacientes. Cada paciente tuvo al menos 7 muestras tomadas en los primeros 300 minutos. Las muestras fueron anticoaguladas con ácido etilendiaminotetraacético (EDTA).

Los tiempos de relajación, T1 y T2 de las muestras sanguíneas fueron medidos a 37°C con un espectrómetro Bruker PC 20 operando a 0.47 Tesla (20 MHz.)

La vida media de la ferrita superparamagnética en 5 pacientes fue calculada de las constantes de eliminación de primer orden para un modelo abierto uni o bicompartamental [47]. Estas constantes fueron determinadas por la fórmula del último cuadrado de los promedios ($1/T$) de $1/T_1$ y $1/T_2$, cada uno normalizado a valor preinyección. El promedio de $1/T$ fue graficado contra tiempo y calculado en forma tanto mono como biexponencial para la evaluación de lo bueno de la correlación. Se utilizó el modelo más simple que resultó en el coeficiente de correlación mayor de 0.95 para cada sujeto.

3. RESULTADOS

3.1 Oxido de Hierro Superparamagnético

3.1.1 Farmacocinética

3.1.1.1 Distribución

Una hora después de la inyección de ^{59}Fe -AMI-25, se encontró una alta concentración de ^{59}Fe en el hígado ($82.6\pm 0.26\%$ de la dosis inyectada) y en bazo ($6.2\pm 7.31\%$ de la dosis inyectada). Cuando se expresó la biodistribución por órganos como el porcentaje de la dosis inyectada por gramo de tejido, el hígado ($6.3\pm 0.52\%/g$) y el bazo ($10.9\pm 7.56\%/g$) mostraron la mayor concentración (Figura 1). Únicamente se detectaron cantidades mínimas de ^{59}Fe en otros tejidos tales como el riñón, pulmón y cerebro.

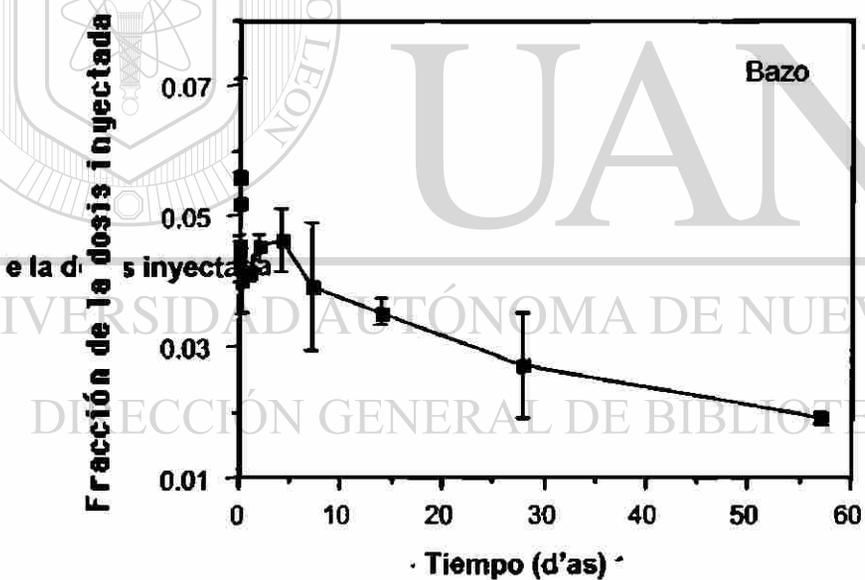
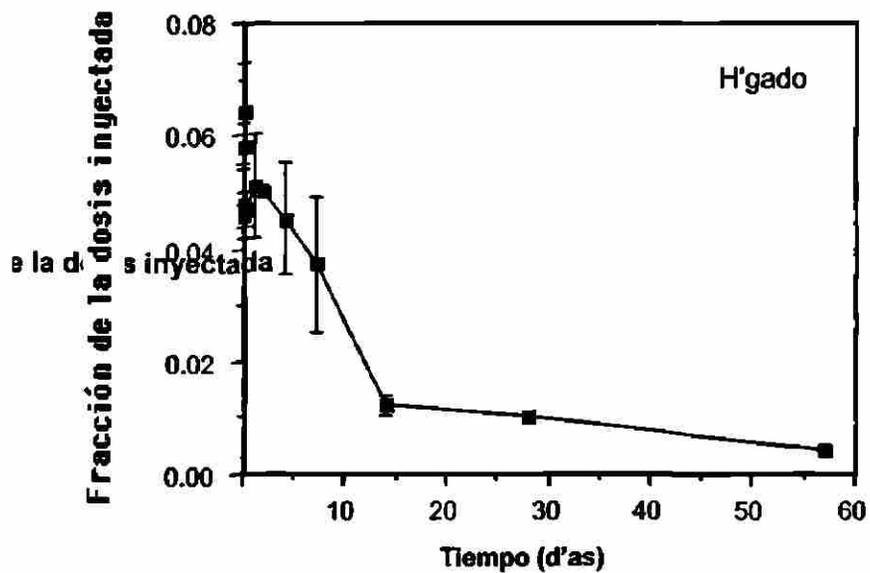


Figura 1. Las gráficas muestran el aclaramiento de ^{59}Fe del AMI-25 en el hígado (arriba) y en el bazo (abajo).

Las determinaciones de los tiempos de relajación T2 mostraron una distribución tejido-específica similar en el sistema fagocítico mononuclear (Tabla I). Una hora después de la administración, el 1/T2 del hígado aumentó de $27.1 \pm 1.6 \text{ mseg}^{-1}$ a $58.4 \pm 1.7 \text{ mseg}^{-1}$ (215%) y el del bazo incrementó de $16.1 \pm 0.9 \text{ mseg}^{-1}$ a $52.6 \pm 7.6 \text{ mseg}^{-1}$ (327%). Los cambios en el 1/T2 del pulmón, riñón y músculo fueron mínimos.

1/T2 (seg. ⁻¹)			
Órgano	Antes	Después	Relación*
Hígado	27.1 ± 1.6	58.4 ± 1.7	0.54
Bazo	16.1 ± 0.9	52.6 ± 7.6	0.69
Pulmón	13.2 ± 0.8	14.9 ± 0.9	0.11
Riñón	18.7 ± 1.2	19.4 ± 1.0	0.04
Músculo	23.1 ± 1.8	25.2 ± 1.2	0.08

Tabla I. Relaciones de relajación (1/T2) antes y 1 hora después de administrar AMI-25.

* $(T2_{\text{post}} - T2_{\text{pre}})/T2_{\text{pre}}$. Una relación de cero indica no captación. A mayor relación, mayor captación.

3.1.1.2 Metabolismo

El aclaramiento orgánico se determinó al medir la desaparición orgánica del ^{59}Fe (Figura 1) y por determinaciones seriadas de los tiempos de relajación T2 (Figura 2). Se logró una concentración máxima de ^{59}Fe en el hígado a las 2 horas ($88.6\pm 3.4\%$ de la dosis inyectada). En el bazo, la concentración máxima ($18.9\pm 2.8\%$ de la dosis inyectada), fue observada 4 horas después de la inyección, indicando una redistribución del hierro. La vida media observada del ^{59}Fe fue de 3 días en el hígado y de 4 días en el bazo.

Las mediciones de los tiempos de relajación (Figura 2) mostraron un incremento máximo del $1/T_2$ del hígado y del bazo dentro de las primeras 4 hrs. después de la administración del AMI-25. Posteriormente, el $1/T_2$ disminuyó consistentemente. El tiempo medio del hígado y el bazo del efecto $1/T_2$ fue más corto que el del aclaramiento de órganos medidos por los estudios de ^{59}Fe . En ambos, el hígado y el bazo, la vida media del efecto $1/T_2$ ocurrió dentro de las primeras 24-48 hrs.

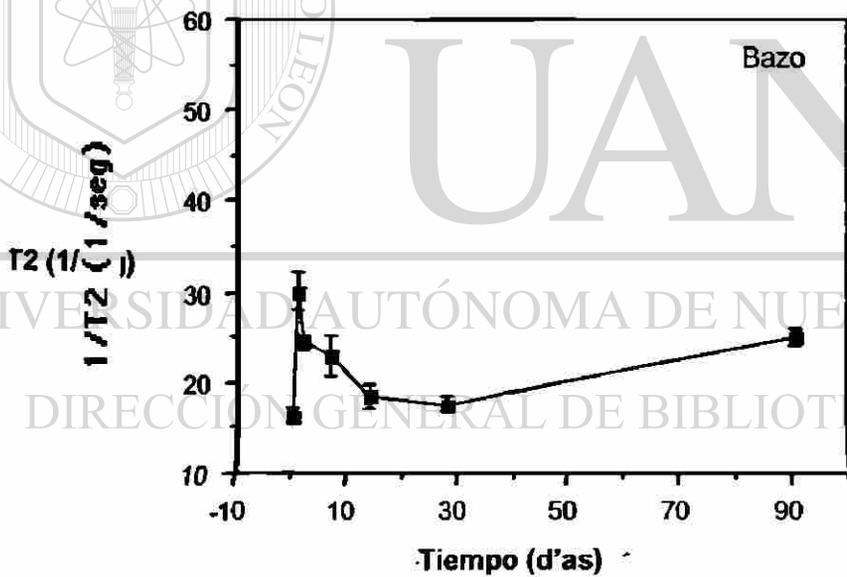
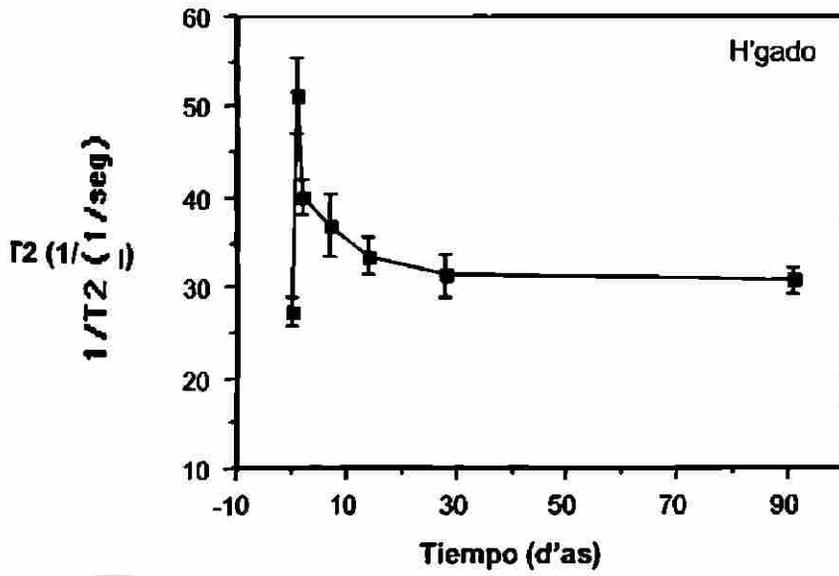


Figura 2. Las gráficas muestran los cambios en los tiempos de relajación $1/T2$ para el hígado (arriba) y el bazo (abajo), después de la administración de $18 \mu\text{gr. Fe/kg}$ de AMI-25.

3.1.1.3 Biodisponibilidad

El hierro molecular del ^{59}Fe -AMI-25 fue incorporado a la hemoglobina de las ratas normales en una forma dependiente de tiempo (Figura 3). El 1% de la dosis inyectada estaba asociada con los eritrocitos en el día 2, 14% en el día 7, y el 20% en el día 49.

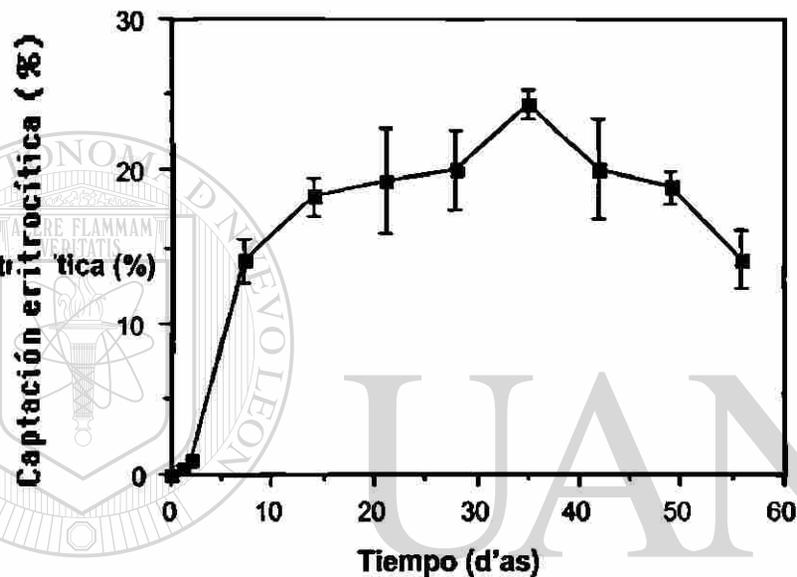


Figura 3. La gráfica muestra la incorporación del hierro de AMI-25 hacia la hemoglobina de los eritrocitos con un pico entre 5-40 días después de su administración y un decaimiento posterior.

La anemia inducida por dieta en deficiencia de hierro se confirmó después de 4 semanas por la reducción de los niveles de hemoglobina (7.9 ± 0.9 g/dl) y hierro sérico (49 ± 11 $\mu\text{g}/\text{dl}$). La capacidad de unión total de hierro estaba normal (547 ± 25 $\mu\text{g}/\text{dl}$), pero la saturación con hierro molecular estaba reducida en los animales anémicos ($8.9 \pm 1.8\%$) pero no en los controles ($36.1 \pm 6.1\%$).

Después de una dosis única de Imferon (30 mg Fe/kg) la hemoglobina, hierro sérico, y la capacidad de saturación del hierro unido gradualmente regresaron a lo normal dentro de 7 días. La administración única de AMI-25 invirtió el estado de anemia similarmente, indicando una incorporación del óxido de hierro hacia la hemoglobina. Las determinaciones seriadas de hematocritos llevadas al cabo después de un día ($28.6 \pm 2.7\%$), 3 días ($35.7 \pm 3.7\%$) 5 días ($39.4 \pm 1.96\%$) y 7 días ($42.2 \pm 0.42\%$) mostraron un incremento gradual hacia los niveles normales ($43.5 \pm 0.83\%$).

La administración de dosis variables de AMI-25 a animales anémicos resultó en una situación similar al aliviar el estado de anemia. Los niveles de hierro hepático se elevaron en los animales que habían recibido 178 $\mu\text{mol Fe/kg}$ ($192 \pm 22.2 \mu\text{gr/gr}$ de hígado en peso húmedo), 357 $\mu\text{mol Fe-Kg}$. ($391 \pm 50.6 \mu\text{gr/gr}$ de hígado en peso húmedo), o 536 $\mu\text{mol Fe/kg}$ ($563 \pm 51.6 \mu\text{gr/gr}$ de hígado en peso húmedo) de AMI-25. Los animales que recibieron 90 $\mu\text{mol Fe/kg}$ ($104.8 \pm 13.4 \mu\text{gr/gr}$ de hígado en peso húmedo) tuvieron una concentración de hierro similar a los animales controles ($97 \pm 10.4 \mu\text{gr/gr}$ de hígado en peso húmedo).

A las tres horas, las células de Kupffer de todos los lóbulos estaban llenas con grandes cantidades de hierro teñible. A las 24 hrs., las zonas centrilobulares estaban depletadas de hierro, pero las células de Kupffer medioacinares y periportales todavía contenían cantidades significativas de hierro, aunque estas cantidades eran cualitativamente menores comparadas

con las cantidades encontradas a las 3 horas. A los 2 días, los macrófagos que contenían hierro empezaron a aparecer en los tractos portales, y la cantidad de hierro vista en las porciones medioacinar y periportal de las células de Kupffer se redujo. A los 9 días, únicamente se vio una pequeña cantidad de hierro en las células de Kupffer aisladamente en la región periportal y medioacinar, y el número de macrófagos que tenían hierro a nivel portal estaba incrementado. A los 16 y 30 días, no se pudo observar hierro teñible en el hígado, y la apariencia fue indistinguible de los especímenes de hígado de los animales controles no inyectados. No hubo cambios patológicos hepatocelulares encontrados en ninguno de los especímenes estudiados.

3.1.1.4 Excreción

El aclaramiento corporal total del ^{59}Fe fue de 20% después de 14 días y 35% después de 28 días (Figura 4). Graficando 8 puntos de los datos a una función de clarificación monoexponencial, la clarificación (C) puede expresarse como $C=1.002 \times 10^{(-0.0067 \times T)}$, donde T es el tiempo después de la inyección en días y -0.0067 es la constante de eliminación [48].

El coeficiente de correlación de los datos graficados para el uso del método de las últimas cuadradas fue de 1.0 (Cricket Graff, Cricket Software, Philadelphia, PA). El tiempo medio ($T_{1/2}$) extrapolado de la clarificación corporal total de ^{59}Fe fue entonces de 44.9 días; el $T_{1/4}$ fue de 18.7 días y el $T_{3/4}$ fue de

89.9 días. La excreción de ^{59}Fe en la orina y heces fue de 1.1% después de 2 días y 10.1% después de 7 días.

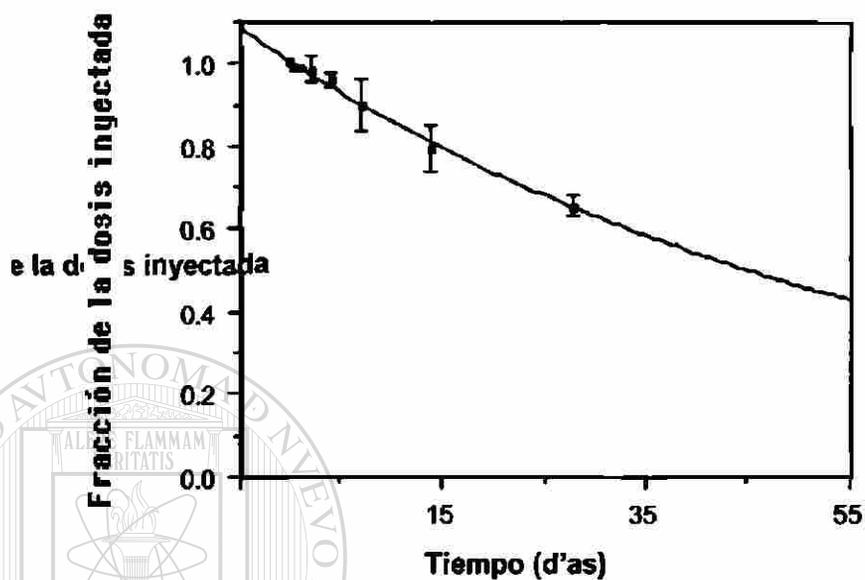


Figura 4. La gráfica muestra el aclaramiento corporal total de ^{59}Fe , administrado como AMI-25, y que fue del 25% después de 19 días.

3.1.2 Toxicidad

3.1.2.1 Toxicidad aguda

Los estudios de toxicidad aguda revelaron que el AMI-25 no tenía efecto letal en los animales a la dosis más alta inyectada (300 $\mu\text{mol Fe/kg}$). Inmediatamente después de la inyección, los animales mostraron una discoloración reversible de la mucosa que fue atribuida a la coloración negra del agente. Durante los 14 días de observación, no se pudieron observar efectos adversos en el peso corporal o en el consumo de alimento.

3.1.2.2 Toxicidad subaguda

Los estudios de toxicidad subaguda revelaron que la inyección de AMI-25 no tenía efectos de mortalidad, morbilidad, en el peso corporal, o en el consumo de alimento, y los valores de laboratorio estaban todos dentro del rango normal. Los niveles de hematocrito, hierro sérico y hemoglobina se incrementaron, pero todavía dentro de límites normales. Los estudios histológicos mostraron cantidades incrementadas de pigmento en las células fagocítico mononucleares del hígado, bazo, y ganglios linfáticos, y en los macrófagos en el sitio de la inyección. No hubo evidencia de daño tisular en ninguno de los animales.

3.1.2.3 Mutagenicidad

La prueba de Ames no reveló un incremento en el número de colonias que se hicieron dependientes de histidina después de la incubación, con o sin activación metabólica. El AMI-25 no fue tóxico para ninguno de los organismos indicadores a las concentraciones más altas estudiadas de 214 $\mu\text{molFe/platina}$ (200 mg Fe/platina).

3.1.3 Estudios Específicos de Toxicidad Hepática

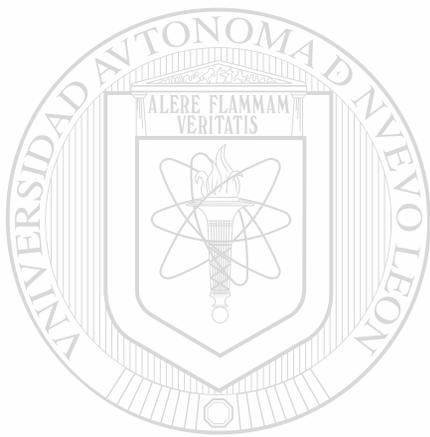
3.1.3.1 Concentraciones Tisulares de Hierro

Las concentraciones tisulares de hierro de los diferentes órganos muestreados para los experimentos de toxicidad aguda y crónica se muestran en la Tabla II de esta sección. En el grupo crónico se observó un incremento leve en los niveles de hierro tisular en el hígado y en el bazo, mientras que en el grupo agudamente cargado hubo un marcado incremento en los niveles de hierro tisulares en el hígado, bazo y pulmones, con un moderado (pero no significativo) incremento en el riñón.

3.1.3.2 Estudios de Microscopía de Luz y Electrónica

En los animales agudamente cargados con las partículas de ferrita existió un incremento marcado en la deposición de hierro en las células

fagocítico mononucleares del hígado (células de Kupffer) (Figura 5 A), en el pulmón (macrófagos alveolares), y en el bazo (macrófagos en la pulpa roja). No hubo virtualmente deposición de hierro en las células del parénquima hepático (Figura 5 B), y no existieron depósitos obvios de hierro en el riñón. No existieron cambios morfológicos significativos en ninguno de los otros tejidos estudiados.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Tabla II. Mediciones de la concentración de hierro después de la inyección de OHSP.

Grupo Experimental	n	Concentraciones de hierro tisular ($\mu\text{g Fe/gm tejido}$)					
		Hierro Hepático Total (mg)	Hierro Esplénico Total (mg)	Hígado	Bazo	Pulmón	Riñón
Agudo							
Control	10	0.94 \pm 0.12	0.26 \pm 0.13	102 \pm 9	424 \pm 196	40 \pm 10	37 \pm 1
Inyectado OHSP (P)	9	37.2 \pm 5.8 (<0.001)	3.6 \pm 0.8 (<0.01)	3630 \pm 530 (<0.001)	3370 \pm 545 (<0.005)	2660 \pm 590 (<0.005)	145 \pm 52 (NS)
Crónico							
Control	8	149 \pm 0.15	0.19 \pm 0.02	98 \pm 7	209 \pm 22	45 \pm 8	65 \pm 22
Inyectado OHSP (P)	8	2.51 \pm 0.15 (<0.001)	0.67 \pm 0.12 (<0.05)	147 \pm 8 (<0.001)	632 \pm 79 (0.001)	104 \pm 33 (NS)	56 \pm 4 (NS)

Los valores están expresados como media \pm DE. NS, No significativo.

Los estudios de microscopía electrónica mostraron los cristales de ferrita en los lisosomas secundarios de las células fagocítico mononucleares (Figura 6). Ocasionalmente se observaron cristales de hierro libres en el citoplasma de las células fagocítico mononucleares, pero nunca en el citoplasma de los hepatocitos. Todas las células y organelos subcelulares mostraron hallazgos morfológicos normales sin ninguna evidencia de respuesta a las partículas fagocitadas.

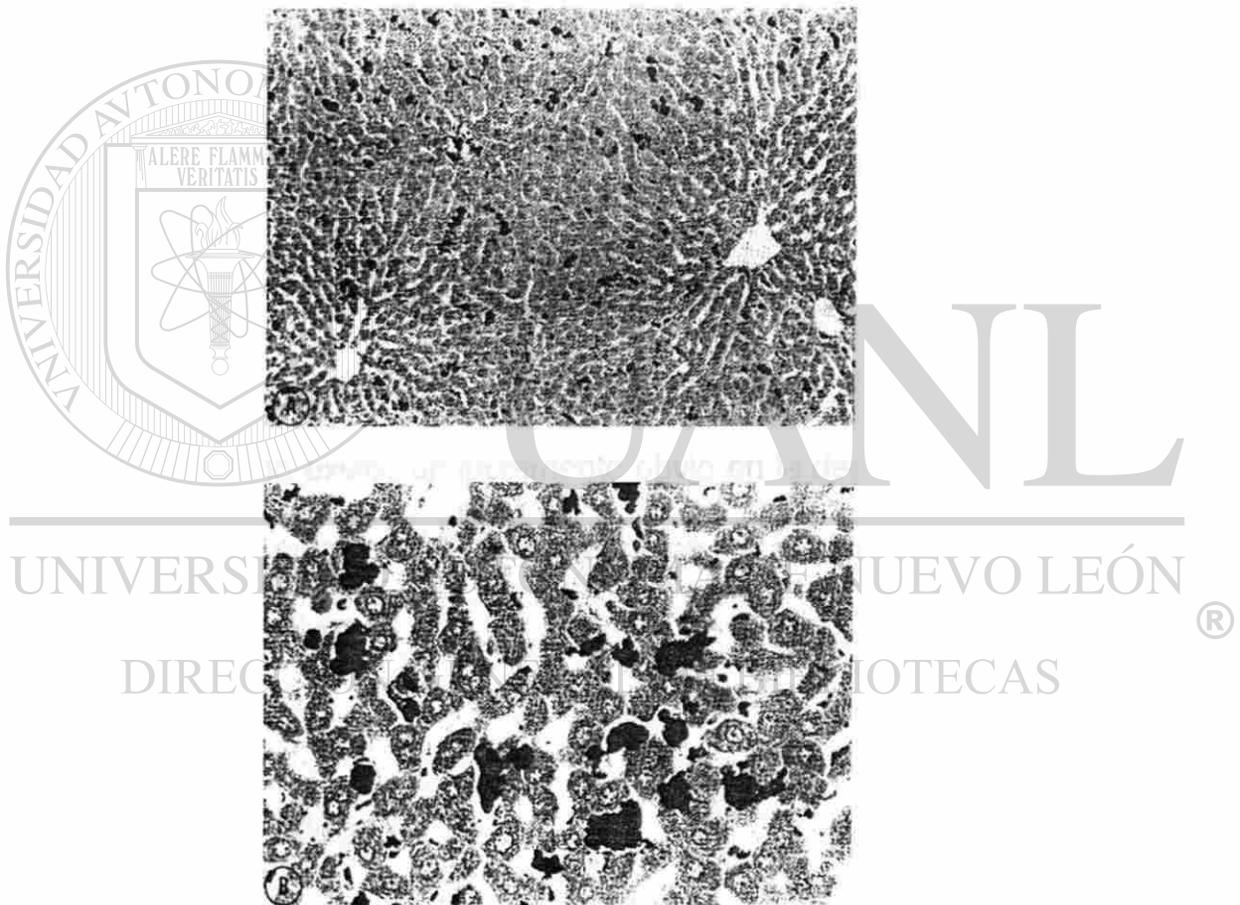


Figura 5. Microscopía de luz del hígado después de la administración IV de 250 mg de ferrita/ Kg, 48 hrs. antes de la muerte. En (A) se ve el hierro distribuido uniformemente en los lobulillos hepáticos (x 190). En (B), a mayor aumento (x 470), el hierro sólo se ve en las células de Kupffer, y no en los hepatocitos.

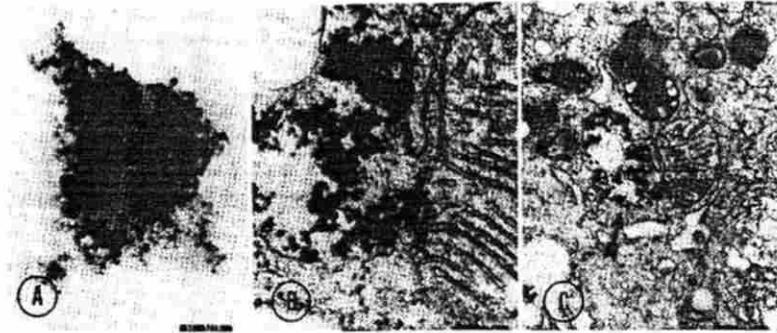


Figura 6. Microscopía electrónica por transmisión del hígado después de administración de ferrita (4 mg/kg; 24 hrs. después de la inyección). En (A) se muestra una vista por ME de las partículas de ferrita en solución. En (B), a la misma magnificación, se ven las partículas dentro de las células de Kupffer. No se observa lesión de organelos. En (C) se muestran algunas partículas (a menor aumento) en el citoplasma de una célula de Kupffer.

En el grupo cargado crónicamente, la microscopía de luz mostró ligero incremento en los depósitos de hierro en el sistema fagocítico mononuclear del hígado y el bazo y no existió un incremento obvio en la deposición de hierro en el riñón o en el pulmón. No hubo ninguna otra evidencia de cambios morfológicos significativos.

3.1.3.3 Estudios Bioquímicos

No se observó ninguna evidencia de alteración en la función de peroxidación lípida mitocondrial o microsomal tanto en los grupos cargados agudamente como crónicamente (Tabla III). Similarmente, no hubo cambios en el metabolismo oxidativo mitocondrial hepático o la función microsomal en ninguno de los grupos estudiados (Tablas IV y V). No se encontraron

Tabla III. Peroxidación lipídica Hepática después de la Inyección de OHSP

Fracción	n	Concentración de Hierro hepático (µg Fe/gm hígado)	Hierro hepático Total (mg)	Absorción a 230 nm/mg lípido
Agudo				
Mitocondrial Control	5	103 ± 7	0.99 ± 0.17	0.564 ± 0.053
Inyectado OHSP (P)	4	3380 ± 870 (<0.01)	32.8 ± 8.5 (<0.01)	0.579 ± 0.28 (NS)
Microsomal Control	5	101 ± 21	0.88 ± 0.20	0.311 ± 0.018
Inyectado OHSP (P)	5	3830 ± 730 (<0.001)	40.6 ± 8.3 (<0.01)	0.359 ± 0.023 (NS)
Crónico				
Mitocondrial Control	4	90 ± 10	1.28 ± 0.12	0.504 ± 0.029
Inyectado OHSP (P)	4	146 ± 11 (<0.01)	2.47 ± 0.15 (<0.001)	0.547 ± 0.020 (NS)
Microsomal Control	4	105 ± 11	1.70 ± 0.25	0.350 ± 0.016
Inyectado OHSP (P)	4	147 ± 13 (<0.05)	2.54 ± 0.28 (NS)	0.336 ± 0.018 (NS)

Los valores están expresados como media ± DE

La peroxidación lipídica se determinó por el ensayo de dienes de lípidos conjugados con el método descrito. Para todos los grupos experimentales, tanto en las fracciones mitocondriales como microsomales, no hubo incrementos significativos en la absorción a 230 nm/mg de lípido entre los animales controles y los inyectados con OHSP

Tabla IV. Metabolismo oxidativo mitocondrial hepático después de la inyección de OHSP.

Grupo Experimental	n	Consumo de oxígeno (ng átomos O/min/mg proteína)			ADP/O
		Estado 3	Estado 4	RCR	
Glutamato					
Agudo					
Control	5	48.4 ± 6.4	11.8 ± 1.8	4.5 ± 0.9	2.60 ± 0.13
Inyectado OHSP	4	56.3 ± 7.5	17.0 ± 4.1	3.8 ± 0.6	2.50 ± 0.14
Crónico					
Control	4	48.1 ± 2.1	10.6 ± 0.5	4.7 ± 0.6	2.79 ± 0.06
Inyectado OHSP	4	48.2 ± 2.6	10.9 ± 0.7	4.5 ± 0.5	2.80 ± 0.04
Succinato					
Agudo					
Control	5	82.6 ± 6.1	22.2 ± 1.3	3.8 ± 0.5	1.82 ± 0.06
Inyectado OHSP	4	91.0 ± 4.0	27.5 ± 2.3	3.4 ± 0.2	1.72 ± 0.07
Crónico					
Control	4	84.5 ± 2.3	18.5 ± 0.8	4.6 ± 0.3	1.89 ± 0.01
Inyectado OHSP	4	86.1 ± 1.5	20.8 ± 0.3	4.1 ± 0.1	1.89 ± 0.03

Los valores están expresados como media ± DE.

El metabolismo oxidativo mitocondrial usando glutamato y succinato como sustratos se midieron como indicadores de la función mitocondrial hepática. No hubo cambios significativos en el estado 3 (ADP-estimulado) o en el estado 4 (ADP-limitado) de los ritmos respiratorios, en las razones de control respiratorio (RCR) (estado 3/estado 4), o en la razón adenosín difosfato/oxígeno (ADP/O). Las concentraciones de hierro en estas ratas son las mostradas en la Tabla II.

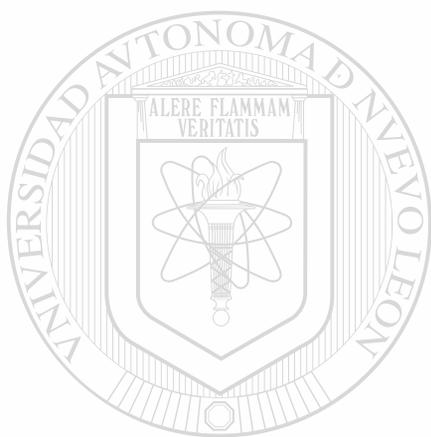
Tabla V. Función microsomal hepática después de la inyección de OHSP.

Grupo Experimental	n	Concentración de Citocromo P450 (nmol/mg proteína)	Actividad de Desmetilasa de aminopirina (nmol HCHO/min/mg/proteína)	Actividad de Glucosa-6-fosfatasa (nmol Pi/min/ mg/proteína)
Agudo Control	5	1.01 ± 0.03	7.52 ± 0.46	53.8 ± 3.4
Inyectado OHSP	4	0.96 ± 0.08	6.40 ± 0.81	54.4 ± 3.3
Crónico Control	4	0.84 ± 0.09	5.33 ± 0.70	42.8 ± 7.4
Inyectado HHSP	4	0.89 ± 0.11	6.47 ± 0.90	39.4 ± 6.7

Los valores están expresados como media ± DE.

Las concentraciones microsomales de citocromo P450 y la actividad de la demetilasa de aminopirina y la glucosa-6-fosfatasa, se midieron como indicadores de la función microsomal hepática. No hubo cambios significativos entre las ratas controles y las inyectadas con OHSP. Las concentraciones de hierro en estas ratas son las mostradas en la Tabla II. HCHO: formaldehído; P: fosfato inorgánico

diferencias en la concentración de alaninaminotransferasa plasmática (indicativo de necrosis hepatocelular) entre los dos grupos experimentales y sus respectivos controles (Tabla VI). Finalmente, en los grupos de ratas en los cuales se realizaron múltiples estudios serológicos en un período de 25 días no hubo anomalías en ninguno de los parámetros medidos en ningún tiempo.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

3.2 Evaluación Experimental de la Utilidad del Oxido de Hierro Superparamagnético en la detección de lesiones Focales Hepáticas

Los estudios in vitro de espectroscopía por resonancia magnética demostraron que la administración intravenosa de partículas de ferrita alteraron los tiempos de relajación en el hígado normal pero no en el tejido tumoral (Tabla VII). Como se muestra, los tiempos de relajación T1 y T2 de los tumores fueron similares antes y después de la inyección de ferrita (la diferencia no fue significativa $p < 0.2$). Sin embargo, en el hígado normal hubo una disminución del 62% en el T2 y de un 8.2% en el T1. Esta reducción en el T2 del hígado fue altamente significativa ($p < .001$), pero los cambios en el T1 del hígado no fueron significativos ($p < 0.1$). Consecuentemente, las diferencias entre los valores de T2 del hígado y del tumor fueron aumentadas importantemente después de la administración de ferrita, y esta diferencia, se expresó como un porcentaje del T2 del hígado normal, aumentando de un 49% a un 280%.

Tabla VII. Tiempos de relajación tisular (hígado y tumor) antes y después de la administración de ferrita.

	Hígado (mseg)	Tumor (mseg)
Ratas Control (n=6)		
T1	317 ± 23	540 ± 82
T2	33.3 ± 2.9	49.7 ± 8.8
Ratas con ferrita (n=4)		
T1	291 ± 28	580 ± 56
T2	12.7 ± 2.8	48.2 ± 7.1

La imagen por resonancia magnética mostró que las partículas de ferrita disminuyeron la intensidad del hígado normal pero no de los nódulos tumorales. Los nódulos tumorales tuvieron una alta intensidad de la señal en las diferentes secuencias de pulso (Figura 7). Por ejemplo, las imágenes de las ratas obtenidas después de la inyección de ferrita mostraron una diferencia máxima en la intensidad de la señal entre el tumor y el hígado con la secuencia de pulso más dependiente de T2 (EE 1500/60). Con esta misma secuencia de pulso, antes de la administración de la ferrita, la intensidad de la señal del tumor fue mayor que la del hígado. Las partículas de ferrita disminuyeron la intensidad del hígado pero no produjeron cambio en la intensidad de la señal de los nódulos tumorales. Por consiguiente, la diferencia de intensidad de la señal entre el tumor y el hígado se incrementó importantemente. La secuencia de pulso EE 500/30 fue de menor utilidad para la detección de los tumores en las imágenes obtenidas sin el contraste debido a que el tumor y el hígado aparecían isointensos. Sin embargo, después de la administración de la ferrita, los nódulos tumorales fueron fácilmente distinguibles aún con esta secuencia de pulso (Figura 8).

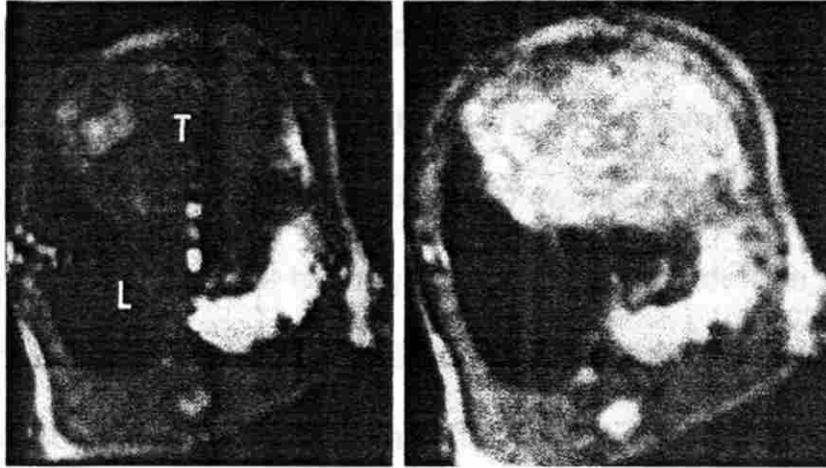


Figura 7. Incremento en el contraste entre el hígado (L) y el tumor (T) después de la administración de ferrita. EE 1500/60 antes (a) y después (b) de la inyección.

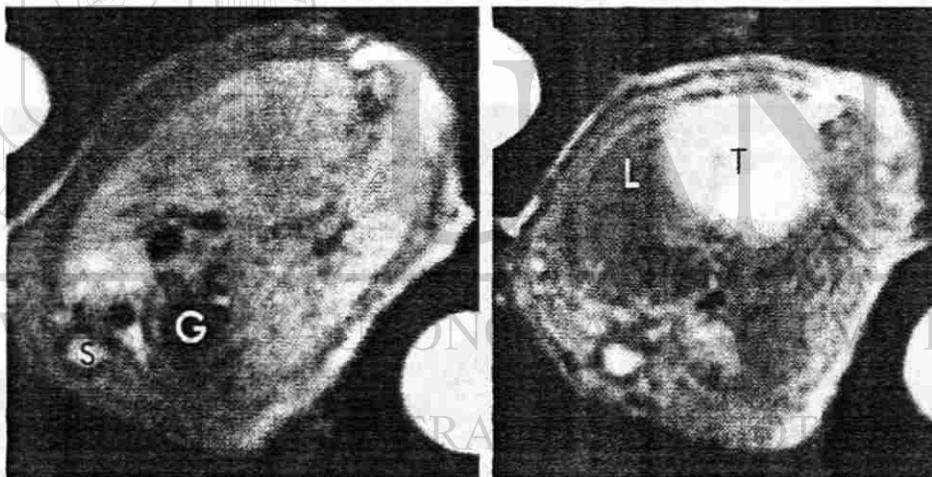


Figura 8. Mejoramiento en la detección del tumor después de la inyección de ferrita. Secuencia de pulso EE 500/30, relativamente dependiente de T1, que muestra una muy pobre diferenciación entre el tumor y el hígado antes de la administración de ferrita (a). Después de la administración de 20 $\mu\text{mol Fe/kg}$, el tumor se puede diferenciar fácilmente (b).

Debido al importante acortamiento del T2, la pérdida de la señal del hígado también ocurrió en las imágenes dependientes de T1 (tanto en las secuencias de eco del espín como de recuperación de inversión). Sin embargo, las secuencias de pulso dependientes de T1 redujeron las diferencias en la intensidad de la señal entre el tumor y el hígado a causa de que la pérdida de la señal del hígado normal hizo que los nódulos tumorales (los cuales de hecho ya son de menor intensidad que el hígado), fueran más difíciles de ver. Sin embargo, cuando se dio una dosis suficientemente grande de partículas de ferrita (50 $\mu\text{mol Fe/kg}$), hubo una ausencia prácticamente completa de la intensidad de la señal del hígado, y los nódulos del tumor fueron fácilmente detectados aún con las secuencias altamente dependientes de T1 (Figura 9).

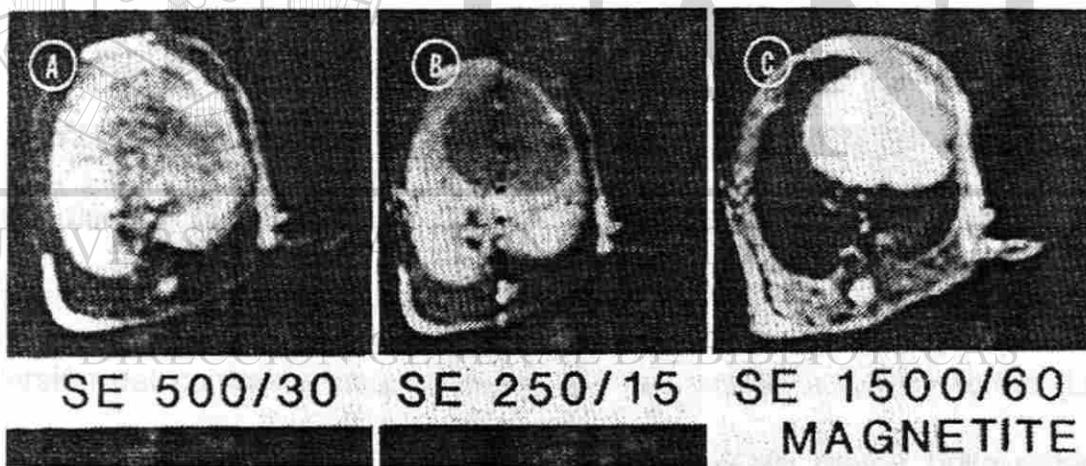


Figura 9. La detección de la lesión después de la administración de ferrita es relativamente independiente de la secuencia de pulso utilizada. En estas imágenes axiales del abdomen de una rata, después de administrar 50 $\mu\text{mol Fe/kg}$, se puede identificar el tumor (T) con una secuencia dependiente de T1 (EE 250/15) (a); una intermedia (EE 500/30) (b); y una dependiente de T2 (1500/60)(c).

Las imágenes por resonancia magnética de los conejos y de los monos confirmaron estos resultados. Como en las ratas, la pérdida de la señal del hígado no fue acompañada por una disminución en la intensidad de la señal de las masas tumorales, produciéndose un aumento en el contraste entre estos dos tejidos.

La medición cuantitativa de la señal y del ruido confirmaron las observaciones visuales en las imágenes. La disminución máxima de la intensidad de la señal del hígado (60%) ocurrió en la secuencia más dependiente de T2 (EE 1500/60).

Aunque ocurrió un incremento en el contraste con la secuencia de EE 500/30, el mayor contraste en las imágenes obtenidas después de la inyección de ferrita se obtuvo con las secuencias de EE 1500/60. En las imágenes dependientes de T1 (RI y EE), el contraste disminuyó después de la administración de ferrita. Aún más, con la secuencia de EE 250/15, hubo una inversión del contraste tisular después de la administración de ferrita (i.e., el tumor que normalmente es más oscuro aparecía de mayor brillo debido al obscurecimiento del hígado). De hecho, se podrían utilizar dosis mayores de ferrita ya que, según estas mediciones, llegaría un momento en que la intensidad de la señal del hígado se acercará a la del ruido de fondo, y los nódulos tumorales tendrán una intensidad de la señal relativamente mayor, independientemente de las secuencias de pulso o parámetros de tiempo utilizados.

El uso de partículas de ferrita también redujo el ruido fantasma y los artefactos de movimiento tanto en las secuencias dependientes de T1 como de T2, ya que hubo menor intensidad de la señal del hígado que pudiera haberse registrado mal en la dirección de codificación de fase. Esto fue también más aparente en las imágenes de EE 1500/60. Un beneficio mucho menor estuvo presente en las imágenes dependientes de T1 debido a la disminución correspondientemente menor en la señal inducida por la ferrita en las secuencias de RI 1500/450/15 y también debido a los niveles de hecho ya más bajos de ruido en la secuencia de pulso de EE 250/15.

El análisis tisular después de la necropsia por medio de microscopía electrónica y de luz demostraron que las partículas de ferrita fueron identificadas únicamente en las células hepáticas de Kupffer y no en los hepatocitos o en el tejido tumoral (Figura 10). Aún más, la microscopía electrónica confirmó que aún con la dosis excesivamente mayor de ferrita, no hubo evidencia histológica de involucro mitocondrial o de destrucción del retículo endoplásmico liso, cambios que son manifestaciones tempranas de lesión celular.

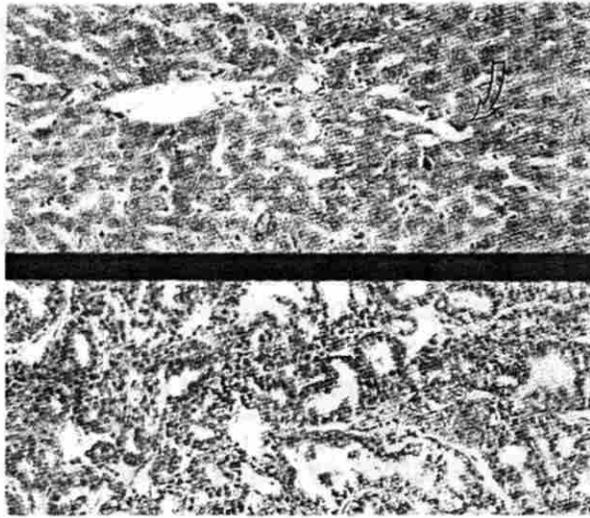
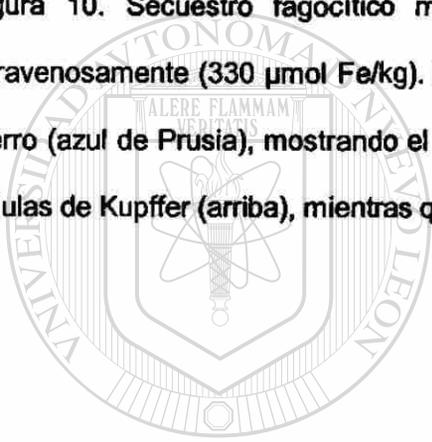


Figura 10. Secuestro fagocítico mononuclear de las partículas de ferrita administradas intravenosamente (330 $\mu\text{mol Fe/kg}$). En esta microscopía de luz, las secciones se tiñeron para hierro (azul de Prusia), mostrando el hígado no involucrado con tumor con las partículas en las células de Kupffer (arriba), mientras que no se pueden identificar en el tumor (abajo).



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

®

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

3.3 Aplicaciones Clínicas del Oxido de Hierro Superparamagnético como Agente de Contraste para la Imagen Por Resonancia Magnética del Hígado

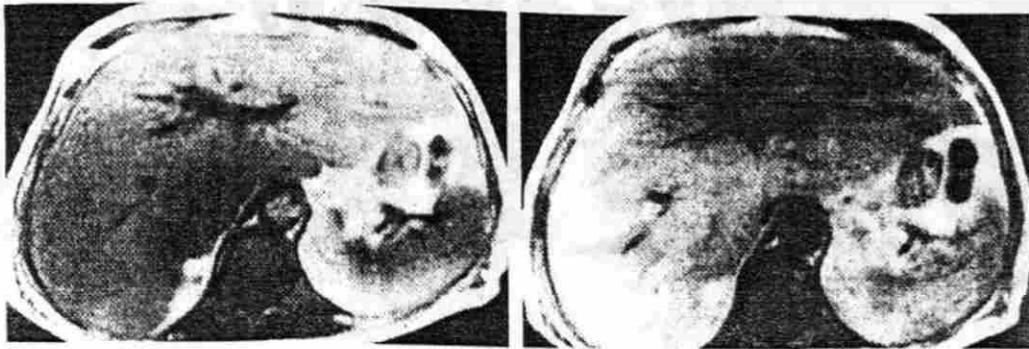
Las imágenes de resonancia magnética obtenidas antes de la administración de la droga mostraron lesiones hepáticas focales como anomalías relativamente hipointensas con respecto al hígado vecino en las imágenes dependientes de T1 y que se tornaron hiperintensas con respecto al hígado en las imágenes dependientes de T2.

En la evaluación cualitativa, las imágenes (Figura 11) presentaron una resolución anatómica y contraste entre el tumor y el hígado comparables a las que se han logrado en estudios grandes con sistemas de resonancia magnética de campos magnéticos bajos a medios [44, 49, 51]. El análisis cuantitativo de las imágenes, esto es, la relación C/R (Tabla VIII) demostró el desempeño de las diferentes secuencias de pulso de acuerdo con los datos publicados para imágenes de resonancia sin contraste [42].

Tabla VIII. Análisis cuantitativo de las imágenes de RM : C/R y S/R

Secuencia de Pulso	Cáncer S/R	Hígado S/R	Bazo S/R	Cáncer/Hígado C/R
Sin Contraste				
SE 260/14	28.7 ± 17.5	39.5 ± 12.5	27.4 ± 11.4	-10.8 ± 9.6
SE 500/28	28.1 ± 10.7	31.4 ± 9.4	26.2 ± 9.4	-3.3 ± 4.4
SE 1500/40	24.6 ± 10.9	23.9 ± 9.3	25.6 ± 13.3	0.6 ± 4.9
SE 1500/80	19.4 ± 6.3	14.9 ± 3.9	21.3 ± 6.4	3.4 ± 3.8
Con Contraste (1 -2 horas posterior a la administración de OHSP)				
SE 500/28	37.3 ± 14	21.8 ± 10.6*	28.5 ± 11.3	15.9 ± 7.6*
SE 1500/40	24.4 ± 11.6	8.1 ± 3.7*	11.6 ± 4.9*	16.3 ± 9.6*
SE 1500/80	18.9 ± 10.8	4.3 ± 3.1*	4.8 ± 2.3*	14.5 ± 9.8*

* P < 0.01; Los valores posteriores a la administración de OHSP son significativamente diferentes a los valores sin contraste.



(a)

(b)

Figura 11. Imágenes de RM de un paciente con metástasis de carcinoma renal antes de la administración de ferrita. (a) Imagen dependiente de T1 (EE 500/28) muestra una zona mal definida de hipointensidad en el lóbulo caudado del hígado. (b) La imagen dependiente de T2 (EE 1500/42) al mismo nivel es prácticamente normal.

La ferrita disminuyó profundamente la intensidad de la señal de resonancia magnética del hígado y del bazo normales en dos pacientes que fueron estudiados dentro de los primeros cinco minutos de la administración. 15 minutos después de la administración del agente de contraste, los cambios en la intensidad de la señal fueron casi máximos. El tejido neoplásico, páncreas, riñones, músculo y tejido adiposo no fueron afectados. Las mediciones cuantitativas de señal-ruido de las imágenes obtenidas 1 a 2 horas después de la administración de la droga confirmaron la alteración órgano específica de la intensidad de la señal de resonancia magnética por el agente de contraste (Tabla VIII) (Figura 12).

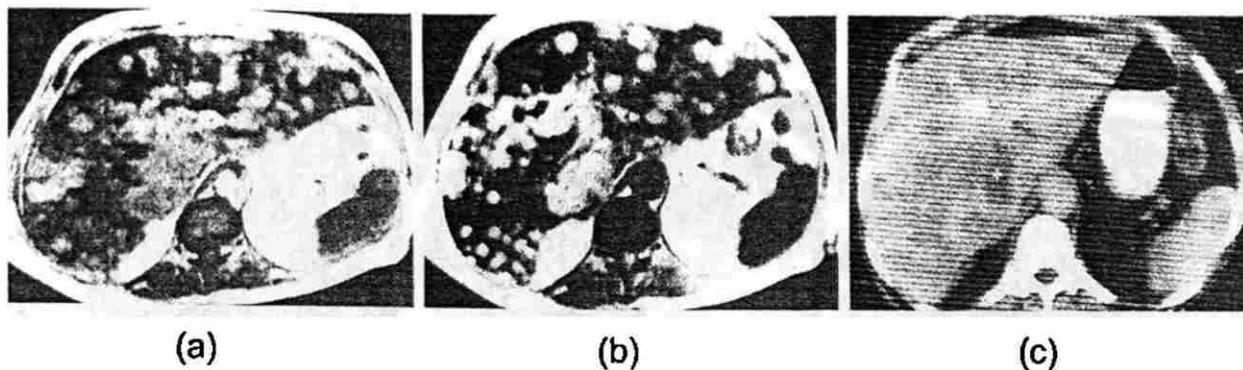


Figura 12. Imágenes de RM del mismo paciente de la Figura 1, 15 minutos después de la administración de ferrita, 20 $\mu\text{mol/kg}$. La intensidad del hígado se ha disminuido; la intensidad del cáncer, músculo y grasa permanece sin cambios. (a) Imagen con EE 500/28 muestra metástasis hepáticas difusas. Se pueden identificar lesiones hasta de 3 mm. (b) La imagen EE 1500/42 muestra menos lesiones que en (a), debido a la menor relación C/R. (c) La TC con contraste muestra menos metástasis que las IRM con ferrita.

Dos pacientes fueron estudiados una hora y de nuevo a un intervalo de 12 a 72 horas después de la administración de la droga. A las 12 horas, un paciente que recibió 10 $\mu\text{mol/kg}$ de ferrita, mostró una regresión de la intensidad de la señal del hígado hacia los valores basales (Figura 13). Sobre un período de 24 a 72 horas, otro paciente que recibió 30 $\mu\text{mol/kg}$ mostró un regreso similar hacia las características tisulares basales.

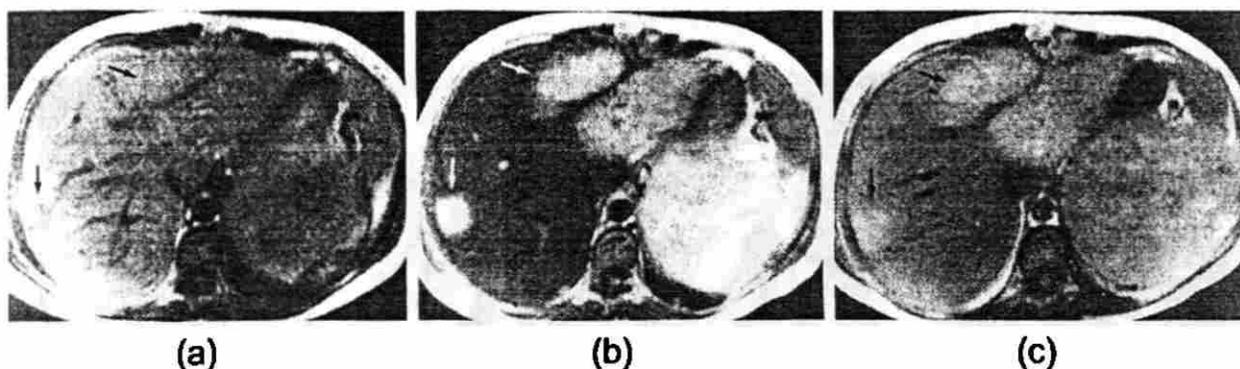


Figura 13. Imágenes de RM de un paciente con metástasis hepáticas de un carcinoma suprarrenal. (a) Imagen EE 500/28 obtenida antes de la administración de ferrita. La lesión (flecha) aparece como hipointensa con respecto al hígado vecino. (b) Imagen EE 500/28 obtenida 2 horas después de la inyección de 10 mmol/kg de ferrita. La intensidad del hígado ha disminuido con respecto al cáncer, músculo y grasa, y se pueden ver más lesiones (flechas). (c) Imagen EE 500/28 obtenida 12 horas después de la inyección. La intensidad de la señal del hígado ha aumentado, regresando hacia sus valores precontraste. Esto indica ya sea degradación o aclaramiento del OHSP del hígado.

Las metástasis hepáticas menores de 1 cm de diámetro no fueron visibles en las imágenes de EE 500 y de EE 1500 mseg sin contraste. El límite de tamaño para la detección de las lesiones de la secuencia de pulso EE 260/14 sin contraste fue de 0.5 cms. Después de la administración de la droga muchas lesiones de 0.3 a 1 cm. pudieron ser identificadas (Figuras 12 y 14). El límite de tamaño para la detección de las lesiones disminuyó de 1.5 a 0.3 cms. con la técnica de EE 500/28, de 2.1 a 0.3 cms. en la técnica de EE 1500/40, y de 1.9 a 0.4 en la de EE 1500/80, lo cual fue significativo a un nivel de $p < 0.005$ para cada uno de los pares de imágenes contrastado y sin contrastar.

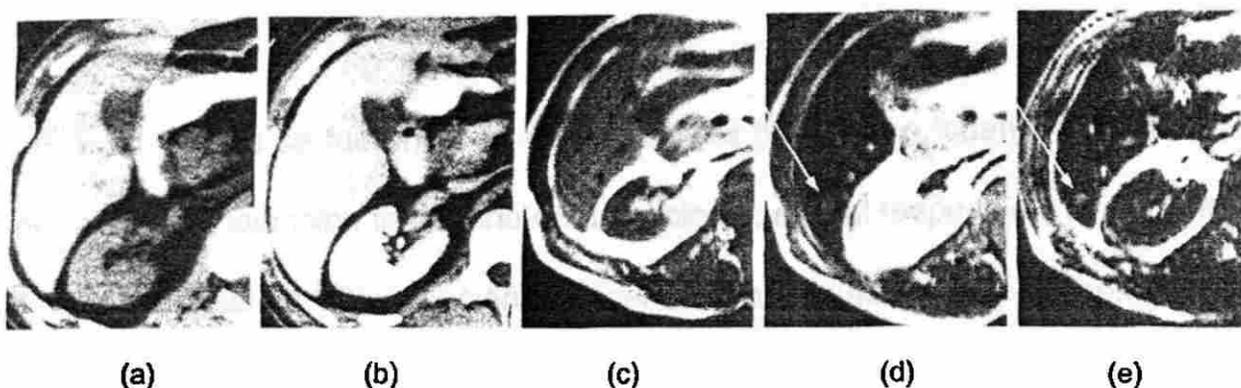


Figura 14. Paciente con cáncer metastático de colon. TC simple (a) y con contraste (b) no muestran lesión alguna. (c) Imagen de RM EE 260/14 al mismo nivel muestra los vasos hepáticos normales. No se ve ninguna lesión. En las IRM postcontraste EE 1500/40 y EG 125/11/75° (d) se puede identificar una metástasis pequeña (flechas), que debe diferenciarse de una estructura vascular.

El número de las lesiones detectadas después de la administración del material de contraste aumentó de 89 a 349 con la técnica de EE 500/28, de 21 a 325 con la de EE 1500/40 y de 20 a 271 con la de EE 1500/80 (de un total de 370 lesiones identificadas en este grupo de 10 pacientes), lo cual fue significativo a un nivel de $p < 0.005$ para cada par de imágenes con contraste y sin contraste. Con las imágenes de EE 260/14 sin contraste, que estaban disponibles en 8 de los 10 pacientes que subsecuentemente recibieron 20 $\mu\text{mol/kg}$ de dosis, se pudieron identificar 181 de 249 lesiones. El análisis cuantitativo de la relación C/R de cáncer / hígado confirmó el análisis subjetivo de las imágenes. La relación C/R aumentó significativamente ($p < 0.01$) en todas las imágenes y aumentó 47% en la técnica de EE 500/30 con contraste

relativamente a la mejor EE 250/14 secuencia de pulso sin contraste (Figura 14).

Las dosis se fueron escalando hasta los 50 $\mu\text{mol/kg}$, cuando ocurrió un período de hipotensión transitoria en un paciente, el cual respondió a la infusión de solución salina. Otro paciente desarrolló rash cutáneo y posteriormente recordó que había presentado una reacción similar a una preparación de hierro oral 20 años antes.

Ambas reacciones fueron detectadas entre 10 y 30 minutos después de la infusión de la droga, y todos los signos y síntomas regresaron a los valores normales dentro de las primeras 3 horas. No hubo efectos colaterales de ningún tipo con dosis menores o cuando la dosis de 40 $\mu\text{mol/kg}$ se infundió lentamente o se dio en dosis divididas. En los exámenes de seguimiento 24 horas después de la administración de la droga y posteriormente (de hasta 6 meses), no se observaron alteraciones en síntomas, signos, anomalías serológicas u otras alteraciones que pudieran ser atribuidas a la droga. Muchos pacientes mostraron un incremento en el hierro sérico y en los niveles de ferritina 24 horas después de la administración de la droga, con todos los niveles de hierro menores que la capacidad de unión de hierro sérico.

La medición in vitro de los tiempos de relajación muestra una respuesta lineal de $1/T_1$ y $1/T_2$ sobre la concentración de ferrita, como ha sido descrito con anterioridad [52]. Para cada conjunto de muestras de los pacientes, el

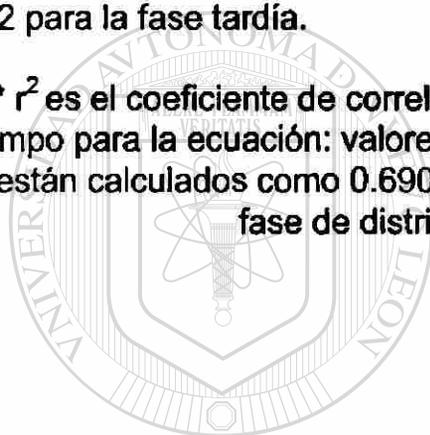
promedio de $1/T_1$ y $1/T_2$ fue normalizado a los valores de preinyección, y fue calculado monoexponencial y biexponencialmente para determinar el patrón de distribución experimental de la droga. Para cuatro de los 5 sujetos la ecuación biexponencial dio una mejor correlación ($r^2 > 0.99$), indicando un proceso de bifásico de primer orden. En el otro paciente, la ecuación monoexponencial dio una correlación superior ($r^2 > 0.99$). Sin embargo, la primera muestra sanguínea de este paciente se retardó 15 minutos después de la administración de la droga, por lo que clínicamente sólo una fase de distribución pudo ser identificable. La vida media de la ferrita calculada para cada uno de los pacientes se muestra en la Tabla IX. Existe una variación considerable de paciente a paciente en estos datos preliminares; se necesita mayor cantidad de pacientes y estudios de aclaramiento sanguíneo para obtener resultados mas representativos.

Tabla IX. Vida media en sangre del OHSP en pacientes seleccionados

Sujetos	Dosis μol/kg	Fase Temprana (t ½ min)	Fase Tardía (t 12/min)	r²
1	10	22.2	186	.992
2	20	6.7	309	.995
3	20	4.4	110	.991
4	30		79	.996
5	40	17.9	122	.993

Nota: El 95% de los límites de confianza calculados para el promedio de las vidas medias computadas fueron de 12.8 ± 10.3 para la fase temprana y 161 ± 102 para la fase tardía.

* r^2 es el coeficiente de correlación de los cuadrados de $1/T1$ versus tiempo para la ecuación: valores iniciales + Ae^{k_1t} y Be^{k_2t} . Los tiempos medios están calculados como $0.690/k$, donde k es la relación constante para cada fase de distribución expresada en minutos.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

4. DISCUSIÓN

4.1 Oxido de Hierro Superparamagnético

4.1.1 Farmacodinamia y Toxicidad

La mayoría de los agentes de contraste para resonancia magnética están diseñados para unir los iones de los metales tóxicos a quelantes de bajo peso molecular. Esta estrategia de quelación es un método aplicable para los agentes confinados al espacio extravascular, pero es una mala elección para los agentes intracelulares. La exposición intracelular de los quelantes a los medios ácidos (lisosomas, vesículas) puede resultar en la disociación del ión metálico de su quelante. La estrategia utilizada en el diseño del AMI-25 fue el utilizar el óxido de hierro biodegradable como el marcador magnéticamente activo [27]. El óxido de hierro superparamagnético es extremadamente eficiente para incrementar la relajación protónica con las relajaciones de R2 en un orden de magnitud mayor que los quelantes del ión paramagnético, como se ha descrito en múltiples experimentos [13,21,25,53,54].

La biodistribución de AMI-25 medida por estudios de ^{59}Fe y tiempos de relajación es consistente con el modelo de una distribución vascular inicial del agente y una captación subsiguiente específica en las células fagocítico mononucleares. Mientras que los estudios de medición del radiotrazador ^{59}Fe cuantificaron tanto el efecto de los cristales de óxido de hierro intactos como el de los productos de degradación de ^{59}Fe derivados del metabolismo del óxido

de hierro, las mediciones de los tiempos de relajación cuantificaron únicamente el efecto superparamagnético de los cristales de óxido de hierro intactos. Nuestros resultados con ambas técnicas demuestran distribución inicial similar del AMI-25 administrado intravenosamente, con el 85-95% de captación en el sistema fagocítico mononuclear. Las partículas administradas intravenosamente son captadas por los macrófagos y pueden ser identificadas histológicamente en las células de Kupffer del hígado o en las células macrofágicas en la pulpa roja esplénica. Las partículas intracelulares se encontraron rutinariamente en los lisosomas, en los cuales la degradación intracelular toma lugar vía una amplia variedad de enzimas hidrolíticas [27].

El metabolismo del AMI-25 administrado intravenosamente fue estudiado por la medición de la clarificación orgánica de ^{59}Fe , los tiempos de relajación tisular, y por histología. Aproximadamente después de un día, el incremento en los valores de T2 y T1 hacia los valores de base precontraste representa la disolución de las partículas superparamagnéticas en el hígado y el bazo. ®

Como se evidencia por los estudios de radiotrazadores, el hierro todavía está presente; sin embargo, no está más en la forma cristalina necesaria para su comportamiento superparamagnético. Interesantemente, el bazo muestra un segundo pico de radioactividad después de 60 días. Este pico pequeño es probablemente debido a una captación secundaria del ^{59}Fe por los eritrocitos maduros que son destruidos en este órgano. La observación clínica de la inversión de la intensidad de la señal del hígado [28] y bazo [55] refuerza la

evidencia experimental y sugiere un metabolismo similar del óxido de hierro en los humanos.

La biodisponibilidad, la incorporación del hierro molecular hacia la hemoglobina después de su administración como ^{59}Fe -AMI-25, se hizo evidente por la incorporación de ^{59}Fe hacia la hemoglobina. El 20% del hierro fue encontrado en la hemoglobina 14 días después de la administración intravenosa. Grados similares de incorporación eritrocítica (21%), han sido reportados en estudios con ferritina radiomarcada [56]. La biodisponibilidad también fue demostrada por la habilidad de AMI-25 para invertir la anemia por deficiencia de hierro a un grado similar al que lo hace el hierro dextrán hematínico.

La toxicidad aguda del óxido de hierro superparamagnético evaluada en este estudio no fue evidente a una dosis de hasta $300\ \mu\text{mol Fe/kg}$ y la LD_{50} excedería esta dosis. El índice de seguridad (relación de la dosis letal aguda a la dosis efectiva), por consiguiente es mayor de 1:150.

Para comparación, los márgenes de seguridad de los quelantes paramagnéticos de gadolinio [57] y para los agentes de contraste de Diatrisoato convencionales en rayos X son considerablemente menores.

Los efectos subagudos y crónicos de la sobrecarga de hierro han sido documentados en la hemocromatosis si el hierro corporal total excede de 15

grs. [58]. La cirrosis y el carcinoma hepatocelular pueden desarrollarse si la concentración hepática de hierro excede 4000 $\mu\text{gr/gr}$ de peso húmedo (normal, 200 μgr por gramo de peso húmedo) [59, 60]. La cantidad de hierro en la dosis de AMI-25 proporcionada para las imágenes diagnósticas (20 $\mu\text{mol Fe/kg}$) es pequeña comparada con los almacenamientos de hierro hepático normales. Un paciente de 70 Kg recibiría 80 mg de hierro, y la extrapolación de nuestros estudios de radiomarcadores indican que una inyección única aumentaría transitoriamente el hierro hepático de 200 a 212 $\mu\text{gr/gr}$ de tejido húmedo, muy por abajo de los límites requeridos para que los cambios hepatotóxicos ocurran.

En resumen, nuestros resultados indican que el AMI-25 es una preparación de óxido de hierro superparamagnético biodegradable. El hierro molecular está disponible hacia los depósitos normales de hierro humano; sin embargo, la degradación de las partículas es lo suficientemente lenta para producir una amplia ventana de tiempo para las imágenes de resonancia magnética. El AMI-25 tiene un margen considerable de seguridad, mucho mayor que los agentes radioopacos convencionales y que los agentes de contraste para resonancia magnética paramagnéticos.

4.1.2 Toxicidad Hepática

En estos experimentos no se encontró evidencia morfológica o bioquímica de hepatotoxicidad en las ratas que recibieron dosis grandes de partículas de ferrita intravenosamente. No hubo evidencia de disfunción de los organelos o de la peroxidación lípida mitocondrial o microsomal hepática en los experimentos en los cuales las dosis administradas sobre un período corto fue de aproximadamente 250 veces mayor que las necesarias para proporcionar imágenes de resonancia magnética con excelente contraste.

De la misma manera, no hubo evidencia de hepatotoxicidad crónica en animales estudiados 10 y 11 semanas después de la administración de partículas de hierro en dosis que fueron 30 veces mayor que las necesarias para un buen contraste en imágenes con resonancia magnética. Por consiguiente, se puede suponer que dosis mucho más pequeñas, que todavía proporcionan excelentes imágenes, serán por lo tanto también seguras. Finalmente, no existieron anomalías serológicas en las ratas que recibieron dosis pequeñas de partículas de ferrita.

Las partículas de ferrita como agentes de contraste de resonancia magnética para imagen del hígado muestran una tremenda especificidad tisular, debido a que son fagocitados selectivamente por el sistema fagocítico mononuclear [15]. La fagocitosis permite la captación selectiva de los materiales particulados por las células de Kupffer del hígado, macrófagos

alveolares del pulmón, y macrófagos del bazo, ganglios linfáticos, y médula ósea. Diversas preparaciones de partículas pueden ser usadas para acarrear una variedad de materiales; esta estrategia ha sido usada previamente en imágenes diagnósticas. Por ejemplo, la fagocitosis selectiva de partículas de sulfuro de tecnecio coloidal ha sido muy útil para diagnosticar enfermedad metastásica en estudios de medicina nuclear del hígado y el bazo, ya que la fagocitosis es una función especializada que pocos, si alguna, células tumorales pueden llevar al cabo.

La magnetita (Fe_3O_4) ó partículas de ferrita pueden ser administradas directamente en forma intravenosa y, en imágenes de resonancia magnética, muestra una relajación selectiva del T2 del hígado y del bazo [15, 23, 16, 61]. Debido a que las partículas de magnetita no son captadas por las células tumorales, la disminución selectiva de los tiempos de relajación T2 del hígado normal resulta en una disminución en la intensidad de la señal del tejido hepático normal en las imágenes de resonancia magnética. Un ejemplo del incremento de contraste debido a las partículas de ferrita entre el tumor y el hígado se muestra en la Figura 9.

En modelos experimentales de sobrecarga de hierro por dieta, se ha demostrado previamente un límite de concentración hepática de hierro al cual la peroxidación o los organelos que llevan al cabo la peroxidación lípida y funciones asociadas se encuentran anormales [36-38, 62]. Estas anomalías bioquímicas pueden ser relevantes para el desarrollo

subsiguiente de enfermedad hepática crónica que se ve en varias condiciones humanas de sobrecarga crónica de hierro [36-38, 63]. En los presentes experimentos, las concentraciones de hierro no-hem totales hepáticas logradas en los estudios a corto plazo (aproximadamente = a 3000 $\mu\text{gr}/\text{gr}$) estuvieron en el rango en los cuales la peroxidación lípida de los organelos y las anomalías bioquímicas en la mitocondria y los microsomas han sido demostradas [37, 38]. Las diferencias entre estos estudios a corto plazo de la ferrita intravenosa y los estudios previos de sobrecarga crónica de hierro por dieta probablemente se relacionan primariamente con la distribución celular del hierro hepático, pero pueden también estar relacionadas con la cronicidad de la sobrecarga de hierro. En estudios de sobrecarga de hierro experimentales con dieta, el hierro es encontrado predominantemente en los hepatocitos periportales con muy poco del hierro encontrado en las células fagocítico mononucleares, hasta que se alcanzan altas concentraciones de hierro ($> 4000 \mu\text{gr}/\text{gr}$), y a las cuales también se encuentra en las células fagocítico mononucleares [62, 64].

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

En contraste, después de la inyección intravenosa de ferrita, el hierro se encuentra enteramente en las células fagocítico mononucleares y distribuido uniformemente a través de los lóbulos hepáticos, con un respeto prácticamente total de los hepatocitos. La distribución y concentración hepática del hierro también son importantes en el desarrollo de enfermedad hepática en humanos con sobrecarga crónica de hierro. Por ejemplo, en pacientes con hemocromatosis hereditaria con deposición predominantemente

parenquimatosa del hierro, la fibrosis y la cirrosis no se observan hasta que las concentraciones hepáticas de hierro exceden 4000 a 5000 $\mu\text{gr}/\text{gr}$ [59, 65, 66 67], pero pueden ocasionalmente ser vistas a concentraciones tan bajas como 3000 $\mu\text{gr}/\text{gr}$ [68, 69]. En contraste, los pacientes con sobrecarga de hierro por transfusiones tienen un exceso de depósitos de hierro tanto en los hepatocitos como en las células fagocítico mononucleares, y la fibrosis hepática no se ve hasta que las concentraciones de hierro hepático exceden de 9000 a 10000 $\mu\text{gr}/\text{gr}$ [70, 71].

Aunque las células fagocítico mononucleares hepáticas parecen ser normales por microscopía electrónica después de la fagocitosis de partículas de ferrita, nosotros no hemos estudiado el bloqueo de la fagocitosis y no podemos evaluar el significado o duración de la disfunción de las células fagocítico mononucleares, si existe alguna.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Se desconoce qué proporción del hierro inicial en el sistema fagocítico mononuclear es "reciclado" y subsecuentemente se toma disponible para las células parenquimatosas hepáticas, llevando a una deposición del hierro a los hepatocitos. Ya sabemos, como se describió en la sección de farmacodinamia, que existe una proporción de la dosis inyectada a corto tiempo que es movilizada y subsecuentemente usada por otras funciones que requieren hierro (ej. síntesis de hemoglobina). Los estudios de microscopía de luz sugieren que las partículas de ferrita son removidas gradualmente del hígado en un período de 2 a 6 meses. La degradación de la ferrita y la movilización del

hierro también es sugerida por el retorno a valores normales de los valores de T2 del hígado y el bazo en este período; por lo tanto, creemos que las partículas de ferrita son degradadas en las células fagocítico mononucleares con una liberación final del hierro y su incorporación hacia los varios compartimientos corporales del mismo (almacenamiento, utilización, transporte).

Como hemos demostrado en el presente estudio, el uso de agentes de contraste para resonancia magnética que contienen hierro son captados por el sistema fagocítico mononuclear, parecen ser seguros y no producen toxicidad parenquimatosa. Además, las dosis de ferrita propuestas en los estudios de imagen (1 mg Fe/kg) no se espera que incrementen significativamente las concentraciones hepáticas de hierro en humanos. Para poner esta dosis (1 mg Fe/kg) en perspectiva, un humano de 70 Kg tomando 325 mg de sulfato ferroso FeSO_4 (119 mg Fe) 3 veces al día por dos días absorbería una cantidad equivalente de hierro (1.02 mg/kg) asumiendo una eficiencia de absorción intestinal del 10% [72].

4.2 Evaluación Experimental de la Utilidad del Oxido de Hierro Superparamagnético en la detección de lesiones Focales Hepáticas

Las técnicas de imagen para la detección de metástasis cancerosas hacia el hígado son sumamente importantes en medicina. El uso efectivo de quimioterapia o la resección quirúrgica segmentaria están fuertemente basadas en la información confiable de las imágenes. La tomografía computada con contraste es actualmente considerada como la técnica más sensible para la detección de metástasis hepáticas. Sin embargo, estudios recientes han mostrado que aún la tomografía computada falla para demostrar hasta el 25% de los depósitos neoplásicos probados quirúrgicamente [73, 74].

Se considera que la imagen por resonancia magnética tiene mucho mayor contraste intrínseco entre el tejido normal y patológico comparado con la tomografía computada, y podría, por consiguiente, ser más útil para la detección de cáncer hepático. Sin embargo, las técnicas de imagen por resonancia magnética son altamente complejas, y en las series clínicas hasta la fecha, las imágenes por resonancia magnética no han probado que sean mucho mejores que la tomografía computada con contraste en la detección de cáncer hepático [75].

Aún más, debido a que deben de utilizarse múltiples secuencias de pulso, los estudios con resonancia magnética son más tardadas que los estudios con tomografía computada y están asociadas con un costo mucho

mayor. Si la imagen por resonancia magnética debe ser competitiva como una prueba de rastreo confiable para la evaluación de la presencia de cáncer hepático, es necesario el mejoramiento en la detección de las lesiones con una simplificación del estudio y con técnicas de imagen más rápida. Los agentes de contraste para resonancia magnética proporcionarían una solución a estos problemas, ya que si existieran compuestos que fueran apropiadamente dirigidos para cambiar las diferencias en la intensidad de la señal entre el tejido neoplásico y el tejido normal se aumentaría su detección. Tales contrastes deben permitir un número obligatorio menor de secuencias de pulso, lo cual aumentaría el flujo de pacientes.

Una consideración crítica en el diseño de agentes de contraste es la distribución diferencial del agente en los tejidos que van a ser comparados. Hasta la fecha, el Gd-DTPA ha sido inefectivo como un agente de contraste para imagen por resonancia magnética del cáncer hepático debido a su distribución en el intersticio tanto del hígado como del tumor [76, 77]. Las partículas de ferrita, por otro lado, son secuestradas únicamente por las células fagocíticas mononucleares del hígado y por consiguiente reduce la intensidad de la señal del hígado normal.

Debido a que el tejido tumoral no contiene elementos fagocíticos y debido al tamaño extremadamente pequeño de las partículas de ferrita (0.2-5.0 μm), éstas atraviesan fácilmente la red capilar (en comparación, los eritrocitos miden 5-7 μm) y no alteran la intensidad de la señal de los nódulos tumorales.

Como resultado, las diferencias en la intensidad de la señal entre el tumor y el hígado son incrementadas grandemente después de la administración de ferrita.

En los tejidos, aún con dosis extremadamente pequeñas, los materiales superparamagnéticos producen gradientes de campos magnéticos locales que son varias órdenes de magnitud mayores que los producidos por los compuestos paramagnéticos [14, 78]. La difusión de los protones a través de estos campos magnéticos inhomogéneos resulta en un acortamiento extremo del T2 y una pérdida profunda de la señal. Existe, sin embargo, poco efecto sobre los tiempos de relajación T1, y estos hallazgos son análogos a los trastornos clínicos involucrados por la sobrecarga de hierro en los cuales la deposición de ferritina produce una pérdida similar de la intensidad de la señal del hígado, bazo y páncreas. Aunque el acortamiento extremo del T2 y de la pérdida de la señal se visualizan mejor en las imágenes fuertemente dependientes de T2, la disminución de la intensidad del hígado también está presente en las imágenes menos dependientes de T2.

De hecho, los nódulos tumorales pueden ser detectados aún en imágenes en las cuales la intensidad de la señal del tumor es prácticamente igual a la del hígado normal. Tal flexibilidad en la selección de los tiempos de repetición y de eco sobrepasa las limitaciones de hardware y hacen la detección de cáncer hepático menos dependiente de la elección de secuencias de pulso y parámetros de tiempo. Además, la reducción de los artefactos de

movimiento y el uso de secuencias con tiempos de repetición intermedios mejorarán la relación de señal/ruido sin afectar el tiempo de estudio [42].

Un beneficio importante de las partículas de ferrita es su efecto monofásico sobre la intensidad de la señal de los tejidos. Por consiguiente, a un aumento progresivo en la dosis de ferrita puede únicamente reducir la intensidad de la señal del hígado hasta que los niveles del ruido de fondo sean alcanzados. Este efecto representa una clara ventaja sobre el efecto bifásico de los agentes de contraste paramagnéticos (Ej. gadolinio DTPA). Con tales compuestos, la intensidad de la señal es críticamente dependiente de la concentración del material magnético en el tejido, y la intensidad del hígado puede estar aumentada o disminuida, un resultado que puede ser difícil de predecir en vivo [79].

Podemos anticipar que el uso de las partículas de ferrita como agentes de contraste para resonancia magnética permitirá el desarrollo de técnicas confiables de rastreo para la detección de cáncer hepático.

A causa del gran incremento en la diferencia de la intensidad de la señal en las imágenes dependientes de T2 entre el tumor y el hígado, los resultados pueden ser altamente predecibles y confiables. De hecho, la diferencia en el contraste entre el tumor y el hígado normal debe ser tan dramática como en los casos en los que se ha encontrado cáncer hepático coincidental con hemocromatosis [80]. Sin embargo, debemos estudiar si la detección de

lesiones hepáticas focales que contienen elementos celulares fagocítico mononucleares (Ej. hiperplasia nodular focal) o en las metástasis infiltrantes difusas del hígado, puede detectarse esta anomalía. No obstante, si el examen por resonancia magnética está limitado a una sola secuencia de pulso, los beneficios en la reducción del tiempo de examen aumentarían el flujo de pacientes, y por lo tanto se reducirá los costos del estudio.

Aunque la toxicidad de los materiales superparamagnéticos es desconocida, recientemente la ferrita ha sido descubierta en ciertas especies de pájaros, peces y bacterias, en las cuales su interacción con el campo magnético de la tierra juega un papel importante para la navegación [81]. Por consiguiente, la presencia de ferrita en tejidos vivos sugiere que algún grado de aceptación biológica puede ocurrir. Además, los estudios toxicológicos practicados, no han demostrado hepatotoxicidad, como fue mencionado anteriormente.

4.3 Aplicaciones Clínicas del Óxido de Hierro Superparamagnético como Agente de Contraste para la Imagen Por Resonancia Magnética del Hígado

Los agentes de contraste son usados para mejorar el contenido de la información de las imágenes diagnósticas. En la radiografía simple y la tomografía computada se explotan las propiedades de atenuación a los rayos X de las sales de bario o de las moléculas orgánicas iodadas. El ultrasonido puede ser contrastados con la administración de líquidos tales como el agua o los ecorealzadores, y la medicina nuclear se basa fundamentalmente en la administración de radiofarmacéuticos. Similamente, las imágenes por resonancia magnética pueden ser contrastadas con agentes magnéticos.

Hasta hace muy poco, la investigación en imagen por resonancia magnética ha enfatizado el desarrollo de moléculas paramagnéticas que primeramente actúan para aumentar la relajación del T1. El gadolinio DTPA es actualmente el ejemplo más exitoso de esta clase y ha sido aplicado primariamente para aumentar el contraste en los estudios del sistema nervioso central [82].

Las partículas de óxido de hierro superparamagnético de 35 a 1000 nm de diámetro muestran una biodistribución tejido-específica hacia los tejidos que contienen células del sistema fagocítico mononuclear, donde la droga reduce el tiempo de relajación T2, resultando en una pérdida de la intensidad de la señal en las imágenes de resonancia magnética [15, 23, 16, 83], y como se ha

demostrado en la Sección Preclínica de esta Tesis. Los datos preliminares sobre el aclaramiento sanguíneo muestran una considerable variación de paciente a paciente, y estudios futuros se requerirán para determinar la influencia de la dosis administrada, la magnitud de la enfermedad hepática, el grado en que afectan las reservas existentes de hierro en el cuerpo, y la función de las células fagocítico mononucleares. El ritmo de degradación de las partículas fagocitadas también puede variar.

Las células malignas no fagocitan partículas, y la intensidad de la señal de resonancia magnética del cáncer no es alterada por la ferrita. Como resultado del incremento de la diferencia en las intensidades de las señales del cáncer y del hígado, se pueden detectar pequeñas metástasis, y por lo tanto se incrementa la certeza diagnóstica [45]. La ferrita produce una relación C/R (Tabla IX) significativamente mejor que la que puede ser obtenida por la

manipulación de los puros métodos de imagen. Los resultados de estos estudios clínicos iniciales confirman los hallazgos de experimentos animales previos y muestran que las imágenes de resonancia magnética con contraste pueden demostrar lesiones milimétricas que no son visualizadas con imagen por resonancia magnética sin contraste [45] o con tomografía computada con contraste (Figuras 12c y 14b). Sin embargo, las secuencias de pulso utilizadas en el presente estudio no suprimieron la intensidad de la señal de las venas intrahepáticas normales, lo cual causó dificultad en el diagnóstico de las lesiones milimétricas (Figuras 14d y 14e).

La fase vascular ($t_{1/2}$ 13 minutos) de biodistribución de la ferrita podría proporcionar una indicación de la perfusión tisular por la inducción de los cambios en la susceptibilidad magnética de los tejidos [27]. Las técnicas de imagen rápida que son sensibles a las inhomogeneidades inducidas por la ferrita en la susceptibilidad magnética de los tejidos pueden también ser aplicadas al hígado, bazo y médula ósea (Figura 14e).

Las técnicas de secuencia de pulso más apropiadas para la imagen de resonancia magnética contrastada por ferrita del hígado están ampliamente disponibles y producen imágenes que tienen excelente calidad en todos los sistemas de imagen de resonancia magnética comerciales. La técnica de EE 500/28 usada en este estudio puede producir hasta 14 secciones a través del hígado en 4.5 minutos. La administración de ferrita 1 o 2 horas antes de la imagen de resonancia magnética es más conveniente que las técnicas usuales de tomografía computada contrastada y puede esperarse que aumenten la eficiencia de la utilización de las máquinas, y por lo tanto disminuyan el costo de los exámenes de resonancia magnética.

4.4 Evolución y Aplicaciones Clínicas Actuales

Posterior a la realización de estos estudios, otros grupos han corroborado nuestras investigaciones, tanto en el aspecto preclínico como en aplicaciones clínicas del OHSP. En 1996 la Federal Drug Administration (FDA) aprobó la solución inyectable de óxido de hierro, como el primer agente de contraste a nivel mundial que es órganoespecífico, y que comercialmente se distribuye, a partir del 2003, como Feridex I.V. en Estados Unidos y Canadá, y como Endorem TM, en Europa, Asia, Unión Soviética y América Latina, incluyendo México, en donde estará disponible en el 2006 (Advanced Magnetics, Inc.).

La principal aplicación que se le ha dado a este medio de contraste, y de hecho para lo que fue eprobado por la FDA, ha sido la detección y caracterización de lesiones hepáticas. Existen numerosas publicaciones al respecto, y en todas ellas se demuestra la superioridad de utilizar la IRM con OHSP, comparada con la IRM simple u otro método diagnóstico, en estas aplicaciones (84-141).

Debido a las características muy particulares de este agente de contraste, descritas en esta tesis, el OHSP también tiene aplicación clínica en otras áreas, como por ejemplo en la patología del bazo (142), médula ósea (143-144), angiografía (145-147), y recientemente en el estudio de los ganglios

linfáticos, y como medio de contraste oral, existiendo inclusive patentes de productos específicos para estas aplicaciones (Advanced Magnetics, Inc.).

Tomando en consideración el alto costo de la atención médica, y sobre todo en lo referente al cuidado de los pacientes oncológicos, es importante documentar que el agregar un medio de contraste a los estudios de imagen de estadiaje o de escrutinio sea realmente costo-efectivo y que determine la conducta que se tomará para el manejo del paciente. A este respecto, también se han hecho publicaciones que demuestran la efectividad del OHSP para disminuir el número de estudios necesarios para llegar a un diagnóstico, ya que la IRM en sí, es superior a otros métodos de imagen para determinar extensión local y diseminación a distancia, y aunado a esto la mayor sensibilidad y especificidad que agrega el OHSP a las IRM (148-150).

Actualmente, el OHSP es un agente de contraste prototipo en muchas áreas de investigación, como en la visualización de anticuerpos monoclonales, receptores específicos, procesos inflamatorios donde intervienen macrófagos, incluso en la determinación de la actividad de una placa ateromatosa.

5. REFERENCIAS

1. Bloch F, Hansen WW, Packard M: The nuclear induction experiment. *Physiol Rev* 1946; 70: 474-485.
2. Solomon I: Relaxation processes in a system of two spins. *Physiol Rev* 1955(99): 559.
3. Bloembergen N: Proton relaxation times in paramagnetic solutions. *J Chem Phys* 1957(27): 572.
4. Lauterbur PC, Mendoca-Dias MH, Rudin AM: Augmentation of tissue water proton spin lattice relaxation rates by in vivo addition of paramagnetic ions. In: Dutton PL, Leight JS, Scarpa A, eds. Academic Press, vol 1. New York, 1983; 752.
5. Mendoca-Dias MH, Lauterbur PD: Ferromagnetic particles as contrast agent for magnetic resonance imaging of the liver and spleen. *Magn Reson Med.* 1986; 3: 328-330.
6. Engelsted BL, Brasch RC: Pharmaceutical development for magnetic resonance imaging. In: James TL, Margulis A, eds. Biomedical magnetic resonance. San Francisco: Radiation Research and Education Foundation., 1985; 139-156.
7. New P, Rosen B, Brady T, et al: Potential hazards and artifacts of ferromagnetic and nonferromagnetic surgical and dental materials and devices in nuclear magnetic resonance imaging. *Radiology* 1983; 147: 139-148.
8. Stark DD, Felder RC, Wittenberg J, et al: Magnetic resonance imaging of cavernous hemangioma of the liver: tissue-specific characterization. *AJR* 1985; 145: 213-220.
9. Brasch RC, Wesbey GE, Goodding CA, Koerper MA: Magnetic resonance imaging of transfusional hemosiderosis complicating thalassemia major. *Radiology* 1984; 149: 175-180.
10. Young JR, Clarke GJ, Galies DR: Enhancement of relaxation rate with paramagnetic contrast in NMR imaging. *Comput Tomogr* 1981; 5: 534-546.
11. Lauffer RB, Greif WL, Stark DD, et al.: Iron-EHPG as a hepatobiliary MR contrast agent: Initial imaging and biodistribution studies. *J Comput Assist Tomogr* 1985; 9: 431-438.

12. Wesbey GE, Brasch RC, Engelstad BL, Moss AA, Crooks LE, Brito AC: Nuclear magnetic resonance contrast enhancement study of the gastrointestinal tract of rats and human volunteers using nontoxic oral iron solutions. *Radiology* 1983; 149: 175-180.
13. Cullity B: *Introduction to magnetic materials*. Mass: Addison-Wesley, 1972
14. Whitesides G, Kazlauskas R, Josephson L: Magnetic separations in biotechnology. *Trends Biotechnology* 1983; 1: 144-148.
15. Wolf GL, Burnett KR, Goldstein EJ, Joseph PM: Contrast agents for magnetic resonance imaging. In: Kressel H, ed. *Magnetic Resonance Annual*: Raven Press, 1985; 231-266.
16. Renshaw PF, Owen CS, McLaughlin AC: Ferromagnetic contrast agents: a new approach. *Magn Reson Med*. 1986; 3: 217-255.
17. Saini S, Widder DJ, Stark DD: Magnetite, a contrast agent sequestered by the reticuloendothelial system, for MRI of liver cancer. In: Runge VN, Claussen C, Felix R, et al., eds. . Princeton, N.J.: Excerpta Medica, 1986; 41-43.
18. Saini S, Frankel R, Stark D, Ferrucci J: Magnetism: a primer and review. *AJR* 1988(150): 735-743.
19. Lauffer RB: Paramagnetic metal complexes as water proton relaxation agents for NMR imaging: Theory and design. *Chem Rev* 1987; 87: 901-927.
20. New PFJ, Rosen BR, Brady RC: Pharmaceutical development for magnetic resonance imaging. In: James TL, Margulis A, eds. *Biomedical magnetic resonance*. San Francisco.: Radiation Research and Education Foundation, 1985; 139-148.
21. Engelstad BL, Wolf GL: Principles of magnetic resonance contrast agents. In: Stark DD, Bradley WG, eds. *Magnetic resonance imaging*. St. Louis: Mosby, 1988.
22. Nelson TR, Hendrick RE, Hendee WR: Selection of pulse sequence producing maximum tissue contrast in magnetic resonance imaging. *Mag Res Imaging*. 1984; 2: 285-294.
23. Mendoca-Dias MH, Lautbur PC: Ferromagnetic particles as contrast agents for magnetic resonance imaging of the liver and spleen. *Magn Reson Med*. 1986; 3: 328-330.

24. Runge VM, Clanton JA, Herzer WA: Intravascular contrast agents suitable for magnetic resonance imaging. *Radiology*. 1984; 6: 153-171.
25. Bean CP, Livingston JD: Superparamagnetism. *J Appl Phys* 1959; 30: 120S-129S.
26. Whitehead RA, Chagnon MS, Groman EV, Josephson L: United States patent number 4554088; 1985.
27. Josephson L, Lewis J, Jacobs P, Hahn PF, Stark DD: The effects of iron oxide on proton relaxivity. *Magn Reson Imaging* 1989; 647-653.
28. Stark DD, Weissleder R, Elizondo G, et al.: Superparamagnetic iron oxide: Clinical application as a contrast agent for MR imaging of the liver. *Radiology* 1988; 168: 297-301.
29. Eilers R: Notification of final adoption of an international method and standard solution for hemoglobinometry specifications for preparation of standard solution. *Am J Clin Pathol* 1967; 47: 212-214.
30. International Committee for standardization In Hematology. Recommendations for measurement of serum iron in human blood. *Br J Haematol* 1978; 38: 291-294.
31. International Committee for standardization In Hematology. The measurement of total and unsaturated iron-binding capacity in serum. *Br J Haematol* 1978; 38: 281-290.
-
32. Torrance JD, Bothwell TH: Tissue iron stores. In: Cook J, ed. *Iron*. New York: Churchill Livingstone, 1980; 90-115.
33. Drury R, Wallington E: *Carleton's Histological Technique*. , 5th ed. New York: Oxford University Press, 1980; 264-267.
34. Ames BN, McCann J, Yamasakai E: Methods for detecting carcinogens and mutagens with the *Salmonella*/mammalian-microsome mutagenicity test. *Mutation Res* 1975; 31: 347-364.
35. Devoret R: Bacterial test for potential carcinogens. *Sci Am* 1979; 241: 40-50.
36. Bacon BR, Brittenham GM, Tavill AS, McLaren CE, Park CH, Reckngel RO: Hepatic lipid peroxidation in vivo in rat with chronic dietary iron overload is dependent on hepatic iron concentration. *Trans Assoc Am Physicians*. 1983; 96: 146-54.

37. Bacon BR, Park CH, Brittenham GM, O'Neill R, Tavill AS: Hepatic mitochondria oxidative metabolism in rats with chronic dietary iron overload. *Hepatology* 1985; 5: 789-97.
38. Bacon BR, Healy JF, Brittenham JM: Hepatic microsomal function in rat with chronic dietary iron overload. *Gastroenterology*. 1986; 90: 1844-53.
39. Henry RT, Chiamori N, Golub OJ, Berkman S: Revised spectrophotometric method for the determination of glutamic oxaloacetic transaminase and lactic acid dehydrogenase. *Am J Clin Pathol* 1960; 34: 381-98.
40. Wolf GL, Fobben ES: The tissue proton T1 and T2 response to gadolinium DTPA injection in rabbits. A potential renal contrast agent for NMR imaging. *Invest Radiol* 1984; 19: 324-328.
41. Saini S, Stark D, Wittenberg J, et al: A rat model of liver cancer for imaging research. *Invest Radiol* 1987; 22: 149-152.
42. Stark DD, Wittenberg J, Edelman RR, et al: Detection of hepatic metastases: Analysis of pulse sequence performance in MR imaging. *Radiology* 1986; 159: 365-370.
43. Hendrick RE, Nelson TR, Hendee WR: Optimizing tissue contrast in magnetic resonance imaging. *Magn Reson Imaging* 1984; 2: 193-204.
44. Stark DD, Wittenberg J, Butch RJ, Ferrucci JT: Hepatic metastases: Randomized, controlled comparison of detection with MR imaging and CT. *Radiology* 1987; 165: 399-406.
45. Tsang YM, Stark DD, Chen MC, Weissleder R, Wittenberg J, Ferrucci JT: Hepatic Micrometastases in the rat: ferrite enhanced MR imaging. *Radiology* 1988; 167: 21-24.
46. Zar JH: *Biostatistical analysis*, Englewoor Cliffs, NJ. Prentice-Hall 1974: 101-126.
47. Shargel NJ, YU ABC: *Applied biopharmaceutics and pharmacokinetics*. Norwalk, Ct., 2de ed. Appleton-Century-Crofts, 1985.
48. Ritschel W: *Handbook of basic pharmacokinetics*. Haliilton, IL: Drug Intelligence Publications, 1986.
49. Quillin SP, Atilla S, Brown JJ, Borrello JA, Yu CY, Pilgram TK.: Characterization of focal hepatic masses by dynamic contrast-enhanced MR imaging: findings in 311 lesions. *Magn Reson Imaging*. 1997;15(3):275-85.

50. Soyer P, de Givry SC, Gueye C, Lenormand S, Somveille E, Scherrer A: Detection of focal hepatic lesions with MR imaging: prospective comparison of T2-weighted fast spin-echo with and without fat suppression, T2-weighted breath-hold fast spin-echo, and gadolinium chelate-enhanced 3D gradient-recalled imaging. *AJR Am J Roentgenol.* 1996;166(5):1115-21
51. Lauenstein TC, Goehde SC, Herborn CU, Goyen M, Oberhoff C, Debatin JF, Ruehm SG, Barkhausen J: Whole-body MR imaging: evaluation of patients for metastases. *Radiology.* 2004 Oct;233(1):139-48. Epub 2004 Aug 18.
52. Ohgushi M, Nagayama K, Wada A: Dextran-magnetite: a new relaxation reagent and its application to measurements in gel systems. *J Magn Reson* 1978; 29: 29-599.
53. Engelstad B, Wolf G: Contrast Agents. In: Stark D, Bradley W, eds. *Magnetic Resonance Imaging.* St. Louis: Mosby, 1988; 161-181.
54. Bean CP: Hysteresis loops of ferromagnetic micropowders. *J Appl Phys* 1955; 26: 1381-1384.
55. Weissleder R, Hahn PF, Stark DD, et al.: Superparamagnetic iron oxide: Enhanced detection of focal splenic tumors with MR imaging. *Radiology* 1988; 169: 399-403.
56. Hershko C, Cook J, Finch C: Storage iron kinetics. III. Study of desferroxamine action by selective radio iron labels of RE and parenchymal cells. *J Lab Clin Med* 1973; 81: 876-886.
57. Brasch R, Bennett H: Considerations in the choice of contrast media in MR imaging. *Radiology* 1988; 166: 897-899.
58. Weir M, Gibson J, Peters T: Hemosiderosis and tissue damage. *Cell Biochem Funct* 1984; 2: 24-29.
59. Bassett ML, Halliday JW, Power LW: Value of hepatic iron measurements in early hemochromatosis and determination of the critical iron level associated with fibrosis. *Hepatology* 1986; 6: 24-9.
60. Tavill A, Bacon B: Hemochromatosis: how much is too much? *Hepatology* 1986; 6: 142-145.
61. Olsson M, Persson BRB, Salford LG, Schroder U: Ferromagnetic particles as contrast agents in T NMR-imaging. Presented at the Fourth Annual Meeting of the Society of Magnetic Resonance in Medicine, London, August. 1985; 90: 889.

62. Bacon BR, Tavill AS, Brittenham GM, Park CH, Reckngel RO: Hepatic lipid peroxidation in vivo in rat with chronic iron overload. *J Clin Invest.* 1983; 71: 429-39.
63. Bacon BR, Tavill AS, Brittenham GM, Park CH, Recknagel RO: Hepatotoxicity of chronic iron overload: role of lipid peroxidation. In: Poli G, Cheeseman KH, Dianzani MU, et al., eds. *Free radicals in liver injury.* Oxford: IRL Press Ltd., 1986; 49-57.
64. Park CH, Bacon BR, Brittenham GM, Tavill AS: Pathology of dietary carbonyl iron overload. *Lab Invest* (in press).
65. Grace ND: Iron metabolism and hemochromatosis. In: Zakim D, Boyer TD, eds. *Hepatology.*, vol 76. Philadelphia.: WB Saunders., 1982; 1159.
66. Powell LW, Bassett ML, Halliday JW: Hemochromatosis: 1980 update. *Gastroenterology* 1980; 78: 374-81.
67. Bassett ML, Halliday JW, Power LW: Genetic hemochromatosis. *Semin Liver Dis* 1984; 4: 217-27.
68. Feller ER, Pont A, Wands JR: Familial hemochromatosis. Physiologic studied in the precirrhotic stage of disease. *N Engl J Med* 1977; 296.
69. Bassett ML, Halliday JW, Power LW, Doran T, Bashir H: Early detection of idiopathic haemochromatosis: relative value of serum ferritin and HLA typing. *Lancet* 1979; 2: 4-7.
-
70. Risdon RA, Barry M, Flynn DM: Transfusional iron overload: the relationship between tissue iron concentration and hepatic fibrosis in thalassaemia. *J Pathol* 1975; 116: 83-95.
71. Barry M, Flynn DM, Letsky EA, Risdon RA: Long-term chelation therapy in thalassaemia major: effect on liver iron concentration, liver histology and clinical progress. *Br Med J* 1974; 2: 16-20.
72. Bacon BR, Tavill AS: Role of the liver in normal iron metabolism. *Semin Liver Dis* 1984; 4: 181-92.
73. Hanazaki K, Kawamura N, Wakabayashi M, Sodeyama H, Yokoyama S, Sode Y, Miyazaki T: Long-term survivor with liver metastases from rectal cancer treated by hepatectomy after hepatic arterial infusion chemotherapy. *Hepatogastroenterology.* 1998 May-Jun;45(21):816-20.

74. Erturk SM, Morteale KJ, Oliva MR, Barish MA: State-of-the-art computed tomographic and magnetic resonance imaging of the gastrointestinal system. *Gastrointest Endosc Clin N Am*. 2005 Jul;15(3):581-614.
75. Heiken JP, Lee JKT, Glazer HS, Ling D: Hepatic metastases studies with MR and CT. *Radiology* 1985; 7: 156-423.
76. Saini S, Stark D, Wittenberg J, et al: Dynamic gadolinium-DTPA imaging of liver cancer: animal investigation. *AJR* 1986(147): 367-371.
77. Carr DH, Brown J, Bydder GM: Gd-DTPA as a contrast agent in MRI: initial clinical experience in 20 patients. *AJR* 1984; 143: 215-224.
78. Cullity Bd: Introduction to magnetic. Rading, Mass: Addison- Weisley 1972.
79. Elizondo G, Tsang YM, Rocklage S, et al.: Hepatobiliary contrast agents for MR imaging. *Radiological Society of North America, Chicago, IL, 1988.*
80. Vermess M, Leung AWL, Bydder GM, Steiner RE, Blumgart LH, Young I: MR imaging of the liver in primary hepatocellular carcinoma. *J Comput Assist Tomogr* 1985; 9: 749-754.
81. Blakemore RP, Frankel RB: Magnetic navigation in bacteria. *Sci Am* 1981; 246: 58-65.
82. Bydder GM: Clinical application of gadolinium-DTPA. In: Stark DD, Bradley WG, eds. *Magnetic resonance imaging*. St Louis, 1987; 182-200.
-
83. Bacon B, Stark D, Park C, et al: Ferrite particles: A new magnetic resonance imaging contrast agent: lack of acute or chronic hepatotoxicity after intravenous administration. *J Lab Clin Med* 1987; 110: 164-171.
84. Arbab, A. S., T. Ichikawa, et al. "Ferumoxides-enhanced double-echo T2-weighted MR imaging in differentiating metastases from nonsolid benign lesions of the liver." *Radiology* 2002; 225(1): 151-8.
85. Ba-Ssalamah, A., W. Schima, et al. "Atypical focal nodular hyperplasia of the liver: imaging features of nonspecific and liver-specific MR contrast agents." *AJR Am J Roentgenol* 2002; 179(6): 1447-56.
86. del Frate, C., M. Sazzocchi, et al. "Detection of liver metastases: comparison of gadobenate dimeglumine- enhanced and ferumoxides-enhanced MR imaging examinations." 2002; *Radiology* 225(3): 766-72.

87. Hammerstingl R.M., S. W. V., Marquardt F., Staib-Sebler E., Lorenz M., Dietrich C. "Diagnostic Imaging of FNH: Characterization using SPIO-enhanced MRI." Eur congress of Radiology March 2002.
88. Hammerstingl R.M., S. W. V., Marquardt F., Staib-Sebler E., Lorenz M., Dietrich C. "MRI in liver transplantation: Prospective evaluation using SPIO-enhanced MRI in comparison with clinical and histopathologic findings." Eur congress of Radiology 2002.
89. Horl M., M. J., Murakami T., Soto Y . "Fusion of SPIO-enhanced MR images and volume data sets obtained with multi-detector row helical CT scanner: Improved ability for hepatic tumor diagnosis." 2002; Proc. Intl. Soco Mag. Reson. Med. 10(2002): 1951.
90. Kim, S. K., S. H. Kim, et al. "Preoperative detection of hepatocellular carcinoma: ferumoxides- enhanced versus mangafodipir trisodium-enhanced MR imaging." AJR Am J Roentgenol 2002; 179(3): 741-50.
91. Kim J.H., Kim. M. J., Suh, S.H., Chung J.J., Yoo, S.K., Lee, J.T. "Characterisation of focal hepatic lesions with ferumoxides-enhanced MR imaging: Utility T-1 weighted spoiled gradient recall echo images using different echo times." 2002; Journal of Magnetic Resonance Imaging. 15:573-583.
92. Kim J.H., Kim. M. J., Chung J.J. "Characterisation of focal hepatic lesions with ferumoxides-enhanced MR imaging: Utility of in-phase T-1 weighted spoiled gradient recall echo images." 2002; Eur congress of Radiology 8-0829.
-
93. Kim M., K. J., Chung J., Park M. (2002). "Combination of Gadolinium and Ferumoxides-enhanced MR imaging for detection and Characterization of Focal hepatic lesions." Supplement to Radiology #1549: 633.
94. Mori, K., J. Scheidler, et al. "Detection of malignant hepatic lesions before orthotopic liver transplantation: accuracy of ferumoxides-enhanced MR imaging." AJ R Am J Roentgenol 2002; 179(4): 1045-51.
95. Tanimoto A., S. H., Nakatsuka S., Okuda S. "Superparamagnetic Iron Oxide-enhanced MR imaging for hepatocellular carcinoma: Acomparative study with CT _Arteriopography plus CT _Hepatic Arteriography." Supplement to Radiology 2002: 225(#1347): 580.
96. Ward, J., Guthrie JA., Wilson D., Robinson PJ. "Hepatic lesions detection with SPIO-enhanced breathold imaging: comparison of optimized sequences at 1.5T." Proc. Intl. Soco Mag. Reson. Med. 2002; 10: 679.

97. Braga, H. J., K. Imam, et al. "MR imaging of intrahepatic cholangiocarcinoma: use of ferumoxides for lesion localization and extension." *AJRAm J Roentgenol* 2001; 177(1): 111-4.
98. Sahani, D., S. Saini, R Sharma, M. O'Malley and P. Hahn. "Dynamic T1-weighted ferumoxides enhanced MRI for imaging liver hemangiomas: preliminary observations." *Abdom Imaging* 2001; 26(2): 166-70.
99. Hundt, W., R Petsch, T. Helmberger and M. Reiser. "Signal changes in liver and spleen after Endorem administration in patients with and without liver cirrhosis." *Eur Radiol* 2000;10(3): 409-16.
100. Imai, Y., T. Murakami, S. Yoshida, M. Nishikawa, M. Ohsawa, K. Tokunaga, M. Murata, K. Shibata, S. Zushi, M. Kurokawa, T. Yonezawa, S. Kawata, M. Takamura, H. Nagano, M. Sakon, M. Monden, K. Wakasa and H. Nakamura. "Superparamagnetic iron oxide-enhanced magnetic resonance images of hepatocellular carcinoma: correlation with histological grading." *Hepatology* 2000; 32(2): 205-12.
101. Kondo, H., M. Kanematsu, H. Hoshi, T. Murakami, T. Kim, M. Hori, M. Matsuo and H. Nakamura. "Preoperative detection of malignant hepatic tumors: comparison of combined methods of MR imaging with combined methods of CT." *AJR Am J Roentgenol* 2000; 174(4): 947-54.
102. Nakamura, H., N. Ito, F. Kotake, Y. Mizokami and T. Matsuoka. "Tumor-detecting capacity and clinical usefulness of SPIO-MRI in patients with hepatocellular carcinoma." *J Gastroenterol* 2000; 35(11): 849-55.
-
103. Nakayama, M., Y. Yamashita, K. Mitsuzaki, T. Vi, A. Arakawa, K. Katahira, Y. Nakayama and M. Takahashi. "Improved tissue characterization of focal liver lesions with ferumoxide-enhanced T1 and T2-weighted MR imaging." *J Magn Reson Imaging* 2000; 11 (6): 647-54.
104. Paley, M. R, P. J. Mergo, G. M. Torres and P. R Ros. "Characterization of focal hepatic lesions with ferumoxides-enhanced T2-weighted MR imaging." *AJR Am J Roentgenol* 2000; 175(1): 159-63.
105. Ward, J., J. A. Guthrie, D. J. Scott, J. Atchley, D. Wilson, M. H. Davies, J. 1. Wyatt and P. J. Robinson. "Hepatocellular carcinoma in the cirrhotic liver: double-contrast MR imaging for diagnosis." *Radiology* 2000; 216(1): 154-62.
106. Aizenstein, R. I., R. Chen, K. Sato, M. Mihalov and H. K. O'Neil. "Ferumoxide-enhanced MRI of sideronecrosis superimposed on genetic hemochromatosis." *J Comput Assist Tomogr* 1999; 23(1): 90-3.

107. Helmberger, T., M. Gregor, N. Holzknicht, J. Gauger, H. Rau and M. F. Reiser. "[Comparison of dual-phase helical CT with native and ferum oxide-enhanced magnetic resonance imaging in detection and characterization of focalliver lesions]." *Radiologe* 1999; 39(8): 678-84.
108. Muller, R. D., K. Vogel, K. Neumann, H. Hirche, J. Barkhausen, F. Stoblen, H. Henrich and R. Langer. "SPIO-MR imaging versus double-phase spiral CT in detecting malignant lesions of the liver." *Acta Radiol* 1999; 40(6): 628-35.
109. Poeckler-Schoeniger, C., J. Koepke, F. Gueckel, J. Sturm and M. Georgi. "MRI with superparamagnetic iron oxide: efficacy in the detection and characterization of focal hepatic lesions." *Magn Reson Imaging* 1999; 17(3): 383-92.
110. Precetti-Morel, S., M. F. Bellin, L. Ghebontni, S. Zaim, P. Opolon, T. Poynard, P. Mathurin and P. Cluzel. "Focal nodular hyperplasia of the liver on ferumoxides-enhanced MR imaging: features on conventional spin-echo, fast spin-echo and gradient-echo pulse sequences." *Eur Radio* 1999; 9(8): 1535-42.
111. Clement, O., N. Siauve, C. A. Cuenod and G. Frija. "Liver imaging with ferumoxides (Feridex): fundamentals, controversies, and practical aspects." *Top Magn Reson Imaging* 1998; 9(3): 167-82.
112. Di Cesare, E., G. Cariello, F. Marchese, O. Michelini, A. Costanzi, A. Catalucci, A. Splendiani and C. Masciocchi. "[Superparamagnetic iron oxide in the differential diagnosis of focal hepatic lesions using a 0.5-tesla magnetic resonance apparatus]." *Radiol Med (Torino)* 1998; 95(6): 593-8.
113. Finazzo, M., M. Midiri, C. Gallo, T. V. Bartolotta and A. Luca. "[Focalliver[®] lesions. A comparison between magnetic resonance under base conditions and after a superparamagnetic contrast medium]." *Radiol Med (Torino)* 1998; 95(6): 599-607.
114. Jung, G., T. Krahe, H. Kugel, J. Gieseke, C. Walter and K. Lackner. "Detection of focal hepatic lesions: effects of superparamagnetic iron oxide (AMI-25) on magnetic resonance imaging of the liver using T2-weighted fast spin-echo sequences and gradient-and-spin-echo sequences at 1.0 tesla." *Invest Radio* 1998; 33(2): 61-7.
115. Lencioni, R, F. Donati, D. Cioni, A. Paolicchi, A. Cicorelli and C. Bartolozzi. "Detection of colorectal liver metastases: prospective comparison of unenhanced and ferumoxides-enhanced magnetic resonance imaging at 1.5 T, dual-phase spiral CT, and spiral CT during arterial portography." *Magma* 1998; 7(2): 76-87.

116. Semelka, R C., J. K. Lee, S. Worawattanakul, T. C. Noone, R H. Patt and S. M. Ascher. "Sequential use offerumoxide particles and gadolinium chelate for the evaluation of focalliver lesions on MRI." *J Magn Reson Imaging* 1998; 8(3): 670-4.
117. Blakeborough, A, J. Ward, D. Wilson, M. Griffiths, Y. Kajiya, J. A. Guthrie and P. J. Robinson. "Hepatic lesion detection at MR imaging: a comparative study with four sequences." *Radiology* 1997; 203(3): 759-65.
118. Deckers, F., B. Corthouts, Y. Nackaerts, O. Ozsarlak, P. M. Parizel and A M. De Schepper. "The influence of MR field strength on the detection of focal liver lesions with superparamagnetic iron oxide." *Eur Radio* 1997; 7(6): 887-92.
119. Grandin, C. B., B. E. Van Beers, S. Pauwels, R Demeure, J. Jamart and J. Pringot. "Ferumoxides and Tc-99m sulfur colloid: comparison of the tumor-toliver uptake in focal nodular hyperplasia." *J Magn Reson Imaging* 1999; 7(1): 125-9.
120. Kaci, G. M., K. D. Hagspiel and B. Marincek. "Focal nodular hyperplasia of the liver: serial MRI with Gd-DOTA, superparamagnetic iron oxide, and Gd-EOB-DTPA" *Abdom Imaging* 1997; 22(3): 264-7.
121. Oudkerk, M., A G. van den Heuvel, P. A. Wielopolski, P. 1. Schmitz, 1. H. Borel Rinkes and T. Wiggers. "Hepatic lesions: detection with ferumoxide-enhanced T1-weighted MR imaging." *Radiology* 1997; 203(2): 449-56.
-
122. Van Beers, B. E., M. Lacrosse, J. Jamart, C. Grandin, J. F. Gigot, Y. Horsmans, R Demeure and J. Pringot. "Detection and segmental allocation of malignant hepatic tumors: comparison of ferumoxides-enhanced gradient-echo and T2-weighted spin-echo MR imaging." *AJR Am J Roentgenol* 1997; 168(3): 713-7.
123. Van Gansbeke, D., T. M. Metens, C. Matos, N. Nicaise, F. Gay, H. Raeymaekers and J. Struyven. "Effects of AMI-25 on liver vessels and tumors on T1-weighted turbo- field-echo images: implications for tumor characterization." *J Magn Reson Imaging* 1999; 7(3): 482-9.
124. Seneterre, E., P. Taourel, Y. Bouvier, J. Pradel, B. Van Beers, J. P. Daures, J. Pringot, D. Mathieu and J. M. Bruel. "Detection of hepatic metastases: ferumoxides-enhanced MR imaging versus unenhanced MR imaging and CT during arterial portography." *Radiology* 1996; 200(3): 785-92.

125. Soyer, P. "Will ferumoxides-enhanced MR imaging replace CT during arterial portography in the detection of hepatic metastases? Prologue to a promising future." *Radiology* 1996; 200(3): 610-1.
126. Vogl, T. J., R Hammerstingl, W. Schwarz, M. G. Mack, P. K. Muller, W. Pegios, H. Keck, A. Eibl-Eibesfeldt, J. Hoelzl, B. Woessmer, C. Bergman and R Felix. "Superparamagnetic iron oxide-enhanced versus gadolinium-enhanced MR imaging for differential diagnosis of focalliver lesions." *Radiology* 1996; 198(3): 881-7.
127. Grandin, C., B. E. Van Beers, A. Robert, J. F. Gigot, A. Geubel and J. Pringot. "Benign hepatocellular tumors: MRI after superparamagnetic iron oxide administration." *J Comput Assist Tomogr* 1995; 19(3): 412-8.
128. Hagspiel, K. D., K. F. Neidl, A. C. Eichenberger, W. Weder and B. Marincek. "Detection of liver metastases: comparison of superparamagnetic iron oxide-enhanced and unenhanced MR imaging at 1.5 T with dynamic CT, intraoperative US, and percutaneous US." *Radiology* 1999; 196(2): 471-8.
129. Ros, P. R, P. C. Freeny, S. E. Harms, S. E. Seltzer, P. L. Davis, T. W. Chan, A. E. Stillman, L. R Muroff, V. M. Runge, M. A. Nissenbaum and et al. "Hepatic MR imaging with ferumoxides: a multicenter clinical trial of the safety and efficacy in the detection of focal hepatic lesions." *Radiology* 1995; 196(2): 481-8.
130. Schwartz, L. H., S. E. Seltzer, C. M. Tempany, S. G. Silverman, D. R Piwnica-Worms, D. F. Adams, L. Herman, L. A. Herman and R Hooshmand. "Superparamagnetic iron oxide hepatic MR imaging: efficacy and safety using conventional and fast spin-echo pulse sequences." *J Magn Reson Imaging* 1995; 5(5): 566-70.
131. Weissleder, R "Liver MR imaging with iron oxides: toward consensus and clinical practice." *Radiology* 1994; 193(3): 593-5.
132. Winter, T. C., 3rd, P. C. Freeny, H. V. Nghiem and C. R Thomas, Jr. "Utility of magnetization prepared GRE MRI for the detection of focalliver lesions." *Magn Reson Imaging* 1994; 12(5): 733-42.
133. Yamamoto, H., Y. Yamashita, S. Yoshimatsu, Y. Baba, Y. Hatanaka, R Murakami, T. Nishiharu, M. Takahashi, Y. Higashida and N. Moribe. "Hepatocellular carcinoma in cirrhotic livers: detection with unenhanced and iron oxide-enhanced MR imaging." *Radiology* 1995; 195(1): 106-12.

134. Yamamoto, K., T. Shimizu, K. Hiraishi, K. Ashina, A. Sagami, K. Aratake, H. Maeda, R. Matsui, T. Kawai and I. Narabayashi. "[Evaluation of AMI-25 enhanced MR imaging and enhanced helical CT for liver tumors]." *Nippon Igaku Hoshasen Gakkai Zasshi* 1995; 55(1): 1-6.
135. Bellin, M. F., S. Zaim, E. Auberton, G. Sarfati, J. J. Duron, D. Khayat and J. Grellet. "Liver metastases: safety and efficacy of detection with superparamagnetic iron oxide in MR imaging." *Radiology* 1994; 193(3): 657-63.
136. Denys, A., L. Arrive, V. Servois, B. Dubray, D. Najmark, A. Sibert and Y. Menu. "Hepatic tumors: detection and characterization at 1-T MR imaging enhanced with AMI-25." *Radiology* 1994; 193(3): 665-9.
137. Duda, S. H., M. Laniado, A. F. Kopp, E. Gronewaller, K. P. Aicher, P. Pavone, E. Jehle and C. D. Claussen. "Superparamagnetic iron oxide: detection of focalliver lesions at high- field-strength MR imaging." *J Magn Reson Imaging* 1994; 4(3): 309-14.
138. Grangier, C., J. Tourniaire, G. Mentha, R. Schiau, N. Howarth, A. Chachuat, M. Grossholz and F. Terrier. "Enhancement of liver hemangiomas on T1-weighted MR SE images by superparamagnetic iron oxide particles." *J Comput Assist Tomogr* 1994; 18(6): 888-96.
139. Halavaara, J. T., A. E. Lamminen, S. Bondestam, C. G. Standertskjold-Nordenstam and L. M. Hamberg. "Detection of focalliver lesions with superparamagnetic iron oxide: value of STIR and SE imaging." *J Comput Assist Tomogr* 1994; 18(6): 897-904.
140. Ward, J., K. S. Naik, J. A. Guthrie, D. Wilson and P. J. Robinson. "Hepatic lesion detection: comparison of MR imaging after the administration of superparamagnetic iron oxide with dual-phase CT by using alternative-free response receiver operating characteristic analysis." *Radiology* 1999; 210(2): 459-66.
141. Janice Ward, Philip J. Robinson, J. Ashley Guthrie, Susan Downing, Daniel Wilson, J. Peter A. Lodge, K. Rajendra Prasad, Giles J. Toogood, and Judith I. Wyatt Liver Metastases in Candidates for Hepatic Resection: Comparison HelicalCT and Gadolinium- and SPIO-enhanced MR Imaging. *Radiology* 2005;237 170-180
142. De Vuysere, S., W. Van Steenberghe, R. Aerts, H. Van Hauwaert, D. Van Beckevoort and L. Van Hoe. "Intrahepatic splenosis: imaging features." *Abdom Imaging* 2000; 25(2): 187-9.

143. Hundt, W., R. Petsch, T. Helmberger and M. Reiser. "Effect of superparamagnetic iron oxide on bone marrow." 2000; Eur Radiol10(9): 1495500.
144. Vande Berg, B. C., F. E. Lecouvet, J. P. Kanku, J. Jamart, B. E. Van Beers, B. Maldague and J. Malghem. "Ferumoxides-enhanced quantitative magnetic resonance imaging of the normal and abnormal bone marrow: preliminary assessment." J Magn Reson Imaging 1999; 9(2): 322-8.
145. Schmitz, S. A, 1. Albrecht, K. Jensen and K. J. Wolf. "[Superparamagnetic iron oxide enhanced MR angiography of the portal vein system]." Rofo Fortschr Geb Rontgenstr Neuen Bildgeb Verfahr 2000; 172(1): 51-4.
146. Schmitz, S. A, T. Albrecht and K. J. Wolf. "MR angiography with superparamagnetic iron oxide: feasibility study." Radiology 1999; 213(2): 603-7.
147. Wielopolski, P. A, R. J. van Geuns, P. J. de Feyter and M. Oudkerk. "Breath-hold coronary MR angiography with volume-targeted imaging." Radiology 1998; 209(1): 209-19.
148. Helmberger, T., M. Gregor, N. Holzknicht, H. Rau, J. Scheidler and M. Reiser. "[Effects of biphasic spiral CT, conventional and iron oxide enhanced MRI on therapy and therapy costs in patients with focalliver lesions]." Rofo Fortschr Geb Rontgenstr Neuen Bildgeb Verfahr 2000; 172(3): 251-9.
149. Schultz, J. F., J. D. BeU, R. M. Goldstein, J. A Kuhn and T. M. McCarty. "Hepatic tumor imaging using iron oxide MRI: comparison with computed tomography, clinical impact, and cost analysis." Ann Surg Onco11999; 6(7): 691-8.
150. David A Bluemke, Dushyant Sahani, Marco Amendola, Thomas Balzer, Josy Breuer, Jeffrey J. Brown, David D. Casalino, Peter L. Davis, Isaac R. Francis, Glenn Krinsky, Fred T. Lee, Jr, David Lu, Erik K. Paulson, Lawrence H. Schwartz, Evan S. Siegelman for the Group. Efficacy and Safety of MR Imaging with Liver-specific Contrast Agent: U.S. Multicenter Phase 111 Study. Radiology 2005;237 89-98.

6. APENDICE

6.1 Publicaciones Recientes sobre la Utilidad del OHSP en Investigación Básica y Clínica y en Aplicaciones Diagnósticas

- 1: Thorek DL, Chen AK, Czupryna J, Tsourkas A. Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticle Probes for Molecular Imaging. *Ann Biomed Eng.* 2006 Feb 16; [Epub ahead of print]
- 2: Nasu K, Kuroki Y, Nawano S, Kuroki S, Tsukamoto T, Yamamoto S, Motoori K, Ueda T. Hepatic Metastases: Diffusion-weighted Sensitivity-encoding versus SPIO-enhanced MR Imaging. *Radiology.* 2006 Feb 21; [Epub ahead of print]
- 3: Thunemann AF, Schutt D, Kaufner L, Pison U, Mohwald H. Maghemite Nanoparticles Protectively Coated with Poly(ethylene imine) and Poly(ethylene oxide)-block-poly(glutamic acid). *Langmuir.* 2006 Feb 28;22(5):2351-2357.
- 4: Onishi H, Murakami T, Kim T, Hori M, Iannaccone R, Kuwabara M, Abe H, Nakata S, Osuga K, Tomoda K, Passariello R, Nakamura H. Hepatic Metastases: Detection with Multi-Detector Row CT, SPIO-enhanced MRI imaging, and Both Techniques Combined. *Radiology.* 2006 Feb 16; [Epub ahead of print]
- 5: Pintaske J, Muller-Bierl B, Schick F. Effect of Spatial Distribution of Magnetic Dipoles on Larmor Frequency Distribution and MR Signal Decay - a Numerical Approach Under Static Dephasing Conditions. *MAGMA.* 2006 Feb;19(1):46-53. Epub 2006 Feb 10.
- 6: Xu H, Kong X, Xiong Y, Zhang X. MR features of regenerative nodules and dysplastic nodules in the cirrhotic liver. *J Huazhong Univ Sci Technol Med Sci.* 2005;25(5):601-3.
- 7: Kim YK, Ko SW, Hwang SB, Kim CS, Yu HC. Detection and characterization of liver metastases: 16-slice multidetector computed tomography versus superparamagnetic iron oxide-enhanced magnetic resonance imaging. *Eur Radiol.* 2006 Feb 2;17(2):1-9 [Epub ahead of print]
- 8: Lebel RM, Menon RS, Bowen CV. Relaxometry model of strong dipolar perturbers for balanced-SSFP: Application to quantification of SPIO loaded cells. *Magn Reson Med.* 2006 Mar;55(3):583-91.
- 9: Chang JM, Lee JM, Lee MW, Choi JY, Kim SH, Lee JY, Han JK, Choi BI. Superparamagnetic iron oxide-enhanced liver magnetic resonance imaging:

comparison of 1.5 T and 3.0 T imaging for detection of focal malignant liver lesions. *Invest Radiol.* 2006 Feb;41(2):168-74.

10: Tanimoto A, Kuribayashi S. Application of superparamagnetic iron oxide to imaging of hepatocellular carcinoma. *Eur J Radiol.* 2006 Jan 13; [Epub ahead of print]

11: Siglienti I, Bendszus M, Kleinschnitz C, Stoll G. Cytokine profile of iron-laden macrophages: Implications for cellular magnetic resonance imaging. *J Neuroimmunol.* 2005 Dec 24; [Epub ahead of print]

12: Inoue T, Kudo M, Watai R, Pei Z, Kawasaki T, Minami Y, Chung H, Fukunaga T, Awai K, Maenishi O. Differential diagnosis of nodular lesions in cirrhotic liver by post-vascular phase contrast-enhanced US with Levovist: comparison with superparamagnetic iron oxide magnetic resonance images. *J Gastroenterol.* 2005 Dec;40(12):1139-47.

13: Hauger O, Frost EE, van Heeswijk R, Deminiere C, Xue R, Delmas Y, Combe C, Moonen CT, Grenier N, Bulte JW. MR evaluation of the glomerular homing of magnetically labeled mesenchymal stem cells in a rat model of nephropathy. *Radiology.* 2006 Jan;238(1):200-10.

14: Kim YK, Kwak HS, Kim CS, Chung GH, Han YM, Lee JM. Hepatocellular carcinoma in patients with chronic liver disease: comparison of SPIO-enhanced MR imaging and 16-detector row CT. *Radiology.* 2006 Feb;238(2):531-41. Epub 2005 Dec 21.

15: Tanimoto A, Kuribayashi S. Hepatocyte-targeted MR contrast agents: contrast enhanced detection of liver cancer in diffusely damaged liver. *Magn Reson Med Sci.* 2005;4(2):53-60.

16: Yano S, Kuroda S, Shichinohe H, Hida K, Iwasaki Y. Do bone marrow stromal cells proliferate after transplantation into mice cerebral infarct?—a double labeling study. *Brain Res.* 2005 Dec 14;1065(1-2):60-7.

17: Inada M, Kita K, Kondo F, Saito H, Kimura M, Maruyama H, Fukuda H, Yoshikawa M, Matsutani S, Ebara M, Saisho H, Sugano I. Large regenerative nodule perfused by the portal vein. *J Gastroenterol Hepatol.* 2005 Nov;20(11):1794-8.

18: Arbab AS, Yocum GT, Rad AM, Khakoo AY, Fellowes V, Read EJ, Frank JA. Labeling of cells with ferumoxides-protamine sulfate complexes does not inhibit function or differentiation capacity of hematopoietic or mesenchymal stem cells. *NMR Biomed.* 2005 Dec;18(8):553-9.

- 19: Modo M, Hoehn M, Bulte JW. Cellular MR imaging. *Mol Imaging*. 2005 Jul-Sep;4(3):143-64. Review.
- 20: Lutz AM, Willmann JK, Goepfert K, Marincek B, Weishaupt D. Hepatocellular carcinoma in cirrhosis: enhancement patterns at dynamic gadolinium- and superparamagnetic iron oxide-enhanced T1-weighted MR imaging. *Radiology*. 2005 Nov;237(2):520-8. Epub 2005 Sep 28.
- 21: Ward J, Robinson PJ, Guthrie JA, Downing S, Wilson D, Lodge JP, Prasad KR, Toogood GJ, Wyatt JI. Liver metastases in candidates for hepatic resection: comparison of helical CT and gadolinium- and SPIO-enhanced MR imaging. *Radiology*. 2005 Oct;237(1):170-80. Epub 2005 Aug 26.
- 22: Bipat S, van Leeuwen MS, Comans EF, Pijl ME, Bossuyt PM, Zwinderman AH, Stoker J. Colorectal liver metastases: CT, MR imaging, and PET for diagnosis—meta-analysis. *Radiology*. 2005 Oct;237(1):123-31. Epub 2005 Aug 11.
- 23: Ziener CH, Bauer WR, Jakob PM. Transverse relaxation of cells labeled with magnetic nanoparticles. *Magn Reson Med*. 2005 Sep;54(3):702-6.
- 24: Miyoshi S, Flexman JA, Cross DJ, Maravilla KR, Kim Y, Anzai Y, Oshima J, Minoshima S. Transfection of Neuroprogenitor Cells with Iron Nanoparticles for Magnetic Resonance Imaging Tracking: Cell Viability, Differentiation, and Intracellular Localization. *Mol Imaging Biol*. 2005 Aug 4;:1-10 [Epub ahead of print]
- 25: Sun R, Dittrich J, Le-Huu M, Mueller MM, Bedke J, Kartenbeck J, Lehmann WD, Krueger R, Bock M, Huss R, Seliger C, Grone HJ, Misselwitz B, Semmler W, Kiessling F. Physical and biological characterization of superparamagnetic iron oxide- and ultrasmall superparamagnetic iron oxide-labeled cells: a comparison. *Invest Radiol*. 2005 Aug;40(8):504-13.
- 26: Ittrich H, Lange C, Dahnke H, Zander AR, Adam G, Nolte-Ernsting C. [Labeling of mesenchymal stem cells with different superparamagnetic particles of iron oxide and detectability with MRI at 3T] *Rofo*. 2005 Aug;177(8):1151-63.
- 27: Arbab AS, Wilson LB, Ashari P, Jordan EK, Lewis BK, Frank JA. A model of lysosomal metabolism of dextran coated superparamagnetic iron oxide (SPIO) nanoparticles: implications for cellular magnetic resonance imaging. *NMR Biomed*. 2005 Oct;18(6):383-9.
- 28: Brazdeikis A, Chu CW, Cherukuri P, Litovsky S, Naghavi M. Changes in magnetocardiogram patterns of infarcted-reperfused myocardium after injection of superparamagnetic contrast media. *Neurol Clin Neurophysiol*. 2004 Nov 30;2004:16.

29: Pintaske J, Helms G, Bantleon R, Kehlbach R, Wiskirchen J, Claussen CD, Schick F. [A preparation technique for quantitative investigation of SPIO-containing solutions and SPIO-labelled cells by MRI] *Biomed Tech (Berl)*. 2005 Jun;50(6):174-80.

30: Toma A, Otsuji E, Kuriu Y, Okamoto K, Ichikawa D, Hagiwara A, Ito H, Nishimura T, Yamagishi H. Monoclonal antibody A7-superparamagnetic iron oxide as contrast agent of MR imaging of rectal carcinoma. *Br J Cancer*. 2005 Jul 11;93(1):131-6.

31: Dunn EA, Weaver LC, Dekaban GA, Foster PJ. Cellular imaging of inflammation after experimental spinal cord injury. *Mol Imaging*. 2005 Jan-Mar;4(1):53-62.

32: Nolte I, Vince GH, Maurer M, Herbold C, Goldbrunner R, Solymosi L, Stoll G, Bendszus M. Iron particles enhance visualization of experimental gliomas with high-resolution sonography. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2005 Jun-Jul;26(6):1469-74.

33: Magnitsky S, Watson DJ, Walton RM, Pickup S, Bulte JW, Wolfe JH, Poptani H. In vivo and ex vivo MRI detection of localized and disseminated neural stem cell grafts in the mouse brain. *Neuroimage*. 2005 Jul 1;26(3):744-54. Epub 2005 Apr 7.

34: Hyslop WB, Balci NC, Semelka RC. Future horizons in MR imaging. *Magn Reson Imaging Clin N Am*. 2005 May;13(2):211-24. Review.

35: Kleinschnitz C, Schutz A, Nolte I, Hom T, Frank M, Solymosi L, Stoll G, Bendszus M. In vivo detection of developing vessel occlusion in photothrombotic ischemic brain lesions in the rat by iron particle enhanced MRI. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2005 Nov;25(11):1548-55.

36: Naganawa S, Sato C, Nakamura T, Kumada H, Ishigaki T, Miura S, Maruyama K, Takizawa O. Diffusion-weighted images of the liver: comparison of tumor detection before and after contrast enhancement with superparamagnetic iron oxide. *J Magn Reson Imaging*. 2005 Jun;21(6):836-40.

37: Tanimoto A, Wakabayashi G, Shinmoto H, Nakatsuka S, Okuda S, Kuribayashi S. Superparamagnetic iron oxide-enhanced MR imaging for focal hepatic lesions: a comparison with CT during arteriography plus CT during hepatic arteriography. *J Gastroenterol*. 2005 Apr;40(4):371-80.

38: Dahnke H, Schaeffter T. Limits of detection of SPIO at 3.0 T using T2 relaxometry. *Magn Reson Med*. 2005 May;53(5):1202-6.

- 39: Frank JA, Anderson SA, Kalsih H, Jordan EK, Lewis BK, Yocum GT, Arbab AS. Methods for magnetically labeling stem and other cells for detection by in vivo magnetic resonance imaging. *Cytotherapy*. 2004;6(6):621-5. Review.
- 40: Matuszewski L, Persigehl T, Wall A, Schwindt W, Tombach B, Fobker M, Poremba C, Ebert W, Heindel W, Bremer C. Cell tagging with clinically approved iron oxides: feasibility and effect of lipofection, particle size, and surface coating on labeling efficiency. *Radiology*. 2005 Apr;235(1):155-61. Epub 2005 Mar 4.
- 41: Tanimoto A, Wakabayashi G, Shinmoto H, Okuda S, Kuribayashi S, Mukai M. The mechanism of ring enhancement in hepatocellular carcinoma on superparamagnetic iron oxide-enhanced T1-weighted images: an investigation into peritumoral Kupffer cells. *J Magn Reson Imaging*. 2005 Mar;21(3):230-6.
- 42: Gaffke G, Stroszczynski C, Gnauck M, Jost D, Chmelik P, Ludwig WD, Gretschel S, Felix R. [Differential diagnosis of intra- and perilienal tumors by use of a RES-specific MRI contrast agent] *Rontgenpraxis*. 2004;55(5):192-9.
- 43: Ozaki M, Hata H, Kubota K, Mine K, Hanawa H, Aizawa M, Suzuki N. [Usefulness of the FRFSE method in SPIO-MRI] *Nippon Hoshasen Gijutsu Gakkai Zasshi*. 2005 Jan 20;61(1):88-95.
- 44: Heyn C, Bowen CV, Rutt BK, Foster PJ. Detection threshold of single SPIO-labeled cells with FIESTA. *Magn Reson Med*. 2005 Feb;53(2):312-20.
- 45: Kim YK, Lee JM, Kim CS, Chung GH, Kim CY, Kim IH. Detection of liver metastases: gadobenate dimeglumine-enhanced three-dimensional dynamic phases and one-hour delayed phase MR imaging versus superparamagnetic iron oxide-enhanced MR imaging. *Eur Radiol*. 2005 Feb;15(2):220-8. Epub 2004 Dec 29.
- 46: Rogers WJ, Basu P. Factors regulating macrophage endocytosis of nanoparticles: implications for targeted magnetic resonance plaque imaging. *Atherosclerosis*. 2005 Jan;178(1):67-73.
- 47: Rust AJ, Burgess RM, Brownawell BJ, McElroy AE. Relationship between metabolism and bioaccumulation of benzo[a]pyrene in benthic invertebrates. *Environ Toxicol Chem*. 2004 Nov;23(11):2587-93.
- 48: Kostura L, Kraitchman DL, Mackay AM, Pittenger MF, Bulte JW. Feridex labeling of mesenchymal stem cells inhibits chondrogenesis but not adipogenesis or osteogenesis. *NMR Biomed*. 2004 Nov;17(7):513-7.
- 49: Bulte JW, Kraitchman DL. Iron oxide MR contrast agents for molecular and cellular imaging. *NMR Biomed*. 2004 Nov;17(7):484-99. Review.

50: Dunning MD, Lakatos A, Loizou L, Kettunen M, French-Constant C, Brindle KM, Franklin RJ. Superparamagnetic iron oxide-labeled Schwann cells and olfactory ensheathing cells can be traced in vivo by magnetic resonance imaging and retain functional properties after transplantation into the CNS. *J Neurosci*. 2004 Nov 3;24(44):9799-810.

51: Tombach B, Reimer P, Bremer C, Allkemper T, Engelhardt M, Mahler M, Ebert W, Heindel W. First-pass and equilibrium-MRA of the aortoiliac region with a superparamagnetic iron oxide blood pool MR contrast agent (SH U 555 C): results of a human pilot study. *NMR Biomed*. 2004 Nov;17(7):500-6.

52: Zhang Z, van den Bos EJ, Wielopolski PA, de Jong-Popijus M, Duncker DJ, Krestin GP. High-resolution magnetic resonance imaging of iron-labeled myoblasts using a standard 1.5-T clinical scanner. *MAGMA*. 2004 Dec;17(3-6):201-9. Epub 2004 Oct 28.

53: Himes N, Min JY, Lee R, Brown C, Shea J, Huang X, Xiao YF, Morgan JP, Burstein D, Oettgen P. In vivo MRI of embryonic stem cells in a mouse model of myocardial infarction. *Magn Reson Med*. 2004 Nov;52(5):1214-9.

54: Kim YK, Kim CS, Kwak HS, Lee JM. Three-dimensional dynamic liver MR imaging using sensitivity encoding for detection of hepatocellular carcinomas: comparison with superparamagnetic iron oxide-enhanced mr imaging. *J Magn Reson Imaging*. 2004 Nov;20(5):826-37.

55: Bos C, Delmas Y, Desmouliere A, Solanilla A, Hauger O, Grosset C, Dubus I, Ivanovic Z, Rosenbaum J, Charbord P, Combe C, Bulte JW, Moonen CT, Ripoche J, Grenier N. In vivo MR imaging of intravascularly injected magnetically labeled mesenchymal stem cells in rat kidney and liver. *Radiology*. 2004 Dec;233(3):781-9. Epub 2004 Oct 14.

56: Kim MJ, Kim JH, Lim JS, Oh YT, Chung JJ, Choi JS, Lee WJ, Kim KW. Detection and characterization of focal hepatic lesions: mangafodipir vs. superparamagnetic iron oxide-enhanced magnetic resonance imaging. *J Magn Reson Imaging*. 2004 Oct;20(4):612-21.

57: Chapon C, Lemaire L, Franconi F, Marescaux L, Legras P, Denizot B, Le Jeune JJ. Assessment of myocardial viability in rats: Evaluation of a new method using superparamagnetic iron oxide nanoparticles and Gd-DOTA at high magnetic field. *Magn Reson Med*. 2004 Oct;52(4):932-6.

- 58: Jing M, Liu XQ, Liang P, Li CY, Zhang XT, Wang D, Luan Y, Liu EZ. [Labeling neural stem cells with superparamagnetic iron oxide in vitro and tracking after implantation with MRI in vivo] *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*. 2004 Aug 17;84(16):1386-9.
- 59: Yamashita Y, Morishita S, Awai K, Kawanaka K. Imaging of the liver by helical CT and MR imaging. *Intervirolgy*. 2004;47(3-5):125-33. Review.
- 60: Oweida AJ, Dunn EA, Foster PJ. Cellular imaging at 1.5 T: detecting cells in neuroinflammation using active labeling with superparamagnetic iron oxide. *Mol Imaging*. 2004 Apr;3(2):85-95.
- 61: Macarini L, Marini S, Murrone M, Ettore GC. Alterations in hepatic uptake and distribution of organ-specific superparamagnetic MRI contrast media: clinical findings and classification according to pathogenesis. *Radiol Med (Torino)*. 2004 Jul-Aug;108(1-2):92-106. English,
- 62: Anzai Y. Superparamagnetic iron oxide nanoparticles: nodal metastases and beyond. *Top Magn Reson Imaging*. 2004 Apr;15(2):103-11.
- 63: Metz S, Bonaterra G, Rudelius M, Settles M, Rummeny EJ, Daldrup-Link HE. Capacity of human monocytes to phagocytose approved iron oxide MR contrastagents in vitro. *Eur Radiol*. 2004 Oct;14(10):1851-8. Epub 2004 Jul 13.
- 64: Suzuki S, Iijima H, Moriyasu F, Sasaki S, Yanagisawa K, Miyahara T, Oguma K, Yoshida M, Horibe T, Ito N, Kakizaki D, Abe K, Tsuchiya K. Differential diagnosis of hepatic nodules using delayed parenchymal phase imaging of levovist contrast ultrasound: comparative study with SPIO-MRI. *Hepatol Res*. 2004 Jun;29(2):122-126.
- 65: Montet X, Lazeyras F, Howarth N, Mentha G, Rubbia-Brandt L, Becker CD, Vallee JP, Terrier F. Specificity of SPIO particles for characterization of liver hemangiomas using MRI. *Abdom Imaging*. 2004 Jan-Feb;29(1):60-70.
- 66: Arbab AS, Yocum GT, Wilson LB, Parwana A, Jordan EK, Kalish H, Frank JA. Comparison of transfection agents in forming complexes with ferumoxides, cell labeling efficiency, and cellular viability. *Mol Imaging*. 2004 Jan;3(1):24-32.
- 67: Arbab AS, Yocum GT, Kalish H, Jordan EK, Anderson SA, Khakoo AY, Read EJ, Frank JA. Efficient magnetic cell labeling with protamine sulfate complexed to ferumoxides for cellular MRI. *Blood*. 2004 Aug 15;104(4):1217-23. Epub 2004 Apr 20.
- 68: Kim YK, Kim CS, Lee YH, Kwak HS, Lee JM. Comparison of superparamagnetic iron oxide-enhanced and gadobenate dimeglumine-enhanced dynamic MRI for detection of small hepatocellular carcinomas. *AJR Am J Roentgenol*. 2004 May;182(5):1217-23.

69: Stoll G, Wesemeier C, Gold R, Solymosi L, Toyka KV, Bendszus M. In vivo monitoring of macrophage infiltration in experimental autoimmune neuritis by magnetic resonance imaging. *J Neuroimmunol.* 2004 Apr;149 (1-2):142-6.

70: Frohlich JM. MRI of focal nodular hyperplasia (FNH) with gadobenate dimeglumine (Gd-BOPTA) and SPIO (ferumoxides): an intra-individual comparison. *J Magn Reson Imaging.* 2004 Mar;19(3):375-6.

71: Raynal I, Prigent P, Peyramaure S, Najid A, Rebutzi C, Corot C. Macrophage endocytosis of superparamagnetic iron oxide nanoparticles: mechanisms and comparison of ferumoxides and ferumoxtran-10. *Invest Radiol.* 2004 Jan;39(1):56-63.

72: Hirohashi S, Ichikawa T, Tanimoto A, Isobe Y, Hachiya J, Saito K, Isoda H, Nishimura H, Kuwatsuru R, Gokan T, Murakami T, Nakano S, Seriu T. [Dose investigation of superparamagnetic iron oxide (SPIO) SH U 555 A in liver MR imaging] *Nippon Igaku Hoshasen Gakkai Zasshi.* 2003 Nov;63(9):539-50.

73: Arbab AS, Bashaw LA, Miller BR, Jordan EK, Lewis BK, Kalish H, Frank JA. Characterization of biophysical and metabolic properties of cells labeled with superparamagnetic iron oxide nanoparticles and transfection agent for cellular MR imaging. *Radiology.* 2003 Dec;229(3):838-46.

74: Bendszus M, Stoll G. Caught in the act: in vivo mapping of macrophage infiltration in nerve injury by magnetic resonance imaging. *J Neurosci.* 2003 Nov 26;23(34):10892-6.

75: Kleinschnitz C, Bendszus M, Frank M, Solymosi L, Toyka KV, Stoll G. In vivo monitoring of macrophage infiltration in experimental ischemic brain lesions by magnetic resonance imaging. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2003 Nov;23(11):1356-61.

76: Montet X, Lazeyras F, Howarth N, Mentha G, Rubbia-Brandt L, Becker CD, Vallee JP, Terrier F. Specificity of SPIO particles for characterization of liver hemangiomas using MRI. *Abdom Imaging.* 2003 Oct 31; [Epub ahead of print]

77: Takahama K, Amano Y, Hayashi H, Ishihara M, Kumazaki T. Detection and characterization of focal liver lesions using superparamagnetic iron oxide-enhanced magnetic resonance imaging: comparison between ferumoxides-enhanced T1-weighted imaging and delayed-phase gadolinium-enhanced T1-weighted imaging. *Abdom Imaging.* 2003 Jul-Aug;28(4):525-30.

78: Matsueda K, Inaba Y, Arai Y. [Image evaluation of liver metastases] *Nippon Geka Gakkai Zasshi*. 2003 Oct;104(10):696-700.

79: Kumano S, Murakami T, Kim T, Hori M, Okada A, Sugiura T, Noguchi Y, Kawata S, Tomoda K, Nakamura H. Using superparamagnetic iron oxide-enhanced MRI to differentiate metastatic hepatic tumors and nonsolid benign lesions. *AJR Am J Roentgenol*. 2003 Nov;181(5):1335-9.

80: Arnold P, Ward J, Wilson D, Ashley Guthrie J, Robinson PJ. Superparamagnetic iron oxide (SPIO) enhancement in the cirrhotic liver: a comparison of two doses of ferumoxides in patients with advanced disease. *Magn Reson Imaging*. 2003 Sep;21(7):695-700.

81: Arbab AS, Bashaw LA, Miller BR, Jordan EK, Bulte JW, Frank JA. Intracytoplasmic tagging of cells with ferumoxides and transfection agent for cellular magnetic resonance imaging after cell transplantation: methods and techniques. *Transplantation*. 2003 Oct 15;76(7):1123-30.

82: Kaufman CL, Williams M, Ryle LM, Smith TL, Tanner M, Ho C. Superparamagnetic iron oxide particles transactivator protein-fluorescein isothiocyanate particle labeling for in vivo magnetic resonance imaging detection of cell migration: uptake and durability. *Transplantation*. 2003 Oct 15;76(7):1043-6.

83: Heim P, Steiner P, Schoder V, Dieckmann C, Kuhlencordt R, Adam G. [Detection of liver lesions with gadolinium-enhanced VIBE sequence in comparison with SPIO-enhanced MRI] *Rofo*. 2003 Oct;175(10):1376-83.

84: Stroszczyński C, Gaffke G, Gretschel S, Rambow A, Jost D, Schlecht I, Schneider U, Schicke B, Hohenberger P, Gebauer B, Felix R. [Use of SPIO-enhanced T1- and T2-weighted images for the differentiation of liver lesions: an ROC analysis] *Rofo*. 2003 Oct;175(10):1368-75.

85: Kwak HS, Lee JM, Kim CS. Preoperative detection of hepatocellular carcinoma: comparison of combined contrast-enhanced MR imaging and combined CT during arterial portography and CT hepatic arteriography. *Eur Radiol*. 2004 Mar;14(3):447-57. Epub 2003 Oct 3.

86: Ward J, Guthrie JA, Wilson D, Arnold P, Lodge JP, Toogood GJ, Wyatt JJ, Robinson PJ. Colorectal hepatic metastases: detection with SPIO-enhanced breath-hold MR imaging--comparison of optimized sequences. *Radiology*. 2003 Sep;228(3):709-18. Epub 2003 Jul 29.

87: Kim MJ, Kim JH, Chung JJ, Park MS, Lim JS, Oh YT. Focal hepatic lesions: detection and characterization with combination gadolinium- and superparamagnetic iron oxide-enhanced MR imaging. *Radiology*. 2003 Sep;228(3):719-26. Epub 2003 Jul 24.

- 88: Zhang XH, Liang BL, Huang SQ. [Correlation between SPIO-enhanced magnetic resonance imaging (MRI) and histological grading in hepatocellular carcinoma] *Ai Zheng*. 2003 Jul;22(7):734-8.
- 89: Frank JA, Miller BR, Arbab AS, Zywicke HA, Jordan EK, Lewis BK, Bryant LH Jr, Bulte JW. Clinically applicable labeling of mammalian and stem cells by combining superparamagnetic iron oxides and transfection agents. *Radiology*. 2003 Aug;228(2):480-7. Epub 2003 Jun 20.
- 90: Taupitz M, Schmitz S, Hamm B. [Superparamagnetic iron oxide particles: current state and future development] *Rofo*. 2003 Jun;175(6):752-65. Review.
- 91: Furuhashi T, Okita K, Tsuruma T, Hata F, Kimura Y, Katsuramaki T, Mukaiya M, Hirokawa N, Ichimura T, Yama N, Koito K, Sasaki K, Hirata K. Efficacy of SPIO-MR imaging in the diagnosis of liver metastases from colorectal carcinomas. *Dig Surg*. 2003;20(4):321-5. Epub 2003 Jun 12.
- 92: Beckmann N, Falk R, Zurbrugg S, Dawson J, Engelhardt P. Macrophage infiltration into the rat knee detected by MRI in a model of antigen-induced arthritis. *Magn Reson Med*. 2003 Jun;49(6):1047-55.
- 93: Ahrens ET, Feili-Hariri M, Xu H, Genove G, Morel PA. Receptor-mediated endocytosis of iron-oxide particles provides efficient labeling of dendritic cells for in vivo MR imaging. *Magn Reson Med*. 2003 Jun;49(6):1006-13.
- 94: Grazioli L, Morana G, Kirchin MA, Caccia P, Romanini L, Bondioni MP, Procacci C, Chiesa A. MRI of focal nodular hyperplasia (FNH) with gadobenate dimeglumine (Gd-BOPTA) and SPIO (ferumoxides): an intra-individual comparison. *J Magn Reson Imaging*. 2003 May;17(5):593-602.
- 95: Foster-Gareau P, Heyn C, Alejski A, Rutt BK. Imaging single mammalian cells with a 1.5 T clinical MRI scanner. *Magn Reson Med*. 2003 May;49(5):968-71.
- 96: Nakata Y, Yoshida H, Shiono T, Asai S, Araki T. [Intrahepatic splenosis: a case report] *Nippon Igaku Hoshasen Gakkai Zasshi*. 2003 Feb;63(3):111-3.
- 97: Lee JM, Kim IH, Kwak HS, Youk JH, Han YM, Kim CS. Detection of small hypervascular hepatocellular carcinomas in cirrhotic patients: comparison of superparamagnetic iron oxide-enhanced MR imaging with dual-phase spiral CT. *Korean J Radiol*. 2003 Jan-Mar;4(1):1-8.
- 98: Koh KC, Kim HJ, Choe WH, Chae GS, Choi MS, Lee JH, Paik SW, Rhee JC, Choi KW. [The clinical usefulness of SPIO-MRI in detection and staging of hepatocellular carcinoma] *Taehan Kan Hakhoe Chi*. 2003 Mar;9(1):17-24.

99: Brauer M. In vivo monitoring of apoptosis. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2003 Apr;27(2):323-31.

100: Litovsky S, Madjid M, Zarrabi A, Casscells SW, Willerson JT, Naghavi M. Superparamagnetic iron oxide-based method for quantifying recruitment of monocytes to mouse atherosclerotic lesions in vivo: enhancement by tissue necrosis factor-alpha, interleukin-1beta, and interferon-gamma. *Circulation*. 2003 Mar 25;107(11):1545-9.

101: Vogl TJ, Schwarz W, Blume S, Pietsch M, Shamsi K, Franz M, Lobeck H, Balzer T, del Tredici K, Neuhaus P, Felix R, Hammerstingl RM. Preoperative evaluation of malignant liver tumors: comparison of unenhanced and SPIO (Resovist)-enhanced MR imaging with biphasic CTAP and intraoperative US. *Eur Radiol*. 2003 Feb;13(2):262-72. Epub 2002 Sep 10.

102: Chapon C, Franconi F, Lemaire L, Marescaux L, Legras P, Saint-Andre JP, Denizot B, Le Jeune JJ. High field magnetic resonance imaging evaluation of superparamagnetic iron oxide nanoparticles in a permanent rat myocardial infarction. *Invest Radiol*. 2003 Mar;38(3):141-6.

103: Beckmann N, Cannet C, Fringeli-Tanner M, Baumann D, Pally C, Bruns C, Zerwes HG, Andriambelison E, Bigaud M. Macrophage labeling by SPIO as an early marker of allograft chronic rejection in a rat model of kidney transplantation. *Magn Reson Med*. 2003 Mar;49(3):459-67.

104: Lucidarme O, Baleston F, Cadi M, Bellin MF, Charlotte F, Ratziu V, Grenier PA. Non-invasive detection of liver fibrosis: Is superparamagnetic iron oxide particle-enhanced MR imaging a contributive technique? *Eur Radiol*. 2003 Mar;13(3):467-74. Epub 2002 Sep 13.

105: Wu YK, Xu YK, Zhang JN, Wu FL, Liu XY, Huang QL. [Magnetic resonance imaging enhanced by superparamagnetic iron oxide particles in detecting lymph node metastasis of tumors: an experimental study] *Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao*. 2003 Jan;23(1):62-4.

106: Kasugai H, Katayama N, Sakai S, Yamakawa T. [Evaluation of the diagnostic efficacy of SPIO enhanced MRI in patients with focal hepatic lesions--comparison with CECT and CTAP] *Gan To Kagaku Ryoho*. 2002 Nov;29(12):2311-5.

107: Liu X, Xu YK, Huang QL, Wu YK. [Superparamagnetic iron oxide-enhanced magnetic resonance imaging of hepatocellular carcinoma in rats] *Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao*. 2002 Dec;22(12):1061-5.

108: Sun Y, Liang BL, Zhang XH, Shen J, Xie BK. [Magnetic resonance imaging manifestation of 500 patients with primary hepatic cell carcinoma] *Ai Zheng*. 2002 May;21(5):509-13.

109: Hori M, Murakami T, Kim T, Tsuda K, Takahashi S, Okada A, Takamura M, Nakamura H. Detection of hypervascular hepatocellular carcinoma: comparison of SPIO-enhanced MRI with dynamic helical CT. *J Comput Assist Tomogr*. 2002 Sep-Oct;26(5):701-10.

110: Wen G, Zhang XL, Chang RM, Xia Q, Cang P, Zhang Y. Superparamagnetic iron oxide (Feridex)-enhanced MRI in diagnosis of focal hepatic lesions. *Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao*. 2002 May;22(5):451-2.

111: Bone D, Vieitez JM. Spionidae (Annelida: Polychaeta) from the Parque Nacional Morrocoy, Falcon, Venezuela. *Rev Biol Trop*. 2002 Mar;50(1):69-75.

112: Gould SW, Martin S, Agarwal T, Patel B, Gedroyc W, Darzi A. Image-guided surgery for anal fistula in a 0.5T interventional MRI unit. *J Magn Reson Imaging*. 2002 Sep;16(3):267-76.

113: Ward J, Robinson PJ. How to detect hepatocellular carcinoma in cirrhosis. *Eur Radiol*. 2002 Sep;12(9):2258-72. Epub 2002 May 8.

114: Fujii H, Yoshikawa K, Berliner LJ. In vivo fate of superparamagnetic iron oxides during sepsis. *Magn Reson Imaging*. 2002 Apr;20(3):271-6.

115: Bowen CV, Zhang X, Saab G, Gareau PJ, Rutt BK. Application of the static dephasing regime theory to superparamagnetic iron-oxide loaded cells. *Magn Reson Med*. 2002 Jul;48(1):52-61.

116: Stoker J, Romijn MG, de Man RA, Brouwer JT, Weverling GJ, van Muiswinkel JM, Zondervan PE, Lameris JS, Ijzermans JN. Prospective comparative study of spiral computer tomography and magnetic resonance imaging for detection of hepatocellular carcinoma. *Gut*. 2002 Jul;51(1):105-7.

117: Lind K, Kresse M, Debus NP, Muller RH. A novel formulation for superparamagnetic iron oxide (SPIO) particles enhancing MR lymphography: comparison of physicochemical properties and the in vivo behaviour. *J Drug Target*. 2002 May;10(3):221-30.

118: Takeshita K, Nagashima I, Frui S, Takada K, Yamauchi T, Harasawa A, Oba H, Kohtake H, Tanaka H, Suzuki S. Effect of superparamagnetic iron oxide-enhanced MRI of the liver with hepatocellular carcinoma and hyperplastic nodule. *J Comput Assist Tomogr*. 2002 May-Jun;26(3):451-5.

119: Halavaara J, Tervahartiala P, Isoniemi H, Hockerstedt K. Efficacy of sequential use of superparamagnetic iron oxide and gadolinium in liver MR imaging. *Acta Radiol.* 2002 Mar;43(2):180-5.

120: Lindl K, Kresse M, Muller RH. Evaluation of desorption of proteins adsorbed to hydrophilic surfaces by two-dimensional electrophoresis. *Proteomics.* 2001 Sep;1(9):1059-66.

121: Kato N, Ihara S, Tsujimoto T, Miyazawa T. Effect of resovist on rats with different severities of liver cirrhosis. *Invest Radiol.* 2002 May;37(5):292-8.

122: Verhoef C, Valkema R, de Man RA, Krenning EP, Yzermans JN. Fluorine-18 FDG imaging in hepatocellular carcinoma using positron coincidence detection and single photon emission computed tomography. *Liver.* 2002 Feb;22(1):51-6.

123: Tanimoto A, Yuasa Y, Shinmoto H, Jinzaki M, Imai Y, Okuda S, Kuribayashi S. Superparamagnetic iron oxide-mediated hepatic signal intensity change in patients with and without cirrhosis: pulse sequence effects and Kupffer cell function. *Radiology.* 2002 Mar;222(3):661-6.

124: Zheng WW, Zhou KR, Chen ZW, Shen JZ, Chen CZ, Zhang SJ. Characterization of focal hepatic lesions with SPIO-enhanced MRI. *World J Gastroenterol.* 2002 Feb;8(1):82-6.

125: Balci NC, Sirvanci M, Duran C, Akinci A. Hepatic adenomatosis: MRI demonstration with the use of superparamagnetic iron oxide. *Clin Imaging.* 2002 Jan-Feb;26(1):35-8.

126: Hidaka H, Kokubu S, Ono K. [Radiofrequency ablation] *Gan To Kagaku Ryoho.* 2001 Dec;28(13):1955-61.

127: Mack MG, Balzer JO, Straub R, Eichler K, Vogl TJ. Superparamagnetic iron oxide-enhanced MR imaging of head and neck lymph nodes. *Radiology.* 2002 Jan;222(1):239-44.

128: Taupitz M, Schnorr J, Wagner S, Abramjuk C, Pilgrimm H, Kivelitz D, Schink T, Hansel J, Laub G, Hunigen H, Hamm B. Coronary MR angiography: experimental results with a monomer-stabilized blood pool contrast medium. *Radiology.* 2002 Jan;222(1):120-6.

129: Alger JR, Harreld JH, Chen S, Mintorovitch J, Lu DS. Time-to-echo optimization for spin echo magnetic resonance imaging of liver metastasis using superparamagnetic iron oxide particles. *J Magn Reson Imaging.* 2001 Nov;14(5):586-94.

130: Sasaki K, Nagaoka S, Honma Y, Hayashida M. [Telangiectatic focal nodular hyperplasia: a case report] *Nippon Igaku Hoshasen Gakkai Zasshi*. 2001 Oct;61(12):688-90.

131: Ward J, Robinson PJ. Combined use of MR contrast agents for evaluating liver disease. *Magn Reson Imaging Clin N Am*. 2001 Nov;9(4):767-802,

132: Tanimoto A. [Liver-specific MR contrast agents: current status and prospects] *Nippon Igaku Hoshasen Gakkai Zasshi*. 2001 Sep;61(10):525-33.

133: Lind K, Kresse M, Muller RH. Comparison of protein adsorption patterns onto differently charged hydrophilic superparamagnetic iron oxide particles obtained in vitro and ex vivo. *Electrophoresis*. 2001 Oct;22(16):3514-21.

134: Schmitz SA, Taupitz M, Wagner S, Wolf KJ, Beyersdorff D, Hamm B. Magnetic resonance imaging of atherosclerotic plaques using superparamagnetic iron oxide particles. *J Magn Reson Imaging*. 2001 Oct;14(4):355-61.

135: Beissert M, Jenett M, Kessler C. [Diagnosis of space-occupying lesions of the liver. What is the value of diagnostic imaging?] *MMW Fortschr Med*. 2001 Apr 26;143(17):29-33.

136: Sugihara S, Suto Y, Kamba M, Ogawa T. Comparison of various techniques of iron oxide-enhanced breath-hold MR imaging of hepatocellular carcinoma. *Clin Imaging*. 2001 Mar-Apr;25(2):104-9.

137: Daldrup-Link HE, Reinlander C, Link TM, Richter KJ, Konemann S, Rummeny EJ. [Experimental studies of the value of SPIO for MRI of bone marrow before and after whole body irradiation] *Rofo*. 2001 Jun;173(6):547-53.

138: Tanimoto A, Oshio K, Suematsu M, Pouliquen D, Stark DD. Relaxation effects of clustered particles. *J Magn Reson Imaging*. 2001 Jul;14(1):72-7.

139: Bartolotta TV, Midiri M, Galia M, Carcione A, De Maria M, Lagalla R. [Benign hepatic tumors: MRI features before and after administration of superparamagnetic contrast media] *Radiol Med (Torino)*. 2001 Apr;101(4):219-29.

140: Saito K, Ishida J, Ito N, Kakizaki D, Kotake F, Abe K. [Dynamic MR imaging of liver lesions with superparamagnetic iron oxide (SH-U-555A)] *Nippon Igaku Hoshasen Gakkai Zasshi*. 2001 Feb;61(3):84-8.

141: Kurokawa H, Togami I, Tsunoda M, Hiraki Y. Experimental study of fast and ultrafast T2-weighted imaging sequences using AMI-25 superparamagnetic iron oxide (SPIO). *Acta Med Okayama*. 2001 Feb;55(1):41-50.

142: Lwakatare F, Yamashita Y, Nakayama M, Takahashi M. SPIO-enhanced MR imaging of focal fatty liver lesions. *Abdom Imaging*. 2001 Mar-Apr;26(2):157-60.

143: Castoldi MC, Fauda V, Scaramuzza D, Vergnaghi D. [Hepatic and hepatocarcinoma magnetic resonance: comparison of the results obtained with paramagnetic (gadolinium) and superparamagnetic (iron oxide particles) contrast media] *Radiol Med (Torino)*. 2000 Sep;100(3):160-7.

144: Yoshiokaa H, Itai Y, Saida Y, Mori K, Mori H, Okumura T. Superparamagnetic iron oxide-enhanced MR imaging for early and late radiation-induced hepatic injuries. *Magn Reson Imaging*. 2000 Nov;18(9):1079-88.

145: Araki T. SPIO-MRI in the detection of hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol*. 2000;35(11):874-6.

146: Nakamura H, Ito N, Kotake F, Mizokami Y, Matsuoka T. Tumor-detecting capacity and clinical usefulness of SPIO-MRI in patients with hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol*. 2000;35(11):849-55.

147: Maier AG, Kersting-Sommerhoff B, Reeders JW, Judmaier W, Schima W, Annweiler AA, Meusel M, Wallengren NO. Staging of rectal cancer by double-contrast MR imaging using the rectally administered superparamagnetic iron oxide contrast agent ferristene and IV gadodiamide injection: results of a multicenter phase II trial. *J Magn Reson Imaging*. 2000 Nov;12(5):651-60. Erratum in: *J Magn Reson Imaging* 2001 Mar;13(3):481.

148: Reimer P, Jahnke N, Fiebich M, Schima W, Deckers F, Marx C, Holzknacht N, Saini S. Hepatic lesion detection and characterization: value of nonenhanced MR imaging, superparamagnetic iron oxide-enhanced MR imaging, and spiral CT-ROC analysis. *Radiology*. 2000 Oct;217(1):152-8.

149: Hundt W, Petsch R, Helmberger T, Reiser M. Effect of superparamagnetic iron oxide on bone marrow. *Eur Radiol*. 2000;10(9):1495-500.

150: Mori H, Yoshioka H, Ahmadi T, Saida Y, Ohara K, Itai Y. Early radiation effects on the liver demonstrated on superparamagnetic iron oxide-enhanced T1-weighted MRI. *J Comput Assist Tomogr*. 2000 Jul-Aug;24(4):648-51.

151: Schmitz SA, Coupland SE, Gust R, Winterhalter S, Wagner S, Kresse M, Semmler W, Wolf KJ. Superparamagnetic iron oxide-enhanced MRI of atherosclerotic plaques in Watanabe hereditary hyperlipidemic rabbits. *Invest Radiol*. 2000 Aug;35(8):460-71.

152: Beyersdorff D, Taupitz M, Giessing M, Turk I, Schnorr D, Loening S, Hamm B. [The staging of bladder tumors in MRT: the value of the intravesical application of an iron oxide-containing contrast medium in combination with high-resolution T2-weighted imaging *Rofo*. 2000 Jun;172(6):504-8.

153: Imai Y, Murakami T, Yoshida S, Nishikawa M, Ohsawa M, Tokunaga K, Murata M, Shibata K, Zushi S, Kurokawa M, Yonezawa T, Kawata S, Takamura M, Nagano H, Sakon M, Monden M, Wakasa K, Nakamura H. Superparamagnetic iron oxide-enhanced magnetic resonance images of hepatocellular carcinoma: correlation with histological grading. *Hepatology*. 2000 Aug;32(2):205-12.

154: Abe Y, Yamashita Y, Namimoto T, Tang Y, Takahashi M. The value of fast and ultrafast T2-weighted MR imaging sequences in hepatic enhancement with ferumoxides: comparison with conventional spin-echo sequence. *Radiat Med*. 2000 Mar-Apr;18(2):97-105.

155: Ward J, Guthrie JA, Scott DJ, Atchley J, Wilson D, Davies MH, Wyatt JI, Robinson PJ. Hepatocellular carcinoma in the cirrhotic liver: double-contrast MR imaging for diagnosis. *Radiology*. 2000 Jul;216(1):154-62.

156: Ba-Ssalamah A, Heinz-Peer G, Schima W, Schibany N, Schick S, Prokesch RW, Kaider A, Teleky B, Wrba F, Lechner G. Detection of focal hepatic lesions: comparison of unenhanced and SHU 555 A-enhanced MR imaging versus biphasic helical CTAP. *J Magn Reson Imaging*. 2000 Jun;11(6):665-72.

157: Helmberger T, Gregor M, Holzknecht N, Rau H, Scheidler J, Reiser M. [Effects of biphasic spiral CT, conventional and iron oxide enhanced MRI on therapy and therapy costs in patients with focal liver lesions] *Rofo*. 2000 Mar;172(3):251-9.

158: Scott J, Ward J, Guthrie JA, Wilson D, Robinson PJ. MRI of liver: a comparison of CNR enhancement using high dose and low dose ferumoxide infusion in patients with colorectal liver metastases. *Magn Reson Imaging*. 2000 Apr;18(3):297-303.

159: Schmitz SA, Albrecht T, Jensen K, Wolf KJ. [Superparamagnetic iron oxide enhanced MR angiography of the portal vein system] *Rofo*. 2000 Jan;172(1):51-4.

160: Franklin RJ, Blaschuk KL, Bearchell MC, Prestoz LL, Setzu A, Brindle KM, French-Constant C. Magnetic resonance imaging of transplanted oligodendrocyte precursors in the rat brain. *Neuroreport*. 1999 Dec 16;10(18):3961-5.

161: De Vuysere S, Van Steenbergen W, Aerts R, Van Hauwaert H, Van Beckevoort D, Van Hoe L. Intrahepatic splenosis: imaging features. *Abdom Imaging*. 2000 Mar-Apr;25(2):187-9.

162: Ward J, Chen F, Guthrie JA, Wilson D, Lodge JP, Wyatt JI, Robinson PJ. Hepatic lesion detection after superparamagnetic iron oxide enhancement: comparison of five T2-weighted sequences at 1.0 T by using alternative-free response receiver operating characteristic analysis. *Radiology*. 2000 Jan;214(1):159-66.

163: Muller RD, Vogel K, Neumann K, Hirche H, Barkhausen J, Stoblen F, Henrich H, Langer R. SPIO-MR imaging versus double-phase spiral CT in detecting malignant lesions of the liver. *Acta Radiol*. 1999 Nov;40(6):628-35.

164: Schmitz SA, Albrecht T, Wolf KJ. MR angiography with superparamagnetic iron oxide: feasibility study. *Radiology*. 1999 Nov;213(2):603-7.

165: Helmberger T, Gregor M, Holzknacht N, Gauger J, Rau H, Reiser MF. [Comparison of dual-phase helical CT with native and ferum oxide-enhanced magnetic resonance imaging in detection and characterization of focal liver lesions] *Radiologe*. 1999 Aug;39(8):678-84.

166: Merkle EM, Goldberg SN, Boll DT, Shankaranarayanan A, Boaz T, Jacobs GH, Wendt M, Lewin JS. Effects of superparamagnetic iron oxide on radio-frequency-induced temperature distribution: in vitro measurements in polyacrylamide phantoms and in vivo results in a rabbit liver model. *Radiology*. 1999 Aug;212(2):459-66.

167: Reimer P, Allkemper T, Matuszewski L, Balzer T. Contrast-enhanced 3D-MRA of the upper abdomen with a bolus-injectable SPIO (SHU 555 A). *J Magn Reson Imaging*. 1999 Jul;10(1):65-71.

168: Merkle EM, Boll DT, Boaz T, Duerk JL, Chung YC, Jacobs GH, Varnes ME, Lewin JS. MRI-guided radiofrequency thermal ablation of implanted VX2 liver tumors in a rabbit model: demonstration of feasibility at 0.2 T. *Magn Reson Med*. 1999 Jul;42(1):141-9.

169: Morimoto N, Ebara M, Kato H, Obata T, Fujita J, Kondo F, Tsujii H, Saisho H. Early detection of radiation-induced liver injury in rat by superparamagnetic iron oxide-enhanced MR imaging. *J Magn Reson Imaging*. 1999 Apr;9(4):573-8.

170: Loubeyre P, De Jaegere T, Miao Y, Landuyt W, Marchal G. Assessment of iron oxide particles (AMI 227) and a gadolinium complex (Gd-DOTA) in dynamic susceptibility contrast MR imagings (FLASH and EPI) in a tumor model implanted in rats. *Magn Reson Imaging*. 1999 May;17(4):627-31.

171: Chen F, Ward J, Robinson PJ. MR imaging of the liver and spleen: a comparison of the effects on signal intensity of two superparamagnetic iron oxide agents. *Magn Reson Imaging*. 1999 May;17(4):549-56.

172: Schmitz SA, Hansel J, Wagner S, Kressel M, Huningen H, Wacker F, Wolf KJ. [SPIO-enhanced MR angiography for the detection of venous thrombi in an animal model] *Rofo*. 1999 Mar;170(3):316-21.

173: Ward J, Naik KS, Guthrie JA, Wilson D, Robinson PJ. Hepatic lesion detection: comparison of MR imaging after the administration of superparamagnetic iron oxide with dual-phase CT by using alternative-free response receiver operating characteristic analysis. *Radiology*. 1999 Feb;210(2):459-66.

174: Poeckler-Schoeniger C, Koepke J, Gueckel F, Sturm J, Georgi M. MRI with superparamagnetic iron oxide: efficacy in the detection and characterization of focal hepatic lesions. *Magn Reson Imaging*. 1999 Apr;17(3):383-92.

175: Ferrucci JT. Advances in abdominal MR imaging. *Radiographics*. 1998 Nov-Dec;18(6):1569-86.

176: Mergo PJ, Engelken JD, Helmberger T, Ros PR. MRI in focal liver disease: a comparison of small and ultra-small superparamagnetic iron oxide as hepatic contrast agents. *J Magn Reson Imaging*. 1998 Sep-Oct;8(5):1073-8.

177: Knollmann FD, Bock JC, Rautenberg K, Beier J, Ebert W, Felix R. Differences in predominant enhancement mechanisms of superparamagnetic iron oxide and ultrasmall superparamagnetic iron oxide for contrast-enhanced portal magnetic resonance angiography. Preliminary results of an animal study original investigation. *Invest Radiol*. 1998 Sep;33(9):637-43.

178: Reimer P, Tombach B. Hepatic MRI with SPIO: detection and characterization of focal liver lesions. *Eur Radiol*. 1998;8(7):1198-204.

179: Finazzo M, Midiri M, Gallo C, Bartolotta TV, Luca A. [Focal liver lesions. A comparison between magnetic resonance under base conditions and after a superparamagnetic contrast medium] *Radiol Med (Torino)*. 1998 Jun;95(6):599-607.

180: Di Cesare E, Cariello G, Marchese F, Michelini O, Costanzi A, Catalucci A, Splendiani A, Masciocchi C. [Superparamagnetic iron oxide in the differential diagnosis of focal hepatic lesions using a 0.5-tesla magnetic resonance apparatus] *Radiol Med (Torino)*. 1998 Jun;95(6):593-8.

181: Hylton N, Allen C. The development and use of SPIO Lycra compression bracing in children with neuromotor deficits. *Pediatr Rehabil*. 1997 Apr-Jun;1(2):109-16.

182: Muller RD, Vogel K, Neumann K, Hirche H, Barkhausen J, Stoblen F, Henrich H, Langer R. [MRI with supermagnetic iron particles versus double-spiral CT in identification of malignant liver lesions] *Rofo*. 1998 May;168(5):436-43.

183: Beets-Tan RG, Van Engelshoven JM, Greve JW. Hepatic adenoma and focal nodular hyperplasia: MR findings with superparamagnetic iron oxide-enhanced MRI. *Clin Imaging*. 1998 May-Jun;22(3):211-5.

184: Muller M, Reimer P, Wiedermann D, Allkemper T, Marx C, Tombach B, Rummeny EJ, Shamsi K, Balzer T, Peters PE. [T1-weighted dynamic MRI with new superparamagnetic iron oxide particles (Resovist): results of a phantom study as well as 25 patients] *Rofo*. 1998 Mar;168(3):228-36.

185: Scharf J, Hoffmann V, Lehnert T, Anselm H, Richter GM, Kauffmann GW. Pseudolesions at T1-weighted gradient-echo imaging after administration of superparamagnetic iron oxide: comparison with portal perfusion abnormalities at CT during arterial portography. *Radiology*. 1998 Apr;207(1):67-72.

186: Mergo PJ, Ros PR. Benign lesions of the liver. *Radiol Clin North Am*. 1998 Mar;36(2):319-31.

187: Terrier F, Tourniaire J, Belenger J, Slosman D, Rubbia L, Grossholz M, Mentha G, Hiltbrand E, Mermillod B. Magnetic resonance imaging with superparamagnetic iron oxide particles to evaluate hepatic macrophage-monocytic phagocytosis after arterial devascularization in minipigs. *Acad Radiol*. 1995 Jul;2(7):565-75.

188: Trillaud H, Degreze P, Mesplede Y, Douws C, Palussiere J, Grenier N. Evaluation of experimentally induced renal hypoperfusion using iron oxide particles and fast magnetic resonance imaging. *Acad Radiol*. 1995 Apr;2(4):293-9.

189: Reimer P, Marx C, Rummeny EJ, Muller M, Lentschig M, Balzer T, Dietl KH, Sulkowski U, Berns T, Shamsi K, Peters PE. SPIO-enhanced 2D-TOF MR angiography of the portal venous system: results of an intraindividual comparison. *J Magn Reson Imaging*. 1997 Nov-Dec;7(6):945-9.

190: Strotzer M, Gmeinwieser J, Schmidt J, Fellner C, Seitz J, Albrich H, Zirngibl H, Feuerbach S. Diagnosis of liver metastases from colorectal adenocarcinoma. Comparison of spiral-CTAP combined with intravenous contrast-enhanced spiral-CT and SPIO-enhanced MR combined with plain MR imaging. *Acta Radiol*. 1997 Nov;38(6):986-92.

191: Blakeborough A, Ward J, Wilson D, Griffiths M, Kajiya Y, Guthrie JA, Robinson PJ. Hepatic lesion detection at MR imaging: a comparative study with four sequences. *Radiology*. 1997 Jun;203(3):759-65.

192: van Gansbeke D, Metens TM, Matos C, Nicaise N, Gay F, Raeymaekers H, Struyven J. Effects of AMI-25 on liver vessels and tumors on T1-weighted turbo-field-echo images: implications for tumor characterization. *J Magn Reson Imaging*. 1997 May-Jun;7(3):482-9.

193: Ishida T, Murakami T, Kato N, Takahashi M, Miyazawa T, Tsuda K, Tomoda K, Narumi Y, Nakamura H. Superparamagnetic iron oxide enhanced magnetic resonance imaging of rat liver with hepatocellular carcinoma and benign hyperplastic nodule. *Invest Radiol*. 1997 May;32(5):282-7.

194: Kaci GM, Hagspiel KD, Marincek B. Focal nodular hyperplasia of the liver: serial MRI with Gd-DOTA, superparamagnetic iron oxide, and Gd-EOB-DTPA. *Abdom Imaging*. 1997 May-Jun;22(3):264-7.

195: Doerfler A, Forsting M, Reith W, Heiland S, Weber J, Hacke W, Sartor K. Bolus injection of MR contrast agents: hemodynamic effects evaluated by intracerebral laser Doppler flowmetry in rats. *AJNR Am J Neuroradiol*. 1997 Mar;18(3):427-34.

196: Fishbein M, Long F, Smith M. Fast gradient echo MR imaging of the liver enhanced with superparamagnetic iron oxide. *Magn Reson Imaging*. 1997;15(6):651-5.

197: Sjogren CE, Johansson C, Naevestad A, Sontum PC, Briley-Saebo K, Fahlvik AK. Crystal size and properties of superparamagnetic iron oxide (SPIO) particles. *Magn Reson Imaging*. 1997;15(1):55-67.

198: Tanimoto A, Satoh Y, Yuasa Y, Jinzaki M, Hiramatsu K. Performance of Gd-EOB-DTPA and superparamagnetic iron oxide particles in the detection of primary liver cancer: a comparative study by alternative free-response receiver operating characteristic analysis. *J Magn Reson Imaging*. 1997 Jan Feb;7(1):120-4.

199: Urhahn R, Adam G, Busch N, Chen JH, Euringer W, Gunther RW. [Superparamagnetic iron oxide particles: what value has the T1 effect in the MR diagnosis of focal liver lesions?] *Rofo*. 1996 Oct;165(4):364-70.

200: Masui T, Yan H, Kosugi I, Sakamoto S, Nishimura T, Takahashi M, Kaneko M, Fritz-Zieroth B. Assessment of early radiation effects on the liver. Comparison of SPECT and MR. *Acta Radiol*. 1996 Sep;37(5):665-71.

- 201: Elste V, Wagner S, Taupitz M, Pfefferer D, Kresse M, Hamm B, Berg R, Wolf KJ, Semmler W. Magnetic resonance lymphography in rats: effects of muscular activity and hyperthermia on the lymph node uptake of intravenously injected superparamagnetic iron oxide particles. *Acad Radiol*. 1996 Aug;3(8):660-6.
- 202: Yamashita Y, Yamamoto H, Hirai A, Yoshimatsu S, Baba Y, Takahashi M. MR imaging enhancement with superparamagnetic iron oxide in chronic liver disease: influence of liver dysfunction and parenchymal pathology. *Abdom Imaging*. 1996 Jul-Aug;21(4):318-23.
- 203: Fujita M, Yamamoto R, Fritz-Zieroth B, Yamanaka T, Takahashi M, Miyazawa T, Tatsuta M, Terada N, Hosomi N, Inoue E, Kuroda C. Contrast enhancement with Gd-EOB-DTPA in MR imaging of hepatocellular carcinoma in mice: a comparison with superparamagnetic iron oxide. *J Magn Reson Imaging*. 1996 May-Jun;6(3):472-7.
- 204: Yamamoto H, Yamashita Y, Takahashi M. Development of hepatomas in hyperplastic nodules induced in the rat liver: detection with superparamagnetic iron oxide-enhanced magnetic resonance imaging. *Acad Radiol*. 1996 Apr;3(4):330-5.
- 205: Johnson WK, Stoupis C, Torres GM, Rosenberg EB, Ros PR. Superparamagnetic iron oxide (SPIO) as an oral contrast agent in gastrointestinal (GI) magnetic resonance imaging (MRI): comparison with state-of-the-art computed tomography (CT). *Magn Reson Imaging*. 1996;14(1):43-9.
- 206: Canet E, Revel D, Sebbag L, de Lorgeril M, Baldy C, Delabre C, Amiel M. Noninvasive assessment of no-reflow phenomenon in a canine model of reperfused infarction by contrast-enhanced magnetic resonance imaging. *Am Heart J*. 1995 Nov;130(5):949-56.
- 207: Yamamoto H, Yamashita Y, Yoshimatsu S, Baba Y, Takahashi M. MR enhancement of hepatoma by superparamagnetic iron oxide (SPIO) particles. *J Comput Assist Tomogr*. 1995 Jul-Aug;19(4):665-7.
- 208: Grandin C, Van Beers BE, Robert A, Gigot JF, Geubel A, Pringot J. Benign hepatocellular tumors: MRI after superparamagnetic iron oxide administration. *J Comput Assist Tomogr*. 1995 May-Jun;19(3):412-8.
- 209: Yamamoto H, Yamashita Y, Yoshimatsu S, Baba Y, Hatanaka Y, Murakami R, Nishiharu T, Takahashi M, Higashida Y, Moribe N. Hepatocellular carcinoma in cirrhotic livers: detection with unenhanced and iron oxide-enhanced MR imaging. *Radiology*. 1995 Apr;195(1):106-12.
- 210: Taylor PM, Hawnaur JM, Hutchinson CE. Superparamagnetic iron oxide imaging of focal liver disease. *Clin Radiol*. 1995 Apr;50(4):215-9.

211: Wisner ER, Amparo EG, Vera DR, Brock JM, Barlow TW, Griffey SM, Drake C, Katzberg RW. Arabinogalactan-coated superparamagnetic iron oxide: effect of particle size in liver MRI. *J Comput Assist Tomogr.* 1995 Mar-Apr;19(2):211-5.

212: Jung CW, Jacobs P. Physical and chemical properties of superparamagnetic iron oxide MR contrast agents: ferumoxides, ferumoxtran, ferumoxsil. *Magn Reson Imaging.* 1995;13(5):661-74.

213: Bellin MF, Zaim S, Auberton E, Sarfati G, Duron JJ, Khayat D, Grellet J. Liver metastases: safety and efficacy of detection with superparamagnetic iron oxide in MR imaging. *Radiology.* 1994 Dec;193(3):657-63.

214: Halavaara JT, Lamminen AE, Bondestam S, Standertskjold-Nordenstam CG, Hamberg LM. Detection of focal liver lesions with superparamagnetic iron oxide: value of STIR and SE imaging. *J Comput Assist Tomogr.* 1994 Nov-Dec;18(6):897-904.

215: Grangier C, Tourniaire J, Mentha G, Schiau R, Howarth N, Chachuat A, Grossholz M, Terrier F. Enhancement of liver hemangiomas on T1-weighted MR SE images by superparamagnetic iron oxide particles. *J Comput Assist Tomogr.* 1994 Nov-Dec;18(6):888-96.

216: Hamm B, Staks T, Taupitz M, Maibauer R, Speidel A, Huppertz A, Frenzel T, Lawaczek R, Wolf KJ, Lange L. Contrast-enhanced MR imaging of liver and spleen: first experience in humans with a new superparamagnetic iron oxide. *J Magn Reson Imaging.* 1994 Sep-Oct;4(5):659-68.

217: Tanimoto A, Pouliquen D, Kreft BP, Stark DD. Effects of spatial distribution on proton relaxation enhancement by particulate iron oxide. *J Magn Reson Imaging.* 1994 Sep-Oct;4(5):653-7.

218: Hirohashi S, Hirohashi R, Uchida H, Kachi K, Ohtomo K, Uchiyama G, Niitsu M, Itai Y. [Usefulness of superparamagnetic iron oxide particle (AMI-25) enhanced MR imaging for the diagnosis of liver tumors: comparison with contrast enhanced CT] *Nippon Igaku Hoshasen Gakkai Zasshi.* 1994 Jul 25;54(8):776-83.

219: Bach-Gansmo T, Fahtvik AK, Ericsson A, Hemmingsson A. Superparamagnetic iron oxide for liver imaging. Comparison among three different preparations. *Invest Radiol.* 1994 Mar;29(3):339-44.

220: Winter TC 3rd, Freeny PC, Nghiem HV, Thomas CR Jr. Utility of magnetization prepared GRE MRI for the detection of focal liver lesions. *Magn Reson Imaging.* 1994;12(5):733-42.

221: Winter TC 3rd, Freeny PC, Nghiem HV, Mack LA, Patten RM, Thomas CR Jr, Elliott S. MR imaging with i.v. superparamagnetic iron oxide: efficacy in the detection of focal hepatic lesions. *AJR Am J Roentgenol.* 1993 Dec;161(6):1191-8.

222: Liebig T, Stoupis C, Ros PR, Ballinger JR, Briggs RW. A potentially artifact-free oral contrast agent for gastrointestinal MRI. *Magn Reson Med.* 1993 Nov;30(5):646-9.

223: Schuhmann-Giampieri G. Liver contrast media for magnetic resonance imaging. Interrelations between pharmacokinetics and imaging. *Invest Radiol.* 1993 Aug;28(8):753-61. Review.

224: Taupitz M, Wagner S, Hamm B, Dienemann D, Lawaczeck R, Wolf KJ. MR lymphography using iron oxide particles. Detection of lymph node metastases in the VX2 rabbit tumor model. *Acta Radiol.* 1993 Jan;34(1):10-5.

225: Muhler A, Freise CE, Kuwatsuru R, Rosenau W, Liu T, Mintorovitch J, Clement O, Vexler V, Mahboubi S, Lang P, et al. Acute liver rejection: evaluation with cell-directed MR contrast agents in a rat transplantation model. *Radiology.* 1993 Jan;186(1):139-46.

226: Chambon C, Clement O, Le Blanche A, Schouman-Claeys E, Fria G. Superparamagnetic iron oxides as positive MR contrast agents: in vitro and in vivo evidence. *Magn Reson Imaging.* 1993;11(4):509-19.

227: Clement O, Muhler A, Vexler VS, Rosenau W, Berthezene Y, Kuwatsuru R, Brasch RC. Evaluation of radiation-induced liver injury with MR imaging: comparison of hepatocellular and reticuloendothelial contrast agents. *Radiology.* 1992 Oct;185(1):163-8.

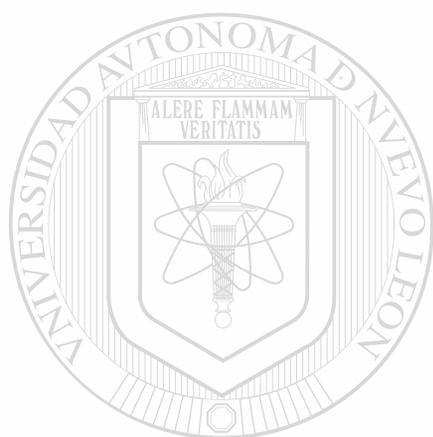
228: Clement O, Fria G, Chambon C, Schouman-Claeys E. Superparamagnetic iron oxide-enhanced magnetic resonance imaging of experimental liver tumors after mitomycin C administration. *Invest Radiol.* 1992 Mar;27(3):230-5.

229: Hamm B, Taupitz M, Hussmann P, Wagner S, Wolf KJ. MR lymphography with iron oxide particles: dose-response studies and pulse sequence optimization in rabbits. *AJR Am J Roentgenol.* 1992 Jan;158(1):183-90.

230: Ferrucci JT. Iron oxide enhanced MR imaging of the liver and spleen: review of the first five years. *Keio J Med.* 1991 Dec;40(4):206-14.

231: Clement O, Fria G, Chambon C, Schouman-Claeys E, Mosnier JF, Poupon MF, Balkau B. Liver tumors in cirrhosis: experimental study with SPIO-enhanced MR imaging. *Radiology.* 1991 Jul;180(1):31-6.

232: Ferrucci JT, Stark DD. Iron oxide-enhanced MR imaging of the liver and spleen: review of the first 5 years. *AJR Am J Roentgenol.* 1990 Nov;155(5):943-50.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

6.2 Artículos Generados como Autor o Coautor por estas Investigaciones

1: Elizondo G, Fretz CJ, Stark DD, Rocklage SM, Quay SC, Worah D, Tsang YM, Chen MC, Ferrucci JT. Preclinical evaluation of MnDPDP: new paramagnetic hepatobiliary contrast agent for MR imaging. *Radiology*. 1991 Jan;178(1):73-8.

2: Fretz CJ, Stark DD, Metz CE, Elizondo G, Weissleder R, Shen JH, Wittenberg J, Simeone J, Ferrucci JT. Detection of hepatic metastases: comparison of contrast-enhanced CT, unenhanced MR imaging, and iron oxide-enhanced MR imaging. *AJR Am J Roentgenol*. 1990 Oct;155(4):763-70.

3: Stark DD, Elizondo G, Fretz CJ. Liver-specific contrast agents for MRI. *Invest Radiol*. 1990 Sep;25 Suppl 1:S58.

4: Hahn PF, Stark DD, Lewis JM, Saini S, Elizondo G, Weissleder R, Fretz CJ, Ferrucci JT. First clinical trial of a new superparamagnetic iron oxide for use as an oral gastrointestinal contrast agent in MR imaging. *Radiology*. 1990 Jun;175(3):695-700.

5: Weissleder R, Elizondo G, Wittenberg J, Lee AS, Josephson L, Brady TJ. Ultrasmall superparamagnetic iron oxide: an intravenous contrast agent for assessing lymph nodes with MR imaging. *Radiology*. 1990 May;175(2):494-8.

6: Weissleder R, Elizondo G, Wittenberg J, Rabito CA, Bengel HH, Josephson L. Ultrasmall superparamagnetic iron oxide: characterization of a new class of contrast agents for MR imaging. *Radiology*. 1990 May;175(2):489-93.

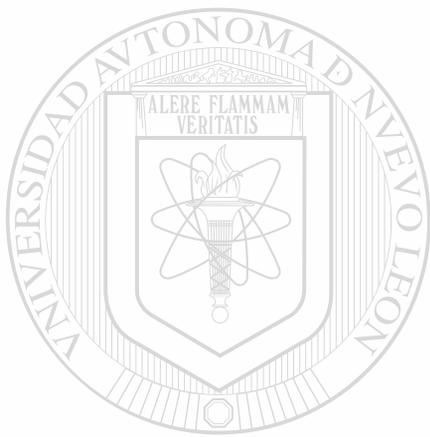
7: Elizondo G, Weissleder R, Stark DD, Guerra J, Garza J, Fretz CJ, Todd LE, Ferrucci JT. Hepatic cirrhosis and hepatitis: MR imaging enhanced with superparamagnetic iron oxide. *Radiology*. 1990 Mar;174(3 Pt 1):797-801.

8: Hahn PF, Stark DD, Weissleder R, Elizondo G, Saini S, Ferrucci JT. Clinical application of superparamagnetic iron oxide to MR imaging of tissue perfusion in vascular liver tumors. *Radiology*. 1990 Feb;174(2):361-6.

9: Hahn PF, Stark DD, Saini S, Rummeny E, Elizondo G, Weissleder R, Wittenberg J, Ferrucci JT. The differential diagnosis of ringed hepatic lesions in MR imaging. *AJR Am J Roentgenol*. 1990 Feb;154(2):287-90

10: Fretz CJ, Elizondo G, Weissleder R, Hahn PF, Stark DD, Ferrucci JT Jr. Superparamagnetic iron oxide-enhanced MR imaging: pulse sequence optimization for detection of liver cancer. *Radiology*. 1989 Aug;172(2):393-7.

- 11: Weissleder R, Elizondo G, Josephson L, Compton CC, Fretz CJ, Stark DD, Ferrucci JT. Experimental lymph node metastases: enhanced detection with MR lymphography. *Radiology*. 1989 Jun;171(3):835-9.
- 12: Dousset M, Weissleder R, Hendrick RE, Stark DD, Fretz CJ, Elizondo G, Hahn PF, Saini S, Ferrucci JT. Short TI inversion-recovery imaging of the liver: pulse-sequence optimization and comparison with spin-echo imaging. *Radiology*. 1989 May;171(2):327-33.
- 13: Pavone P, Patrizio G, Pietroletti R, Festuccia C, Stark DD, Elizondo G, Passariello R. Induction of liver metastases in the rat. An experimental model for research on magnetic resonance *Radiol Med (Torino)*. 1989 Jan-Feb;77(1-2):94-8.
- 14: Weissleder R, Elizondo G, Stark DD, Hahn PF, Marfil J, Gonzalez JF, Saini S, Todd LE, Ferrucci JT. The diagnosis of splenic lymphoma by MR imaging: value of superparamagnetic iron oxide. *AJR Am J Roentgenol*. 1989 Jan;152(1):175-80.
- 15: Weissleder R, Hahn PF, Stark DD, Elizondo G, Saini S, Todd LE, Wittenberg J, Ferrucci JT. Superparamagnetic iron oxide: enhanced detection of focal splenic tumors with MR imaging. *Radiology*. 1988 Nov;169(2):399-403.
- 16: Weissleder R, Stark DD, Elizondo G, Hahn PF, Compton C, Saini S, Wittenberg J, Ferrucci JT. MRI of hepatic lymphoma. *Magn Reson Imaging*. 1988 Nov-Dec;6(6):675-81.
- 17: Stark DD, Weissleder R, Elizondo G, Hahn PF, Saini S, Todd LE, Wittenberg J, Ferrucci JT. Superparamagnetic iron oxide: clinical application as a contrast agent for MR imaging of the liver. *Radiology*. 1988 Aug;168(2):297-301.
- 18: Rummeny E, Weissleder R, Stark DD, Elizondo G, Ferrucci JT. [Magnetic resonance tomography of focal liver and spleen lesions. Experiences using ferrite, a new RES-specific MR contrast medium] *Radiologe*. 1988 Aug;28(8):380-6.
- 19: Hahn PF, Weissleder R, Stark DD, Saini S, Elizondo G, Ferrucci JT. MR imaging of focal splenic tumors. *AJR Am J Roentgenol*. 1988 Apr;150(4):823-7.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



