

© Авторы, 2012

Михаил Владимирович Гуляев –
аспирант,
факультет
МГУ им. М.В. Ломоносова
E-mail: mihon-epsilon@yandex.ru

Геннадий Александрович Меерович –
к. ф.-м. н., ст. науч. сотрудник,
Институт общей физики
им. А.М. Прохорова РАН
(Москва)

Игорь Геннадиевич Меерович –
к. б. н., ст. науч. сотрудник,
РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН
(Москва)

Валентина Михайловна Деркачева –
к. х. н., вед. науч. сотрудник,
ГНЦ «НИОПИК»

Лариса Михайловна Борисова –
к. б. н., ст. науч. сотрудник,
РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН

Олег Леонидович Калия –
д. х. н., профессор,
зав. лабораторией ГНЦ «НИОПИК»

Евгений Антонович Лукьянец –
д. х. н., профессор,
зав. лабораторией, ГНЦ «НИОПИК»

Николай Викторович Анисимов –
д. ф.-м. н., ст. науч. сотрудник,
факультет фундаментальной
медицины,
МГУ им. М.В. Ломоносова

Георгий Николаевич Ворожцов –
д. х. н., профессор, чл.-корр. РАН,
ген. директор ГНЦ «НИОПИК»

Юрий Андреевич Пирогов –
д. ф.-м. н., профессор, физический
факультет,
МГУ им. М.В. Ломоносова
E-mail: yuri937@gmail.com

СУЛЬФОФТАЛОЦИНИН МАРГАНЦА В КАЧЕСТВЕ КОНТРАСТНОГО АГЕНТА ПРИ МАГНИТНО-РЕЗОНАНСНОЙ ДИАГНОСТИКЕ ОПУХОЛЕЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС

**М.В. Гуляев, Г.А. Меерович,
И.Г. Меерович, В.М. Деркачева,
Л.М. Борисова, О.Л. Калия,
Е.А. Лукьянцев, Н.В. Анисимов,
Г.Н. Ворожцов, Ю.А. Пирогов**

Представлены результаты применения в магнитно-резонансной томографии отечественного препарата – контрастирующей субстанции на основе сульфофталоцианина марганца ($\text{SO}_3\text{Na})_{2.5}\text{-PcMnOAc}$, разработанного в ГНЦ «НИОПИК». Вещество апробировано в экспериментах на лабораторных животных с использованием современного магнитно-резонансного биоспектрометромографа Bruker BioSpec 70/30 с постоянным магнитным полем 7 Тл в лаборатории магнитной томографии и спектроскопии факультета фундаментальной медицины МГУ им. М.В. Ломоносова.

Ключевые слова: сульфофталоцианин марганца, магнитно-резонансная томография, контрастный агент для МРТ, glioma C6.

Results of magnetic resonance imaging using domestic preparation – contrast substance on the base of manganese sulfo-phthalocyanine ($\text{SO}_3\text{Na})_{2.5}\text{-PcMnOAc}$ produced in the National Research Centre «Scientific-Research Institute of Organic Intermediates and Dyes» are presented. The substance is approved in experiments with small animals by application of modern 7-T MRI scanner Bruker BioSpec 70/30 at the magnetic tomography and spectroscopy laboratory, basic medicine faculty, Lomonosov Moscow State University.

Keywords: manganese sulfo-phthalocyanine, magnetic resonance imaging, contrast agent for MRI, glioma C6.

Введение

Магнитно-резонансная томография (МРТ) является одним из самых эффективных методов медицинской диагностики благодаря безопасности и высокой информативности изображений, отображающих внутреннюю структуру исследуемых объектов [1].

При МРТ-исследовании часто применяются импортные контрастные агенты, вводимые внутривенно или внутримышечно в организм пациента. Накапливаясь в пораженном органе, они меняют его тканевой контраст на МРТ-изображении,



что улучшает визуализацию зоны поражения и позволяет уточнить ее локализацию. Наиболее известны вещества, созданные на базе соединений, содержащих ионы гадолиния (*Magnevist*, *OmniScan* и др.). Действие этих веществ основано на сокращении времени продольной релаксации T₁ в силу парамагнитных свойств таких соединений, что приводит к повышению МРТ-сигнала на T₁-взвешенных изображениях (T₁ВИ).

В последнее время повысился интерес к контрастным веществам на основе других парамагнетиков – соединениям на основе марганца. Эти соединения выводятся из организма с меньшей скоростью, чем *Magnevist*, *OmniScan* и др., что создает более комфортные условия для детального исследования. Кроме того, некоторые соединения обладают ткань-специфичным накоплением, т.е. способны накапливаться в определенном органе – поджелудочной железе, печени и др. Внимание разработчиков контрастных агентов для МРТ привлекли марганцевые производные тетрапирролов, в частности тексафирина [2], бактериофеофорбита [3], фталоцианинов [4, 5], которые обладают определенной опухолевысотностью. Они способны избирательно накапливаться в патологических очагах и приводить к адресному сокращению времени продольной релаксации T₁, что позволяет при МРТ-исследовании выявить патологический участок на фоне прилегающей нормальной ткани, где концентрация Mn-содержащего вещества ниже [4, 5]. В частности, в [5] было предложено использовать для МРТ-контрастирования опухолей тетрасульфофталоцианин марганца. Это соединение обеспечивало приемлемое усиление МРТ-контраста, однако максимальный эффект его использования проявлялся только через 24 ч после внутривенного введения, что резко снижает перспективы клинического применения такого контрастного агента, так как МРТ-обследования пациентов принято проводить через небольшое время после введения. С другой стороны, важно, чтобы время, в течение которого контрастный агент обеспечивает возможность улучшенной визуализации опухолей, было бы достаточно большим (не менее 1 ч), что дало бы возможность детально изучить особенности расположения опухолевых узлов, особенно при «whole-body imaging».

В нашей работе в качестве парамагнитной субстанции для создания контрастного агента для МРТ изучался созданный по оригинальной отечественной внутривенного введения был приготовлен ее водный раствор с концентрацией 10 мг/мл.

Материалы и методы

В исследованиях проведены эксперименты по использованию контрастного агента сульфофталоцианина марганца (SO₃Na)_{2.5}-PcMnOAc на томографе BioSpec 70/30 USR фирмы «Bruker» (Germany) [7, 8]. МРТ-исследования *in vivo* проводились на крысах «Wistar» с инокулированной интракраниально в головной мозг глиомой C6 взвесью 400 тысяч клеток в 5 мкл среды RPMI. Масса животных в экспериментах составляла 190...220 г. МРТ-эксперименты проводились через 7 дней после инокуляции опухолей. Для обездвиживания животных использовался «Форан», подаваемый в виде парогазовой смеси в зону расположения головы животного.

После введения крысам контрастного вещества в зонах его накопления изменяется время продольной релаксации T₁, что, в свою очередь, выявляется на МРТ-изображениях. Однако при визуальном анализе T₁ВИ эти изменения не всегда выявляются достаточно отчетливо. В таких случаях для выявления зоны накопления контрастного вещества целесообразно определять T₁-время релаксации [9, 10] до и после его введения.

Для измерения T₁-времени релаксации использовалась импульсная последовательность (ИП) RAREVTR, в которой применяется методика многократного спинового эха (метод Кара-Перселла-Мейбума-Гилла) с изменяющимися значениями времени повторения TR. Задавая различные значения TR, можно получить МРТ-изображения с различным контрастом. Таким образом, чем больше выбрано значений TR при сканировании, тем более точно будет определено время продольной релаксации T₁. В работе были выбраны следующие значения TR: 245; 400; 600; 800; 1300; 1900; 6000 мс.

Чтобы измерить время продольной релаксации T₁ на полученных МРТ-изображениях с использованием ИП RAREVTR, выбирается область, где будет происходить построение. Затем с помощью специальной программы Image Sequence Analysis, которая входит в базовый программный пакет



Paravision 5.0, строится график зависимости МРТ-сигнала от времени повторения TR и подсчитывается T1-время релаксации. Тем самым можно определить, как изменилось T1-время релаксации в случае, например, опухоли и окружающих ее тканей до и после введения контрастного агента. Этот способ является наиболее объективным в оценке эффективности контрастного вещества, так как зрительно определить малейшее изменение времен релаксации, а тем самым и контраста, бывает довольно трудно.

На рис. 1 приведен типичный график зависимости МРТ-сигнала от времени повторения TR, необходимый для определения T1-времени релаксации; МРТ-сигнал усреднен по выбранной области, ограниченной несколькими вокселями. Расчет делается в предположении, что процессы релаксации проходят по экспоненциальному закону.

Для наглядного представления об эффективности воздействия контрастного агента в ходе исследований были получены T1ВИ с использованием ИП MDEFT (Modified Driven Equilibrium Fourier Transform) с параметрами TR/TI = 6000/1500 мс (TI – время инверсии) и ИП MSME (Multi Spin Multi Echo) с параметрами TR/TE=625/15,7 мс (TE – время эхо).

Для исследований с введением контрастных агентов имеет значение доза вводимо-

го в организм вещества. Для выбора оптимальной дозы были получены МРТ-изображения с введением сульфофталоцианина марганца в дозах 40 мг/кг, 50 мг/кг, 70 мг/кг, 90 мг/кг и 120 мг/кг массы тела крысы.

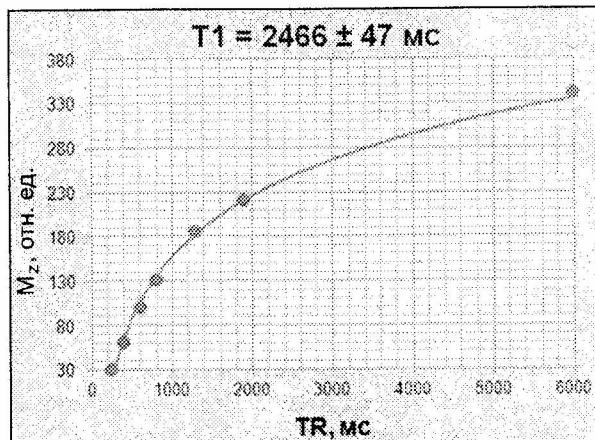


Рис. 1. График зависимости МРТ-сигнала от времени повторения TR, необходимый для определения T1-времени релаксации

Результаты и обсуждение

На рис.2 представлены МРТ-изображения головного мозга крысы с глиомой С6, полученные с помощью ИП RAREVTR (TR = 6000 мс). Вводимая доза сульфофталоцианина марганца $(\text{SO}_3\text{Na})_{2.5}\text{-PcMnOAc}$ – 40 мг/кг массы тела крысы.

На рис. 3 представлены графики, отображающие зависимость МРТ-сигнала от параметра TR, и расчетные значения T1, усредненные для зоны, обозначенной на рис.2 окружностью. По этим данным оценивались значения T1 до и после введения контрастного агента.

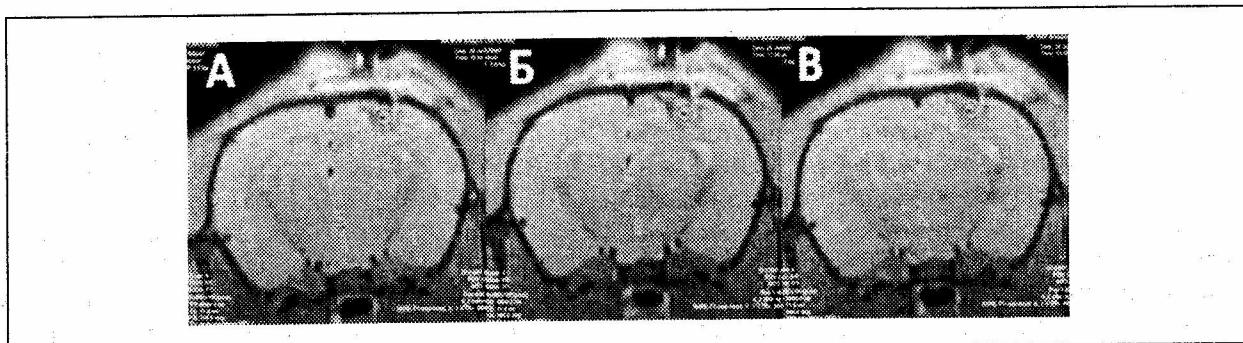


Рис. 2. МРТ-изображения головного мозга крысы с инокулированной глиомой С6 в режиме RAREVTR (TR = 6000 мс) в различные моменты времени: А – до введения контрастного агента; Б – через 2 ч после введения; В – через 3 ч после введения (окружностью отмечен участок для расчета T1)

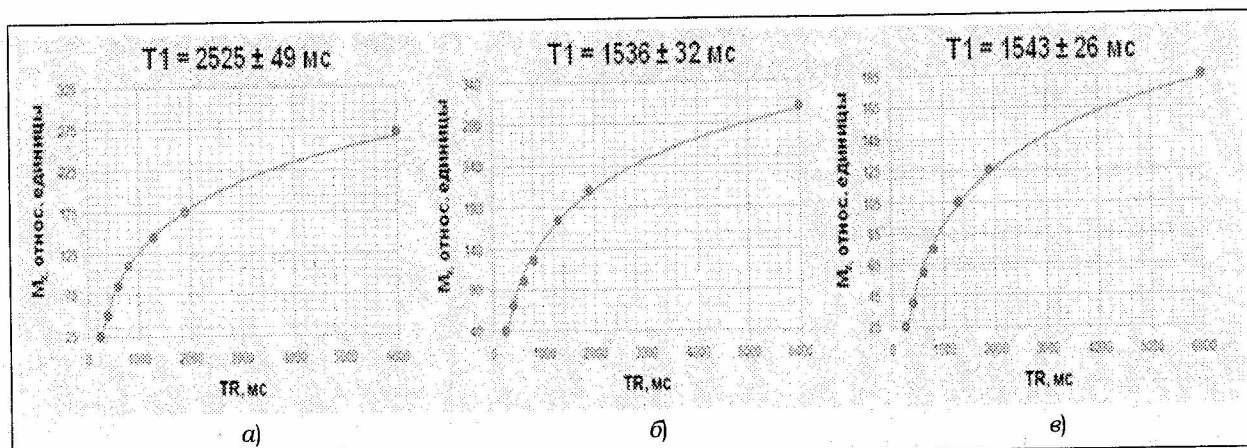


Рис. 3. Графики зависимости МРТ-сигнала от TR и расчетные значения T1 опухоли крысы в выбранной области до и после введения сульфофталоцианина марганца: а – до введения; б – через 2 ч после введения; в – через 3 ч после введения

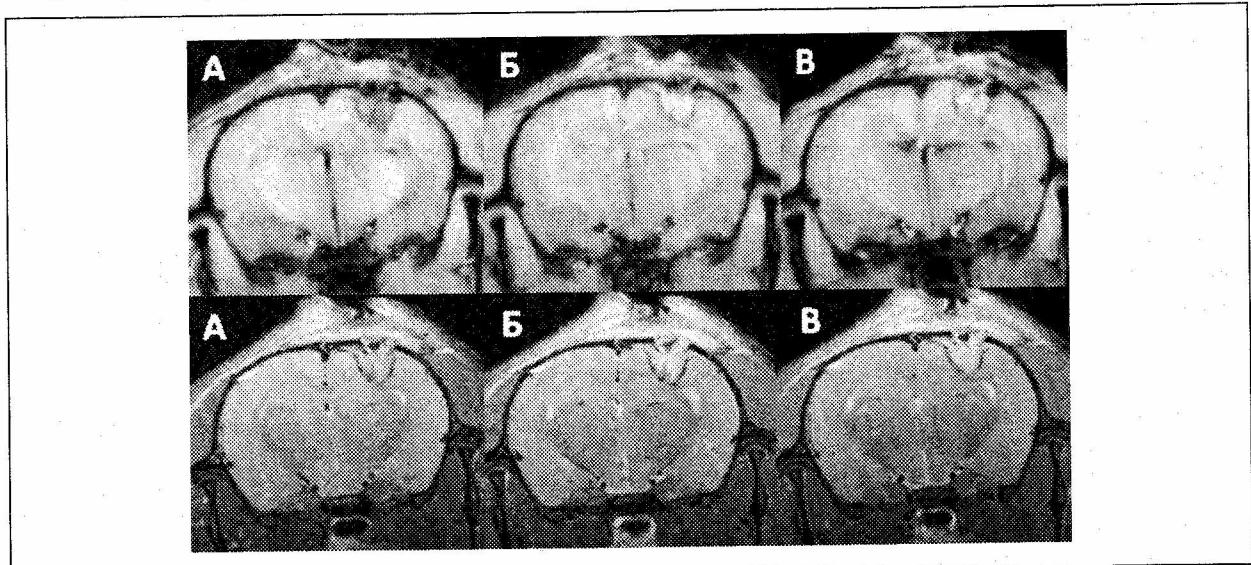


Рис. 4. МРТ-изображения головного мозга крысы с привитой глиомой Сб в режимах MDEFT (верхний ряд) и MSME (нижний ряд): А – до введения контрастного агента; Б – через 2 ч после введения; В – через 3 ч после введения

Видно, что после введения водного раствора сульфофталоцианина марганца T1-время релаксации в области глиомы Сб уменьшилось примерно на 40 % (на 1000 мс).

Были получены также T1ВИ с использованием ИП MDEFT и ИП MSME. Глиома Сб после введения контрастного вещества визуализируется как яркое образование (рис. 4, Б, В), в то время как до введения сульфофталоцианина марганца (рис. 4, А), она была более темной на фоне прилегающих здоровых тканей мозга. Эта особенность, обнаруженная при контрастировании сульфофталоцианином марганца глиомы Сб, позволяет различить опухоль от других участков головного мозга животных.

Вводимые дозы водного раствора сульфофталоцианина марганца в размере 40 и 50 мг/кг массы тела крысы проявили себя практически одинаково (в обоих случаях наблюдалось понижение T1-времени релаксации опухоли примерно на 1000 мс).

Для всех трех доз введения (70 мг/кг, 90 мг/кг и 120 мг/кг массы тела крысы) T1-время релаксации в области глиомы Сб до введения сульфофталоцианина марганца составило примерно 2500 мс, а через 1 ч после введения уменьшилось до 1700 мс.

Ниже представлены таблицы, в которых отображаются значения контраста опухоли по отношению к нормальной ткани (белое вещество вблизи опухоли) до и после введе-



ния сульфофталоцианина марганца для двух разных режимов сканирования.

Таблица 1. Относительный контраст опухоль/нормальная ткань для крыс с введенными дозами сульфофталоцианина марганца 40 и 50 мг/кг массы тела крысы

40 мг/кг	MDEFT	MSME	50 мг/кг	MDEFT	MSME
до введения	0,54	1,05	до введения	0,54	1,05
через 2 ч	1,14	1,41	через 2 ч	1,22	1,43
через 3 ч	1,07	1,43	через 3 ч	1,22	1,43

Таблица 2. Относительный контраст опухоль/нормальная ткань для крыс через 1 ч после введения $(SO_3Na)_{2.5}\text{-PcMnOAc}$ в дозе 70, 90 и 120 мг/кг массы тела крысы

Импульсная последовательность	70 мг/кг	90 мг/кг	120 мг/кг
MDEFT	1,27	1,33	1,31
MSME	1,46	1,54	1,37

Из данных, представленных в табл. 1 и 2, следует, что контрастное вещество сульфофталоцианин марганца хорошо проявляется на МРТ-изображениях в режиме MDEFT – дает повышение МРТ-контраста примерно на 50 %. При этом повышенный контраст МРТ-изображения достигался уже через 1 ч и

оставался высоким по крайне мере несколько часов.

Следует отметить, что увеличение дозы сульфофталоцианина марганца до 70, 90 и 120 мг/кг практически не увеличивает контраст в режимах MDEFT и MSME.

Заключение

Таким образом, проведенные эксперименты показали, что после введения водного раствора сульфофталоцианина марганца $(SO_3Na)_{2.5}\text{-PcMnOAc}$ уменьшалось T1-время релаксации глиомы С6. На Т1ВИ отмечается повышение сигнала опухоли после введения сульфофталоцианина марганца, в результате чего опухоль (glioma C6) визуализируется более отчетливо. Увеличение дозы вводимого вещества сульфофталоцианина марганца не давало заметного увеличения контраста опухоль/нормальная ткань.

Дозу в размере 40...50 мг/кг массы тела крысы можно выбрать в качестве оптимальной для контрастирования опухоли (glioma C6).

Работа выполнена при поддержке НИР № 207/12-Теми.-М (МГУ-НИОПИК) и гранта РФФИ № 11-04-92008-ННС_а.

Литература

1. Ринк П.А. Магнитный резонанс в медицине. Основной учебник Европейского форума по магнитному резонансу. 5-е изд., испр. и доп. М: Гэотар-Мед. 2003.
2. Patent № 5601802 (USA). Method of MRI Enhancement Having Improved Functionalization / G.W. Hemmi, J.L. Sessler, T.D. Mody.
3. Meerovich I.G., Oborotova N.A., Baryshnikov A.Yu., Brandis A., Bendel P., Shertz A., Meerovich G.A., Stratoniuk A.A. Study of manganese bacteriopheophorbide as a potential contrast agent for magnetic resonance tomography // Bulletin of Experimental Biology and Medicine. 2007. V. 143. № 4. P. 452–454.
4. Park H.J., Ko S.M., Chang Y., Kim Y.S. The Comparative Imaging Study on Mn-phthalocyanine and Mangafodipir trisodium in Experimental VX2 Animal Model // J. Korean Soc. Magn. Reson. Med. 2004. № 8(1). P. 32–41.
5. Saini S.K., Jena A., Dey J., Sharma A.K., and Singh R. MnPcS4: a new MRI contrast enhancing agent for tumor localization in mice // Magnetic Resonance Imaging. 1995. V. 13. № 7. P. 985–990.
6. Патент №2181736 (РФ). Способ получения сульфозамещенных фталоцианинов / В.М. Деркачева, В.А. Важнина, В.И. Кокорева, Е.А. Лукьянец.
7. Measurement Methods // User's Guide and Instruction Manual. Paravision 5.0. Bruker BioSpin, Karlsruhe, Germany, 2009.
8. http://www.bruker-biospin.com/biospec70_30_description.html.
9. Гуляев М.В., Какагельдыев С.К., Батова С.С., Анисимов Н.В., Пирогов Ю.А. Применение релаксационных карт для оптимизации режимов магнитно-резонансного сканирования всего тела // Медицинская физика. 2011. № 1(49). С. 54–59.
10. Какагельдыев С.К., Петруевич Ю.М., Анисимов Н.В. Релаксационные карты как способ получения оптимального контраста в изображениях магнитно-резонансной томографии // Материалы 3-го Евразийского конгресса по медицинской физике и инженерии «Медицинская физика-2010». М.: 2010. Т. 1. С. 55–56.

Поступила 27 июля 2012 г.

MANGANESE SULFO-PHTHALOCYANINE AS A CONTRAST AGENT IN MAGNETIC RESONANCE IMAGING OF RAT'S BRAIN TUMORS



© Authors, 2012

*M.V. Gulyaev, G.A. Meerovich, I.G. Meerovich, V.M. Derkacheva,
L.M. Borisova, O.L. Kaliya, E.A. Lukyanets, N.V. Anisimov,
G.N. Vorozhtsov, Yu.A. Pirogov*

After injection of contrast agents in the living organism, the effectiveness of magnetic resonance imaging (MRI) is significantly increased as a result of their accumulation in a tumor area. For today imported contrast agents (such as Magnevist, OmniScan and etc.) are usually used in MRI. This article describes the use of domestic contrast agent based on the manganese sulfo-phthalocyanine ($\text{SO}_3\text{Na})_{2.5}\text{-PcMnOAc}$ (*Federal State Unitary Enterprise «National Research Centre «Scientific-Research Institute of Organic Intermediates and Dyes»*). Accumulated in the tumor, the contrast agent affects the T1-relaxation time of the tumor tissue, so it is detected more clearly on T1-weighted images; the brightness and contrast of the tumor are increased significantly. The discussed contrast agent was tested using modern magnetic resonance scanner Bruker BioSpec 70/30 URS (Germany) with a constant magnetic field 7 Tesla at the magnetic tomography and spectroscopy laboratory, Faculty of Basic Medicine, Lomonosov Moscow State University.

Уважаемые читатели!

В Издательстве «САЙНС-ПРЕСС» вышла в свет книга
из серии
«ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ ИННОВАЦИИ»

ТЕХНОЛОГИИ ТРАНСФУЗИОЛОГИИ

Под редакцией докт. техн. наук А. Г. Гудкова

Книга посвящена технологическим аспектам в трансфузиологии. Рассмотрены вопросы организации Службы крови как производственной составляющей трансфузиологии, вопросы конструкторско-технологического проектирования изделий медицинской техники. Показано, что для полноценного обеспечения и развития технологической составляющей в обеспечении пациентов гемокомпонентами необходимы систематизация, всестороннее внедрение новых принципов и инновационных подходов в процессе создания специализированного оборудования. Предложен комплексный подход к решению проблемы взаимосвязи показателей качества, стоимости изделий и эффективности процессов заготовки компонентов крови.

Для специалистов в области трансфузиологии, научных работников, инженеров, занимающихся проектированием и производством медицинской техники. Может быть полезна аспирантам и студентам старших курсов медико-технических специальностей вузов.

Заказать и приобрести книгу можно по адресу:
107031, г.Москва, К-31, Кузнецкий мост, д. 20/6, тел./факс: (495) 625-78-72,
621-48-37, 625-92-41, <http://www.radiotec.ru>, e-mail:info@radiotec.ru