

Исследование распределения тяжелых ядер в организме лабораторных животных с применением мультиядерной МРТ визуализации

А. В. Косенков^{1,*}, М. В. Гуляев^{2,†}, Н. В. Анисимов^{2,‡}, В. И. Лобышев^{1,§}, Ю. А. Пирогов^{3,¶}

¹Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, физический факультет, кафедра биофизики
Россия, 119991, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 2

²Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова,
факультет фундаментальной медицины, лаборатория магнитной томографии и спектроскопии
Россия, 119992, Москва, Ломоносовский проспект, д. 31, стр. 4

³Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова,
физический факультет, кафедра фотоники и физики микроволн
Россия, 119991, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 2

Рассмотрен способ визуализации распределения дейтерия и перфторуглеродов в организме крыс методами мультиядерной ЯМР спектроскопии и МРТ. Показано, что использование мультиядерной МРТ визуализации открывает большие перспективы в биологических и медицинских исследованиях *in vivo*.

PACS: 07.05.Pj УДК: 537.635

Ключевые слова: мультиядерная магнитно-резонансная томография, тяжелая вода, дейтерий, перфторуглероды, Перфторан®.

С момента открытия эффекта ядерного магнитного резонанса (ЯМР) перед исследователями все чаще встает вопрос о возможности исследования воздействия разнообразных веществ биологической или синтетической природы на живой организм, особенно, когда речь идет о патологических тканях [1]. Так, например, были открыты парамагнитные вещества, введение которых в живой организм значительно улучшает визуализацию различного типа опухолей на изображениях, полученных с помощью магнитно-резонансной томографии (МРТ) [2]. Влияние же тяжелых ядер на живой организм не до конца изучено [3]. В данном исследовании рассматривается распределение ядер дейтерия (²D) и фтора (¹⁹F) в организме лабораторных животных с помощью мультиядерной МРТ.

В литературе показано, что тяжелая вода ²H₂O (D₂O) оказывает ингибирующий эффект на процессы деления и роста живых клеток, причем наибольший эффект наблюдается на быстро делящихся клетках, в том числе опухолевой природы: лимфосаркомы и карциномы у мышей замедляют свое развитие при повышении концентрации D₂O в организме [4]. Также показаны положительные результаты совместного применения тяжелой воды с химио- и лучевой терапией [5]. Кроме того, тяжелая вода как действующее вещество хороша тем, что, вследствие естественного водообмена, она легко выводится из организма в отличие от многих фармакологических препаратов [6]. Известно также, что перфторуглероды (ПФУ) локализуются в живом организме преимущественно в печени

и селезенке, а также в зонах воспаления (например, в опухолевых тканях) [7], они способны растворять очень большие объемы газов, совершенно инертны, не токсичны, а будучи введенными в живой организм выводятся в основном с выдыхаемым воздухом [8]. Таким образом, исследуемые вещества D₂O и ПФУ оказываются полезными при исследовании развития патологических процессов в живом организме.

В настоящей работе показано, что наблюдать за распределением тяжелых ядер внутри живого организма можно с помощью мультиядерной МРТ. Обычно томографы (медицинские томографы тотально) настроены на прием ЯМР-сигналов только от протонов. Чтобы получать ЯМР-отклики от других ядер, необходимо перестроить приемо-передающий тракт томографа на нужные ларморовы частоты. Такая возможность имеется на биоспектротомографе BioSpec 70/30 USR фирмы Bruker с постоянным магнитным полем 7 Тл, предназначенном для исследования лабораторных животных. Помимо наличия широкого канала пропускаемых частот, необходимо иметь еще специализированные катушки, которые могут настраиваться на определенные резонансные ларморовы частоты. Так, в магнитном поле 7 Тл ларморова частота ядер дейтерия составляет 46.17 МГц, ядер фтора 283.01 МГц, ядер водорода (протонов) 300.80 МГц.

Для реализации поставленной задачи была сконструирована поверхностная приемо-передающая катушка, способная принимать ЯМР-сигналы от ядер дейтерия (рис. 1А), а также модифицирована протонная приемо-передающая катушка, настраиваемая на частоту фтора (рис. 1В).

Поверхностная приемо-передающая катушка на частоте дейтерия изготовлена в виде кольцевой рамки, содержащей 6 витков диаметром 2 см. В экранированном корпусе размещены подстроечные конденсаторы, необходимые для настройки колебательного кон-

*E-mail: av.kosenkov@physics.msu.ru

†E-mail: mihon-epsilon@yandex.ru

‡E-mail: anisimovnv@mail.ru

§E-mail: lobyshev@yandex.ru

¶E-mail: yupi937@gmail.com



Рис. 1: Приемо-передающие катушки для ядер дейтерия (А) и для ядер фтора (В).

тура в резонанс на частоте 46.17 МГц и его согласования с выходным сопротивлением передатчика (50 Ом). Для регистрации ^2D -ЯМР-спектров применялась импульсная последовательность, в которой используется один возбуждающий 90° -й радиочастотный импульс. Для получения спектров высокого разрешения использовались 64 накопления. Время получения одного ^2D -ЯМР-спектра составило 1 мин.

Глубина считывания ^2D -ЯМР-сигнала для данной катушки составляет около 1.5 см. Поэтому, чтобы снизить зависимость чувствительности датчика от расстояния от плоскости витков, сканирование проводилось дважды — сначала катушка располагалась снизу, а затем сверху от животного. В качестве лабораторных животных использовались крысы Wistar весом 200–250 г. Животных содержали в специальном помещении со свободным доступом к воде и пище, 12-ти часовым циклом день/ночь, с регулируемой температурой и влажностью.

Кроме того, для получения общей картины распределения ядер дейтерия внутри всего тела животного необходимо было разделить мысленно объект исследования на несколько отделов: головной мозг, верхнегрудной, нижнегрудной, поясничный, крестцовый (рис. 2С). Таким образом, соседние зоны были разнесены на расстояние, соответствующее зоне чувствительности данной катушки — 2 см. В итоге получены ^2D -ЯМР-спектры путем подсчета среднеарифметической суммы для каждого участка тела крысы при естественном содержании дейтерия в организме (рис. 2А) и после двухнедельного употребления 1%-ого раствора D_2O (рис. 2В). Следует отметить, что интенсивность ^2D -ЯМР-спектров после двухнедельного потребления 1%-ого раствора D_2O в различных отделах тела крысы в 7 раз превышает интенсивность ^2D -ЯМР-спектров при естественном содержании дейтерия: для наглядности на рис. 2А и рис. 2В полученные ^2D -ЯМР-спектры выравнены по интенсивности.

Анализ полученных ^2D -ЯМР-спектров от различных отделов тела крыс показывает, что у тех крыс, которые пили тяжелую воду, ядра дейтерия распределяются в основном в одинаковой концентрации в верхнегрудном, нижнегрудном и поясничном отделах крысы, то есть главным образом в области органов жизнеобеспечения, в отличие от крыс с естественным содержанием дейтерия, где в области нижнегрудного отдела наблюдался не такой интенсивный ^2D -ЯМР-сигнал (область печени, селезенки).

Определенный интерес представляет анализ возмож-

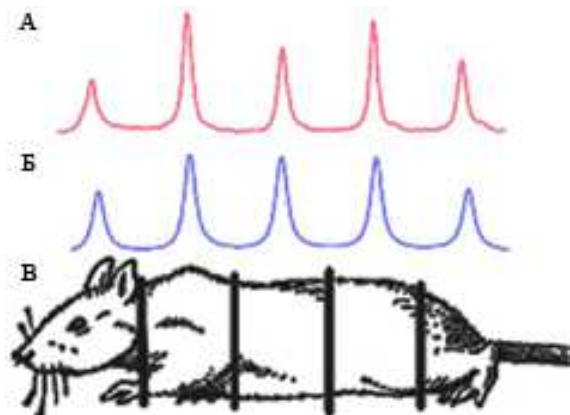


Рис. 2: А: ^2D -ЯМР-спектры с естественным содержанием дейтерия в различных отделах тела крысы; В: ^2D -ЯМР-спектры после 2-недельного потребления 1%-го раствора D_2O в различных отделах тела крысы; С: Макет крысы, тело которой условно поделено на отделы.

ности перераспределения ^1H -ЯМР-сигналов для разных тканей организма крыс, которые пили тяжелую воду (1% раствор D_2O) по сравнению с крысами, которые пили обычную проточную воду. Сопоставив ^2D -ЯМР-спектры с протонными спектрами в тех же зонах считывания ЯМР-сигналов, можно оценить вариативность их распределения для различных органов (тканей) крыс. По предварительным данным можно сделать вывод, что картина распределения ^1H -ЯМР-сигналов в живом организме не отличается для крыс, которые пили проточную или тяжелую воду.

Помимо ^2D -ЯМР-спектров представляется возможным получать ^2D -МРТ-изображения ввиду довольно высокой интенсивности спектральных линий у крыс, которые пили 1%-ый раствор D_2O . На рис. 3А показано ^2D -МРТ-изображение верхнегрудного отдела тела крысы. Такое изображение получено с помощью импульсной последовательности FLASH, в которой используется один возбуждающий радиочастотный импульс. Время получения ^2D -МРТ-изображения составило 10 мин. На рис. 3В представлено протонное МРТ-изображение этой же области тела крысы. Как видно из данных рисунков, с помощью сопоставления ^2D -МРТ-изображений и ^1H -МРТ-изображений можно определить точечную локализацию ядер дейтерия внутри тела крысы. Это позволит ответить на вопрос, где именно локализуются ядра дейтерия. Особенно перспективным такой метод может оказаться при

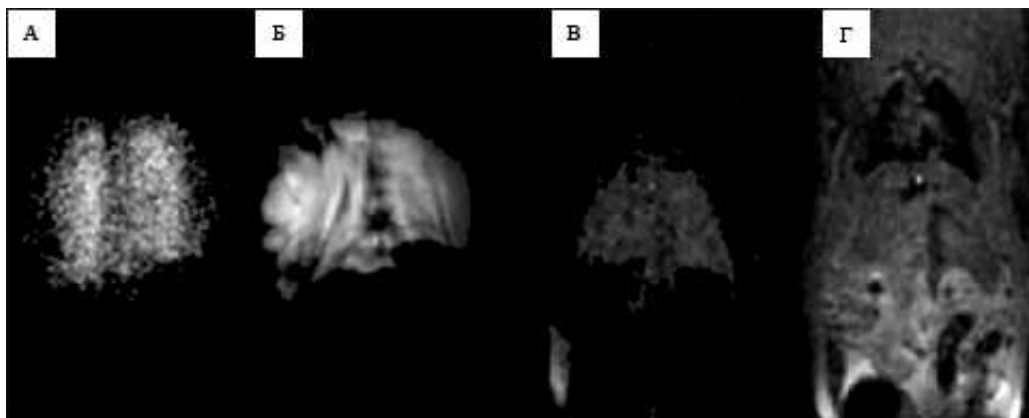


Рис. 3: А — ^2D -МРТ-изображение верхнегрудного отдела крысы после 2-недельного употребления 1%-го раствора D_2O ; Б — ^1H -МРТ-изображение верхнегрудного отдела этой же крысы; В — ^{19}F -МРТ-изображение всего тела крысы с введенным препаратом Перфторан®; Г — ^1H -МРТ-изображение всего тела этой же крысы.

исследовании животных с различными воспалениями или опухолями.

Было исследовано также распределение ПФУ в организме крыс после их внутривенного введения в яремную вену. В качестве ПФУ использовался препарат Перфторан® [9]. Для регистрации ^{19}F -ЯМР-сигналов применялась приемо-передающая катушка, предназначенная для регистрации ЯМР-сигналов протонов, однако в данной катушке была модернизирована электрическая схема, в результате резонансная частота катушки была настроена на ларморову частоту ядер фтора.

Полученные ^{19}F -ЯМР-спектры свидетельствуют о том, что препарат Перфторан® в течение первых нескольких часов после его введения равномерно распределяется по всему организму тела крысы, однако затем, спустя сутки после его введения он преимущественно сосредотачивается в печени и селезенке (как и было показано в литературе ранее). Данный факт позволяет получать ^{19}F -МРТ-изображения (рис. 3С). Ввиду довольно широкого и сложного ^{19}F -ЯМР-спектра ^{19}F -МРТ-изображения были получены с помощью импульсной последовательности MSME, в которой используется два радиочастотных импульса (90° -й возбуждающий и 180° -й инвертирующий импульс) [10]. Время получения ^{19}F -МРТ-изображения составило 15 минут. На рис. 3D представлено протонное МРТ-изображение этой же области тела крысы. Таким образом, сопоставляя ^{19}F -МРТ-изображения и ^1H -МРТ-изображения от одной и той же области

исследования можно судить о распределении ядер фтора внутри живого организма.

Выводы. Получено распределение ядер дейтерия по различным отделам тела крыс (головной мозг, верхнегрудной, нижнегрудной, поясничный, крестцовый). Данное распределение фиксировалось с помощью ^2D -ЯМР-спектров, а также с помощью ^2D -МРТ-изображений различных отделов тела крыс, которые пили 1%-ый раствор D_2O . В результате анализа полученных спектров можно заключить, что в естественных концентрациях распределение дейтерия в тканях крысы коррелирует с распределением водорода. Также показано нарушение корреляции при искусственном повышении концентрации дейтерия путем 2-недельного приема 1%-го раствора D_2O , а именно, концентрация ядер дейтерия выравнивается в органах жизнеобеспечения. Кроме того, исследовалось распределение ядер фтора, содержащихся в препарате Перфторан®. С помощью ^{19}F -МРТ-изображений показано, что спустя сутки данный препарат целиком попадает в печень и селезенку.

Таким образом, показано, что с помощью мультиспектральной МРТ визуализации можно следить за пространственным распределением тяжелых ядер внутри живого организма. Данный метод является неинвазивным, безопасным и не требующим много времени.

Работа выполнена при поддержке гранта Минобрнауки РФ № 14.604.21.0060 (RFMEFI60414X0060).

- [1] Yan G. P., Robinson L., Hogg P. Radiography. **13**, N 1. P. e5. (2007).
 [2] Xu W. et al. Phys. Chem. Chem. Phys. **14**, N 37. P. 12687. (2012).
 [3] Thomson J. Ann. N. Y. Acad. Sci. **84**, N 16. P. 736. (1960).
 [4] Barbour H. G., Allen E. Amer. J. Cancer. **32**, N 3. P. 440.

- (1938).
 [5] Biggs M. W., Eiselein J. E., Wilcox G. Cancer Res. **23**, N 7. P. 1059. (1963).
 [6] Лобышев В. И., Калинин Л. П. Изотопные эффекты D_2O в биологических системах. (М.: Наука, 1978).
 [7] Mason R. P. et al. Magn. Reson. Imag. **7**, N 5. P. 475. (1989).

- [8] Gross U., Rüdiger S., Reichelt H. J. Fluor. Chem. **53**, N2. P. 155. (1991). [10] Гуляев М.В. и др. Журнал радиоэлектроники: электронный журнал. № 8. (2013). URL: <http://jre.cplire.ru/jre/aug8/text.pdf>.
- [9] Иваницкий Г.Р., Воробьев С.И. Вестник РАН. **67**, № 11. С. 998. (1997).

Investigation of heavy nuclei distribution in the body of laboratory animals using multinuclear MRI imaging

A. V. Kosenkov^{1,a}, M. V. Gulyaev^{2,b}, N. V. Anisimov^{2,c}, V. I. Lobyshev^{1,d}, Yu. A. Pirogov^{3,e}

¹Department of biophysics, Faculty of Physics, Lomonosov Moscow State University
Leninskie gory, 1, bldg.2, Moscow 119991, Russia

¹Laboratory of Magnetic Tomography and Spectroscopy, Faculty of Fundamental Medicine
Lomonosov Moscow State University, Lomonosovskiy ave., 31, bldg.4, Moscow 119192, Russia

¹Department of Photonics and Microwave Physics, Faculty of Physics, Lomonosov Moscow State University
Leninskie gory, 1, bldg.2, Moscow 119991, Russia

E-mail: ^aav.kosenkov@physics.msu.ru, ^bmihon-epsilon@yandex.ru, ^canisimovnv@mail.ru,
^dlobyshev@yandex.ru, ^eyupi937@gmail.com

Presentation about visualization of deuterium and perfluorocarbons distribution in rats using multinuclear NMR spectroscopy and MRI. It is shown that the use of multinuclear MRI visualization offers great promise in biological and medical research *in vivo*.

PACS: 07.05.Pj

Keywords: multinuclear magnetic resonance imaging, heavy water, deuterium, perfluorocarbons, Perftoran®.

Received 27.07.2015.

Сведения об авторах

1. Косенков Алексей Викторович — студент; тел.: (985) 304-71-68, e-mail: av.kosenkov@physics.msu.ru.
2. Гуляев Михаил Владимирович — канд. физ.-мат. наук, научный сотрудник; тел.: (985) 428-75-99, e-mail: mihon-epsilon@yandex.ru.
3. Анисимов Николай Викторович — докт. физ.-мат. наук, старший научный сотрудник; тел.: (916) 203-48-28, e-mail: anisimovnv@mail.ru.
4. Валентин Иванович Лобышев — докт. физ.-мат. наук, профессор, ведущий научный сотрудник; тел.: (915) 238-53-03, e-mail: lobyshev@yandex.ru.
5. Пирогов Юрий Андреевич — докт. физ.-мат. наук, профессор, профессор; тел.: (495) 939-16-69, e-mail: yupi937@gmail.com.