

**V Троицкая конференция  
«МЕДИЦИНСКАЯ ФИЗИКА И  
ИННОВАЦИИ В МЕДИЦИНЕ»  
(ТКМФ-5)**

**4-8 июня 2012 г.**

**СБОРНИК  
МАТЕРИАЛОВ**

**ТОМ 1**

**г. Троицк Московской области  
2012 г.**

# ИССЛЕДОВАНИЕ МОДЕЛЬНЫХ ГЛИАЛЬНЫХ ОПУХОЛЕЙ МЕТОДАМИ ЯДЕРНОГО МАГНИТНОГО РЕЗОНАНСА

М.В. Гуляев<sup>1</sup>, Е.В. Верхоглазова<sup>1</sup>, Н.В. Анисимов<sup>1</sup>, Г.М. Юсубалиева<sup>2</sup>, Н.А. Брусенцов<sup>3</sup>, Ю.А. Пирогов<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Московский государственный университет им.М.В. Ломоносова

<sup>2</sup>Институт судебной психиатрии (ГНЦ ССП) им. М.В. Сербского

<sup>3</sup>Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина

[mihon-epsilon@yandex.ru](mailto:mihon-epsilon@yandex.ru)

Сообщается о применении методов ядерного магнитного резонанса (ЯМР) - спектроскопии и МР-томографии для исследования глиальных опухолей в рамках их моделирования на лабораторных животных. Даны примеры анализа спектральной информации, релаксационных измерений, МР-визуализации, применения контрастных и биологически активных веществ.

Для изучения глиальных опухолей человека применяется их моделирование на малых лабораторных животных. Моделирование осуществляется путем инвазии в мозг мыши или крысы штаммов глиомы, например, глиомы С6, как аналога глиобластомы человека [1]. На модельных объектах отслеживается динамика роста опухоли, совершенствуются методы ее диагностики и визуализации. В рамках моделирования апробируются новые контрастные вещества и лекарственные препараты.

В ЛМТС МГУ на 7 Тл магнитно-резонансном томографе BioSpec 70/30 («Брукер») проводились исследования по изучению глиомы С6 методами локальной ЯМР-спектроскопии и МР-томографии. Некоторые технические аспекты этих работ и предварительные результаты изложены ниже.

## 1. МРТ-визуализация глиомы.

Глиома С6 хорошо визуализируется на T2 взвешенных изображениях (T2ВИ) благодаря разнице во временах поперечной релаксации T2 по сравнению с белым веществом мозга. Различия в протонной плотности (PD) и времени продольной релаксации T1 для глиомы и нормальных тканей менее выражены. Это отчетливо видно на релаксационных картах, построенных по изображениям, полученных методом спинного эха при варьировании параметров TR и TE.

При введении в организм животного контрастного вещества на основе Gd-содержащих парамагнетиков, хорошая визуализация глиомы получается и на T1ВИ. Эффект возникает из-за того, что в зоне опухоли у клеток мозга ослаблен гематоэнцефалический барьер. Это способствует проникновению в эту зону парамагнетика, из-за чего у тканей в этой зоне сокращается время T1.

В последнее время проводятся интенсивные исследования контрастных веществ, содержащих железо (Fe) или марганец, которые проявляют себя как негативные контрастные агенты, снижающие сигнал от нормальных тканей за счет сокращения T2\*, что позволяет лучше выявить зону опухоли и сосуды, ее питающие [2]. При накоплении Fe-содержащего препарата по периферии опухоли создаются условия для их удержания в этой зоне с помощью градиентных магнитных полей и лечения опухоли методом гипертермии, которую можно обеспечить за счет РЧ нагрева [3].

В наших исследованиях в качестве Fe-содержащего препарата применялся декстран-магнетит (ДМ) - смесь наночастиц размерами 120-240 нм, каждая из которых содержит ядро – кристалл Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, окруженный молекулами декстрана – полисахаридами с молекулярной массой ~70 кДа. Особенностью ДМ является значительное время внедрения в организм – (circulation half time) - более 24 часов и медленное выведение из организма за счет метаболизма – от нескольких суток до нескольких месяцев для разных органов. Ранее апробация ДМ проводилась нами при исследовании подкожных опухолей – карциномы, меланомы. Отмечалось накопление препарата по периферии опухолей, что давало основания применить препарат и при исследовании опухолей головного мозга.

Мы не обнаружили достоверных признаков проникновения ДМ в глиому. Возможно, это связано с большим разбросом в размерах наночастиц в данном препарате. Однако наблюдалось его накопление в капсуле абсцесса – побочного продукта, связанного с имплантацией штаммов глиомы в мозг крысы. Эффект хорошо выявляется при сравнении Т1ВИ, полученных до и после введения ДМ.

На присутствие ДМ указывала динамика  $^1\text{H}$  ЯМР спектров, локализованных в зоне абсцесса. Отмечалось уширение линий до 24-28 Гц через 1-2 суток после введения ДМ с последующим их сужением до 12-14 Гц спустя 5-6 дней.

В то же время магнитометрические измерения для всей головы, проведенные для нормальной крысы и крысы с глиомой, не выявили существенной разницы в количестве обнаруженных частиц ДМ (~ 20 мкг при введенной внутрибрюшинно дозе 0.2 мл). Это указывает на особую избирательность их локализации в зоне поражения.

## **2. Анализ метаболитов по данным локальной *in vivo* ЯМР спектроскопии**

Если МР-изображения регистрировались стандартными методами, то съемка спектров имела специфику для протонов и отличных от них ядер.

Возбуждение сигналов ЯМР протонов (300 МГц) производилось от резонатора диаметром 20 см, а регистрация сигналов производилась с помощью поверхностной катушки, адаптированной для съемки головы крысы. (Эта же конфигурация использовалась и для получения изображений). Локализация спектров  $^1\text{H}$  обеспечивалась путем эффективного уменьшения объема за счет применения в импульсной последовательности PRESS (Point Resolved Spectroscopy) градиентных полей. Для локальной спектроскопии применялось частотно-селективное подавление мощного сигнала воды.

Для регистрации спектров от ядер  $^{31}\text{P}$  и  $^{13}\text{C}$  в качестве приемо-передающего датчика использовали поверхностную катушку диаметром 2 см. Ее позиционирование относительно зоны интереса определяло локализацию спектров. Спектры регистрировались с помощью одноимпульсной последовательности. Для спиновой развязки от протонов РЧ мощность подавалась на вышеупомянутый резонатор.

### **2.1 Анализ $^1\text{H}$ -ЯМР спектров**

В спектре протонов наиболее отчетливо регистрировались метаболиты: N-ацетиласпартат (NAA), холин (Cho), креатин (Cr), лактата (Lac), сигнал от липидов (Lip). При сопоставлении спектров нормального участка мозга и зоны поражения при глиоме С6 отмечается существенное повышение пиков лактаты и липидов. Отмечается рост этик пиков со временем. Заметно снижение пика N-ацетиласпартата и креатина, а также соотношений NAA/Cr, NAA/Cho, Cr/Cho.

Результаты хорошо коррелируют с данными, полученными при исследовании глиобластомы человека [4]. Это указывает на адекватность ее моделирования с помощью глиомы С6.

### **2.2 Анализ $^{31}\text{P}$ -ЯМР спектров**

В спектре фосфора  $^{31}\text{P}$  (121 МГц) надежно регистрировались метаболиты: фосфомоноэстер (PME), неорганический фосфат (Pi), фосфодиэстер (PDE), фосфокреатин (PCr), аденозин трифосфат (АТР- $\alpha, \beta, \gamma$ ). Сравнивая спектры  $^{31}\text{P}$  для нормального мозга и мозга, пораженного глиомой С6, можно отметить подавление пика PDE и возрастание пика Pi. Аналогичный эффект известен из данных по исследованию мозга человека при сопоставлении спектров, полученных от нормального мозга и мозга, пораженного глиобластомой [5].

Таким образом, несмотря на сравнительно грубую локализацию спектра, метод оказывается информативным для оценки состояния головного мозга, поскольку он выявляет закономерности, характерные для поражения мозга глиомой С6.

## 2.3 Анализ $^{13}\text{C}$ -ЯМР спектров

Из-за низкой чувствительности, обусловленной малым естественным содержанием изотопа  $^{13}\text{C}$ , анализ метаболитов представляется малоэффективным. Большее развитие получили исследования с введением биологически активных веществ, в молекулах которых произведено замещение изотопа  $^{12}\text{C}$  на  $^{13}\text{C}$ . Мы применяли для этого обогащенные по  $^{13}\text{C}$   $\delta$ -аминолевулиновую кислоту и D-глюкозу.

При внутривенном введении в организм мыши  $\sim 0.1$  мл глюкозы регистрировался достаточно сильный сигнал - достигалось двукратное превышение сигнала от линий C2 глюкозы по сравнению с пиком  $(\text{CH}_2)_n$  от липидов. Практика показала, что последний удобно использовать в качестве эталона для калибровки интенсивности линий спектра, поскольку он самый мощный и присутствует вне зависимости от введенного препарата и наличия опухоли. Хороший сигнал от глюкозы получался без спиновой развязки от протонов, от которой пришлось отказаться из-за высокого уровня перекрестных помех. Однако РЧ насыщение протонных линий все же применялось для повышения уровня сигнала за счет эффекта Оверхаузера.

Предполагалось проследить эволюцию сигналов глюкозы с целью сопоставления метаболической динамики для нормальной мыши и мыши с глиомой. Кроме того, предполагалось найти корреляцию между потреблением глюкозы и размерами опухоли. Эксперименты показали, что вариабельность сигнала ЯМР  $^{13}\text{C}$  от введенного вещества слишком велика для того, чтобы делать вывод о взаимосвязи вводимого количества вещества и размером зоны поражения. Это может быть связано с индивидуальными особенностями восприятия организмом вводимого вещества. Проследить динамику метаболических процессов, временной масштаб которых составляет час и более, не удалось из-за невозможности обеспечить на такое же время фиксацию животного. В качестве анестезии использовался хлоральгидрат, действие которого не превышало 30-40 мин. Тем не менее, удалось зарегистрировать слабо выраженные сигналы глутамата и лактата.

При глубокой анестезии животного (например, при использовании газовой анестезии) можно проследить динамику метаболических процессов глюкозы, причем не только по спектрам  $^{13}\text{C}$ , но и по  $^2\text{D}$  [6], для чего задействовать обогащенные по данным изотопам препараты.

Авторы признательны Т.А.Егоровой (Protein Labelling Innovation) за содействие в приобретении изотопно обогащенных образцов глюкозы.

1. Grobбен B., De Deyn P.P., Slegers H. // Cell Tissue Res., 310(3), 2002, pp. 257-270.
2. Wickline S.A., Neubauer A.M., Winter P.M., et al // JMRI, 25, 2007, pp. 667-680.
3. Brusentsov N.A., Pirogov Y.A., Anisimov N.V., et al // AIP, 1311, 2010, pp. 447-452.
4. Howe F.A., Barton S.J., Cudlip S.A., et al // Magn. Reson. Med., 49, 2003, pp. 223-232.
5. Maintz D., Heindel W., Kugel H., et al // NMR in Biomed., 15, 1, 2002, pp. 18-27.
6. Ye A., Duerk J.L., Flask C.A., Mateescu G.D. // Proc. Intl. Soc. MRM, 17, 2009, pp. 535.

## GLIAL TUMOR MODELLING BY NMR METHODS

Gulyaev M.V.<sup>1</sup>, Verkhoglaзova E.V.<sup>1</sup>, Anisimov N.V.<sup>1</sup>, Yusubalieva G.M.<sup>2</sup>, Brusentsov N.A.<sup>3</sup>, Pirogov Yu.A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Lomonosov Moscow State University

<sup>2</sup>Serbsky National Research Centre

<sup>3</sup>Blokhin Russian Cancer Research Center

[mihon-epsilon@yandex.ru](mailto:mihon-epsilon@yandex.ru)

It is reported on the application of magnetic resonance methods – NMR spectroscopy and MR imaging for the study of glial tumors in their simulation in laboratory animals. There are given an examples of spectral analysis, relaxation measurements, MR visualization, the use of contrast agents and bioactive substances.