

Nové X-nuclei kontrastní látky pro zobrazování magnetickou rezonancí

Martin Vít^{1,2}, Natalie Zilkowská^{1,3}, Martin Burian¹, Daniel Jiráček^{1,4}

¹ Institut klinické a experimentální medicíny, IKEM, Praha

² Technická univerzita v Liberci, FMIMS, Liberec

³ Karlova univerzita, 1. LF, Praha

⁴ Technická univerzita v Liberci, FZS, Liberec

Email: martin.vit@tul.cz

Myšlenkou projektu je vyvinout a otestovat novou třídu bidegradabilních a responsivních kontrastních látek pro zobrazování magnetickou rezonancí, založenou na zobrazování jader ^1H a ^{31}P . Na tyto kontrastní látky jsou navíc navázány ionty železa, které by měly upravit relaxační časy, čímž by došlo k responzi na fyziologické změny v živém organismu. Zde je prezentována pilotní *in vitro* studie zaměřená na vývoj metody zobrazení a vliv železa na ^{31}P a ^1H MR signál.

Klíčová slova: Magnetic resonance imaging, radiofrequency engineering, molecular imaging, new contrast agent, X-nuclei MR

Úvod

Kontrastní látky pro MRI mají za úkol zvýšení kontrastu určitých částí tkáně. Komerčně používané látky jsou však často neresponzní – nezohledňují fyziologické změny tkáně. U takovýchto kontrastních látek nedojde ke zvýraznění míst s odlišnou fyziologií, jako jsou třeba rakovinná ložiska. Responsivní látky naopak tato místa zvýrazňují na základě odlišné teploty, odlišného pH, nebo dalších vlivů. Tato vlastnost může přispět ke včasnému odhalení poškozené tkáně a tím zrychlit diagnózu. Navrhovaná $^1\text{H}/^{31}\text{P}$ kontrastní látka se pro ^{31}P část vyznačuje slabým signálem MR (cca 6% signálu ^1H) proto je potřeba vyvinout citlivé přijímací radiofrekvenční obvody pro přesné měření ^{31}P MR signálu.

Metodika

Zkoumaná kontrastní látka je založena na principu fytátu s navázaným iontem Ca^{2+} . Tato magneticky neaktivní látka je v řadě koncentrací (0.717071 μM , 25.4295 μM , 35.5867 μM , 92.7846 μM , 212.582 μM , 431.557 μM) nahrazena paramagnetickými ionty Fe^{3+} , které by měly podle předpokladu zkracovat relaxační časy T_1 a T_2 . Tím by mělo dojít k rozšíření spektrální čáry fosforu a poklesu amplitudy. To by se mělo projevit ztrátou signálu ve výsledném ^{31}P snímku. Vazba železa na molekulu fytátu by měla být responsivní, tzn. Při určité fyziologické změně [1] by mělo dojít k odštěpení železa, zúžení spektrální čáry a vzrůstu její intenzity.

Tím vznikne signál v konkrétním místě a místo bude na snímku označeno. Ionty železa by poté měly být odplaveny organismem a tím by mělo dojít ke zvýšení kontrastu. Stejný princip platí i pro ^1H jádra.

Jednotlivé fytáty s rozdílnou koncentrací železa byly vytvořeny pomocí deferoxaminu, látkou vykazující vysokou afinitu k iontům Fe^{3+}

Pro měření ^{31}P snímků byla použita sekvence Chemical Shift Imaging (CSI, TR=1000, ST=1h30min, 30 acquisitions, resolution 2.1x2.1x5.8 mm³). Pro snímání ^1H snímků byla použita spin-echová sekvence (RARE, TR/TE=129/3.7ms, 4 averages).

Pro účely měření ^{31}P signálu je vyvíjena citlivá radiofrekvenční cívka typu solenoid určená pro měření *in vitro* vzorků v 0,5 ml zkumavkách Eppendorf. Tato cívka je přeladitelná mezi frekvencemi 81 a 200 MHz, což odpovídá rezonancím ^1H a ^{31}P při síle pole MR stroje 4.7 T. Všechny experimenty jsou prováděny na stroji Bruker Biospec 47/20.

Výsledky a diskuze

Spektra magnetické rezonance vykazují závislost ^{31}P signálu na obsahu železa - potvrzují myšlenku rozšiřování spektra pro vyšší koncentrace železa (obr. 1). Pro ^1H signál byl zjištěn pokles intenzity signálu pro T_2 vážené snímky (obr.2).

Pomocí spektroskopických Technik byly naměřeny relaxační časy ^{31}P rezonance, které se pohybují v

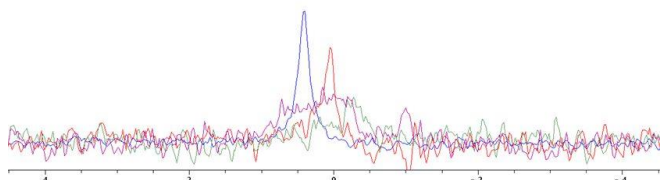
rozmezí od 1000 do 4000 ms, Tato T_1 relaxometrická měření však nevykázala změnu relaxačních času v závislosti na obsahu železných iontů Fe^{3+} ve vzorku

Nepříjemným jevem, který omezuje použití kontrastní látky je srážení fyátátu a koncentraci iontů Fe^{3+} na dně zkumavky. Tomuto jevu by snad bylo možno zabránit přidáním určitého druhu surfaktantu.

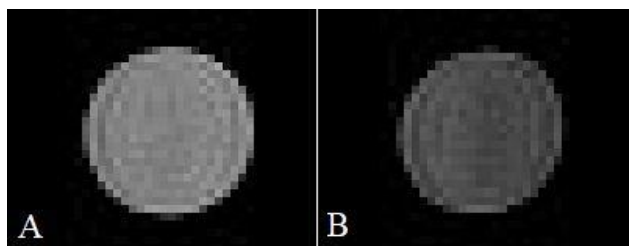
S konstruovanou radiofrekvenční cívkou bylo naměřeno množství snímků, které vedly k ověření funkčnosti, optimalizaci tvaru pole a optimalizaci provedení cívky pro nejvhodnější provádění experimentů.

V dalším pokračování práce proběhne testování rezpozivity na změnu teploty a změnu pH, následovat bude *in vitro* testování na buněčných kulturách, závěrem budou látky testovány na živých organismech malých hlodavců.

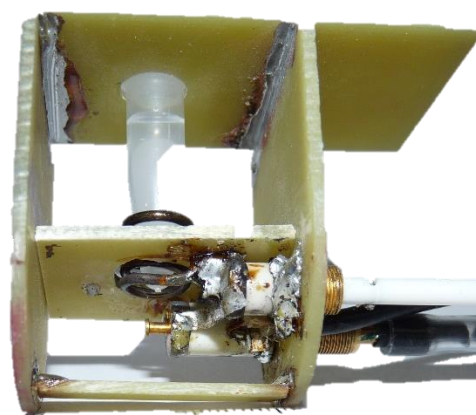
Pro tyto rozsáhlé experimenty bude vyvinuta speciální duální povrchová $^1H/^{31}P$ MR RF cívka, která umožní měřit jednak několik *in vitro* vzorků naráz a dále umožní zobrazit zajímavé části těla malých hlodavců, tak aby bylo možno sledovat účinky kontrastních látek.



Obr. 1 ^{31}P MRS calcium (II) fyátátu obohacená o železo v koncentracích: 0.717071 μM (modrá), 25.4295 μM (červená), 35.5867 μM (zelená) and 212.582 μM (fialová); Sekvence singlepulse TR=1800, f=81 MHz.



Obr. 2 T_2 -weighted 1H MR snímky calcium (II) fyátát obohacen o (A) 0.717071 μM a (B) 431.557 μM železa.



Obr. 3 Konstruovaná solenoidní cívka $^1H/^{31}P$

Závěr

Tyto testované rezpozivní kontrastní látky mohou odrážet fyziologickou aktivitu zkoumaného prostředí. Kombinace 1H a ^{31}P rezonancí umožňuje vyšetřit 2 nezávislá prostředí a získat tak mnohem komplexnější informaci o zkoumaném vzorku. Naše data potvrzují efekt železa na ^{31}P i 1H signál. Toto zlepšení může být využito jako tzv. smart contrast agent, který reaguje na určitou vnější stimulaci [2].

Vyvinutá radiofrekvenční cívka umožnila spolehlivé a citlivé měření MR signálu 1H a ^{31}P jader. Tím umožnila získání MR výsledků a realizaci celého experimentu.

Poděkování

Tato práce byla podpořena z projektu Studentské grantové soutěže (SGS) na Technické univerzitě v Liberci v roce 2019.

MR měření byla provedena na experimentálním MR spektrometru v Institutu klinické a experimentální medicíny.

Kontrastní látky byly dodány týmem pod vedením Martina Hrubého Mgr. Ph.D., D.Sc z ústavu Makromolekulární chemie v Praze.

Reference

- [1] Kato, Y., et al. (2013). Acidic extracellular microenvironment and cancer. *Cancer Cell Int.*, 13 (89).
- [2] Yoo, B. and Pagel, M.D. (2008). An overview of responsive MRI contrast agents for molecular imaging. *Front. Biosci.*, 13, 1733-1752.