

МАГНИТНО-РЕЗОНАНСНАЯ ВИЗУАЛИЗАЦИЯ ЛЕГКИХ НА ЯДРАХ ФТОРА-19 С ПРИМЕНЕНИЕМ ГАЗА ПЕРФТОРЦИКЛОБУТАНА

О.С. Павлова¹, Д.В. Волков¹, М.В. Гуляев¹, М.С. Костромина¹,
Л.Л. Гервиц², Н.В. Анисимов¹, Ю.А. Пирогов¹

¹ Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва

² Институт элементоорганических соединений имени А.Н. Несмеянова РАН, Москва

Рассмотрена задача визуализации легких методами магнитно-резонансной томографии (МРТ) на ядрах фтора-19, когда в качестве контрастных агентов используются фторсодержащие газы. В настоящее время уже проводятся исследования с такими газами как SF₆, C₂F₆, с помощью которых получают не только высокоинформативные ¹⁹F-МРТ-изображения, но измеряют и локальную вентилируемость легких. Однако эти газы гидрофобны и олеофобны, что препятствует их проникновению в мембрану альвеол и исключает возможность прямого измерения газообмена в легких. В качестве альтернативы предлагается использовать газ перфторциклобутан (ПФЦБ) C₄F₈. Он в высокой степени липофилен и может свободно проникать в мембрану альвеол, существенно улучшая процессы газообмена в органах дыхания. К тому же в молекулах ПФЦБ имеется 8 магнитно-эквивалентных ядер фтора, что обеспечивает больший сигнал на МРТ-изображениях. Сравнение способов газовой МРТ показало, что интенсивность МРТ-сигнала от C₄F₈ в 6 раз больше, чем при использовании газа SF₆. Приведены результаты применения ПФЦБ в *in vivo* экспериментах по ¹⁹F МРТ визуализации легких крысы.

Ключевые слова: ¹⁹F-МРТ, ¹⁹F-ЯМР, визуализация легких, контрастирование, перфторциклобутан, гексафторид серы

Введение

Согласно данным Всемирной организации здравоохранения, заболевания органов дыхания принято считать самыми распространенными [1]. Многие заболевания легких либо вовсе неизлечимы, либо поддаются лечению лишь на ранних этапах их развития (рак легких, муковисцидоз, ХОБЛ – хроническая обструктивная болезнь легких и др.). Ранняя диагностика таких заболеваний даже если не гарантирует полного выздоровления, то позволяет приостановить ухудшение состояния больного. Именно поэтому разработка новых

методов диагностики патологий легких на ранних этапах их развития является исключительно актуальной. В существующих методах диагностики легких (спирометрия, рентгенография, флюорография, компьютерная томография и т.п.) используется либо вредное для человека излучение, либо выявляются лишь глобальные патологические повреждения. В свою очередь, метод МРТ является безопасным и одним из наиболее эффективных методов медицинской диагностики.

Однако традиционные МРТ-методики на ядрах водорода (протонах) не могут быть использованы для визуализации легких. Это свя-

зано с тем фактом, что концентрация жидкости в легких, которая мономерным слоем покрывает альвеолы, оказывается недостаточной для ее визуализации. Вместе с тем, существует метод, основанный на использовании гиперполяризованных газов (^{129}Xe , ^3He), позволяющий получать высокоинформативные изображения легких [2]. Однако такой метод широко не применяется в клинической практике, поскольку он чрезвычайно дорог – требует разработки сложных вспомогательных устройств (лазерных или криогенных) и больших трудозатрат при подготовке визуализирующих препаратов [3].

В последнее время становятся все более популярными подходы в МРТ, связанные с визуализацией ядер, отличных от протонов – ^{19}F , ^{31}P , ^{23}Na , ^{13}C и др. Такие подходы позволяют получать дополнительную информацию о функциональном состоянии организма. Среди мультядерных МРТ-исследований особенно перспективным является использование ядер фтора-19 [4]. Это связано сразу с несколькими факторами: во-первых, магнитно-резонансная чувствительность ядер фтора составляет 83 % от чувствительности ядер водорода, во-вторых, ядра фтора практически отсутствуют в живом организме. Таким образом, при использовании фтор-содержащих препаратов в качестве визуализируемых методом МРТ веществ, можно получать ^{19}F -МРТ-изображения без фонового сигнала.

По сравнению с гиперполяризованными фторированные газы не требуют никакой предварительной поляризационной подготовки, вследствие чего не являются дорогостоящими. Эти газы содержат молекулы, имеющие несколько магнитно-эквивалентных ядер фтора-19, которые дают достаточно сильный ЯМР-сигнал. В качестве перфторированных газов использовались, главным образом, гексафторид серы (SF_6), гексафторэтан (C_2F_6) и октафторпропаном (C_3F_8). Эти газы производятся промышленным способом и не являются такими редкими, как ^3He или ^{129}Xe . Кроме того, они являются биологически безопасными [5].

Большинство исследований по газовой визуализации легких было выполнено с использованием гексафторида серы, ядра фтора-19 в котором имеют очень малые времена релаксации (порядка 1 мс) и создают слабый МРТ сигнал [6]. Более подходящими для этой цели являются газы с большими временами ре-

лаксации, например, C_2F_6 и C_3F_8 с временами релаксации 10 и 20 мс соответственно.

При выборе фторсодержащего газа важно учитывать его времена релаксации, число эквивалентных атомов фтора-19 в молекуле, свойства диффузии, спектральные характеристики [8]. Эти параметры сильно влияют на качество и на саму возможность получения информативных ^{19}F -МРТ-изображений.

С помощью фторсодержащих дыхательных смесей можно количественно оценить некоторые функциональные характеристики дыхательных путей, например, их вентиляцию путем определения динамики выведения (вымывания) газа из разных отделов легких [9]. На данный момент в медицинских исследованиях уже применяются некоторые фторсодержащие газы (SF_6 , C_2F_6). К сожалению, они обладают высокой гидрофобностью и олеофобностью, т.е. свойствами, препятствующими взаимодействию этих газов с фосфолипидными мембранами альвеол и проникновению в альвеолы визуализирующих газов, что делает невозможным напрямую получать информацию о газообменных процессах в легких с помощью ^{19}F -МРТ-методики. Кроме того, эти газы относятся к типу парниковых газов [10]. Поэтому поиск фторсодержащих газов, безопасных как для человека, так и для природы, очень актуален на данный момент.

В нашей работе мы использовали перфторциклобутан (ПФЦБ) C_4F_8 , имеющий ряд серьезных положительных отличий от исследованных до настоящего времени фторсодержащих газов. Прежде всего, он состоит из четырех CF_2 групп, т.е. имеет восемь магнитно-эквивалентных атомов фтора, которые формируют интенсивный синглетный спектр ЯМР. К тому же, в сравнении с уже применявшимися агентами, ПФЦБ не входит в число парниковых газов и он липофилен. Поэтому можно полагать, что этот газ будет растворяться в липидных мембранах альвеол и появится возможность получать не только анатомические, но и функциональные изображения легких.

В настоящей работе мы провели сравнение двух газов: ПФЦБ и одного из наиболее используемых в данной области гексафторида серы SF_6 . Это исследование направлено, во-первых, на разработку методики получения МРТ-изображений легких и, во-вторых, на сравнение МРТ-чувствительности этих газов в экспериментах *in vivo*.

Материал и методы

Обращение с животными

Все экспериментальные процедуры с животными проводились в соответствии с документом “Правила лабораторной практики в Российской Федерации” (2003). В экспериментах использовались 5 беспородных здоровых крыс весом 250–300 г, которым с помощью аппарата искусственной вентиляции легких (ИВЛ) подавалась дыхательная смесь 70 % C_4F_8 , 30 % O_2 . Крысы анестезировались 12 %-ым раствором хлоралгидрата.

Дыхательные смеси

В работе использовались 2 фторсодержащих газа – ПФЦБ (C_4F_8) и гексафторид серы (SF_6). На рис. 1 показаны химические структуры этих газов, их ЯМР-спектры (по оси абсцисс – миллионные доли м.д.), а также приведены их некоторые физико-химические свойства.

Система доставки газовых смесей

Система доставки газовых смесей представлена на рис. 2. Для приготовления и хранения описанных выше дыхательных смесей, мы использовали пластиковый шар объемом 25 л, заполненный на 30 % кислородом с помощью кислородного концентратора Atmung LFY-I-3A и на 70 % ПФЦБ. Этот шар

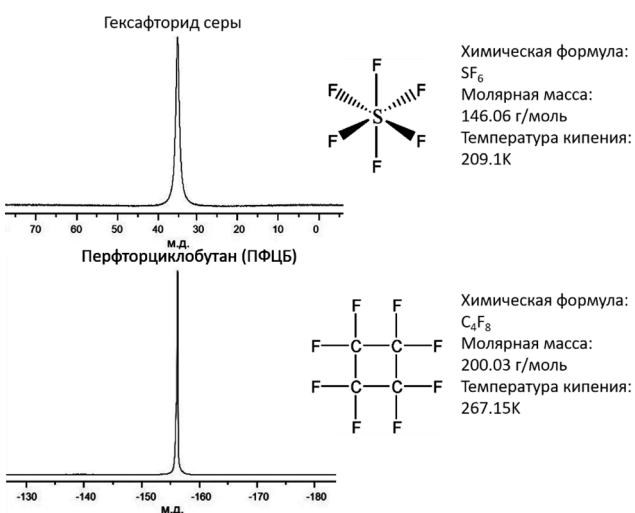


Рис. 1. Слева – ЯМР-спектры гексафторида серы и ПФЦБ; справа – их химические структуры и физико-химические параметры

подключался к аппарату искусственной вентиляции легких ИВЛ (Rodent Ventilator) с помощью резиновой трубки 5 мм. От ИВЛ также отходят 2 трубки того же диаметра, одна из которых работает в режиме синхронизации с дыханием, другая отводит выдыхаемый крысой воздух. По последней (рециклинговой) трубке выдыхаемый крысой газ можно было подавать обратно в шар. Это позволило бы уменьшить расход газа, однако со временем привело бы к тому, что концентрация CO_2 в шаре возросла, создавая неблагоприятные условия для самочувствия крысы. Поэтому в наших экспериментах рециклинговая трубка не использовалась. Установочные параметры ИВЛ выбирались так, чтобы дыхание крысы с применением аппарата ИВЛ максимально соответствовало ее собственному дыханию под действием анестезии хлоралгидрата. Таким образом, дыхательный объем задавался в количестве 4 мл, а частота дыхания составляла 55–60 вдохов в минуту.

МРТ и ЯМР-эксперименты

МРТ и ЯМР-спектрометрические исследования проводились на МРТ сканере Bruker BioSpec 70/30 USR 7 Тл с программным обеспечением ParaVision 5.0. Для получения 1H - и ^{19}F -МРТ изображений использовался объемный 72 мм резонатор, работающий на частотах 300,8 МГц для протонов и 282,9 МГц для ядер ^{19}F . После получения ^{19}F -МРТ-изображений резонатор перестраивался на частоту протонов 1H для получения анатомических изображений крысы.

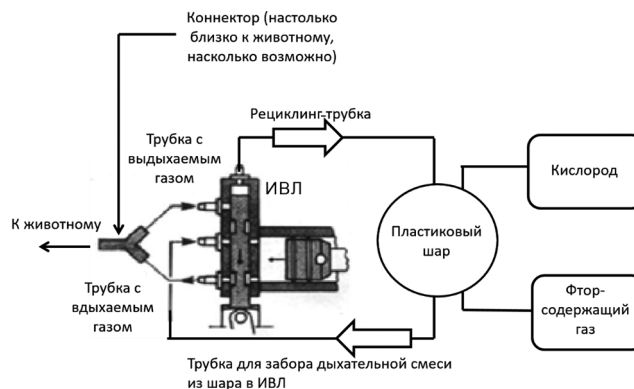


Рис. 2. Блок-схема установки для доставки дыхательной газовой смеси в легкие крысы

In vitro определение времени релаксации T_1

Так как времена релаксации исследуемых фторсодержащих газов малы (порядка мс), невозможно использовать стандартные импульсные последовательности (ИП) такие, как Multi Slice Multi Echo или RARE VTR. Из-за ограниченной радиочастотной мощности не удалось задать импульсы 90° и 180° для SF_6 , что исключало использование прямых методик определения времен релаксации T_1 для этого газа. Принимая во внимание, что при низких давлениях $T_1 \approx T_2$, и учитывая, что при низких T_2 спадом сигнала, вызванным неоднородностью поля, можно пренебречь [11], то оценить T_1 можно исходя из полуширины спектра.

Измерения проводились на фантоме, заполненном газом SF_6 , при давлении 1 бар и температуре 290 К. Измерения характеристик газа C_4F_8 проводились на аналогичном фантоме при тех же давлении и температуре. В рамках программы TopSpin были измерены импульсы 90° и 180° , длительности которых составили 0,85 и 1,7 с соответственно. С помощью ИП инверсия-восстановление было определено примерное время T_1 как $T_1/\ln 2$. В табл. 1 приведены значения химических сдвигов SF_6 и C_4F_8 относительно химического сдвига трифторуксусной кислоты $\delta = -75,5$ м.д., а также времена T_1 релаксации.

In vitro определение параметров ИП

Для получения ^{19}F -МРТ-изображений легких проводилась оптимизация ИП, регистрирующих градиентное эхо: 2D FLASH, 3D FLASH

Таблица 1
Времена релаксации и химический сдвиг газов SF_6 и C_4F_8

Газовый агент	Хим. сдвиг δ , м.д.	T_1 , мс
SF_6	35,5	3,6
C_4F_8	-156	82

и 2D FISP. Время TE задавалось минимально возможным. Время TR варьировалось в широких пределах – от минимально возможного значения до 100 мс. Угол отклонения FA определялся как $\arccos(\exp(-TR/T_1))$ и задавался длительностью импульса и поглощением аттенюатора. В табл. 2 приведены основные параметры сканирования для ИП 2D FLASH, 3D FLASH и 2D FISP, наиболее приемлемых для визуализации газов SF_6 и C_4F_8 .

Результаты и обсуждение

Времена релаксации для обоих газов были измерены *in vitro*, их значения приведены в табл. 2. При этом время релаксации T_1 для газа SF_6 оказывается в 23 раза меньше, чем для C_4F_8 . С помощью этих значений были определены оптимальные углы FA и проведена оптимизация основных параметров ИП для получения ^{19}F -МРТ-изображений от газов SF_6 и C_4F_8 , данные для которых приведены в табл. 2.

Таблица 2
Параметры сканирования: импульсные последовательности FLASH, 3D FLASH, 2D FISP для получения ^{19}F -МРТ-изображений газов SF_6 и C_4F_8 и RARE- T_2 для получения опорных 1H -МРТ-изображений крысы

ИП	Частота, МГц (SF_6/C_4F_8)	FOV, см / Матрица	TE/TR, мс	FA, град (SF_6 / C_4F_8)	BW, кГц	NS	AT, с
3D FLASH	284,05/283,0	5×12×16 / 32×48×8	2,3/10	80°/25°	25	4	30,72
2D FLASH		5×12 / 32×48	2,3/10	80°/25°		32	
2D FISP		(толщина среза = 20 см)	1,8/3,6	65°/15°		72	
RARE- T_2	300,8	15×15×5 / 200×200×8	500/34,1	90° и 180°	62	1(ETL=8)	100

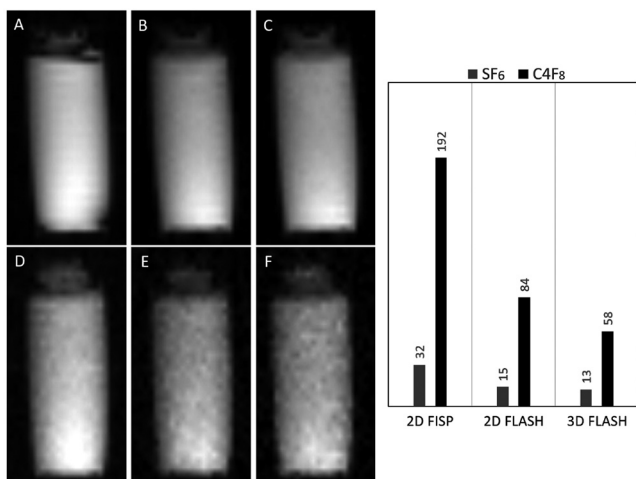


Рис. 3. Слева – ^{19}F -MPT-изображения флаконов с ПФЦБ (A, B, C) и гексафторидом серы (D, E, F), полученные с помощью ИП 2D FISP (A, D), 2D FLASH (B, E), 3D FLASH (C, F). Справа – диаграмма отношений сигнала к шуму на ^{19}F -MPT-изображениях в зависимости от применяемых ИП и визуализируемого газа

***In vitro* чувствительность газов SF_6 и C_4F_8**

Для сравнения MPT-чувствительности газов SF_6 и C_4F_8 были проведены *in vitro* исследования. Были получены MPT-изображения двух одинаковых флаконов, наполненных соответствующими газами при нормальном давлении (1,013 бар) и температуре 290 К. Сканирования проводились с помощью оптимизированных для каждого газа (SF_6 и C_4F_8) ИП за одинаковое время. На рис. 3 показаны изображения флаконов с SF_6 и C_4F_8 , полученные с помощью ИП 2D FLASH, 3D FLASH и 2D FISP. Из диаграммы на правом фрагменте рис. 3 видно, что для SF_6 и C_4F_8 наиболее эффективной оказывается последовательность 2D FISP. Обеспечиваемая ею чувствительность оказывается примерно в 2 раза больше, чем для ИП 2D FLASH. При этом отношение сигнал/шум на MPT-изображениях от C_4F_8 в 6 раз больше, чем от SF_6 , для ИП 2D FISP.

MPT чувствительность C_4F_8 при визуализации легких *in vivo*

Для того чтобы выявить возможность использования ПФЦБ в качестве основы дыхательной смеси для визуализации легких, были проведены *in vivo* MPT-эксперименты на крысах. При получении *in vivo* ^{19}F -MPT-изображе-

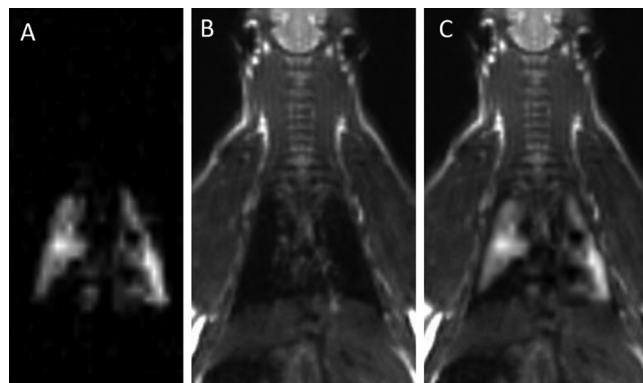


Рис. 4. ^{19}F (A), ^1H (B) и $^{19}\text{F}+^1\text{H}$ (C) MPT изображения легких крысы, наполненных дыхательной смесью ПФЦБ и O_2

ний легких крыс использовалась последовательность 2D FISP. После записи ^{19}F MPT изображений, $^1\text{H}/^{19}\text{F}$ -MPT-резонатор перестраивался на частоту протонов, чтобы получить ^1H -MPT-изображение анатомического строения крысы. На рис. 4 показаны полученные ^1H и ^{19}F -MPT-изображения крысы, подключенных к аппарату ИВЛ с дыхательной смесью ($\text{O}_2 + \text{C}_4\text{F}_8$).

Из рис. 4А видно, что с помощью ПФЦБ можно получать качественные MPT-изображения легких – четкие контуры анатомических структур, хорошо различимы отделы легких, высокое отношение сигнала к шуму (на уровне 10–15).

Заключение

В результате проведенных экспериментов были показаны возможность и перспективы использования газа ПФЦБ для визуализации легких методом ^{19}F MPT и проведено сравнение эффективности применения данного газа с одним из наиболее используемых при ^{19}F -визуализации легких газом гексафторида серы SF_6 .

Таким образом, было показано, что для визуализации газа наиболее эффективно использовать ИП 2D FISP. При этом чувствительность для газа C_4F_8 по сравнению с SF_6 в *in vitro* экспериментах оказалась в 6 раз больше. Также была показана возможность использования дыхательных смесей на основе ПФЦБ для визуализации легких крысы *in vivo*. При этом надо отметить, что газ C_4F_8 является липофильным

и может проникать в мембраны альвеол, улучшая процессы газообмена в легких; в дальнейших экспериментах мы планируем выяснить, можно ли использовать этот факт для получения новой информации о функциональной деятельности легких.

Работа выполнена при поддержке грантом РФФИ 17-02-00465-а на оборудовании ЦКП МГУ и комплекса УНУ "Биоспектротомография".

Список литературы

1. World Health Organization et al. Global status report on noncommunicable diseases 2010. – Geneva: World Health Organization. 2011.
2. Moeller H. E., Chen X.J., Saam B. et al. MRI of the lungs using hyperpolarized noble gases // *Magn. Resonance Med.* 2002. Vol. 47. № 6. P. 1029–1051.
3. Liu Z., Araki T., Okajima Y. et al. Pulmonary hyperpolarized noble gas MRI: recent advances and perspectives in clinical application // *Eur. J. Radiol.* 2014. Vol. 83. № 7. P. 1282–1291.
4. Ruiz-Cabello J., Barnett B.P., Bottomley P.A., Bulte J.W.M. Fluorine (^{19}F) MRS and MRI in biomedicine // *NMR in Biomedicine.* 2011. Vol. 24. № 2. P. 114–129.
5. Wolf U., Scholz A., Heussel C.P. et al. Subsecond fluorine-19 MRI of the lung // *Magn. Resonance Med.* 2006. Vol. 55. № 4. P. 948–951.
6. Fox M.S., Gaudet J.M., Foster P.J. Fluorine-19 MRI contrast agents for cell tracking and lung imaging // *Magn. Resonance Insights.* 2016. 2015 (Suppl. 1). P. 53–67.
7. Carrero-González L., Kaulisch T., Stiller D. *In vivo* diffusion weighted MRI using perfluorinated gases: ADC comparison between healthy and elastase treated rat lungs // *Magn. Resonance Med.* 2013. Vol. 70. № 6. P. 1761–1764.
8. Гервиц Л.Л. Фторуглеродные соединения в биомедицинских исследованиях *in vivo* с применением магнитно-резонансной визуализации // *Биомед. журнал Medline.ru.* 2017. Т. 18. № 1. P. 1–49.
9. Johnson K.M., Fain B.S., Schiebler M.L., Nagle S. Optimized 3D ultrashort echo time pulmonary MRI // *Magnetic resonance in medicine.* 2013. Vol. 70. № 5. P. 1241–1250.
10. http://unfcc.int/ghg_data/items/3825.php.
11. Schreiber W.G., Eberle B., Lukemper-Ostendorf S. et al. Dynamic ^{19}F -MRI of pulmonary ventilation using sulfur hexafluoride (SF_6) gas // *Magn. Resonance Med.* 2001. Vol. 45. № 4. P. 605–613.

MAGNETIC RESONANCE IMAGING OF THE LUNGS ON FLUORINE-19 NUCLEI WITH APPLICATION OF GAS PERFLUOROCYCLOBUTANE

O.S. Pavlova¹, D.V. Volkov¹, M.V. Gulyaev¹, M.S. Kostromina¹, L.L. Gervits², N.V. Anisimov¹, Yu.A. Pirogov¹
¹ M.V. Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

² A.N. Nesmeyanov Institute of Organoelement Compounds of RAS, Moscow, Russia

The lungs visualization with magnetic resonance imaging (MRI) on fluorine-19 nuclei, when fluorine-containing gases are used as visualizing agents, is very actual one. Currently similar investigations have already been conducted with gases SF_6 , C_2F_6 . These gases allow obtaining satisfactory ^{19}F -MRI-images of the lungs. Additionally, using special methods, they can realize indirect measuring such characteristics as local ventilation of the lungs, but have a number of serious drawbacks. They are hydrophobic and oleophobic, prevent their penetration into the alveolar membrane and thus exclude the possibility of direct measuring gas exchange in the lungs. As an alternative gas, we suggest to use perfluorocyclobutane (PFCB) C_4F_8 . Firstly, it has 8 magnetically equivalent fluorine nuclei, which provide a larger signal on MR images. In addition, PFCB is lipophilic, so this gas can penetrate into the membrane of alveoli. In this paper, we perform a comparison of perfluorocyclobutane contrast action with commonly used SF_6 gas. It was shown that *in vivo* sensitivity of PFCB is 6 times greater than for SF_6 . High-quality *in vivo* ^{19}F -MRI-pictures of rat lungs were obtained.

Key words: ^{19}F -MRI, ^{19}F -NMR, contrasting, lung visualization, perfluorocyclobutane, sulfur hexafluoride

E-mail: ofleurp@mail.ru