

Проект

«Фторуглеродные соединения в биомедицинских исследованиях in vivo с применением мультитядерной МРТ визуализации»

в рамках ФЦП
«Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2014 - 2020 годы»

Соглашение о предоставлении субсидии

№ 14.604.21.0060 от 27 июня 2014 года

Цель проекта

- Разработать новые научно-методические подходы по созданию двухмодальных контрастирующих препаратов в магнитно-резонансной томографии (МРТ), предназначенных для медицинской диагностики на базе существующего лекарственного препарата Перфторан.
- Разработать мультитядерные МРТ методики и создать нормативно-технические документы, регламентирующие МРТ исследования с функциями получения совместных изображений тканей, содержащих протоны, а также ядра фтора и более тяжелые ядра.

Приоритетное направление

Науки о жизни

Критическая технология

Биомедицинские и ветеринарные технологии

Период выполнения

27.06.2014 - 31.12.2016

Исполнитель

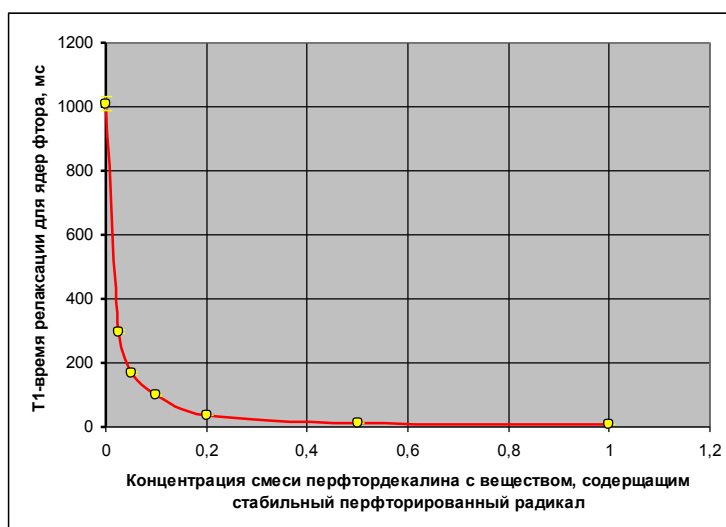
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова»

Индустриальный партнер

Открытое акционерное общество Научно-производственная фирма «Перфторан»

Основные результаты проекта

Разработана методика синтеза и получен образец стабильного перфторированного радикала - перфтор-2-4-диметил-3-этил-3-пентила. Полученный радикал, благодаря своим парамагнитным свойствам и неограниченной растворимости в перфторуглеродных компонентах Перфторана, является перспективным контрастирующим веществом для повышения качества ^{19}F -МРТ-изображений. Полученный перфтор-2-4-диметил-3-этил-3-пентил радикал апробирован в качестве МРТ-контрастного соединения как отдельно, так и в смеси с перфтордекалином, составляющим основу препарата Перфторан. Показано, что добавление этого радикала к перфтордекалину приводит к существенному уменьшению T_1 - и T_2 -времен релаксации ядер ^{19}F в системе (рисунки 1 и 2). Таким образом, замещая в Перфторане часть перфтордекалина на синтезированный перфторированный радикал, можно получить эмульсию Перфторан с более короткими T_1 - и T_2 -временами релаксации ядер фтора, что приведет к значительному сокращению времени сканирования, увеличению отношения сигнал/шум в ^{19}F -МРТ-изображениях.



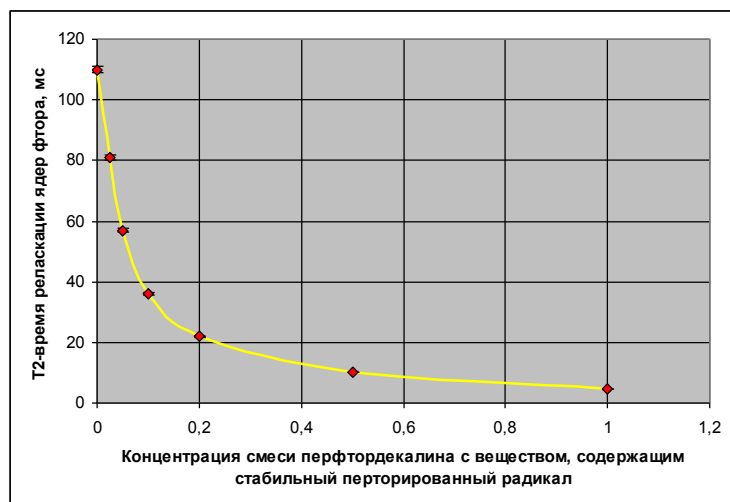


Рисунок 1 - График зависимости T1- (сверху) и T2- (снизу) времени релаксации ядер 19F от концентрации смеси перфтордекалина и перфторированного радикала перфтор-2-4-диметил-3-этил-3-пентила.

Проведена апробация полученного перфторированного радикала в опытах *in vivo*. Показано улучшение контраста изображения, полученного на ядрах 19F. Таким образом, синтезированный перфторированный радикал перфтор-2-4-диметил-3-этил-3-пентил может служить эффективным контрастирующим агентом для получения МРТ-изображений на ядрах 19F с использованием Перфторана.

Разработаны методы включения комплексов гадолиния и других парамагнитных металлов во фторуглеродные эмульсии. Локализация этих соединений на поверхности капель эмульсии позволит им выполнять роль контрастирующих агентов для усиления сигналов протонов при получении совместных МРТ-изображений на ядрах 1H и 19F.

В качестве положительных контрастирующих агентов в этих экспериментах выбраны хелаты гадолиния, широко применяемые в медицине: дотарем, гадовист, магневист и омнискан. Предложен эффективный и простой метод включения этих хелатов гадолиния в эмульсии перфторуглеродов. Он состоит в помещении хелатов гадолиния в мицеллы полимерного ПАВ проксанола 268 и добавлении этого раствора мицелл к эмульсии перфторуглерода, стабилизированной тем же ПАВ, при интенсивном перемешивании на гомогенизаторе.

Эта методика позволяет локализовать более 96% введенных ионов гадолиния в требуемом месте системы, т.е. на поверхности капель эмульсии в адсорбционном слое ПАВ. Для этого не требуется введения в систему никаких дополнительных веществ, кроме самого хелата гадолиния. Методика является универсальной, т.е. применимой к любым хелатам гадолиния независимо от их заряда (неионные или ионные) и структуры (линейные и циклические). Включение хелатов гадолиния в адсорбционный слой на поверхности капель не приводит к дестабилизации эмульсии.

В качестве отрицательных контрастирующих агентов для введения в Перфторан были выбраны парамагнитные наночастицы магнетита Fe_3O_4 и маггемита $\gamma-Fe_2O_3$, которые широко используют в медицинских целях при МРТ исследованиях. Синтезированы стабильные парамагнитные однодоменные наночастицы магнетита и маггемита со средним диаметром 4-8 нм. Разработан способ их внедрения в капли эмульсии Перфторана, состоящий в добавлении предварительно стабилизированных ПАВ наночастиц к эмульсии перфторуглерода при интенсивном перемешивании на гомогенизаторе. Наличие наночастиц на каплях эмульсии подтверждено данными просвечивающей электронной микроскопии. Показано, что включенные в капли наночастицы не влияют на размер капель эмульсии и не приводят к ее дестабилизации.

Наиболее сильный эффект на ЯМР-характеристики выявлен в случае введения хелата гадолиния - гадовиста (Таблица 1). Введение гадовиста позволило уменьшить время релаксации протонов T1 практически в 100 раз по сравнению со временем T1 исходного Перфторана. Это позволит обеспечивать на протонных МРТ изображениях 100-кратное уменьшение сигнала, необходимое для использования фторуглеродных эмульсий в качестве эффективного контрастного агента.

Таблица 1 - T1-время релаксации протонов модифицированных ФУЭС на основе Перфторана при разбавлении их водой в соотношении 1:10

| Система | Перфторан | Перфторан - омнискан | Перфторан - магневист | Перфторан - дотарем |
|--------------|-----------|----------------------|-----------------------|---------------------|
| Время T1, мс | 2340±150 | 60 ± 3 | 42 ± 2 | 25 ± 1 |

Наработаны образцы модифицированных фторуглеродные эмульсии. Наработан контрастный агент, проникающий внутрь капель ФУЭС и понижающий T1- и T2-времена релаксации ядер фтора-19 (перфтор-2,4-диметил-3-этил-3-пентил радикал), а также 9 образцов ФУЭС с контрастными агентами, понижающими T1-время релаксации протонов (хелатами гадолиния), и с контрастными агентами, понижающими T2-время релаксации протонов (наночастицами магнетита и маггемита).

Реализованы мероприятия по достижению показателей результативности предоставления субсидии. Подана 1 заявка на патент, защищена 1 кандидатская диссертация, представлено 5 докладов на конференциях, проведены исследования на 1 уникальной научной установке в России и на 1 зарубежной установке, использовано оборудование 2 центров коллективного пользования.

Исследована токсичность образцов модифицированных ФУЭС Перфторан - магневист и Перфторан - омнискан. Установлено, что однократное введение испытуемых доз (800 и 1330 мг/кг) модифицированных ФУЭС не вызывало интоксикации и гибели подопытных животных. Значения ЛД50 для модифицированных ФУЭС при внутривенном введении для крыс превышают максимальную испытанную дозу - 1330 мг/кг.

Изучение предлагаемых в проекте систем проводилось впервые.

- Ни в одном научном или медицинском учреждении России препарат Перфторан и другие перфторуглероды до наших экспериментов по их МРТ-визуализации не использовались.
- Коллектив исполнителей представляет единственную в России и, по-видимому, в мире лабораторию, обладающую МР-томографами с существенно различающимися величинами магнитных полей, способными регистрировать ЯМР-сигналы не только от протонов, но и от более тяжелых ядер.
- Полученные ¹⁹F-МРТ-изображения фантомов и перфторуглеродных соединений, введенных лабораторным животным, являются первыми, полученными в России.
- Аналогичные работы в других странах могут проводиться только на фантомах и лабораторных животных, в России же Перфторан разрешен Минздравом РФ, что является существенным аспектом в получении высоких научных результатов мирового уровня.