Экспериментальное исследование парамагнитного гепатотропного контрастного соединения GDOF-Mn-DTPA в фантомах печени крыс

Экспериментальное исследование парамагнитного гепатотропного контрастного соединения GDOF-Mn-DTPA в фантомах печени крыс

ГБОУ ВПО «Сибирский государственный университет», кафедра биофизики и функциональной диагностики

Руководители: заведующий отделением лучевой диагностики ОГАУЗ ТООД, *к.м.н. Бородин Олег Юрьевич*

врач-рентгенолог ОГАУЗ ТООД, *Санников Максим Юрьевич*

Авторы: студент 6 курса, медико-биологического факультета *Подъяблонский Андрей Сергеевич*

студент 4 курса, медико-биологического университета *Коваль Станислав Дмитриевич*

Аннотация: в данной статье описано исследование экспериментального парамагнитного контрастного соединения GDOF-Mn-DTPA. В исследовании проводится оценка основных свойств препарат при взаимодействии с тканью печени и в водном растворе.

Ключевые слова: магнитно-резонансная томография, контрастные соединения, релаксивность.

Актуальность

МРТ как метод диагностики введенный в клиническое использование в 1972 году поднял уровень медицины на качественно новый уровень.

Однако, данный метод нуждался в доработке. Уже в 1978 году была исследована возможность использования контрастных препаратов в МРТ. На основе работ Блоха (1944) с парамагнитным ускорением релаксации воды, математического описания процесса релаксации протонов при добавлении парамагнетика, произведенного Соломоном (1955) и доработанного Блюмбергеном (1957), получилось изменить сигнал магнитного резонанса протонов миокардиоцитов собаки с помощью внутривенного введения соли марганца. Данный эксперимент был осуществлен создателем МРТ Полом Лаутербуром [7].

При дальнейших исследованиях различных соединений на животных было выявлено влияние на релаксацию протонов со стороны хелатных комплексов металлов (исследования проводились компанией Siemens) [7]. Лучшими показателями обладало соединение гадолиния и пентетовой 7кислоты (диэтилентриаминпентауксусной кислоты) – Gd-DTPA [7]. В последствие данный комплекс, прошедший лабораторные и клинические испытания, был представлен в качестве лекарственной формы с названием Магневист® (Шеринг АГ, Германия). Магневист® - первый представитель современного класса контрастно-диагностических средств.

Дальнейшие исследования в области контрастирования позволили создать и изучить больший спектр контрастных средств для МРТ.

Современные контрастные соединения в большинстве своем являются хелатными комплексами иона гадолиния. Многочисленные лабораторные и клинические исследования показали, что гадолиний в комплексе не наносит вред здоровью пациента [7].

Однако, было доказано, что свободный ион гадолиния, не имея естественного связывающего агента в организме человека, может активировать пролиферацию фиброцитов и вызывать повышенный синтез коллагена, а также активировать иммунный ответ путем фагоцитоза макрофагами тканей и дальнейшей презентацией с выработкой цитокинов (рис. 1) [2, 3, 7]. Оба эти пути способствуют фиброзу различных органов, в частности, нефрофиброзу [2, 3, 7].

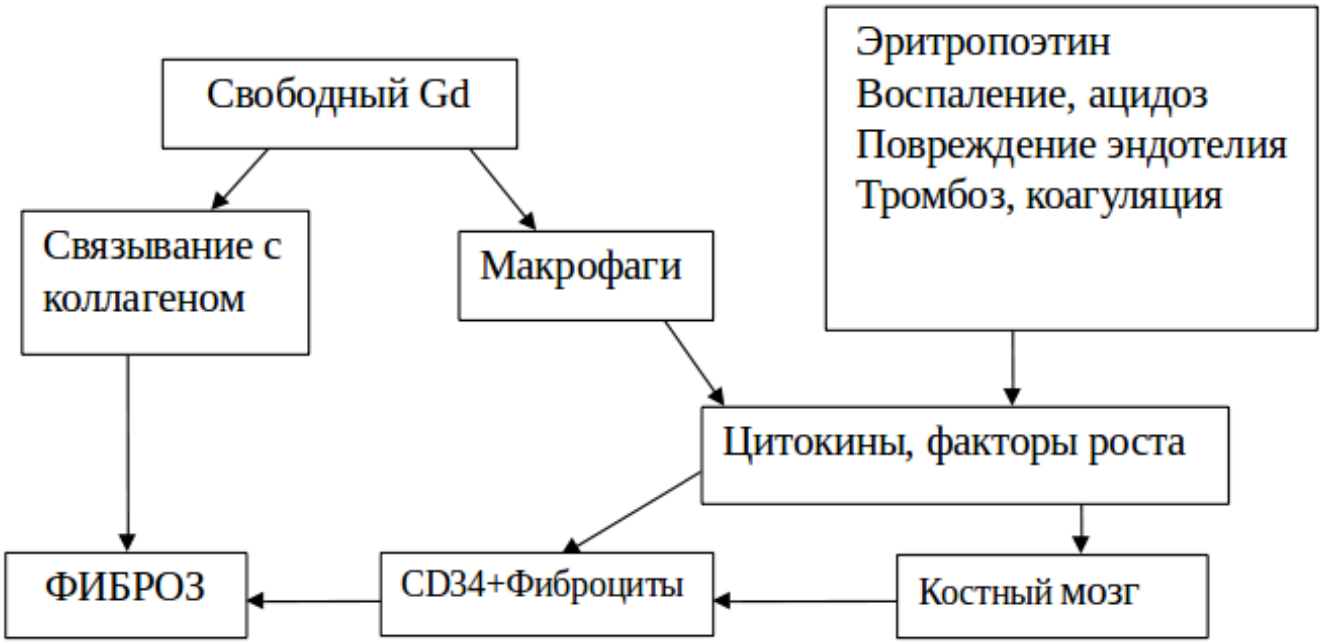

Рис. 1. Токсическое действие свободного иона гадолиния

При изучении различных соединений было доказано, что такой микроэлемент как марганец имеет близкие парамагнитные свойства с гадолинием и при этом является одним из микроэлементов, содержимся в тканях организма и имеющим свой естественный метаболизм [3]. Марганец участвует в синтезе и обмене нейромедиаторов в нервной системе, обеспечивает стабильность клеточных мембран, обеспечивает развитие соединительной ткани, хрящей и костей и ряд других функций присущи данному микроэлементу [6].

Исследования комплексов двухвалентного иона марганца с хелатирующими соединениями показали, что Mn-DTPA, более устойчивый химически, имеет близкие значения релаксивности с Gd-DTPA, а, следовательно, схожими парамагнитными и контрастирующими свойствами [2, 3, 5, 8, 9]. При проведении клинических испытаний были получены результаты того, что для комплексов марганца единственным побочным эффектом является субъективное ощущение тепла в теле при введении контрастного соединения [1, 2, 3, 5]. Способность к визуализации патологических образований (опухолей головного мозга), на основе сравнения контрастирования анатомических и патологических структур, соответствовала комплексам гадолиния [2, 3, 5].

На основе данных исследованиях были синтезирован препарат на основе марганца – Пентаманг® [5]. Данный препарат относится к Т1 внеклеточным препаратам, основное применение которого - диагностика патологий головного мозга [5].

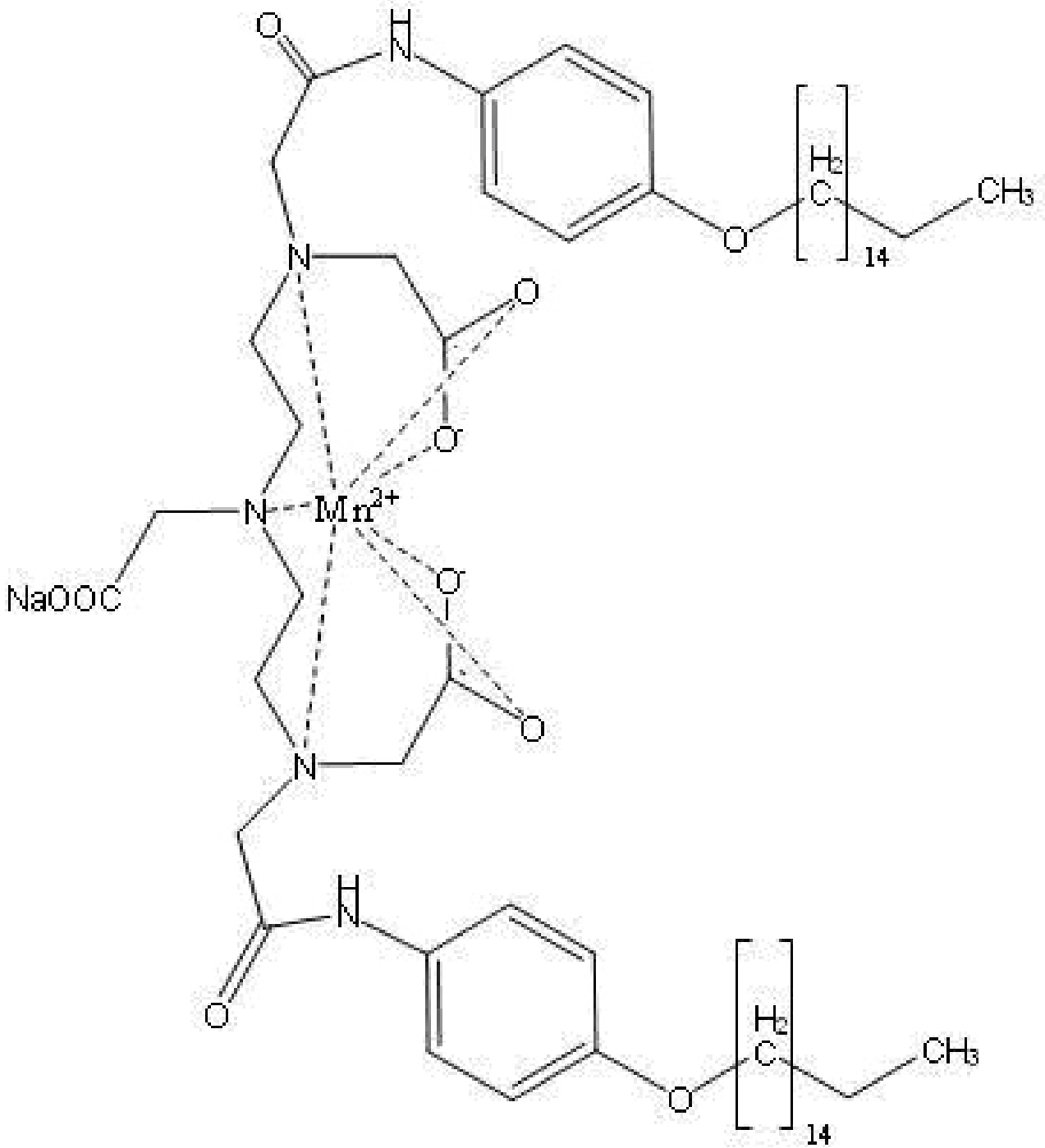

Рис. 2. Контрастное соединение GDOF-Mn-DTPA

Данное исследование проводилась с маргенец-содержащем соединением GDOF-Mn-DTPA (рис. 2), полученное на кафедре биотехнологии и органического синтеза Томского Политехнического Университета.

В ранее проведенных исследованиях была доказана высокая гепатотропоность данного контрастного соединения, что позволяет использовать данный препарат как специфичное контрастное средство для исследований печени [4].

Однако, в основу данных выводов легли результаты качественных исследований изменения интенсивности сигнала после введения препарата крысам.

Дальнейшее исследование лежит в области количественного исследования взаимодействия

препарата с тканью печени и изменения его свойств, и использование полученных данных в следующих исследованиях.

Цель и задачи исследования

Была поставлена задача оценить свойства соединения GDOF-Mn-DTPA и их изменения при контакте с печенью.

Основной задачей было определение релаксивности, как основного параметра, прямо определяющего контрастный эффект, препарата GDOF-Mn-DTPA в фантомах печени крыс.

Дополнительной задачей было оценить возможность использования полученного значения релаксивности как калибровочного значения при расчете концентрации препарата.

Материал и методы

В эксперименте использовался коллоидный раствор контрастного- препарата GDOF-Mn-DTPA в концентрации 50 ммоль/мл и значением pH = 8-9.

Исследование выполнялось на крысах Wistar с средней массой тела 270-310 г. Масса печени, взятой у крыс, составила в среднем 14,4 грамма.

С цель исключения влияния на препарат белков крови и распределения препарата в других тканях были использованы фантомы печени крыс, приготовленные по следующей методике: двойная гомгенизация с последовательным добавлением 5 мл и 4 мл 0.9% раствора NaCl. Было приготовлено 7 проб гомогената с концентрацией контрастного препарата от 0 до 1.0 ммоль/мл.

Так же было проведено исследование препарата в водном растворе в такой же концентрации в качестве контроля.

Опыт проводился на базе высокопольного МРТ Toshiba Excellart с индукцией магнитного поля 1.5 Тл.

Подготовленные фантомы печени крыс и водных растворов контрастного соединения GDOF-Mn-DTPA помещались на штативе в камеру МРТ в квадратурной катушке для исследования коленного сустава.

Использовалась импульсная последовательность TurboSE с инверсией-восстановления. Инвертирующий импульс подавался в диапазоне от 20 до 4000 мс.

На основе полученных значений интенсивности с помощью нелинейного приближения определяли время T1-релаксации, а затем обратное ему значение релаксивности.

Для оценки корреляции полученных значений использовался ранговый коэффициент корреляции Спирмена вследствие того, что данный критерий нечувствителен к закону распределения выборки.

Результаты и обсуждение

В ходе исследования были получены следующие результаты (рис. 3) взаимосвязи параметра релаксивности от концентрации контрастного соединения в фантомах гомогенатов печени крыс и водных растворах.

Между этими параметрами была найдена сильная статистически достоверная связь, описываемая линейной функцией.

Как хорошо видно на графике релаксивность водных растворов значительно выше, чем для гомогенатов печени крыс, что свидетельствует о изменении свойств препарата в гомогенатах. Возможно структура парамагнетика в гомогенате изменилась под влиянием внутриклеточных факторов ткани печени, что привело к снижению его концентрации, либо изменилось соотношение

молекул воды на внутренней и внешней сфере молекулы соединения в пользу внешней сферы, что обязательно вызывает снижение общей релаксивности. Кроме того, количество внутриклеточных факторов ограниченно и должен быть эффект насыщения и нелинейная зависимость релаксивности от концентрации парамагнетика, чего в нашем случае не наблюдается.

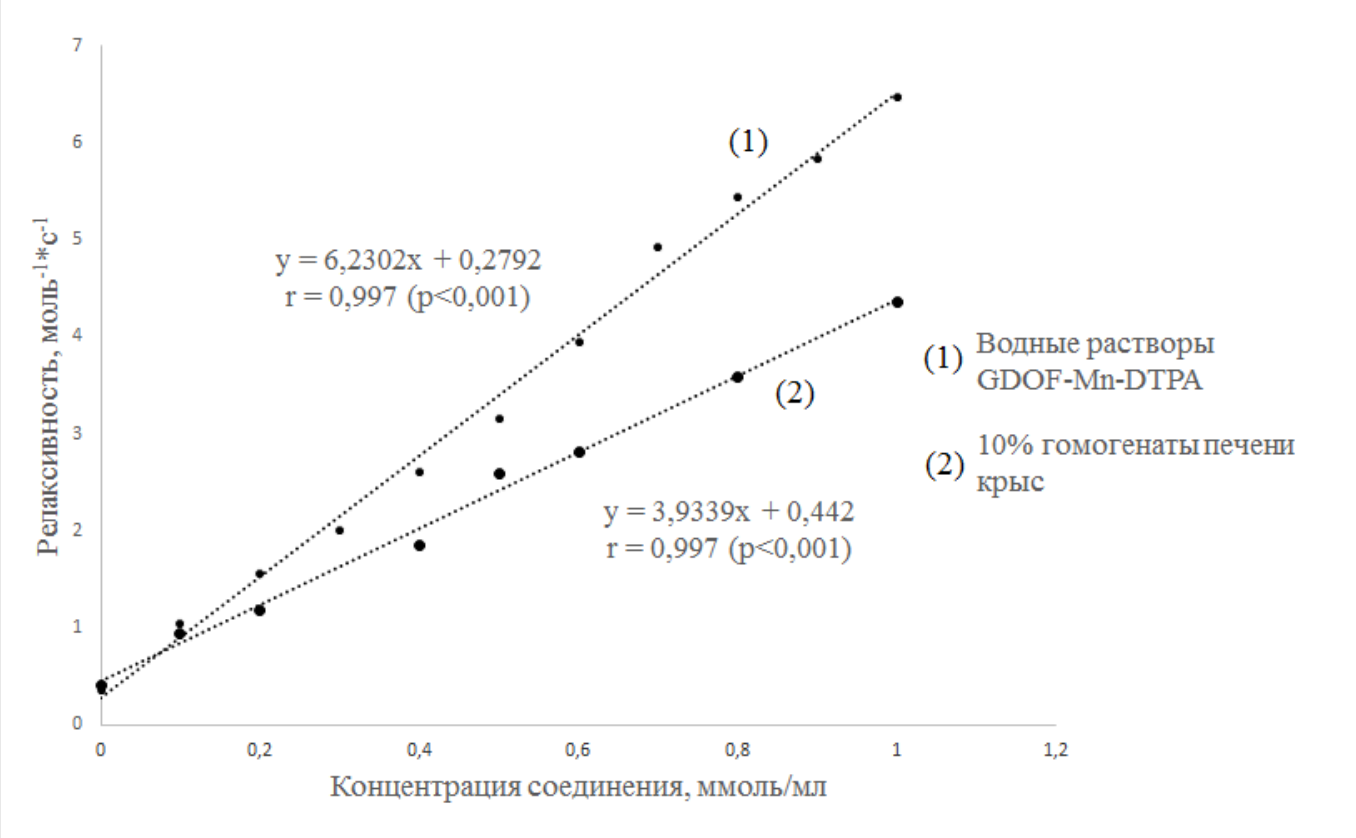

Рис. 3. Зависимость релаксивности от концентрации препаратов в фантомах

Однако, значение общей релаксивности для фантомов гомогенатов печени, равное 3.93±0,125 ммоль$^{-1}$*с$^{-1}$, близко по значению к релаксивности гадолиний-содержащего препаратов, например, Магневист®, релаксивность которого 4,4 ммоль$^{-1}$*с$^{-1}$, что свидетельствует о схожих контрастирующих свойствах.

При расчете концентрации препарата в фантомах печени и водных растворов с использованием обозначенных выше зависимостей релаксивности от концентрации были получены данные представленные на гистограмме (рис. 4).

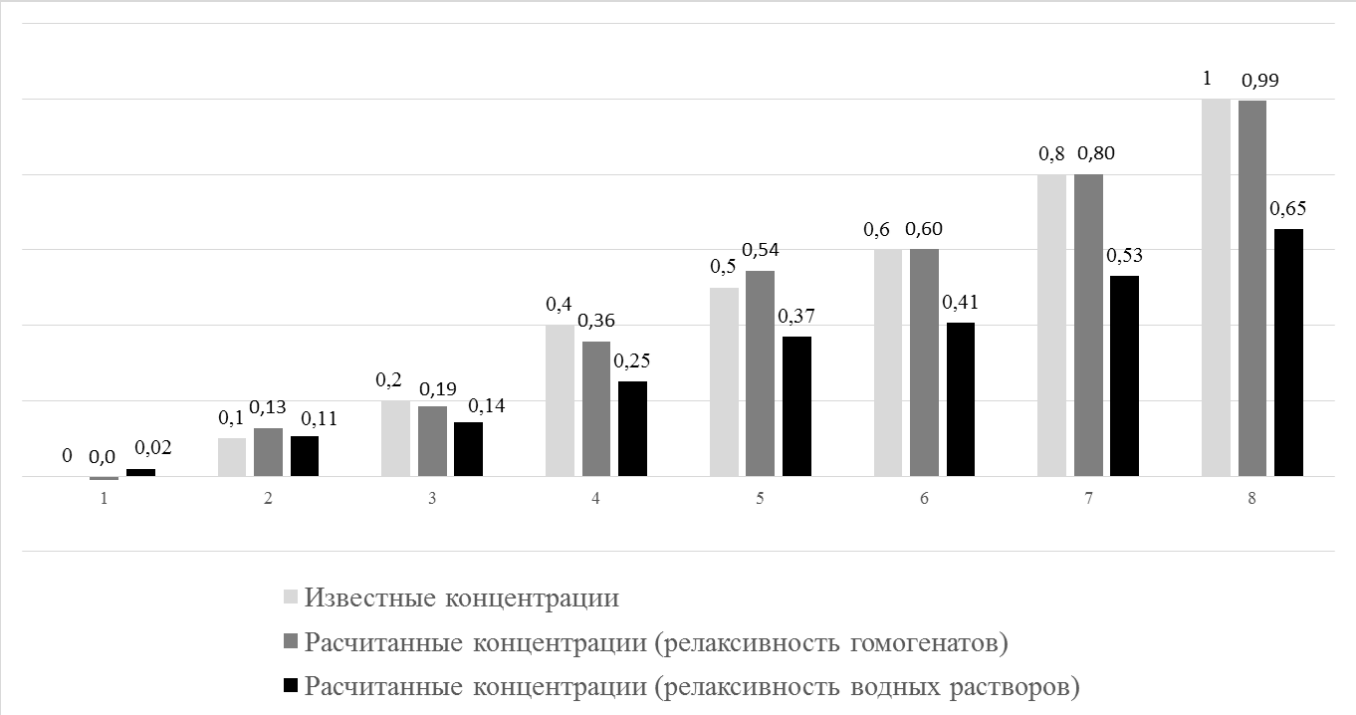

Рис. 4. Добавленные и рассчитанные концентрации соединения GDOF-Mn-DTPA в гомогенатах печени, ммоль/мл

Как видно на гистограмме расчеты на основе релаксивности фантомов гомогенатов печени, обозначенные темно-серым цветом, имеют значительно более близкие значения к исходным известным концентрациям препарата. Средняя относительная погрешность составила 6%.

С другой стороны, использование значений релаксивности водных растворов, черный цвет на гистограмме, дает большую относительную погрешность – среднее значение 37% и является менее точным способом расчета концентрации GDOF-Mn-DTPA.

Таким образом при определении концентрации следует использовать калибровочный график релаксивность-концентрация, полученный на основе фантомов гомогенатов крыс.

Выводы

Таким образом доказано, что при взаимодействии с тканью печени экспериментальный контрастный препарат GDOF-Mn-DTPA изменяется либо вследствие воздействия факторов ткани, либо вследствие изменения собственной структуры.

Дальнейшее исследование препарата лежит в области оценки характера влияния тканей: изменяются ли свойства препарат в других тканях схожим образом, либо эффект зависит от исследуемой ткани.

Так же необходимо получение количественной характеристики биорапределения соединения, с использованием полученных калибровочных значений релаксивности, что позволит более точно определить класс данного препарата.

Список литературы

1. Доклиническое токсикологическое изучение пентаманга и мангаскана [Текст] / А.А. Чурин, Г.В. Карпова, Т.И. Фомина и др. // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2008. - № 4. – С. 49–52.

2. Применение Mn-диэтилентриаминпентацетата (ДТПА) для парамагнитного контрастирования при магнитно-резонансной томографии – результаты доклинических исследований и сравнение с Gd-ДТПА [Текст] / В.Ю. Усов, М.Л. Белянин, О.Ю. Бородин и др. // Медицинская визуализация. – 2007. – № 4. – С. 134–142.

3. Разработка и доклиническое исследование парамагнитных контрастных препаратов на основе органических комплексов марганца (II) для магнитно-резонансной томографии [Текст] / В.Ю. Усов, М.Л. Белянин, М. Првулович и др. // Сибирский медицинский журнал. – 2007. - № 3. – С. 16–23.

4. Санников, М.Ю. Экспериментальное исследование контрастирующего эффекта нового Mn-содержащего высоколипофильного соединения при МРТ [Текст] / М.Ю. Санников, К.А. Кофанова, П.Е. Бушлатова // Медико-биологические науки: достижения и перспективы: сб. материалов I Всероссийской научной студенческой конференции. – Томск, 2011. – С. 90–91.

5. Синтез и оценка мангапентетата как парамагнитного контрастного препарата для МР-томографии [Текст] / М.Л. Белянин, М. Првулович, Г.В. Карпова и др. // Диагностическая интервенционная радиология. – 2008. - № 1. – С. 75–86.

6. Скальных, А.В. Химические элементы в физиологии и экологии человека [Текст] / А.В. Скальных. – Москва: Издательский дом «ОНИКС 21 век»: Мир, 2004. – 216 с.

7. Шимановский, Н.Л. Контрастные средства [Текст]: руководство по рациональному применению / Н.Л. Шимановский. – Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 464 с.

8. Hamm, B. Contrast material for computed tomography and magnetic resonance imaging of the gastrointestinal tract / Hamm B., Wolf K.J. // Curr Opin Radiol. – 1991. – Vol. 3, N 3. - P. 474-482.

9. Hepatic uptake of the magnetic resonance imaging contrast agent Gd-EOB-DTPA, role of human organic anion transporters / M. Leonhardt, M. Keiser, S. Oswald et all // Drug Metab Dispos. – 2010. – Vol. 57, N 7 – P. 1024–1028.