

VILNIAUS UNIVERSITETAS
FIZIKOS FAKULTETAS
KVANTINĖS ELEKTRONIKOS KATEDRA

Eglė Daugėlaitė

**TEIGIAMO IR NEIGIAMO KONTRASTO NANODARINIŲ TAIKYMO MAGNETINIO
REZONANSO VAIZDINIMUI TYRIMAI *IN VIVO***

Magistrantūros studijų baigiamasis darbas

Biofizikos studijų programa

Studentas

Eglė Daugėlaitė

Darbo vadovas

Prof. habil. dr. Ričardas Rotomskis

Konsultantas

Dokt. Marius Stašys

Recenzentas

Prof. dr. (HP) Nerija Žurauskienė

FF Biofizikos studijų programos
komiteto pirmininkas

Doc. dr. Saulius Bagdonas

Vilnius 2016

TEIGIAMO IR NEIGIAMO KONTRASTO NANODARINIŲ TAIKYMO MAGNETINIO
REZONANSO VAIZDINIMUI TYRIMAI *IN VIVO*

Darbas atliktas Nacionalinio vėžio instituto Mokslinių tyrimų centro Biomedicininės fizikos laboratorijoje.

Studentas

Eglė Daugėlaitė

Darbo vadovas

Prof. habil. dr. Ričardas Rotomskis

Konsultantas

Dokt. Marius Stašys

Turinys

Sutrumpinimų sąrašas.....	4
Įvadas.....	5
1 Literatūros apžvalga	7
1.1 Magnetinio rezonanso vaizdinimas	7
1.1.1 Magnetinio rezonanso vaizdinimo pagrindiniai principai	7
1.1.2 Magnetinės medžiagų savybės.....	14
1.1.3 Relaksometrija	15
1.1.4 Klinikinės MRV kontrastinės medžiagos	19
1.2 Superparamagnetinės nanodalelės	22
1.2.1 Superparamagnetinės savybės	23
1.2.2 Superparamagnetinių nanodalelių migracija <i>in vivo</i>	25
1.3 Aukštyneitės nanodalelės.....	28
1.3.1 Aukštyneitės procesas.....	28
1.3.2 Aukštyneitės nanodalelės kaip MRV kontrastinė medžiaga.....	29
2 Eksperimentinė dalis	32
2.1 Medžiagos ir metodai.....	32
2.1.1 Medžiagos	32
2.1.2 Įranga	33
2.1.3 Laboratoriniai gyvūnai.....	34
2.1.4 Metodai	34
2.2 Rezultatai	40
2.2.1 Superparamagnetinių nanodalelių tyrimų rezultatai	40
2.2.2 Aukštyneitės nanodalelių tyrimų rezultatai.....	44
2.3 Rezultatų aptarimas.....	54
Išvados.....	57
Literatūra	58
Santrauka	63
Summary.....	64
Rezultatų sklaida	65

Sutrumpinimų sąrašas

- ML – Magnetinis laukas
- ND – nanodalelės
- MR – magnetinis rezonansas
- MRV – magnetinio rezonanso vaizdinimas (*angl. magnetic resonance imaging, MRI*)
- RD – radiodažnis (*angl. radiofrequency, RF*)
- SPION – superparamagnetinės geležies oksido nanodalelės (*angl. superparamagnetic iron oxide nanoparticles*)
- AK – aukštynkaita
- AK ND – aukštynkeitės nanodalelės (*angl. upconverting nanoparticles, UCNP*)
- TE – aido laikas (*angl. echo time*)
- TR – pasikartojimo laikas (*angl. repetition time*)
- TI – inversijos laikas (*angl. inversion time*)
- IR – inversijos apgrąža (*angl. inversion recovery*)
- SE – sukinio aidas (*angl. spin echo*)
- FOV – matymo laukas (*angl. Field of view*)
- NSA – atliktų skenavimo metu signalų vidurkių skaičius (*angl. the number of signal averages performed during the scan*)

Ivadas

Magnetinio rezonanso vaizdinimas (MRV) sparčiai vystėsi per pastaruosius kelis dešimtmečius ir tapo viena iš pagrindinių priemonių klinikinėje diagnostikoje. MRV metu yra naudojamas stiprus magnetinis laukas ir radijo dažnių bangos, kurių pagalba išgaunamas detalus vidaus organų ir minkštųjų audinių vaizdas. Šis tyrimas neturi kenksmingo jonizuojančios spinduliuotės poveikio žmogaus organizmui. MRV yra ypač informatyvus tyrimas daugumoje medicinos sričių (Jaganathan, 2005). Tyrimų metu galima nustatyti ankstyvuosius patologinius pokyčius, o galimybė tyrimą atlikti trijose projekcijose, nekeičiant ligo padėties, sudaro sąlygas tiksliau planuoti numatomų gydymo priemonių apimtį (Janionytė ir kt., 2010). Be to, MRV suteikia labai geros skiriamosios gebos vaizdus, neribojamus audinių. Dėl šios unikalios savybės, MRV pritraukė didelį susidomėjimą diagnostikos srityje (Enriquez-Navas ir Garcia-Martin, 2012).

MRV signalas yra gaunamas iš vandens protonų įmagnetėjimo. Stebimas kontrastas atspindi signalo intensyvumų skirtumą, kuris priklauso nuo vandenilio protonų koncentracijos audinyje ir vandenilio protonų išilginės ir skersinės relaksacijos laikų (T1 ir T2).

Stebimas kontrastas gali būti moduluojamas keičiant MRV sekų parametrus, tačiau dažnai kontrastas būna per daug mažas, kad būtų galima tiksliai ir aiškiai diagnozuoti patologiją, o ypač ankstyvojoje stadijoje. Tad papildomos išorinės kontrastinės medžiagos tampa būtinos. Šiuo metu dauguma kliniškai patvirtintų kontrastinių medžiagų yra gadolinio chelatai (Gd-chelatai), turintys paramagnetinių Gd^{3+} jonų, kurie pagreitina T1 relaksaciją (Rohrer ir kt., 2005). Jie yra žinomi, kaip teigiami kontrastiniai agentai, nes jie sukuria signalo stiprinimą T1 nulemtuose vaizduose. Tačiau trumpas jų cirkuliacijos laikas kraujyje ir toksiškumas skatina naujų medžiagų paiešką (Perazella, 2009). Šiuo metu intensyviai tiriami įvairūs nanodariniai, kurie galėtų būti pritaikyti kaip išorinės kontrastinės medžiagos magnetinio rezonanso vaizdinime (Zhu ir kt., 2013). Pastaruoju metu daug dėmesio sulaukia taip vadinamos magnetinės nanodalelės, o ypač superparamagnetinės geležies oksido nanodalelės (SPION), kurios yra perspektyvios dėl savo unikalių superparamagnetinių savybių (Stephen ir kt., 2011). Skirtingai nei Gd-chelatai, jos yra neigiamos kontrastinės medžiagos, nes jos yra stebimos kaip signalo sumažėjimas T2 nulemtuose vaizduose. Tačiau, kadangi Gd^{3+} turi unikalią elektroninę konfigūraciją – septynis nesuporuotus elektronus 4f orbitalėse – taip pat yra siekiama rasti sprendimų, kaip Gd^{3+} jonus panaudoti MRV sumažinant jų galimą toksiinį poveikį. Vienas tokių sprendimų yra retaisiais žemės metalais legiruotos $NaGdF_4$ nanodalelės – aukštyneitės nanodalelės (AK ND) (Naccache ir kt., 2013). Šiose nanodalelėse Gd^{3+} jonai yra kristalinėje gardelėje, todėl yra labiau stabilios ir turi mažesnę toksiinį poveikį. Tačiau šios nanodalelės yra

patrauklios ne tik dėl savo mažesnio toksiškumo. Jos yra labai perspektyvios ir dėl savo unikalių optinių savybių, kas leidžia šias nanodaleles taikyti dvigubam biomedicininiam vaizdinimui (Naccache ir kt., 2013; Wang ir kt., 2013). Dėl savo mažo dydžio ir didelio jonų tankio, šios nanodalelės gerina magnetinio rezonanso registruojamo signalo stiprumą ir jautrumą lyginant su tradicinėmis kontrastinėmis medžiagomis gadolinio pagrindu. Taigi tiek superparamagnetinės geležies oksido, tiek aukštyneitės nanodalelės yra patrauklios molekuliniam vaizdinime, kuriuo siekiama *in vivo* vizualizuoti ir matuoti biologinius procesus molekuliniam ir ląsteliniame lygmenyje.

Tačiau šiuo metu šios, abiejų rūšių, nanodalelės yra ankstyvajame (iki)klinikinių ir eksperimentinių tyrimų etape, todėl reikia atlikti dar daug tiek palyginamųjų magnetinio rezonanso tyrimų su šiuo metu naudojamomis klinikinėmis kontrastinėmis medžiagomis, tiek tyrimų, susijusių su jų biosuderinamumu, migracija ir kaupimusi gyvame organizme bei toksiškumu, norint plačiai taikyti klinikinėje praktikoje.

Šio darbo tikslas yra įvertinti naujai susintetintų neigiamo kontrasto superparamagnetinių Fe_3O_4 nanodalelių ir teigiamo kontrasto aukštyneičių $\text{NaGdF}_4:\text{Yb}^{3+},\text{Er}^{3+}$ nanodalelių kaip MRV kontrastinių medžiagų potencialą.

Šiam tikslui pasiekti buvo suformuluoti šie uždaviniai:

1. Įvertinti MR signalo intensyvumo priklausomybę nuo Fe_3O_4 ir $\text{NaGdF}_4:\text{Yb}^{3+},\text{Er}^{3+}$ koncentracijos tirpaluose;
2. Palyginti $\text{NaGdF}_4:\text{Yb}^{3+},\text{Er}^{3+}$ suteikiamą MR signalo stiprinimą su klinikiu kontrastiniu preparatu *Magnevist*[®] ir Gd druska bei įvertinti $\text{NaGdF}_4:\text{Yb}^{3+},\text{Er}^{3+}$ relaksuojamumą ir jį palyginti su *Magnevist*[®] ir Gd druska;
3. Atlikti MRV su eksperimentinėmis žiurkėmis po Fe_3O_4 injekcijos ir įvertinti MR signalo intensyvumo laikinę priklausomybę suleidimo vietoje po injekcijos į žiurkės šlaunies raumenį;
4. Atlikti pirminius palyginamuosius MRV tyrimus po $\text{NaGdF}_4:\text{Yb}^{3+},\text{Er}^{3+}$, *Magnevist*[®] ir Gd druskos injekcijos į žiurkės uodegos veną ir įvertinti vaizdinimo galimybes.

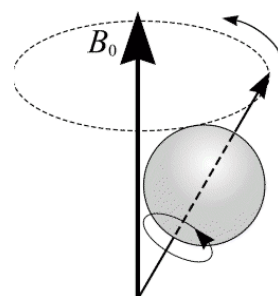
1 Literatūros apžvalga

1.1 Magnetinio rezonanso vaizdinimas

1.1.1 Magnetinio rezonanso vaizdinimo pagrindiniai principai

Magnetinio rezonanso vaizdinimas yra pagrįstas sužadintų vandenilio branduolių magnetinių momentų relaksacijos išoriniame magnetiniame lauke matavimu. Vaizdinimo objektu audiniuose pasirinkti vandenilio branduoliai dėl to, kad jie turi vieną protoną, didelį magnetinį momentą, taip pat dėl didelės jų koncentracijos gyvame organizme.

Kai vaizdinimo objektas yra patalpinamas į stiprų pastovų B_0 magnetinės indukcijos magnetinį lauką, atomų branduolių (turinčių nenulinį sukinį) sukiniai atitinkamai susiorientuoja. Vandenilio protonai turi sukinį $\frac{1}{2}$ ir dėl to susiorientuoja lygiagrečiai arba priešingai išoriniam magnetiniam laukui, priklausomai nuo sukinio orientacijos išorinio lauko atžvilgiu. Toliau vaizdinimo objektas yra trumpai paveikiamas elektromagnetiniais tam tikro radijo dažnio (RD) impulsais plokštumoje, statmenoje magnetiniam laukui. Kai šis dažnis atitinka protonų dviejų būsenų energijų skirtumą, protonai sugeria šio dažnio ν fotonus ir pereina į aukštesnį energijos lygmenį, todėl protonų sukiniai persiorientuoja. Šis dažnis yra vadinamas rezonansiniu, nes atitinka protonų sukinijų precesijos Larmoro dažnį (žr. **1 pav.**). Šis dažnis priklauso nuo dalelės giromagnetinio koeficiento γ ir išorinio magnetinio lauko indukcijos (Rotomskis ir kt., 2008):



1 pav. Precesuojantis protono sukinys

$$\nu = \gamma B_0. \quad (1)$$

Vandeniliui $\gamma=42,58$ MHz/T.

Kadangi fotono energija turi tiksliai atitikti protono dviejų būsenų energijų skirtumą, kuri yra lygi:

$$E = h\nu, \quad (2)$$

čia h – Planko konstanta, ν – Larmoro dažnis. Todėl fotonas turi turėti energiją:

$$E = h\gamma B_0. \quad (3)$$

Kai radijo dažnio impulsas pasibaigia, vandenilio protonai picesuodami aplink magnetinio lauko B_0 ašį relaksuoja atgal į pusiausvyros padėtį ir taip indukuoja elektrovaros jėgą (EVJ) induktyvumo ritėje, supančioje tiriamąjį objektą. Jos amplitudinis – dažninis spektras ir pereinamosios laiko charakteristikos neša informaciją, apie rezonuojančių protonų erdvinį tankį. Gauti duomenys yra apdorojami sudėtingomis Furje transformacijomis ir galiausiai gauname MR kontrastinius vaizdus.

Taigi MRV ir yra pagrįstas sužadintų vandenilio branduolių audiniuose relaksacijos proceso registravimu, kurio atitinkami parametrai smarkiai priklauso nuo to, kokioje aplinkoje yra vandenilio protonai. Sritys, kuriose yra didelė protonų koncentracija, dažniausiai vanduo arba lipidinės molekulės, generuoja stiprų signalą ir MRV vaizduose atrodo šviesios. Kauluose, sausgyslėse, kur vandens yra nedaug, signalas yra silpnas ir vaizduose šios sritys yra tamsios. MRV skyros apribojimai pasireiškia, kai reikia pamatyti skirtumus minkštuose audiniuose, kai santykinės protonų koncentracijos yra labai panašios. Tuomet yra naudojamos išorinės kontrastinės medžiagos.

Medicinoje naudojama magnetinio lauko indukcija yra nuo 0,3 iki 7 teslų, o vandenilio protonų vaizdinimui naudojamas dažnis yra radijo dažnių srityje nuo 12 iki 300 MHz.

Magnetinio rezonanso vaizdų sudarymas

Norint selektyviai vaizdinti skirtingus vokselius – tūrinius subjekto vaizdo elementus, dažniausiai naudojami statmeni pagrindinėms paciento ašims (x,y ir z nuo galvos ir kojų) magnetiniai gradientai. Magnetinio lauko gradientas (magnetinio lauko kitimas nuo koordinatės) sudaro galimybę paveikti kiekvieną sukinių sritį tam tikru magnetiniu lauku, taip vaizdinant sukinių pozicijas. MRV metodas paremtas rezonanso lygtimi, kuri parodo, kad sukinių rezonansinis dažnis ν proporcingas išoriniam magnetiniam laukui. Centrinio magneto taškas, kur $(x,y,z) = 0,0,0$, vadinamas magneto izocentru. Magnetinis laukas šiame taške lygus B_0 ir rezonansinis dažnis ν_0 . Jei tiesinis magnetinio lauko gradientas nukreipiamas į trimatį vaizdinimo objektą, sukinius turintys objekto sritys bus paveikti skirtingo magnetinio lauko. Signalų stiprumas priklauso nuo sukinių, esančių gradientui statmenoje plokštumoje, skaičiaus, t.y. rezonansinis dažnis proporcingas sukinių pozicijai (G_x). Tai yra vadinama dažnio kodavimu:

$$\nu = \gamma(B_0 + xG_x) = \nu_0 + \gamma x G_x. \quad (4)$$

$$x = \frac{\nu - \nu_0}{\gamma G_x} \quad (5)$$

Visas erdvinis kodavimas yra vykdomas naudojant magnetinio lauko gradientus, kurie koduoja atitinkamas pozicijas signalo fazėse. Erdviškai koduotos fazės yra užregistruojamos 2D arba 3D matricose, kuriose duomenis sudaro erdviniai vaizdinamo objekto dažniai. Vaizdai pateikiami atliekant diskrečią Furje transformaciją. MRV skiriamoji geba yra apie 1mm^3 , moksliniuose modeliuose ji gali siekti ir iki $1\mu\text{m}^3$. (Rotomskis ir kt., 2008).

Kad suprastume, kaip susidaro MRV kontrastas, svarbu žinoti apie laiko konstantas, kurios apibrėžia relaksacijos procesus, siekiant pusiausvyros po sužadavimo radijo dažniu.

Magnetinio rezonanso kontrasto principai

Magnetinio rezonanso vaizdinime naudojamas stiprus magnetinis laukas išrikiuoja protonų magnetinius momentus bandinyje sukuriant pusiausvirą įmagnetėjimą M_0 išilgai z ašies. Rezonansinis RD impulsas pasuka jų magnetinį momentą nuo z ašies tam tikra faze ir tam tikru kampu, vadinamu sukimosi kampu (žr. 2 pav.). Todėl relaksacijos procesas susideda iš dviejų laiko dedamųjų, sąlygojamų įmagnetėjimo M_0 dviejų sandų z ir xy plokštumose – M_z ir M_{xy} .



2 pav. Protonų sukinių suminis įmagnetėjimas M_0 pusiausvyros padėtyje (kairėje) ir paveikus trumpu 90° radijo dažnio impulsu (dešinėje).

Išilginis įmagnetėjimas. Paveikus RD impulsu kai kurie protonai rezonuoja ir išsirikiuoja priešingai magnetinio lauko kryptiai, todėl turime mažėjantį ar net nulinį M_z įmagnetėjimą. Nustojus veikti impulsui, protonų sukiniai precesuodami po truputį grįžta į pusiausvyros padėtį ir M_z vėl eksponentiškai grįžta į maksimalią vertę. Todėl ši relaksacija – tai po radijo dažnio išjungimo įmagnetėjimo vektoriaus M_0 išilgai ašies eksponentinio relaksacijos proceso laiko dedamoji – T1 (žr. 3 pav.). Išilginis įmagnetėjimas gali būti aprašomas formule:

$$M_z = M_0(1 - e^{-t/T_1}), \quad (6)$$

Išilginės relaksacijos laiko konstanta T1 yra laikas, reikalingas M_z pasiekti $(1 - 1/e)$ arba 63 % maksimalios M_0 vertės.

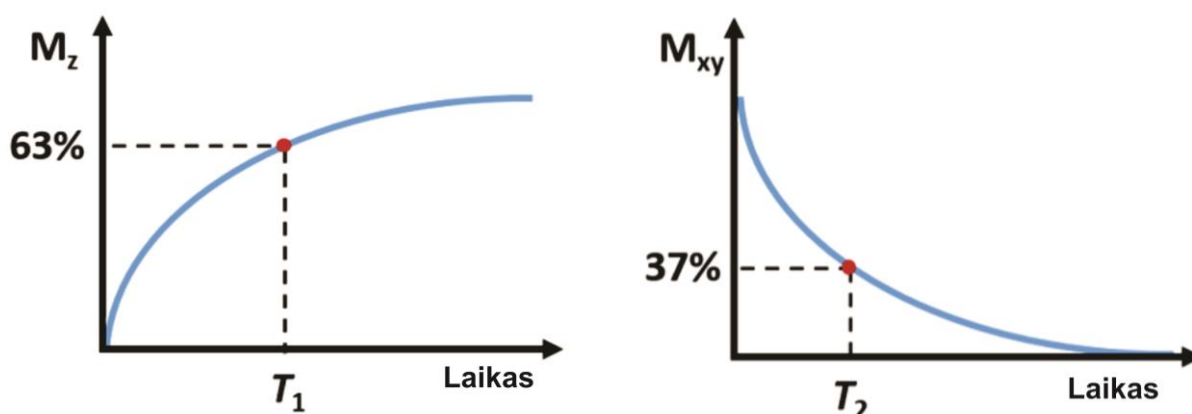
Skersinis įmagnetėjimas. Paveikus RD impulsu bandinį, atomų magnetinių momentų vektorių fazės susilygina ir todėl turim suminį įmagnetėjimą xy plokštumoje – išauga skersinis įmagnetėjimas. Po RD išjungimo precesuojantys protonų magnetiniai momentai tampa vėl atsitiktinai išsidėstę xy plokštumoje ir galiausiai suminis magnetinis momentas xy plokštumoje tampa nuliniu. Taigi skersinė relaksacija – tai po impulso išjungimo skersinio įmagnetėjimo M_{xy} relaksacijos proceso laiko dedamoji – T2 (žr. 3 pav.). Skersinio įmagnetėjimo išsifazavimą lemia vietinis ML nehomogeniškumas ir sąveikos su aplinkinėmis molekulėmis. Vadinasi, kuo didesnis ML nehomogeniškumas ir stipresnės protonų sąveikos, tuo skersinė relaksacija bus greitesnė. T2 vaizdai gaunami pašalinant lauko nehomogeniškumą ir paliekant relaksaciją tik dėl sąveikų. Tuo tarpu T2* vaizdai gaunami paliekant abu poveikius, todėl T2* relaksacija yra greitesnė nei T2. Skersinis įmagnetėjimas gali būti aprašomas formule:

$$M_{xy} = M_0 e^{-t/T2^*}. \quad (7)$$

O T2 yra gaunama iš formulės:

$$\frac{1}{T2^*} = \frac{1}{T2} + \frac{1}{T2_i'} \quad (8)$$

kur T2_i žymi skersinę relaksaciją dėl vietinio ML nehomogeniškumo. Taigi relaksacijos laiko konstanta T2 yra laikas, per kurį skersinis įmagnetėjimas sumažėja (1/e) arba 37 % nuo pradinės vertės.



3 pav. Išilginio (kairėje) M_z ir skersinio M_{xy} įmagnetėjimo relaksacijos procesai (adaptuota iš (Dong ir kt., 2015)).

Toks suminis įmagnetėjimo mažėjimas ir indukuoja signalą priimančioje ritėje. Mažėjančio skersinio įmagnetėjimo signalo indukcija yra vadinama laisvosios indukcijos gesimo

signalu. Signalas yra registruojamas tam tikru metu prieš paleidžiant naują RD impulsą. Protonų, kurie relaksuoja lėčiau, visiškai įmagnetėjimas nesugrįžta prieš prasidedant vėlesniems RD impulsams, ir todėl jie sukuria mažesnę signalą ir taip sukelia įsisotinimo efektą. Taigi priklausomai nuo to, kiek spėjo protono sukiny s nurelaksuoti, induktyvumo ritėje yra sukuriamas tam tikros amplitudės EVJ: jei relaksacija greita, daug nurelaksuota – stiprus signalas – šviesios sritys, jei relaksacija lėta – silpnas signalas – tamsios sritys. (Hendrick, 2008)

T1 relaksacija dar yra vadinama sukinių – gardelės relaksacija. Gardelė – tai branduolių aplinka, kuri turi gardelės struktūrą. Sukiniai sąveikaudami su gardele, gali perduoti savo energiją jai ir taip nurelaksuoti. Sukinio ir gardelės relaksacijos mechanizmas yra susijęs su chaotišku molekulių slenkamuju ir sukamuju judėjimu. Judant molekulėms, jų magnetiniai branduoliai yra veikiam greitai fliktuojančio ML, sukurto gretimų branduolių ir elektroninių apvalkalų. Šio lauko sandai gali būti lygūs rezonansiniam dažniui, todėl gali sukelti energijos šuolius ir taip sukelti relaksaciją (Balevičius ir kt., 2000). Protonų slenkamasis judėjimas aplinkoje yra tiesiogiai susijęs su molekulių dydžiu: kuo mažesnė molekulė, tuo judėjimas greitesnis ir todėl turim neilgą tarpusavio sąveiką. To rezultatas – mažesnė relaksacijos tikimybė. Jei turim dideles molekules, protonai su jomis sąveikauja ilgesnį laiką, todėl padidėja energijos perdavimo tikimybė, o kartu didėja ir relaksacijos tikimybė. Pavyzdys, kodėl vyksta energijos perdavimas dėl kaimyninių molekulių sukamojo judėjimo, yra vandenilio protonų buvimas riebaluose. Riebaluose, vandenilio protonai yra surišti su ilgom anglies grandinėm, o anglies – anglies jungčių sukimosi dažniai labai artimi rezonansiniam dažniui, todėl tokie protonai turi labai efektyvų sukinių – gardelės energijos perdavimą. Taigi tokios aplink esančios molekulės sąlygoja trumpus T1 ir turim signalo stiprinimą.

Be sukinių ir gardelės sąveikos, gali būti ir pačių sukinių tarpusavio sąveikia. Kiekvienas sukiny, kaip magnetinis dipolis, kiekviename savo aplinkos taške sukuria magnetinį lauką. Šis laukas yra greitai silpnėjantis. Dėl molekulinio judėjimo gali įvykti šio lauko fliktuacijos. Todėl įvairiais laiko momentais įvairių sukinių rezonansiniai dažniai bus kiek skirtingi. Tarp šio vietinio lauko sandų gali būti dažnio dedamoji, tenkinanti rezonanso sąlygą, kuri sukels kurio nors branduolio energijos šuolį kito sukinių energijos sąskaita. Tokio tipo procesas nekeičia suminės sukinių energijos, tačiau sumažina sužadintos būsenos gyvavimo trukmę. Šitokia energijos apykaita gali būti tik tarp vienodų sukinių ir todėl ją charakterizuoja sukinių tarpusavio relaksacijos trukmė T2. (Balevičius ir kt., 2000)

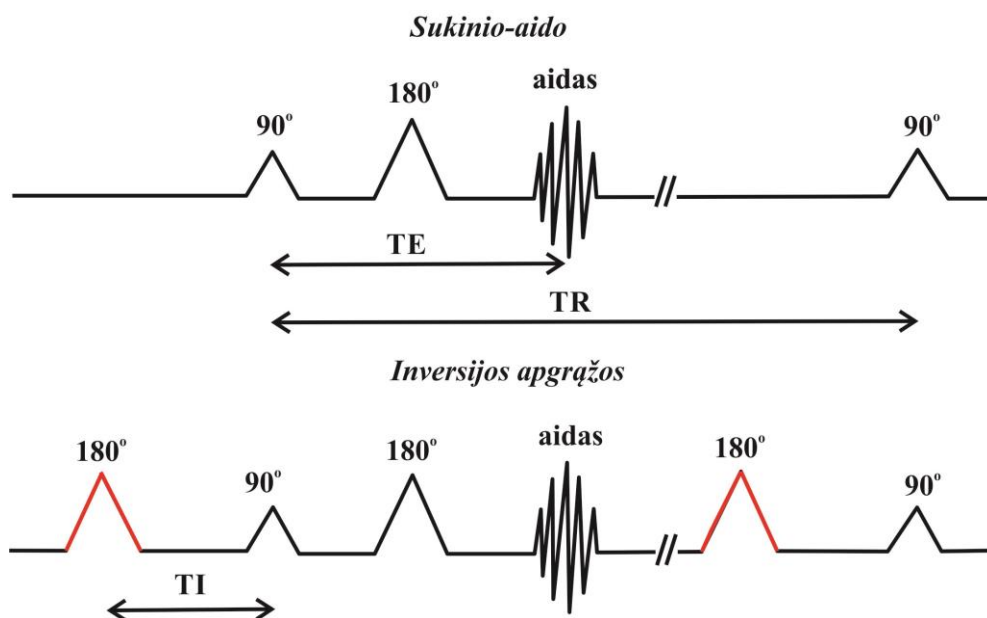
Daugumoje audinių, T1 ir T2 vidinės variacijos yra mažos ir dažnai egzogeninės medžiagos yra naudojamos kliniškai padidinti kontrastą tarp dominančio audinio ir jį supančių audinių. Kadangi beveik visi MRI kontrastiniai agentai turi įtakos tiek T1, tiek T2 relaksacijoms, paprastai kontrastinio agento poveikis yra labiau išreiškiamas kuriuo nors vienu (Hendrick,

2008). T1 kontrastinis agentas yra naudojamas padidinti signalo intensyvumą suteikiant teigiamą kontrastinį didinimą T1 vaizduose, o T2 kontrastiniai agentai mažina signalo intensyvumą ir todėl yra gaunamas neigiamo kontrasto didinimas T2 vaizduose.

Kaip jau minėta anksčiau, T2* relaksacijai labai daug įtakos turi vietinis magnetinio lauko nehomogeniškumas. Tokios medžiagos kaip superparamagnetinės nanodalelės keičia vietinį protonų magnetinį lauką. Superparamagnetinių nanodalelių nesuporuotų elektronų dideli magnetiniai momentai keičia vietinį protonų ML stiprį – atsiranda vietinio lauko nehomogeniškumas, todėl po RD impulso išsifazavimas vyksta kur kas greičiau – spartėja T2*, todėl tai lemia neigiamą kontrastą MR vaizduose.

Magnetinio rezonanso vaizdinimo sekos

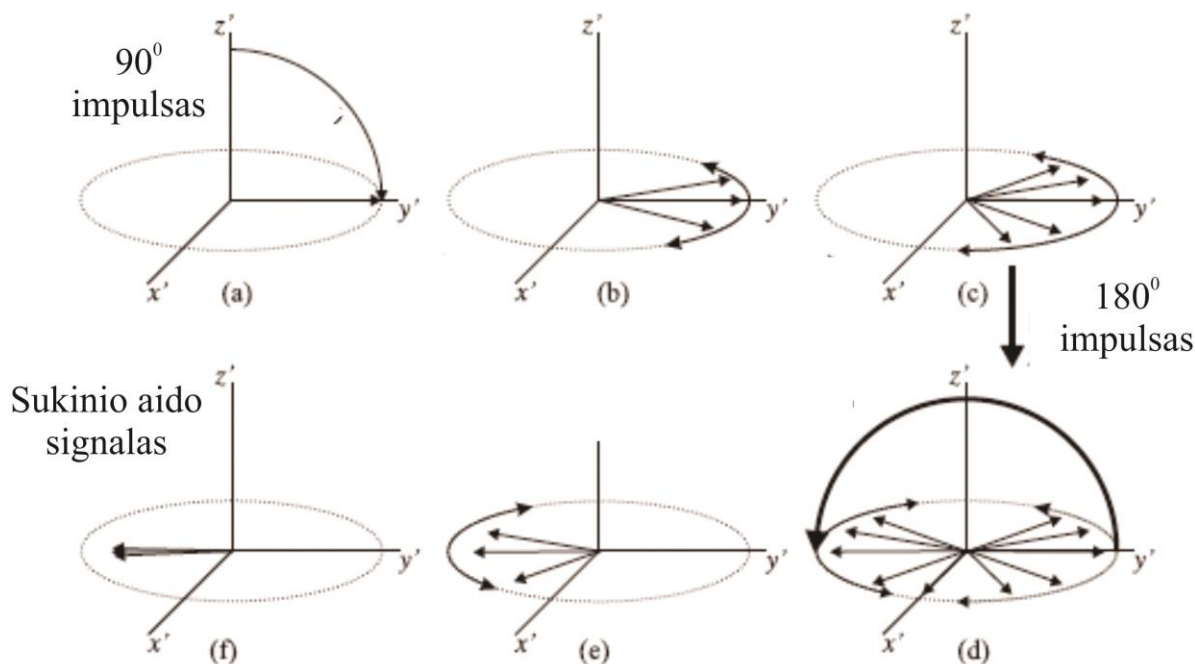
MRV naudojamų vaizdinimo sekų yra labai įvairių (Bitar ir kt., 2006). Kokią vaizdinimo seką pasirinkti priklauso nuo tyrimo tikslo. Standartinės vaizdinimo sekos yra sukinio-aido (*angl. spin-echo, SE*). Kadangi beveik neįmanoma sukonstruoti MR magneto su absoliučiai vienodu magnetinio lauko stipriu, SE sekos yra naudojamos siekiant pašalinti taikomo vietinio magnetinio lauko nehomogeniškumą ir jos gali generuoti T1 arba T2 vaizdus, grindžiamus vien tik molekulinėmis sąveikomis. Bendriausiu atveju, sukinio-aido seka naudoja du RD impulsus su 90° ir 180° pasukimo kampais ir yra sukuriamas sukinio – aidas signalas (žr. **4 pav.**). Aidas reiškia signalą, gautą iš dominančios audinio vietos pjūvio po papildomo 180° impulso. Šis papildomas



4 pav. Sukinio-aido ir inversijos apgrąžos signalo formavimas

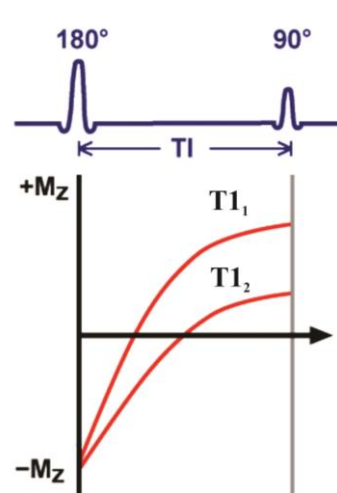
180° impulsas apverčia skersinio įmagnetėjimo vektorių. Po inversijos, sukinių tvarka yra sukeičiama, t.y. sparčiausi relaksuojantys jau atsilieka nuo lėčiau relaksuojančių. Po kurio laiko sparčiausi susilygina su lėtaisiais ir sukiniai tampa koherentiškais - yra sukuriamas signalas,

vadinamas sukinio aidu. Taigi papildomas 180° impulsas anuliuoja išsifazavimo efektą, kurį sukelia vietinio magnetinio lauko netolygumai (žr. **5 pav.**). Laikas tarp 90° impulso taikymo ir aido signalo piko yra vadinamas aido laiku TE. Tiek TE, tiek laikas tarp RD impulsų pasikartojimo TR yra atsakingi už gaunamų vaizdų tipą. T1 vaizdai yra gaunami pasirenkant trumpą TR (250-700ms) ir trumpą TE (10-25ms), o T2 vaizdai yra gaunami pasirenkant ilgą TR (>2000ms) ir ilgą TE (>60ms).



5 pav. Įmagnetėjimo išsifazavimo dėl vietinio ML nehomogeniškumo pašalinimas naudojant 180° impulsą ir sukuriant sukinio-aido signalą (adaptuota iš (CNS Clinic, <http://www.iomonitoring.org/mrphysics.htm>).

Atskiras sukinio-aido sekos atvejis yra inversijos apgražos sukinio aidų seka. Tai yra įprastinė SE impulso seka tik prieš tai impulsas yra pasukamas 180° (žr. **4 pav. apačioje**). Po impulso pasukimo 180° , pradinis bandinių išilginis įmagnetėjimas M_z yra pasukamas priešinga kryptimi nei taikomo išorinio magnetinio lauko (B_0) kryptis, t.y. M_z įmagnetėjimas yra pasukamas $-z$ kryptimi. Dėl išilginės relaksacijos, M_z įmagnetėjimas didės grįždamas link $+z$ krypties kertant nulinę vertę (žr. **6 pav.**), t.y. bus momentas, kai signalas nebus generuojamas. Laikas tarp 180° invertuoto impulso ir 90° impulso yra vadinamas inversijos laiku TI. Daugumai biologinių audinių nulinis taškas paprastai būna, kai $TI \approx 0,69 \times T1$.



6 pav. M_z įmagnetėjimo grįžimas po invertuoto 180° impulso.

1.1.2 Magnetinės medžiagų savybės

Medžiagoje magnetinis laukas yra kitoks negu vakuume. Tai rodo, kad medžiaga, patekusi į išorinį magnetinį lauką, pati kuria savo magnetinį lauką, kuris vektoriškai sumuojasi su išoriniu lauku, – medžiaga įmagnetėja.

Medžiagos viduje magnetinį lauką kuria magnetinės srovės, kurias sąlygoja elektronų orbitinis judėjimas aplink branduolį ir jų sukimasis aplink savo ašis. Taigi medžiagų atomai turi atstojamąjį magnetinį momentą, kuris yra lygus visų jo elektronų orbitinių ir savųjų momentų sumai (Rinkevičius, 2004):

$$\mathbf{p}_a = \sum_i \mathbf{p}_{mi} + \sum_i \mathbf{p}_{msi} \quad (9)$$

Priklausomai nuo orbitinių momentų išsidėstymo atomo magnetinis momentas gali būti lygus arba nelygus 0. Viso kūno magnetinis momentas yra lygus visų jį sudarančių atomų magnetinių momentų sumai:

$$\mathbf{p}_m = \sum_i \mathbf{p}_a \quad (10)$$

Šio kūno tūrio vieneto magnetinis momentas yra vadinamas medžiagos įmagnetėjimo vektoriumi, arba tiesiog įmagnetėjimu:

$$\mathbf{M} = \frac{\sum_i \mathbf{p}_m}{V} \quad (11)$$

Nesant išoriniam magnetiniam laukui atomų magnetiniai momentai yra netvarkingai išsidėstę. Įjungus išorinį magnetinį lauką, jis veikia medžiagoje esančius magnetinius momentus atitinkamai juos orientuodamas, todėl pakeičia jos įmagnetėjimą ir magnetinio lauko indukcijos viduje dydį. Įmagnetėjimas priklauso nuo išorinio magnetinio lauko stiprio ir medžiagos rūšies:

$$\mathbf{M} = \chi \mathbf{H}, \quad (12)$$

čia χ – medžiagos magnetinis jautris, \mathbf{H} – magnetinio lauko stipris.

Medžiagų magnetinėms savybėms apibūdinti naudojama santykinė magnetinė skvarba μ . Ji parodo, kiek kartų magnetinė indukcija medžiagoje yra didesnė nei vakuume:

$$\mu = \frac{B}{B_0} \quad (13)$$

Medžiagos magnetinis jautris ir magnetinė skvarba yra susieti tokia išraiška:

$$\chi = \mu - 1 \quad (14)$$

Taigi medžiagos magnetinės savybės priklauso nuo elektronų orbitinio judėjimo apie branduolį ir jų sukinio. Pagal magnetinės skvarbos dydį medžiagos yra klasifikuojamos į atskiras kategorijas.

Diamagnetikai ($\mu < 1$). Tai magnetikai, kuriuose magnetinis laukas nepakinta arba šiek tiek sumažėja. Jie turi suporuotus elektronus, todėl atomų ar molekulių magnetinis momentas $p_m = 0$, kai nėra išorinio magnetinio lauko. Todėl net patalpinus į išorinį magnetinį lauką tokios medžiagos nekuria magnetinio lauko, t.y. neįmagnetėja.

Paramagnetikai ($\mu > 1$). Tai magnetikai, kuriuose magnetinis laukas šiek tiek sustiprėja. Turi nesuporuotus elektronus, todėl atomai ar molekulės turi nuolatinį nenulinį magnetinį momentą ($p_m \neq 0$). Todėl išoriniame magnetiniame lauke medžiaga tampa įmagnetinta išorinio lauko kryptimi. Tačiau dėl šiluminio judėjimo medžiagoje, elektronų sukiniai yra atsitiktinės orientacijos, todėl nesant išoriniam magnetiniam laukui, medžiagos bendras įmagnetėjimas ir magnetinio lauko indukcija yra lygūs 0. Todėl kai yra išjungiamas magnetinis laukas, poveikis iškart dingsta, t.y. nėra liktinio įmagnetėjimo.

Feromagnetikai ($\mu \gg 1$). Tai magnetikai, kuriuose magnetinis laukas daug kartų sustiprėja. Kaip ir paramagnetikai, turi nesuporuotus elektronus, todėl atomai ar molekulės turi nuolatinį nenulinį magnetinį momentą ($p_m \neq 0$). Feromagnetiniai kristalai yra sudaryti iš daugelio magnetinių sričių – domenų, kuriuose ir yra nesuporuoti elektronų sukiniai, tačiau jų magnetiniai momentai yra suderinti domeno viduje - lygiagrečiai išsirikiavę viena kryptimi, todėl medžiaga nuolat kuria magnetinį lauką aplink save. Bet tarp domenų magnetiniai momentai yra orientuoti atsitiktine kryptimi. Todėl feromagnetiką paveikus išoriniu magnetiniu lauku, domenai orientuojasi jo kryptimi ir taip susidaro labai stiprus vidinis magnetinis laukas. Taigi net ir išjungus išorinį magnetinį lauką, medžiaga lieka įmagnetinta. (Franklin ir kt., 2010)

Superparamagnetikai. Tai atskiras feromagnetikų atvejis, kuris bus aptartas vėliau.

1.1.3 Relaksometrija

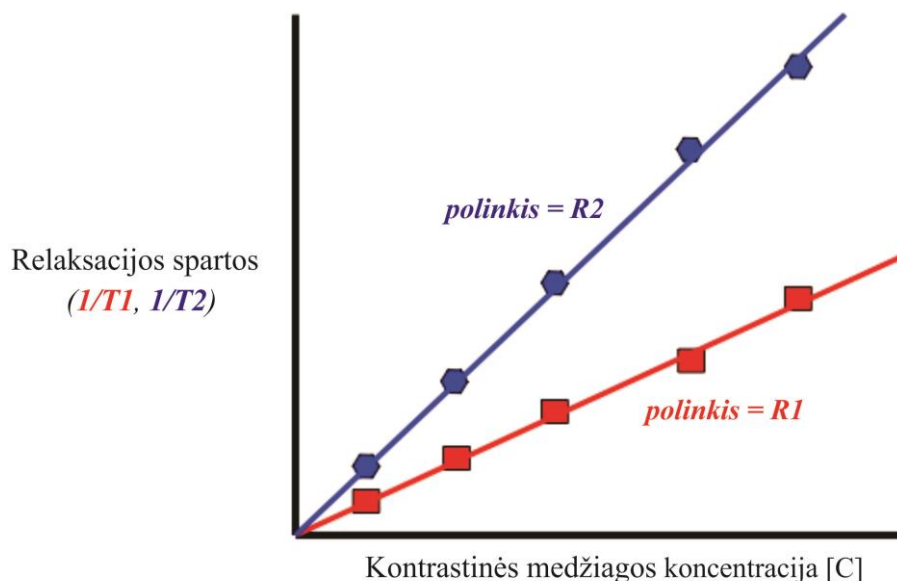
MR kontrastinės medžiagos gebėjimas keisti vandenilio protonų relaksacijos spartą yra vadinamas relaksuojamumu (*angl. relaxivity*). Relaksuojamumas apibrėžia, kaip keičiasi protonų

relaksacijos sparta nuo medžiagos koncentracijos. Kadangi, kaip minėta anksčiau, kontrastinė medžiaga turi įtakos dvejoms protonų relaksacijos spartoms ($1/T1$ ir $1/T2$), tai yra du tai atitinkantys relaksuojamumai, žymimi $r1$ ir $r2$ (Rohrer ir kt., 2005):

$$1/T1 = r1[C] \quad (15)$$

$$1/T2 = r2[C] \quad (16)$$

Relaksuojamumai yra gaunami grafiškai iš relaksacijos spartų pokyčių esant skirtingoms kontrastinės medžiagos koncentracijoms tirpale (žr. 7 pav.). Relaksuojamumai atitinka šių kreivių polinkį.



7 pav. Relaksuojamumo apskaičiavimas (Adaptuota iš (<http://mriquestions.com/what-is-relaxivity.html>, 2016)).

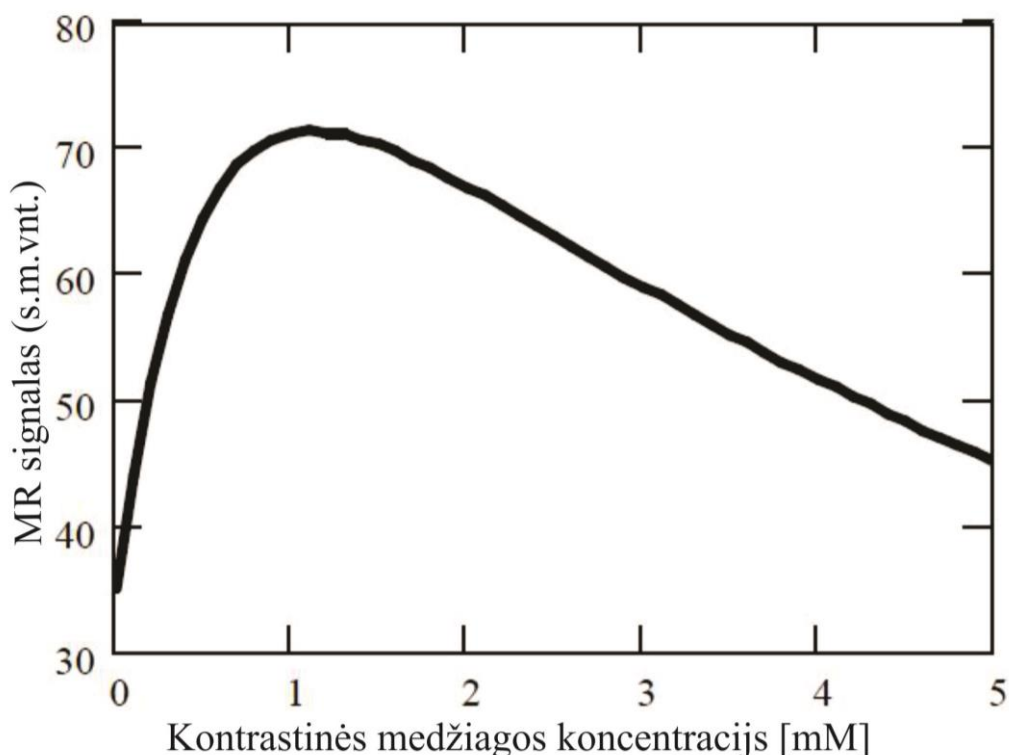
Kadangi $T1$ ir $T2$ relaksacijos yra matuojamos sekundėmis [s], o koncentracija - milimoliais litre [mmol/l=mM], tai relaksuojamumas yra matuojamas [$\text{mM}^{-1}\text{s}^{-1}$]. Relaksuojamumas stipriai priklauso nuo medžiagos cheminės struktūros, todėl kiekvienas kontrastinis preparatas turi sau būdingą relaksuojamumų rinkinį. Taigi tai yra labai svarbus parametras, įvertinantis paramagnetinės kontrastinės medžiagos įtaką protonų relaksacijų spartoms, t.y. MR signalui.

Kaip jau minėta anksčiau, relaksuojamumas priklauso nuo relaksacijos spartų esant skirtingoms koncentracijoms tirpaluose. Taigi norint nustatyti relaksuojamumo reikšmes, reikia žinoti relaksacijos laikus prie atitinkamų koncentracijų. Šiam tikslui yra naudojama IR SE vaizdinimo seka keičiant TI laikų vertes. Tuomet registruojamas MR signalas gali būti išreikštas:

$$SI(TI) = SI_0 \left(1 - 2(\exp^{-TI/T_1}) \right) \quad (17)$$

Kur SI – MR signalo intensyvumas, SI_0 – signalo intensyvumo maksimali amplitudė. Esant skirtingoms kontrasto koncentracijoms yra registruojamas skirtingas MR signalo intensyvumas (tai detaliau bus aptarta vėliau), kas leidžia gauti T1 relaksacijos reikšmes (Reichenbach ir kt., 1997). Reiktų pabrėžti, kad relaksuojamumas yra matuojamas vandenyje ir jo efektyvumas *in vivo* gali žymiai skirtis nuo *in vitro* gautų rezultatų.

Reiktų atkreipti dėmesį, kad (15) ir (16) lygtys žymi tiesinę relaksacijos spartos priklausomybę nuo kontrastinės medžiagos koncentracijos. Tačiau tai galioja tik prie mažų medžiagos koncentracijų. Esant didelėms koncentracijoms pasireiškia netiesiniai efektai. Kaip matome **8 pav.** MR signalo atsakas į dozę yra aiškiai netiesinis. Pirminės koncentracijos intervale MR signalo intensyvumas auga tiesiškai didėjant koncentracijai, tačiau esant didesnėms koncentracijoms, įvyksta MR signalo įsisotinimas, reiškiantis, kad dėl tolimesnio T1 greitėjimo tolimesnis MR signalo intensyvumo augimas negalimas, kol M_z įmagnetėjimas nėra pilnai sugrįžęs į pusiausvyrą. Toliau, kai koncentracijos yra labai didelės signalas pradeda kristi su koncentracijos didėjimu, nes pradeda dominuoti T2 relaksacija. (Bjørnerud, 2008)



8 pav. Sumodeliuotas MR signalo atsakas į kontrastinės medžiagos dozę naudojant SE seką (adaptuota iš (Bjørnerud, 2008)).

Taip yra dėl kontrastinės medžiagos įtakos abejoms relaksacijos spartoms. Dominuojantis poveikis priklauso nuo pradinių relaksacijos spartų audinyje nesant ($1/T_{1t}$ ir $1/T_{2t}$) bei nuo

relaksacijos spartų esant kontrastinei medžiagai ($1/T1_c$ ir $1/T2_c$). Taigi stebimos relaksacijos spartos ($1/T1_{obs}$ ir $1/T2_{obs}$) gali būti apskaičiuotos kaip relaksacijų spartų suma esant ir nesant kontrastinei medžiagai:

$$1/T1_{obs} = 1/T1_t + 1/T1_c \quad (18)$$

$$1/T2_{obs} = 1/T2_t + 1/T2_c \quad (19)$$

O iš (15) ir (16) formulių žinome, kad relaksacijos spartos $1/T1_c$ ir $1/T2_c$ yra tiesiogiai proporcingos kontrastinės medžiagos koncentracijai, tuomet gauname:

$$1/T1_{obs} = 1/T1_t + r1[C] \quad (20)$$

$$1/T2_{obs} = 1/T2_t + r2[C] \quad (21)$$

Kadangi $T1_t$ ir $T2_t$ relaksacijos paprastai skiriasi maždaug eile ($T2$ yra trumpesnis), tai nedidelės koncentracijos kontrastinis preparatas daro didesnę santykinę įtaką $T1$ relaksacijai lyginant su įtaka $T2$ relaksacijai. Didėjant koncentracijai santykinė įtaka $T1$ ir $T2$ relaksacijoms darosi panaši ir $T2$ relaksacija pradeda dominuoti registruojamame signale.

Kad būtų aiškiau, kaip kontrastinės medžiagos koncentracija lemia dominuojantį poveikį ($T1$ ar $T2$), panagrinėkime pavyzdį. Sakykime kad normaliaame audinyje vandenilio protonų relaksacijos laikai yra $T1_t = 0,8s$, o $T2_t = 0,08s$. Tuomet žinodami, kad klinikinio preparato *Magnevist*[®] relaksuojamumai yra $r1 = 4,1 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ ir $r2 = 4,6 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$, galime apskaičiuoti $T1_{obs}$ ir $T2_{obs}$ relaksacijos laikų pokyčius didėjant *Magnevist*[®] koncentracijoms:

1) kai $C = 0,1 \text{ mM}$:

$$\begin{aligned} 1/T1_{obs} &= 1/T1_t + r1[C] = 1/0,8 + 4,1 \cdot 0,1 = 1,66 \\ 1/T2_{obs} &= 1/T2_t + r2[C] = 1/0,08 + 4,6 \cdot 0,1 = 12,96 \end{aligned} \quad (22)$$

Gauname, kad $T1_{obs} = 0,6s$, kas yra 25 % pokytis nuo $T1_t$, o $T2_{obs} = 0,077s$, kas yra 4 % pokytis nuo $T2_t$. Matome, kad kolkas *Magnevist*[®] turi ženkliai didesnę įtaką $T1$ nei $T2$ relaksacijai – dominuoja $T1$ relaksacija.

2) kai $C = 1 \text{ mM}$, turime $T1_{obs} = 0,17s$, kas yra 78 % pokytis nuo $T1_t$, o $T2_{obs} = 0,053s$, kas yra 27 % pokytis nuo $T2_t$. Matome, kad $\Delta T1$ vis dar didesnis, bet jau ir $\Delta T2$ taip pat reikšmingiau padidėjo – bet vis dar dominuoja $T1$ relaksacija.

3) kai $C = 10 \text{ mM}$, turime $T1_{obs} = 0,024s$, kas yra 97 % pokytis nuo $T1_t$, o $T2_{obs} = 0,017s$, kas yra jau yra 78 % pokytis nuo $T2_t$. Matome, kad nuo prieš tai, kai buvo $C = 1\text{mM}$, $\Delta T2$ jau yra žymiai didesnis, nei $\Delta T1$, t.y. $\Delta T1$ po truputį mažėja, o $\Delta T2$ auga - $T1$ relaksacija pradeda nebedominuoti.

4) kai $C = 100 \text{ mM}$, turime $T1_{\text{obs}} = 0,0024\text{s}$, kas yra 99,7 % pokytis nuo $T1_t$, o $T2_{\text{obs}} = 0,0021\text{s}$, kas yra 97,4 % pokytis nuo $T2_t$. Matome, kad $\Delta T1$ įsisotina, t.y. didesnė koncentracija nebeturi didesnės įtakos T1 relaksacijai nei mažesnė koncentracija, tuo tarpu $\Delta T2$ vis dar auga – pradeda dominuoti T2 relaksacija.

Tačiau, kadangi daugelyje audinių $T1_t$ yra ilgesnis už $T2_t$, kontrastinė medžiaga yra naudojama mažomis koncentracijomis, kad būtų pasiektas MR signalo stiprinimas – teigiamas kontrastas, kai kontrastinė medžiaga santykinai labiau sutrumpina T1 nei T2 relaksaciją.

1.1.4 Klinikinės MRV kontrastinės medžiagos

Išorinės magnetinio rezonanso vaizdinimo kontrastinės medžiagos vaidina labai svarbų vaidmenį gerinant vaizdų kokybę padidindami kontrastą tarp normalaus ir pakitusio audinio. MRV kontrastinės medžiagos yra biologiškai suderintos, magnetinių savybių turinčios medžiagos, kurios keičia aplinkinių vandenilio protonų išilginę (T1) ir skersinę (T2) relaksacijos spartas, taip didinant dominančių sričių vaizdo kontrastą. Relaksacijos spartos kitimas atsiranda dėl energijos pernašos tarp vandenilio protonų ir šalia esančių magnetinių elementų. Gadolinio chelatai yra efektyvūs didinant T1 relaksacijos spartą ir yra dažniausiai naudojami kaip teigiamos T1 kontrastinės medžiagos. Tuo tarpu superparamagnetinės nanodalelės yra žymiai efektyvesnės didinant T2 relaksacijos spartą.

Gadolinio chelatai

Gadolinis turi 7 nesuporuotus elektronus 4f orbitalėse, kurie suteikia labai didelį magnetinį momentą (Na ir kt., 2009). Būtent dėl vandenilio protonų sąveikos su nesuporuotais elektronais iš Gd^{3+} jonų ir pagreitėja vandenilio protonų T1 relaksacija, ko pasekoje turime MR signalo stiprinimą T1 vaizduose. Gadolinio ir kai kurių kitų metalo jonų elektroninė konfigūracija yra pateikta **9 pav.** Vandenilio protonų relaksacijos savybes stiprina ir lėta elektronų sukinių relaksacija lyginant su kitais paramagnetiniais elementais. Santykinai lėtą elektronų sukinių relaksaciją (apie 4-5 eilėmis ilgesnė nei kitų lantanidų Ln^{3+}) lemia tai, kad Gd^{3+} turi izotropinę elektroninę pagrindinę būseną ($^8S_{7/2}$) ir jis beveik neturi bendro orbitinio momento. Taigi visos šios savybės Gd^{3+} daro idealiu jonu T1 relaksacijos stiprinimui (Dong ir kt., 2015).

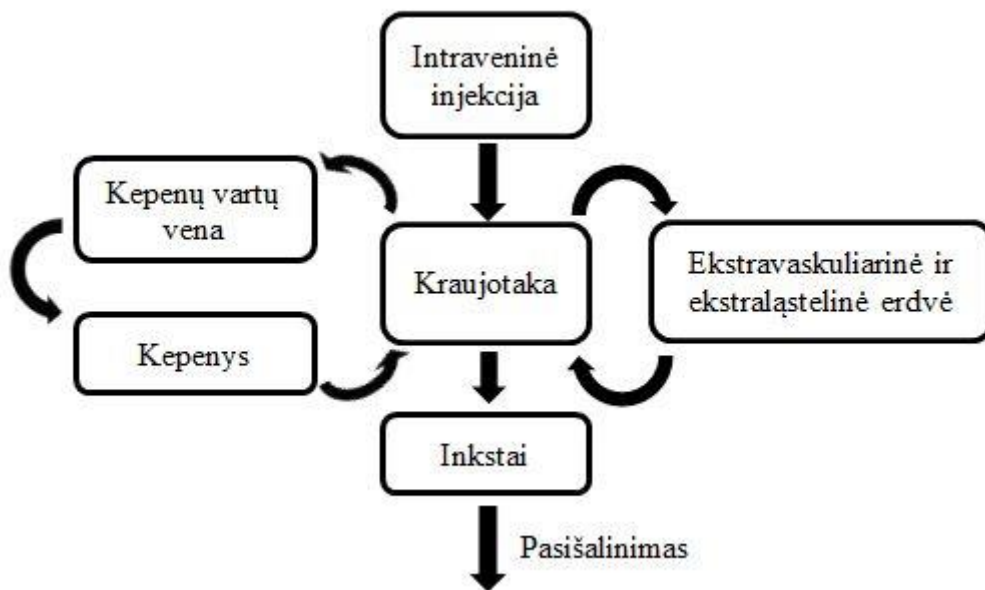
Šiuo metu dauguma kliniškai patvirtintų kontrastinių medžiagų yra paramagnetiko gadolinio pagrindo. Jos yra intraveninės medžiagos, skirtos įvairių organizmo struktūrų vizualizavimui. Šiuo metu yra patvirtinti Europos vaistų agentūros (*angl. European Medicines Agency, EMA*) devyni skirtingi gadolinio chelatai, skirti magnetinio rezonanso vaizdinimo kontrasto gerinimui. Jais sudaro skirtingos veikliosios medžiagos: gadodiamidas, gadopentetino

rūgštis, gadobenino rūgštis, gadoksetino rūgštis, gadoteridolio, gadobutrolis ir gadoterino rūgštis (European Medicines Agency, 2010).

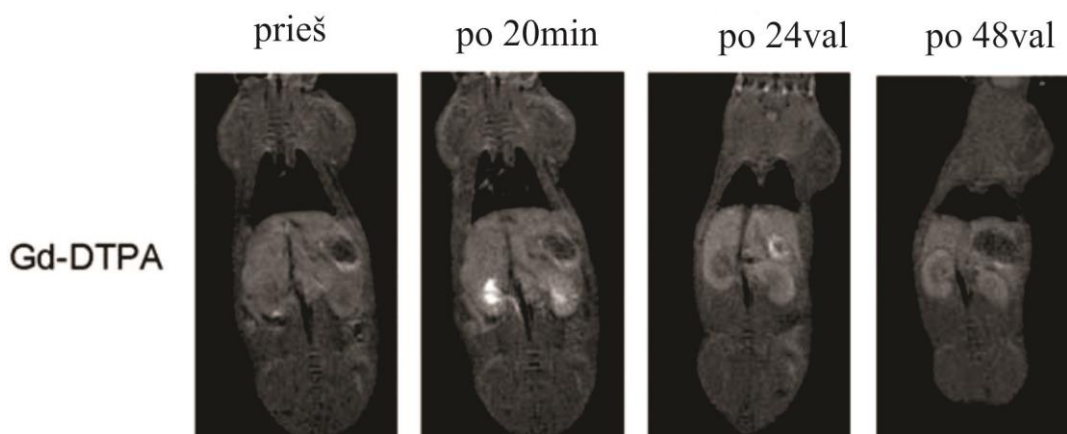
	Jonas	Konfigūracija		Magnetinis momentas, μ_B
		3d	4f	
Pereinamųjų metalų jonai	$^{24}\text{Cr}^{3+}$	↑ ↑ ↑ — —		3.88
	$^{25}\text{Mn}^{2+}$	↑ ↑ ↑ ↑ ↑		5.92
	$^{26}\text{Fe}^{3+}$	↑ ↑ ↑ ↑ ↑		5.92
	$^{29}\text{Cu}^{2+}$	↑↓ ↑↓ ↑↓ ↑↓ ↑		1.73
Lantanidų metalų jonai	$^{63}\text{Eu}^{3+}$		↑↓ ↑ ↑ ↑ ↑ ↑ ↑	3.4
	$^{64}\text{Gd}^{3+}$		↑ ↑ ↑ ↑ ↑ ↑ ↑	7.94
	$^{66}\text{Dy}^{3+}$		↑↓ ↑↓ ↑ ↑ ↑ ↑ ↑	10.65

9 pav. Gadolinio ir kai kurių kitų metalų jonų elektroninė konfigūracija ir magnetiniai momentai (adaptuota iš (Na ir kt., 2009)).

Pirmoji kliniškai patvirtinta MRV kontrastinė medžiaga buvo gadopentetato dimegluminas – Gd-DTPA (*Magnevist*[®]). Pirmasis žingsnis link pirmosios kliniškai patvirtintos MRV kontrastinės medžiagos buvo žengtas dar 1981 metais, kai *Gries* ir *Weinmann* pateikė paraišką patentui „Paramagnetinės druskos kompleksas, jo paruošimas ir naudojamas BMR diagnostikai“, kuris buvo patvirtintas 1983 metais (De Haën, 2001; Gries ir kt., 1983). Jame buvo pademonstruotas MRV signalo stiprinimas naudojant prototipinius paramagnetinius chelatus. Vėliau sekė daugybė tyrimų, susijusių su biosuderinamumu, toksiškumu, kaupimusi ir pašalinimu iš organizmo taikant gyvūnų modelius (De Haën, 2001; Weinmann ir kt., 1984). *Magnevist*[®] yra naudojamas kraujagyslėms smegenyse, organuose ir kitose nekaulinėse organizmo vietose vizualizuoti. Gd-DTPA pašalinama per inkstus glomerulinės filtracijos metu. Gd-DTPA pašalinimo modelis yra pateiktas **10 pav.** Vidutiniškai 83 ± 14 % suleistos dozės pašalinama per 6 val., o per 24 val. 91 ± 13 % (Bayer HealthCare Pharmaceuticals Inc.). Kad Gd-DTPA pašalinama per inkstus galime matyti ir iš MR vaizdų. **11 pav.** yra pateikti žiurkės MR vaizdai prieš Gd-DTPA suleidimą į kraujotaką ir praėjus 20min, 1 ir 2 parom po injekcijos. Matome, kad po 20 min išryškėja inkstai, o po paros jau nebesimato tokios signalo stiprinimo inkstuose (Cheng ir kt., 2014). Šios farmakokinetinės savybės yra panašios visų Gd-chelatų.



10 pav. Gd-DTPA pasišalinimo iš organizmo modelis (adaptuota iš (Ortuño ir kt., 2013)).



11 pav. MR vaizdai prieš ir po Magnevist[®] suleidimo į žiurkės kraujotaką (Cheng ir kt., 2014).

Saugumas yra vienas svarbiausių MRV kontrastinių medžiagų, skirtų naudoti klinikinėje praktikoje, kriterijus. Nors ilgą laiką buvo teigiama, kad Gd-chelatai yra saugūs ir neturi žymaus šalutinio poveikio, per pastarąjį dešimtmetį pasirodė vis daugiau straipsnių, kuriuose pateikiami tyrimai, kad naudojamos gadolinio pagrindo kontrastinės medžiagos didina nefrogeninės sisteminės fibrozės (NSF) riziką (Penfield ir Reilly, 2007). NSF – tai padidėjęs jungiamojo audinio kaupimasis odoje, sąnariuose, vidaus organuose. Laisvi Gd^{3+} jonai negali būti naudojami tiesiogiai, nes jie yra labai toksiški, užkemša kalcio kanalus ir baltymų jungimosi vietas (Biagi ir Enyeart, 1990). Laisvi Gd^{3+} jonai kaupiasi kepenyse, blužnyje, inkstuose ir kauluose. Tačiau, jei Gd^{3+} yra komplekse su chelatiniais ligandais, yra išvengiama tiesioginės sąveikos su audiniu ir taip yra sumažinamas šalutinis toksinis poveikis. Bet toksiški Gd^{3+} jonai gali būti išlaisvinti iš chelatų transmetalizacijos metu (tai reakcija, kai ligandai apsikeičia metalais ar jų jonais)

apsikeičiant su kitais metalų jonais kaip Zn^{2+} , Ca^{2+} ir Cu^{2+} organizme ir ligandų protonizacijos metu žemame pH, o tai sukelia chelato disociaciją *in vivo* (Greenberg, 2010; Laurent ir kt., 2001). Būtent tokio proceso pasekmė gali būti NSF. Pirmą kartą gadolinio pagrindo kontrastinės medžiagos buvo susietos su NSF 2006 metais, kai penkiems iš devynių sergantiems paskutinės stadijos inkstų nepakankamumu pacientams, kuriems buvo atlikta MR angiografija, buvo pastebėti NSF požymiai po 2-4 savaičių po preparato suleidimo (Grobner, 2006). 2007 metais EMA vaistinių preparatų naudojimo komitetas paskelbė, kad gadodiamidas ir gadopenteto rūgštis yra nerekomenduotinos pacientams, sergantiems sunkiu inkstų nepakankamumu (European Medicines Agency, 2010). Taip pat yra išreiškiamas susirūpinimas kalbant apie MRV atlikimą moterims neštumo ir žindymo laikotarpiu, pacientams, kuriems buvo atlikta kepenų transplantacija, naujagimiams, kūdikiams ir vaikams bei vyresnio amžiaus žmonėms. Taip pat 2016 kovo 18 dieną EMA išleido dokumentą, kuriame pranešama, kad ji pradėjo gadolinio kaupimosi smegenų audinyje rizikos peržiūrą (European Medicines Agency, 2016). Kaip jau buvo minėta anksčiau Gd-chelatai yra pašalinamos iš organizmo daugiausiai per inkstus, tačiau tyrimai rodo, kad gali kauptis kepenyse, inkstuose, raumenyse, odoje ir kauluose. Neseniai pasirodė keletas straipsnių, kurie pristatė, kad gadolinis gali kauptis ir smegenų audinyje (Errante ir kt., 2014; Kanda ir kt., 2015).

Superparamagnetinės geležies oksido nanodalelės

Superparamagnetinės geležies oksido MRV kontrastinės medžiagos yra nano eilės (50-130 nm) dydžio geležies oksido kristalai, dengti dekstranu arba karbodekstranu. Ši kontrastinių medžiagų rūšis yra dar labai nauja, jos naudojamos klinikinėje praktikoje tik keli metai. Šiuo metu yra kliniškai patvirtinti tik du kontrastiniai preparatai, tai ferumokisdas ~120nm dydžio (Feridex® - JAV, Endorem® - Europoje, 2008 m.) ir ferukarbotranas 60nm dydžio (Resovist®, 2009 m.). Abu preparatai yra skirti konkrečiai kepenų vizualizavimui. Po intraveninio suleidimo, SPIO nanodalelės pašalinamos iš kraujotakos Kupferio ląstelių fagocitozės metu dėl retikuloendotelinės sistemos (RES). Būtent dėl Kupferio ląstelių pasisavinimo, SPION susikaupia kepenyse ir lemia T2* MR signalo silpimą taip padidinant kepenų kontrastą. Šiuo metu SPION yra naudojami įvairiems kepenų pažeidimams diagnozuoti, įskaitant kepenų vėžį. (Wang, 2011)

1.2 Superparamagnetinės nanodalelės

Sparti nanotechnologijų ir molekulinės biologijos pažanga lemia nanodalelių vystymąsi su specifinėmis funkcinėmis savybėmis, kurios pašalina tradicinius ligų diagnostikos ir gydymo medžiagų trūkumus. Tarp plataus nanoskalės medžiagų spektro biomediciniam panaudojimui

SPION įgijo didelį susidomėjimą dėl joms būdingų išskirtinių magnetinių savybių, kurios įgalina magnetinio rezonanso vaizdinimą. Jos sulaukė didelio dėmesio dėl savo mažo toksiškumo ir aktyvaus paviršiaus, kuris gali būti nesunkiai modifikuojamas biologiškai suderintų dangalų. Šis lankstumas lėmė didelį tyrimų skaičių, susijusių su SPION panaudojimu magnetinio rezonanso vaizdinime *in vivo*, vaistų pristatyme, audinių atstatyme ir hipertermijos pritaikyme (Corot ir kt., 2006; Silva ir kt., 2011; Wu ir kt., 2007). Šiuo metu SPION yra ankstyvajame (iki)klinikinių ir eksperimentinių tyrimų etape, nors keletas jų, kaip aptarta anksčiau, jau yra patvirtintų klinikiniam naudojimui - mediciniame vaizdinime ir terapiniame taikyme. Vystymasis šioje srityje lemia didelį SPION tyrimų skaičių. Naujos kartos SPION turi galėti tiksliai nukreipti ir panaikinti (hipertermijos taikyme) arba paryškinti (MRV taikyme) nesveiką audinį, todėl turi būti įvertintas kiekvienas dizaino parametras, kad ND galėtų įveikti biologinius barjerus ir atlikti savo funkciją. Nešančios molekulės turi būti pasirinktos remiantis jų fizinėmis savybėmis bei jungimosi ypatumais, bei integruojamos į sistemą tokiu būdu, kad jos liktų funkciškai aktyvios. (Veiseh ir kt., 2010)

1.2.1 Superparamagnetinės savybės

SPION unikalios magnetinės savybės yra nulemtos jų atominės sudėties, kristalinės struktūros ir dydžio poveikių visumos. Dauguma geležies oksidų sudaro Fe^{2+} ir Fe^{3+} atomai ir pasižymi feromagnetinėmis savybėmis. Dideli Fe_3O_4 feromagnetiniai kristalai yra sudaryti iš kelių magnetinių domenų su nesuporuotais sukiniiais, kurių magnetiniai momentai yra suderinti domeno viduje, bet tarp domenų magnetiniai momentai yra orientuoti atsitiktine kryptimi. Tačiau kristalą patalpinus į magnetinį lauką, jie susiorientuoja magnetinio lauko kryptimi, kol pasiekiamas įmagnetėjimo įsisotinimas M_s , kai visų domenų magnetiniai momentai tampa lygiagretūs. Šiame taške magnetinė skvarba tampa didžiausia.

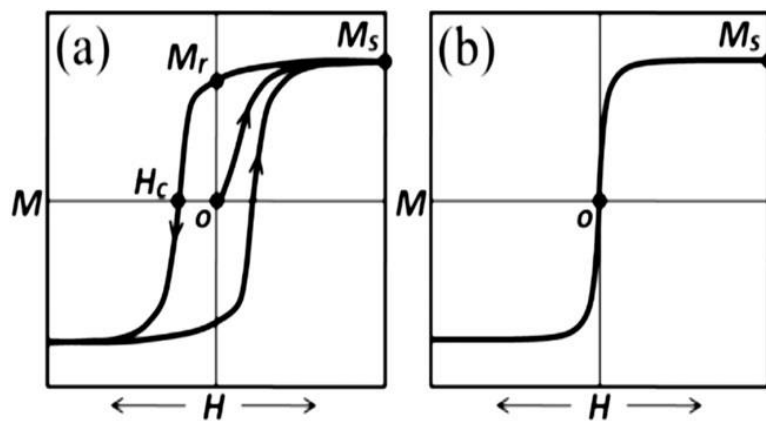
Jei išorinio magnetinio lauko stipris pradedamas mažinti, jo kryptis yra pakeičiama į priešingą. Išjungus išorinį magnetinį lauką feromagnetinis kristalas lieka įmagnetintas (liktinis įmagnetėjimas M_r). Norint pašalinti įmagnetėjimą, reikia pakeisti magnetinio lauko kryptį į priešingą taip, kad jo didumas būtų lygus H_c . Ši vertė vadinama koercine jėga. Feromagnetiko histerezės kilpa yra pateikta **12a pav.**

Tačiau mažinant feromagnetiką iki mažiausio ribinio skersmens galime gauti vieną magnetinį domeną. Ribinis skersmuo, apibrėžiamas kaip dydis ties kuriuo domeno ribos yra nebe palankios energetiškai, yra smarkiai priklausomas nuo dalelės anizotropijos ir skiriasi skirtingoms medžiagoms. Ribinis skersmuo yra lygus:

$$R_c = \frac{36\sqrt{AK}}{\mu_0 M_s^2}, \quad (23)$$

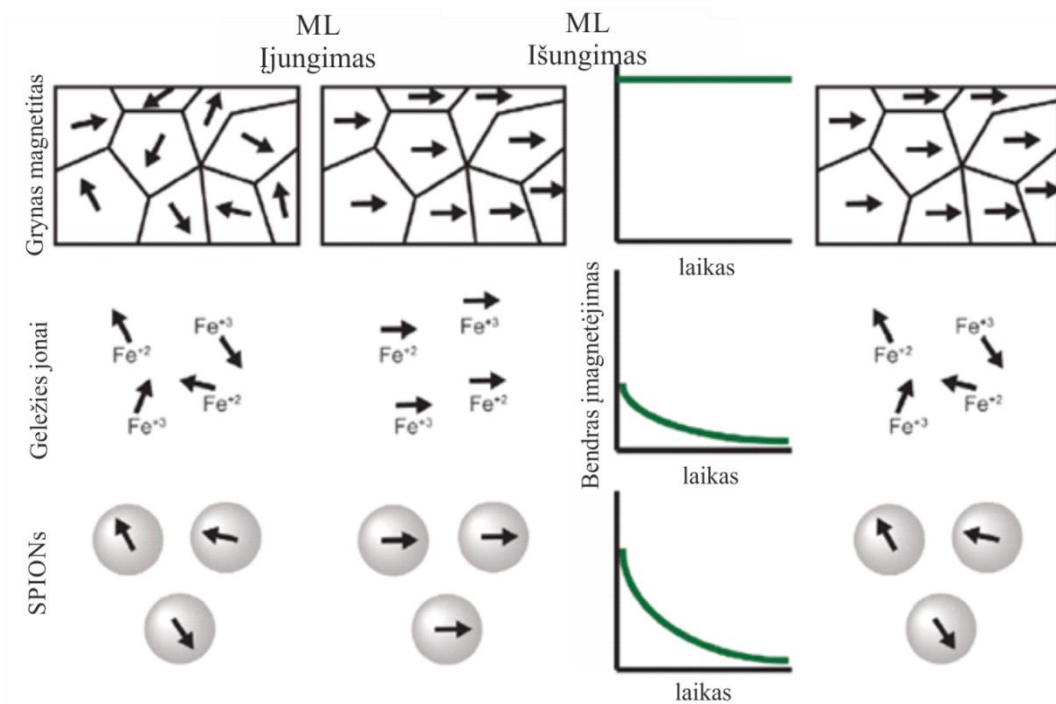
kur A – mainų konstanta, K – anizotropijos konstanta, M_s – įmagnetėjimo sotis. Šis ribinis skersmuo įvairioms medžiagoms svyruoja nuo 10 iki 130 nm. Fe_3O_4 kristalui jis yra 128 nm. (Frey ir kt., 2009)

Kai dalelės yra mažesnės nei 20nm, kambario temperatūros šiluminė energija yra didesnė negu magnetostatinės energijos duobės barjeras. Magnetinis dipolis gali laisvai fliukuoti ir todėl dalelė veikia kaip paramagnetinis $\text{Fe}^{(2+,3+)}$ atomas. Tačiau tokia dalelė išlaiko feromagnetikams būdingą savybę – jos magnetinė skvarba yra daug didesnė už 1, todėl jos bendras įmagnetėjimas yra kaip feromagnetikų, tačiau neturi liktinio įmagnetėjimo, t.y., neturi histerezės kilpos (žr. **12b pav.**).



12 pav. Tipinės histerezės kilpos **a)** feromaganetiko, **b)** superparamagnetiko. M – įmagnetėjimas, M_s – įmagnetėjimos sotis, M_r – likutinis įmagnetėjimas, H_c – koercinė jėga, H – taikomo ML stipris. (Frey ir kt., 2009)

Taigi superparamagnetizmas sujungia gryno magnetito aukštą įmagnetėjimą su geležies jonų paramagnetine prigimtimi. Išorinio magnetinio lauko poveikį grynam magnetitui, SPION ir geležies jonams rodo **13 pav.** Matome, kad nesant išorinio magnetinio lauko visi magnetiniai momentai yra susiorientavę atsitiktine kryptimi, bet tik įjungus išorinį magnetinį lauką visi magnetiniai momentai susiorientuoja viena kryptimi. Tačiau, kai išorinis magnetinis laukas yra panaikinamas, gryname magnetite išlieka įmagnetėjimas, o geležies jonų ir SPION magnetiniai momentai laikui bėgant grįžta į pusiausvyros padėtį, t.y. nebelieka jokio liekamojo įmagnetėjimo. Tačiau superparamagnetinių geležies oksido nanodalelių įmagnetėjimas yra toks pat kaip ir gryno magnetito. Tai yra viena svarbiausių SPION magnetinių savybių. (Stephen ir kt., 2011)

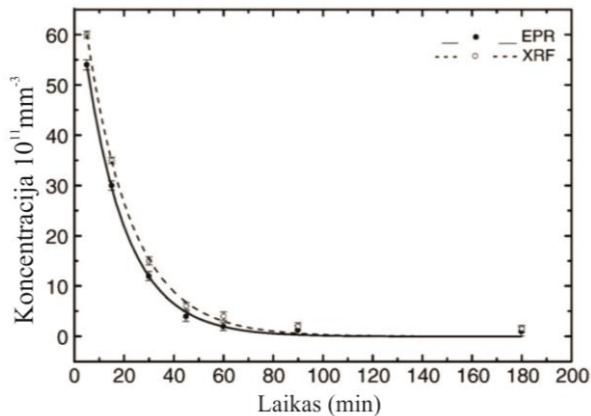


13 pav. Išorinio magnetinio lauko poveikis grynam magnetitui, SPION ir geležies jonams (Adaptuota iš (Stephen ir kt., 2011)).

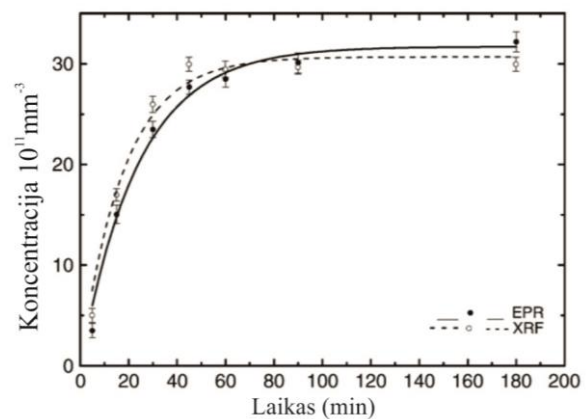
1.2.2 Superparamagnetinių nanodalelių migracija *in vivo*

ND sąveikos su gyvais organizmais yra sudėtingos. Norint taikyti superparamagnetines ND kaip kontrastinius agentus MRV klinikinėje praktikoje, yra būtina įvertinti jų elgseną po jų įvedimo į gyvą organizmą ir numatyti galimą toksinį poveikį. Šiam tikslui pasiekti yra atliekami tyrimai su eksperimentiniais gyvūnais analizuojant ND migracijos procesus juose. Yra atlikta nemažai tyrimų siekiant įvertinti SPION farmakokinetiką, biopasiskirstymo, kaupimosi ir pasišalinimo procesus naudojant įvairias superparamagnetines ND bei pasirenkant skirtingas injekcijos vietas.

Daug tyrimų yra atlikta su dekstranu gaubtomis Fe_3O_4 nanodalelėmis. Viename tyrime (Gamarra ir kt., 2008) buvo vertinamas komercinio magnetinio skysčio Endorem[®], kurio pagrindas dekstranu dengtos Fe_3O_4 nanodalelės (hidrodinaminis dydis – 80nm), biopasiskirstymo ir pasišalinimo kinetikas kraujyje ir kepenyse po įvedimo į žiurkių organizmą. Endorem[®] magnetinis skystis yra taikomas kaip kontrastinis agentas klinikinėje praktikoje magnetinio rezonanso vaizdinime kepenyse ir blužnyje. Geležies koncentracija kraujyje ir kepenyse buvo nustatoma naudojant elektronų paramagnetinį rezonanso (EPR) ir rentgeno spindulių fluorescencijos (XRF) metodus. SPION buvo injektuojamos į žiurkės jungo veną ir po kiekvieno laiko tarpo (5, 15, 30, 45, 60, 90 ir 180 min) buvo paimami kraujo mėginiai ir tuomet žiurkės buvo išpreparuojamos, kad galėtų būti pašalinami inkstai tyrimams. Rezultatus matome **14 ir 15 pav.**



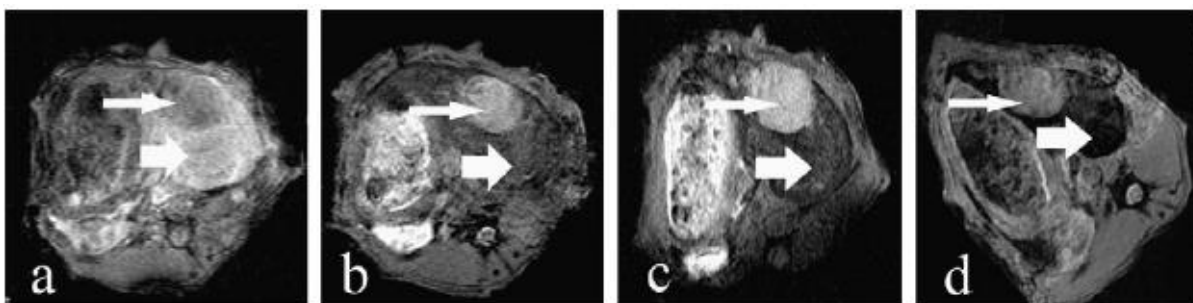
14 pav. Geležies pasiūalinimo iš kraujotakos kinetinė kreivė, matuojant EPR (ištininė linija) ir XRF (punktyras) po injekcijos į jungo veną. Adaptuota iš (Gamarra ir kt., 2008)



15 pav. Geležies pasiskirstymo kepenyse kinetinė kreivė, matuojant EPR (ištininė linija) ir XRF (punktyras) po injekcijos į jungo veną. Adaptuota iš (Gamarra ir kt., 2008)

Iš šių duomenų (**14 pav.**) aišku, kad injektuotas tirpalas yra organizmo šalinamas iš kraujo cirkuliacijos ir jau po 60min geležies oksido dalelės praktiškai visiškai yra pašalintos iš kraujo. Iš EPR duomenų nustatyta, kad šių MND koncentracijos pusėjimo trukmė kraujyje yra lygi ~ 11,6min, o XRF atveju ~ 12,6min. Tai pat galime daryti išvadą iš **15 pav.**, kad MND yra daugiausiai pernešamos iš kraujotakos sistemos į kepenis. Iš EPR duomenų nustatyta, kad šių MND koncentracijos kaupimosi trukmė kepenyse yra lygi ~ 24min, o XRF atveju ~ 19min 3-jų valandų intervale. Taigi geležies oksido ND yra pašalinamos iš kraujotakos per kepenis laiko intervale iki 3val po injekcijos.

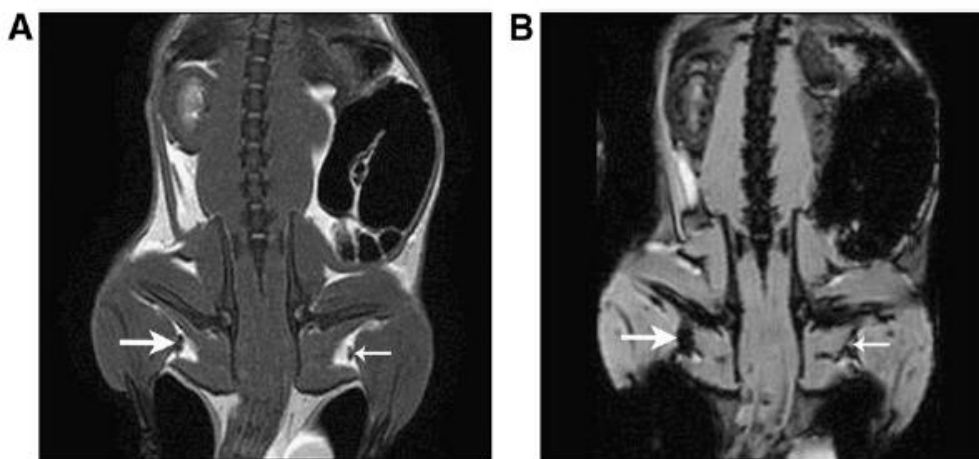
Kaip SPION pasiskirsto ne tik kraujyje ir kepenyse po injekcijos į veną, o navike tyrė (Ma ir kt., 2008). Šiame tyrime buvo tiriamas SPION-alginato (Fe_3O_4 stabilizuotas alginatu, hidrodinaminis dydis 193,8nm) ir buvo atliekami MRV eksperimentai su triušiu, kuriam buvo implantuotas VX2 triušo navikas į kairę kepenų skiltį. Navikas vystėsi kepenyse ir implantuoto naviko požymiai buvo matomi jau po 2 savaičių. Tuomet buvo atliekamas MRI prieš ir po SPION-alginato ($20\mu\text{mol Fe/kg}$) injekcijos į veną. Vaizdai buvo daromi a) prieš injekciją ir po b) 10min, c) 30min ir d)60min po injekcijos. Vaizdai pateikti **16 pav.** Plona rodyklė – navikas, stora rodyklė – kepenų perensima (hepatocitai).



16 pav. T2* sekos MR kepenų su implantuotu naviku vaizdai a) prieš injekciją, b) 10min, c) 30min ir d)60min po injekcijos į veną. Plona rodyklė – navikas, stora rodyklė – kepenų perenshima. (Ma ir kt., 2008)

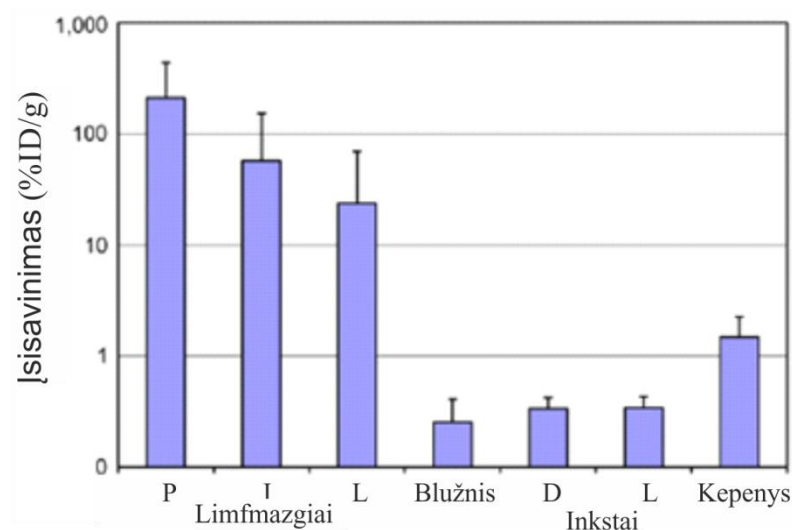
Iš **16 pav.** matome, kad kepenų perenshimos MR signalo intensyvumas sumažėjo, tačiau naviko MR signalo intensyvumas akivaizdžiai nepasikeitė ir naviko riba tapo aiškiau matoma lyginant su vaizdais, darytais prieš injekciją. Taigi šios geležies oksido dalelės labiau kaupiasi sveikoje kepenų dalyje (perenshimoje) lyginant su naviku.

Kitame tyrime (Madru ir kt., 2012) buvo tiriamas žymėtų ^{99m}Tc polietileno glikoliu (PEG) dengtų SPION kaupimasis limfmazgiuose. Dalelės buvo injektuotos į žiurkių dešinės letenos padį. MR vaizduose buvo matomas aiškus neigiamas kontrastas limfmazgiuose po 4val po injekcijos. Šie vaizdai pateikti **17 pav.**



17 pav. Žiurkės limfmazgių koronaliniai MR vaizdai injekcijos vietoje (pastorinta linija) ir kontrolinėje vietoje (plona linija). A – SE sekos vaizdas, B – GRE sekos vaizdas. (Madru ir kt., 2012)

Kadangi vienas iš tyrimo tikslų buvo nustatyti, ar MR tinka limfmazgių vaizdinimui, buvo pasirinktos dvi sekos (SE ir GRE). Tačiau abejais variantais limfmazgiai yra identifikuojami MR vaizduose, nors ir skirtingos kokybės. O **18 pav.** įrodo didelį kaupimąsi limfmazgiuose po 4val po injekcijos, ir mažesnį kaupimąsi kituose organuose (kepenyse, inkstuose ir blužnyje).



18 pav. ^{99m}Tc - SPION biopasiskirstymas žiurkėse po 4val po injekcijos į paodį. Adaptuota iš (Madru ir kt., 2012)

Taigi apibendrinus galima teigti, kad SPION įvedus į organizmo kraujotaką, jos pasišalina iš kraujo per kepenis. Įvedus ne į kraujotaką, t.y. į paodį, raumenį ar papilvę, tyrimų daug nepavyko rasti, kad būtų galima daryti konkrečias išvadas, tačiau galima numanyti, kad visgi nanodaleles pradeda kaupti limfmazgiai kaip imuninės sistemos atsakas.

1.3 Aukštyneitės nanodalelės

Šiuo metu yra išaugęs dėmesys lantanidais legiruotų aukštyneičių nanodalelių dėl savo pritaikymo galimybių biomediciniame vaizdinime. Jos gali sugerti artimąją infraraudonąją spinduliuotę (NIR) ir išspinduliuoti NIR, regimojoje ar net UV srityje. Šios nanodalelės turi daug privalumų lyginant su tradiciniais žymekliais, pavyzdžiui: gali prasiskverbti į gilesnį audinių gylį, mažas toksiškumas, fotostabilumas, mažesnės galimos pažaidos ir kt. (Zhai ir kt., 2015). Taip pat dėl galimybės įterpti paramagnetinių Gd^{3+} jonų, šios nanodalelės atrado savo nišą ir magnetinio rezonanso vaizdinime. Tai leidžia šias AK ND laikyti labai perspektyviom dvigubame biomediciniame vaizdinime.

1.3.1 Aukštynkaitos procesas

Kadangi pirminis AK ND taikymo sumanymas yra optinis biomedicininis vaizdinimas, šiame skyrelyje bus trumpai pristatomas pats aukštynkaitos procesas. Aukštyneitės nanodalelės yra tokios medžiagos, kurios gali sugerti fotonus, kurių energiją yra E_1 , ir išspinduliuoti fotonus, kurių energija E_2 yra didesnė už E_1 . Emisija gali būti NIR, regimojoje ir UV srityse. Aukštynkaita yra dvifotonis procesas, bet skiriasi nuo kitų dvifotonių reiškinių tuo, kad aukštynkaita įvyksta per tarpinį realų sužadavimo lygmenį. Jei šio sužadinto lygmens gyvavimo

trukmė pakankamai ilgai, tai nespėjus nurelaksuoti elektronui į pagrindinę būseną, yra sugeriamas dar vienas fotonas, ir tuomet turim šuolį į dar aukštesnę sužadintą būseną. Yra išskiriami tokie pagrindiniai aukštynkaitos mechanizmai: sužadintos būsenos sugertis, energijos pernaša ir fotonų griūtis. (Suijver, 2007)

Aukštyneitės nanodalelės paprastai susideda iš trijų komponentų: pagrindinės neorganinės matricos, sensibilizatoriaus ir aktyvatoriaus (Zhou ir kt., 2012). Pagrindinė matrica yra labai svarbi, nes būtent ji suteikia svarbias ir unikalias optines savybes, įskaitant aukštynkaitos efektyvumą ir emisiją. Nors yra daug tinkamų medžiagų aukštynkaitos procesui kaip pagrindinė matrica, tačiau buvo įrodyta, kad idealiausias kandidatas yra fluoridas, turintis mažą fononų energiją ir aukštą cheminį stabilumą (Wang ir kt., 2011). Matricos turi turėti kristalinę gardelę, tinkančią legiravimui retųjų žemės metalų jonais, t.y. atomai gardelėse turi pasižymėti panašiomis savybėmis, kad galima būtų juos pakeisti retųjų žemės metalų jonais. AK nanodalelėse fluorescencijos šaltinis yra aktyvatorius, o emisijos efektyvumas priklauso nuo sensibilizatoriaus. Į pagrindinę matricą yra įterpiama sensibilizatoriaus ir aktyvatoriaus santykinai mažomis koncentracijomis (sensibilizatorius ~ 20mol%, aktyvatorius < 2mol%). Dauguma retųjų žemės metalų³⁺ jonų (išskyrus La³⁺, Ce³⁺, Yb³⁺ ir Lu³⁺ jonus) turi daugiau nei vieną sužadinimo lygmenį ir yra tinkami kaip aukštynkaitos aktyvatoriai. Tačiau priemaišiniai jonai Er³⁺, Tm³⁺ ir Ho³⁺ jonai turi „kopėčių formos“ energijos lygmenis, todėl jie dažniausiai naudojami kaip aktyvatoriai (Wang ir kt., 2011). Tuo tarpu idealus sensibilizatorius turi turėti didelį sugerties skerspjūvį NRI srityje ir tikti legiravimui su aktyvatoriumi bei efektyviai pernešti energiją. Būtent tokiomis savybėmis ir pasižymi trivalentis Yb³⁺ jonas. (Zhou ir kt., 2012)

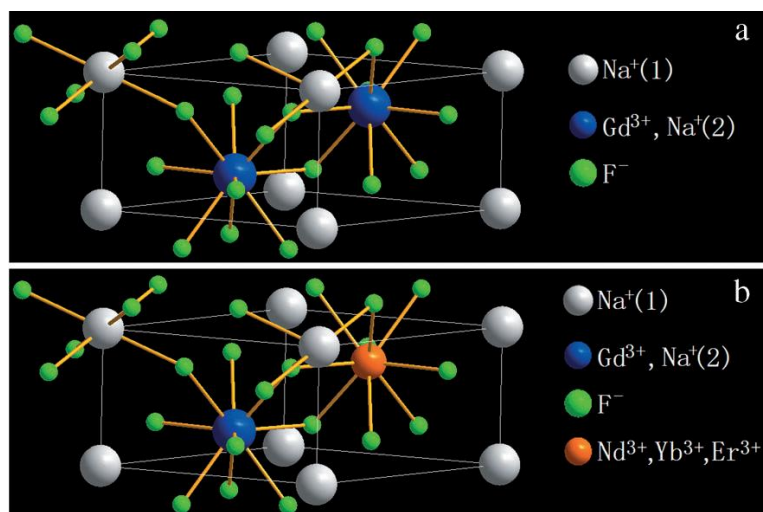
1.3.2 Aukštyneitės nanodalelės kaip MRV kontrastinė medžiaga

Kaip jau buvo aprašyta anksčiau, Gd³⁺ turi idealią elektroninę konfigūraciją, todėl kolkas Gd-chelatai yra nepamainomi T1 MR signalo stiprinime. Tačiau kadangi laisvas Gd³⁺ yra toksiškas ir dabar naudojamų medžiagų suteikiamas kontrasto jautrumas dažnai būna vis dar per mažas, yra kuriamos naujos kartos paramagnetinės nanodalelės, kuriose Gd³⁺ yra neorganiniuose nanokristaluose. Vienas iš tokių neorganinių paramagnetinių nanodalelių yra lantanidais legiruoti fluoridai - NaLnF₄:Yb³⁺·Er³⁺, kur Ln = Gd³⁺, Y³⁺ (Naccache ir kt., 2013). Bet dėl geresnių Gd³⁺ paramagnetinių savybių, MR vaizdinime yra naudojamos NaGdF₄:Yb,Er. Šių nanodalelių β (heksagoninės) fazės gardelės struktūra pateikta **19 pav.**

Neorganinių nanodalelių šerdis yra labai maža (<20nm) ir joje didelis Gd³⁺ jonų tankis, šios nanodalelės labai padidina kontrasto signalo aptikimo jautrumą lyginant su tradiciniais MR kontrastiniais agentais, kuriuose yra tik po vieną paramagnetinį atomą. Tokios nanodalelės lengvai cirkuliuoja kraujyje, yra filtruojamos inkstuose ir pašalinama su šlapimu (Naccache ir kt.,

2013). Kadangi Gd^{3+} yra kristalinėje gardelėje, lemia Gd^{3+} didesnį stabilumą ir yra mažiau toksiškos, negu esant paviršiuje, kur lengvai degradoja sąlytyje su vandeniu. Pavyzdžiui, Gd_2O_3 nanodalelių paviršiuje, esant sąlyčiui su vandeniu, susiformuoja hidroksidas ir tai gali lemti toksišką Gd^{3+} atlaisvinimą iš nanodalelės ir patekimą į aplinką (Fortin, 2014).

Taigi nanodalelės, kurios sudarytos iš $NaGdF_4:Yb^{3+},Er^{3+}$, turi didelį potencialą biomedicininėje diagnostikoje, nes jos suteikia galimybę atlikti ir MR vaizdinimą (dėl Gd^{3+} jonų pagrindinėje matricoje) ir optinį (dėl įterptų retųjų žemės metalų jonų) vaizdinimą (Zhou ir kt., 2011).

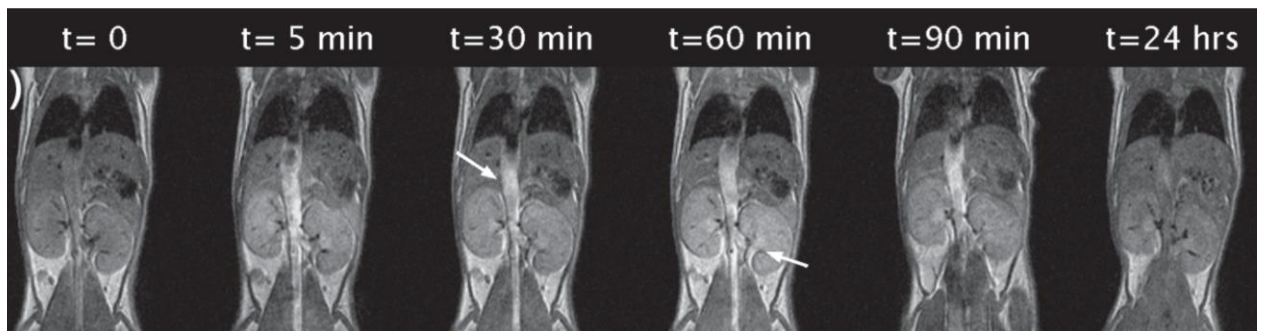


19 pav. Heksagoninės fazės $NaGdF_4$ struktūra a) nelegiruota ir b) legiruota Yb^{3+},Er^{3+},Nd^{3+} . (Zhou ir kt., 2011)

AK ND Tyrimai in vivo

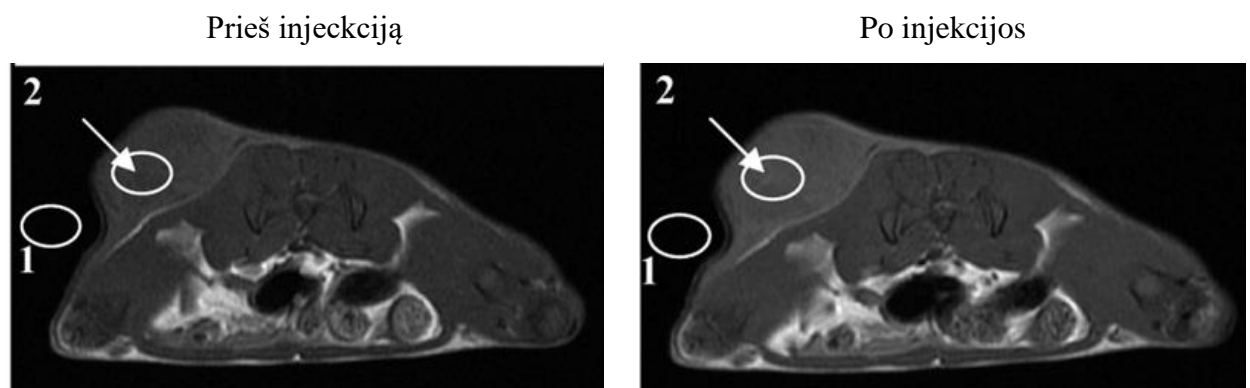
Kaip jau minėta anksčiau, nanodalelių sąveikos su gyvais organizmais yra sudėtingos ir norint taikyti jas klinikinėje praktikoje, prieš tai yra būtina įvertinti jų emigracijos procesus atliekant tyrimus su eksperimentiniais gyvūnais. Bet kadangi šios nanodalelės dar visai neseniai atrado savo galimybes MR vaizdinime, nėra daug straipsnių, kuriuose aprašomi MRV tyrimai *in vivo*. Kelis pateiksiu šiame skyrelyje.

(Naccache ir kt., 2013) atliko aukštyneikių $NaGdF_4:Er^{3+},Yb^{3+}$ nanodalelių magnetinio rezonanso vaizdinimo tyrimą po injekcijos į pelės veną. Koronaliniai MR vaizdai praėjus atitinkamai laikui po injekcijos yra pateikti **20 pav.** Yra matomas aiškus ir ilgalaikis MR signalo padidėjimas pelėje. Didžiausias signalo padidėjimas buvo stebimas po 30 min pilvo aortoje (žymi rodyklė). O po 60 min – inkstuose. Taip pat, nors plika akimi aiškiai nėra matoma, bet apskaičiavus signalų S_1/S_0 intensyvumų santykį (S_0 – signalas dominančioje vietoje prieš kontrasto suleidimą) kepenyse ir širdyje, buvo užregistruotas nežymus MR signalo padidėjimas.



20 pav. Dinaminiai kontrasto stiprinimo pelės MR vaizdai po intraveninės $\text{NaGdF}_4:\text{Er}^{3+}, \text{Yb}^{3+}$ injekcijos (adaptuota iš (Naccache ir kt., 2013)).

Kad AK ND gali būti perspektyvios vėžio diagnostikoje parodė (Xing ir kt., 2012). Jie susintetino nanodaleles, kurių šerdis $\text{NaGdF}_4:\text{Yb}, \text{Er}, \text{Tm}$ yra su aukso nanodalelių paviršiumi: $\text{UCNP@SiO}_2\text{-Au}$. Walker 256 krūties vėžio ląstelės buvo implantuotos į paodį SD pelėms. MR vaizdinimas buvo atliekamas, naviko skersmeniui esant 10-12mm, maždaug po 3 savaičių po implantavimo. **21 pav.**, yra matomi skersiniai MR vaizdai tie naviko vieta (2) prieš ir po injekcijos į naviką. Prieš injekciją 2 ir 1 vietų MR signalo santykis buvo 19,28, po injekcijos į naviko sritį buvo 32,12, kas atitinka 66,6% stipresnį MR signalą.



21 pav. Pelės su naviku MR vaizdai prieš ir po injekcijos į naviką. 2 sritis žymi naviką, o 1 – foną (adaptuota iš (Xing ir kt., 2012).)

Taigi matome, kad AK ND gali būti panaudotos kaip MRV kontrastą gerinanti medžiaga, tačiau iki naudojimo klinikinėje praktikoje, dar reikia atlikti daug ikiklininių tyrimų.

2 Eksperimentinė dalis

2.1 Medžiagos ir metodai

2.1.1 Medžiagos

Tyrimo metu buvo naudojamos šios medžiagos:

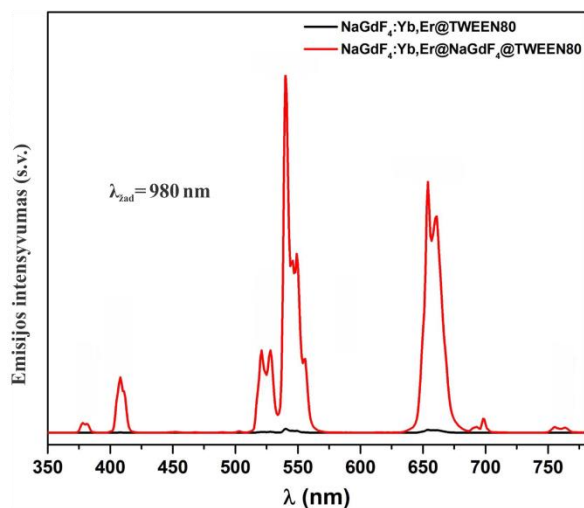
- Superparamagnetinės geležies oksido (Fe_3O_4) nanodalelės (**22 pav.**). Šios nanodalelės buvo gautos iš projekto (TAP-LLT-13-016) „Mezenchiminių kamieninių ir vėžinių kamieninių ląstelių atsakas į nanodalelių poveikį“ pagal „Bendradarbiavimo Tarp Lietuvos Respublikos Švietimo Ir Mokslo Ministerijos, Kinijos Respublikos (Taivano) Nacionalinės Mokslo Tarybos Ir Latvijos Respublikos Švietimo Ir Mokslo Ministerijos Bendrą Lėšų Programą. Fe_3O_4 nanodalelės buvo susintetintos Taivane. Dalelių dydis – 50nm, koncentracija 13000mg/l.
- Aukštyneitės nanodalelės
 - Retaisiais žemės metalais Yb^{3+}, Er^{3+} legiruotos $NaGdF_4$ nanodalelės modifikuotos polimeru TWEEN 80 (*Polysorbate 80*) - $NaGdF_4:Yb,Er@TWEEN80$. Jų dydis $9,7 \pm 1,34$ nm.
 - Retaisiais žemės metalais Yb^{3+}, Er^{3+} legiruotos $NaGdF_4$ nanodalelės, dengtos $NaGdF_4$ ir modifikuotos TWEEN 80 polimeru - $NaGdF_4:Yb,Er@NaGdF_4@TWEEN80$. Jų dydis $14,019 \pm 3,62$ nm.



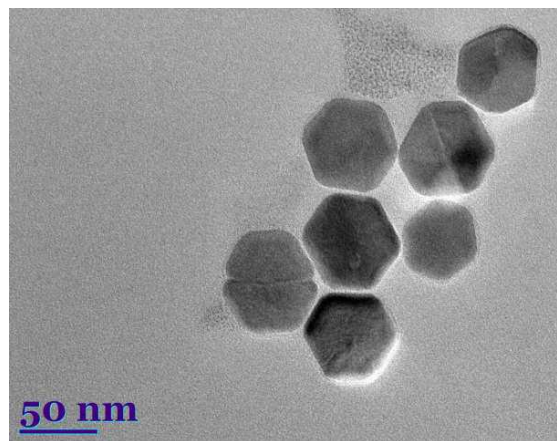
22 pav. Fe_3O_4 tirpalas

Aukštyneitės nanodalelės buvo susintetintos Vilniaus universiteto Chemijos fakulteto Taikomosios Chemijos katedroje. Aukštyneitės liuminescencijos spektras pateiktas **23 pav.** Aukštyneitės nanodalelės yra β fazės (žr. **24 pav.**)

- Gadolinio druska - $Gd(CF_3COOH)_3$
- Klinikinis kontrastinis agentas *Magnevist*[®] - $C_{28}H_{54}GdN_5O_{20}$



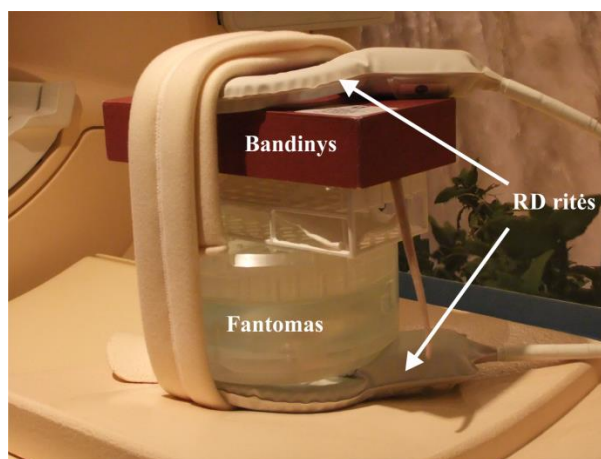
23 pav. Aukštynkeičių nanodalelių liuminiscencijos spektras žadinant 980nm.



24 pav. β fazės $\text{NaGdF}_4:\text{Yb,Er}$ nanodalelių PEM vaizdas.

2.1.2 Įranga

Magnetinio rezonanso vaizdinimo tyrimai buvo atliekami naudojant klinikinį 1,5 T magnetinio rezonanso tomografą (*Philips Achieva*) su papildoma *Sense Flex-M* radiodažnio (RD) rite, skirta atlikti peties srities vaizdinimui. Bendro signalo pagerinimui buvo naudojamas fantomas, skirtas aparato kokybės kontrolei atlikti. Bendra eksperimento įrangos schema pateikta **25 pav.**



25 pav. Kairėje – klinikinis 1,5 T MR tomografas, dešinėje – įrangos paruošimas.

2.1.3 Laboratoriniai gyvūnai

Eksperimente buvo tiriamos *Wistar* baltųjų žiurkių patelės, kurių svoris 220 - 260g. Žiurkės buvo guldomos ant nugaros ir joms buvo atliekama bendra nejautra (**26 pav.**). Žiurkės gautos iš Laboratorinių gyvūnų veisimo, auginimo ir tyrimo centro (Valstybinio mokslinių tyrimų instituto „Inovatyvios medicinos centras“). Gautas Lietuvos Respublikos Valstybinės maisto ir veterinarijos tarnybos leidimas Nr. Gd-29 atlikti bandymus



26 pav. Eksperimentinio gyvūno paruošimas

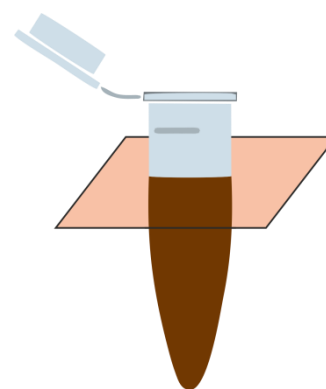
su laboratoriniais gyvūnais Nacionalinio vėžio instituto Mokslinių tyrimų centro Biomedicininės fizikos laboratorijoje. Išduotas VU Gamtos Mokslų fakulteto pažymėjimas Nr.357 (2016 01 29) Eglei Daugėlaitei, kuris patvirtina, kad asmuo yra atitinkamai apmokytas atlikti bet kurią iš funkcijų, nurodytų 2010 m. rugsėjo 22 d. Europos Parlamento ir Tarybos direktyvos 2010/63/ES dėl mokslo tikslais naudojamų gyvūnų apsaugos 23 straipsnyje.

2.1.4 Metodai

2.1.4.1 Superparamagnetinių Fe_3O_4 nanodalelių tyrimai

Pilkumo skalės sudarymas ir optimalios koncentracijos nustatymas

Iš pirminės turimos Fe_3O_4 koncentracijos (13000mg/l) buvo padaryti mažesnės koncentracijos tirpalai. Jų koncentracijos pateiktos **1 lentelėje**. Siekiant nustatyti optimaliausią Fe_3O_4 koncentraciją tolimesniems *in vivo* tyrimams buvo skenuojami magnetiniu rezonanso tomografu skirtingų koncentracijų tirpalai kiuvetėse parenkant skirtingus skenavimo sekos T2W - TSE vaizdinimo parametrus – TR (1000 – 1800ms) ir TE (60 – 100ms) laikus. Skenavimo pjūvių storis – 2mm, FOV - 150 x 150 x 49 mm, NSA – 8. Skenavimo plokštuma pavaizduota **27 pav.**



27 pav. Bandinių skenavimo plokštuma

Kontroliniam vaizdui buvo naudojama kiuvetė su distiliuotu vandeniu. Taip buvo gaunamas kiekvienos kiuvetės pjūvio kontrastinis vaizdas, kurio ryškumas priklauso nuo Fe_3O_4 koncentracijos. Vanduo atitinka baltą spalvą – maksimalus intensyvumas, juoda spalva – oras – minimalus intensyvumas. Taip gaunama pilkumo skalė. Tuomet iš pilkumo skalės buvo matuojami dominančių vietų (*ang. regions of interest, ROI*), šiuo atveju kiuvėčių skenavimo

pjūvių, MR signalo santykiniai intensyvumai ir taip buvo gaunama signalo intensyvumų priklausomybė nuo koncentracijos esant skirtingiems parametrams.

1 lentelė. Naudotų Fe_3O_4 tirpalų koncentracijos

Nr.	C, mg/l	C8	6.5
C1	1300	C9	4.333
C2	130	C10	3.25
C3	26	C11	2.6
C4	13	C12	1.3
C5	10.833	C13	0.433
C6	9.286	C14	0.217
C7	8.125	C15	0.13

Biologinio objekto vaizdinimas – ex vivo tyrimas

Siekiant įsitikinti, kad Fe_3O_4 nanodalelės duos kontrastą *in vivo*, pirmiausia yra atliekami biologinio objekto *ex vivo* MR vaizdinimas. Tam pasirinktos buvo vištos krūtinėlės, kaip vienas iš variantų *ex vivo* tyrimams, rastų literatūroj (Tattersall ir kt., 2010). Šiam tyrimui buvo naudojami du būdai įvesti kontrastą į biologinį objektą :

- 1 kiuvetė su Fe_3O_4 tirpalu buvo įterpiama į biologinį objektą;
- 2 atliekama Fe_3O_4 tirpalo injekcija.

Skenavimo plokštuma – koronalinė (žr. **28 pav.**).

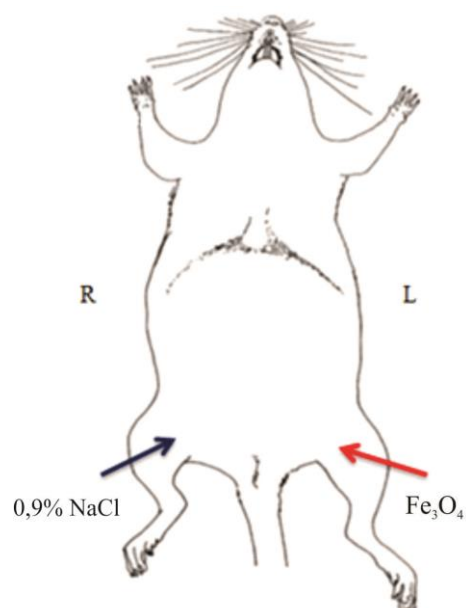


28 pav. Koronalinė skenavimo plokštuma

Biologinio objekto vaizdinimas – in vivo tyrimas

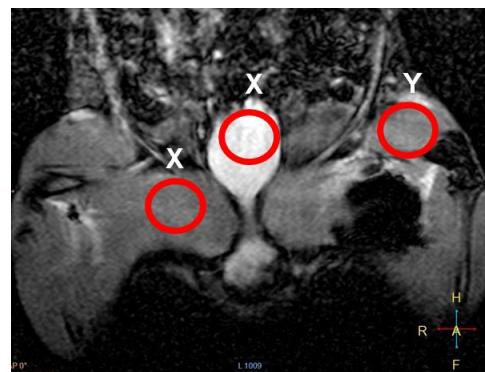
Siekiant įvertinti, kokį poveikį turi Fe_3O_4 nanodalelės MR signalui *in vivo* ir kokia migracija vyksta jas suleidus į gyvą organizmą, buvo nuspręsta daleles injektuoti į raumenį, kad aiškiai būtų matomas kontrastas.

Tyrimai buvo atliekami naudojant T2*W greito gradiento-aido vaizdinimo seką (T2W FFE, *Phillips*), kurios parametrai: TR/TE – 2000/16,12 ms, FOV – 210x100x49, pjūvio storis – 1,5mm, NSA – 3. Parametrai pasirinkti pagal straipsnį (Madru ir kt., 2012). Skenavimo plokštuma – koronalinė. Buvo naudojamos dvi Fe₃O₄ nanodalelių tirpalų koncentracijos – 650mg/l ir 26 mg/l. Šių koncentracijų tirpalai buvo suleisti skirtingom žiurkėm į kairės užpakalinės kojos šlaunies raumenį atitinkamai tokiom dozėm – 520 ir 20,8 Fe₃O₄ μg/kg. Į dešinę koją buvo leidžiamas kontrolinis skystis – fiziologinis 0,9% NaCl tirpalas (žr. **29 pav.**). MR vaizdinimas buvo atliekamas po 15 min., 24 val., 1, 2 sav. ir po 2 mėn. po 520 Fe₃O₄μg/kg injekcijos. O esant 20,8 Fe₃O₄ μg/kg dozei MR vaizdinimas buvo atliekamas po 15 min., 1 val., 24 val., 1 ir 3 savaičių. Prieš pat suleidžiant Fe₃O₄ nanodalelių tirpalą buvo atliekamas kontrolinis žiurkės vaizdinimas. Iš gautų vaizdų buvo skaičiuojamas injekcijos vietoje gaunamo MR signalo silpninimo santykis β atitinkamu laiko momentu τ po injekcijos.



29 pav. Fiziologinio skysčio ir Fe₃O₄ nanodalelių tirpalo injekcijos vietas.

Kadangi tiriamasis objektas yra skenuojamas 1,5mm storio pjūviais, kiekvieno tyrimo metu buvo gaunami 16 - 20 tiriamojo objekto pjūvių vaizdai. Tiriamasis objektas yra gyvas objektas, todėl kiekvieno tyrimo metu jo padėtis šiek tiek skiriasi - turime skirtingų tyrimų metu gautų pjūvių vaizdų nevienodumą (skirtingos galūnių padėtys, skirtingas šlapimo pūslės užsipildymas, taip pat dėl nevienodos gulėjimo padėties šiek tiek skiriasi ir vidinių organų padėtis ir kt.). Todėl siekiant pašalinti vaizdų nevienodumus tarp skirtingų tyrimų, kad galėtume juos lyginti tarpusavyje, buvo analizuojamas kiekvienas pjūvio vaizdas atskirai, t.y. kiekviename pjūvyje n buvo matuojamas dominančios vietos X (žr. **30 pav.**) generuojamas MR SI ir tuomet iš jų visų buvo išvedamas vidurkis:



30 pav. Skaičiuojamo signalo intensyvumo santykio pavyzdys. X – analizuojama vieta, Y – kontrolinė vieta.

$$SI_X = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n SI_{Xi} \quad (24)$$

Todėl kai vėliau bus kalbama apie dominančios vietos X signalo intensyvumą SI_X , bus turima omenyje būtent tos vietos pjūvių SI vidurkį.

Siekiant dar labiau panaikinti paklaidų galimybę dėl skirtingu laiku atliktų tyrimų gautų bendro signalo nevienodumų buvo skaičiuojamas dominančios vietos X ir foninio audinio Y (žr. **30 pav.**) SI santykis:

$$SI = \frac{SI_X}{SI_Y} \quad (25)$$

Ir tik tuomet buvo skaičiuojamas dominančioje vietoje gaunamo MR signalo silpinimo koeficientas β atitinkamu laiko momentu τ po injekcijos:

$$\beta_{t=\tau} = \frac{SI_{t=\tau}}{SI_{t=0}} \quad (26)$$

2.1.4.2 Aukštyneičių nanodalelių tyrimai

Pilkumo skalių sudarymas ir optimalių koncentracijų nustatymas

Tyrimai buvo atliekami naudojant T1W sukiniio-aido vaizdinimo seką (T1W TSE, Philips), kurios parametrai TR/TE – 500/15 ms, FOV - 210x100x49mm, pjūvio storis - 1,5mm, NSA – 8. Skenavimo plokštuma – koronalinė. AK ND, Magnevist® ir Gd druskos pilkumo skalių sudarymo metodika yra tokia pati, kaip ir SPION atveju, kuri aprašyta 2.1.3.1 skyrelyje. Tačiau MR signalo intensyvumų priklausomybės nuo koncentracijos buvo nustatomos pasinaudojus kitu metodu. Pirmiausia visų bandinių užregistruoti MR SI buvo sunormuojami į vandens generuojamą MR SI vertę. Tuomet buvo skaičiuojamas tiriamojo bandinio X ROI ir vandens ROI sunormuotų MR SI santykis β , kuris parodo, kiek kartų tiriamasis bandinys stiprina MR signalą lyginant su vandens registruojamu signalu:

$$\beta = \frac{SI_X}{SI_{H_2O}} \quad (27)$$

Toks metodas buvo pasirinktas dėl galimybės iškart matyti, kiek kartų bandiniai stiprina MR signalą lyginant su vandens generuojamu MR signalu. Taip pat visų bandinių (AK ND, Magnevist®, Gd druskos) koncentracijos tirpaluose buvo perskaičiuotos į gadolinio kiekį tirpale [Gd mg/ml]. Taip buvo padaryta todėl, kad gauti rezultatai būtų palyginami tarpusavyje ir su rezultatais, pateikiamais literatūroje.

Relaksometrijos tyrimai

Relaksuojamumų r_1 vertės buvo gautos pasinaudojant (15) formulę. Taigi norint apskaičiuoti tiriamųjų medžiagų r_1 , pirmiausia reikėjo gauti T1 reikšmes esant skirtingoms medžiagų koncentracijoms. Šiam tikslui pasiekti, bandiniai su skirtingomis medžiagų koncentracijomis buvo skenuojami pasirenkant T1 inversijos apgražos sukinių-aido MR vaizdinimo seką (T1W IR, *Philips*), kurios parametrai yra TR/TE – 10s/20ms, pjūvio storis 6mm, NSA – 4, keičiant TI laiką – nuo 25ms iki 5000ms. Kiekvieno bandinio, su tam tikra medžiagos koncentracija, T1 reikšmės buvo apskaičiuojamos apkrusmuojant gautą kiekvieno bandinio MR signalo intensyvumo priklausomybės nuo T1 laiko kreivę pagal (17) formulę. Tuomet brėžiamas T1 relaksacijos spartos ($1/T_1$) nuo medžiagos molinės koncentracijos priklausomybės grafikas. Kreivių polinkis atspindi išilginį relaksuojamumą r_1 .

Kadangi buvo norima gautus relaksuojamumus palyginti tarpusavyje ir su literatūroje pateikiamais, medžiagų koncentracijos buvo perskaičiuojamos į molines gadolinio koncentracijas tirpale pagal formulę:

$$C = \frac{m}{MV} \quad (28)$$

Kur m – Gd masė [g], M – Gd molinė masė [g/mol], V – tūris [l]. Naudotos medžiagų koncentracijos pateiktos **2 lentelėje**.

2 lentelė. Tiriamų kontrastinių medžiagų naudotos koncentracijos

<i>NaGdF4:Yb,Er@NaGdF4@ TWEEN80</i>	<i>Magnevist®</i>	<i>Gd druska</i>
[GD], mM	[GD], mM	[GD], mM
0,385	0,02	0,00227
0,77	0,05	0,00454
1,54	0,1	0,00908
3,08	0,2	0,0227
	0,5	0,0908
	0,666	0,227
	2,0	1,135
	5,0	2,27

Biologinio objekto vaizdinimas – *in vivo* tyrimai

Tiriant AK ND, Magnevist® ir Gd druską visi *in vivo* tyrimai buvo atliekami naudojant T1W sukinių-aido vaizdinimo seką (T1W TSE, Philips), kurios parametrai TR/TE – 500/15 ms, FOV - 210x100x49mm, pjūvio storis - 1,5mm, NSA – 8. Skenavimo plokštuma – koronalinė.

Siekiant tiksliau įvertinti ir palyginti bandinių generuojamų MR signalų stiprinimą, šiame *in vivo* tyrimų etape MR signalo intensyvumų skaičiavimui buvo naudota šiek tiek patobulinta metodika. Kaip ir superparamagnetinių nanodalelių atveju, buvo analizuojamas kiekvieno tyrimo kiekvienas vaizdinimo pjūvio vaizdas atskirai. T.y. kiekviename pjūvyje buvo skaičiuojamas dominančios vietos generuojamas MR signalo intensyvumas ir tuomet iš jų visų buvo išvedamas vidurkis ((24) formulė). Tačiau tuomet buvo skaičiuojamas ne dominančios vietos X ir foninio audinio Y SI santykis, o dominančios vietos X (raudonas apvadas, 31 pav.) ir kontrolinio vandens bandinio (mėlynas apskritimas, 31 pav.), kuris yra pritvirtintas šalia laboratorinio gyvūno, užregistruotų MR signalų intensyvumų vidurkių santykis

$$SI = \frac{SI_X}{SI_{H_2O}} \quad (29)$$

Tada visi šie santykiai buvo sunormuojami į kontrolės (kai jokios kontrastinės medžiagos nėra įvestos į organizmą) MR SI santykį ir tik tada buvo skaičiuojami MR signalo stiprinimo koeficientai β atitinkamu laiko momentu τ po injekcijos ((26) formulė). Naudojant šią metodiką, buvo kiek galima maksimaliai pašalintos paklaidos dėl gyvo organizmo vaizdų nevienodumo tarp skirtingu metu atliktų vaizdinimo tyrimų.

Kaip ir SPION atveju, pirmiausia buvo norima įvertinti AK ND poveikį MR signalui *in vivo*. Tuo tikslu buvo injektuotos NaGdF₄:Yb,Er@NaGdF₄@TWEEN80 nanodalelės žiurkėms į kairės užpakalinės kojos šlaunies raumenį. Injekcijos dozė - 1,08 Gd mg/kg. MRV buvo atliekamas prieš suleidimą, praėjus 15min ir 24val po suleidimo ir tuomet skaičiuojama kiek kartų skiriasi MR SI injekcijos vietoje atitinkamais laiko momentais.

Vėliau buvo atliekami palyginamieji AK ND, Magnevist® ir Gd druskos farmokokinetikos po injekcijos į žiurkės uodegos veną tyrimai. Pirmiausia yra atliekamas



31 pav. Dominančios vietos (raudona) ir kontrolinio bandinio (mėlyna) skaičiuojamo signalo intensyvumo santykio pavyzdys

kontrolinis žiurkės MR skenavimas. Tuomet buvo atliekama injekcija į uodegos veną. Suleidimo injekcijos dozės: Magnevist® – 12,8 Gd mg/kg (gamintojų rekomenduojama standartinė dozė žmogui), Gd druska – 4,86 Gd mg/kg, NaGdF₄:Yb,Er@NaGdF₄@TWEEN80 - 1,08 Gd mg/kg. MR vaizdinimas buvo atliekamas po 15, 30, 60, 90 min., 24, 48, 72 ir 96 valandų. Tuomet buvo analizuojami kepenų ir inkstų vaizdai: skaičiuojami MR signalo stiprinimo koeficientai β kepenyse ir inkstuose atitinkamais laiko momentais po injekcijos. Šie organai pasirinkti dėl nereikalingų medžiagų šalinimo iš kraujotakos mechanizmo bei jau žinomo Magnevist® šalinimo iš organizmo modelio, kuris aprašytas 1.1.4 skyriuje, todėl didžiausia tikimybė injekuotas medžiagas užregistruoti būtent šiuose organuose.

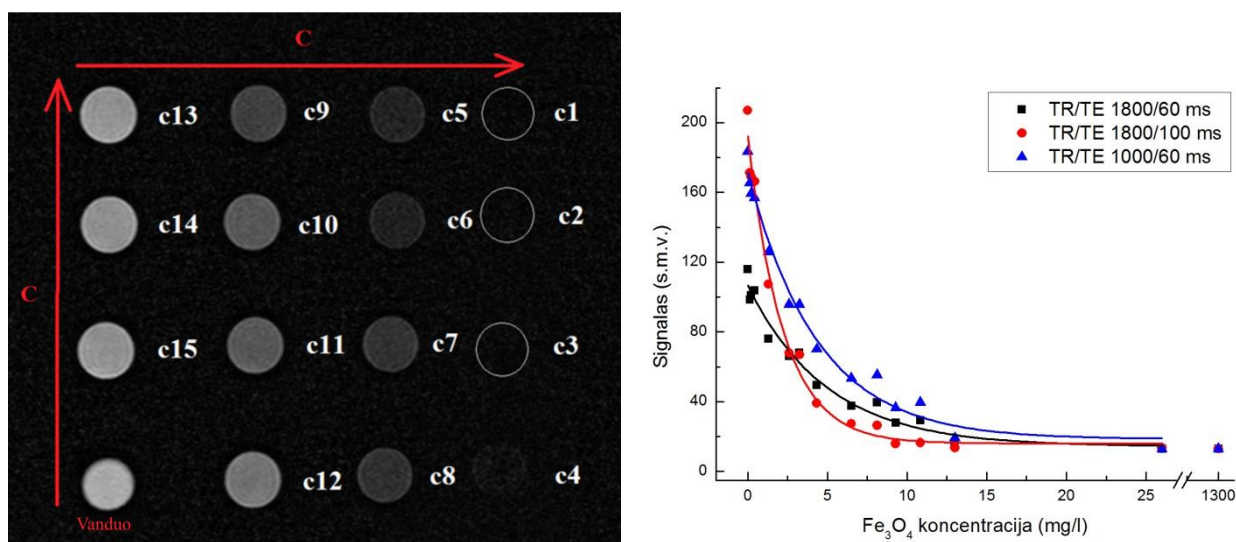
Visuose tyrimuose registruojamo MR signalo intensyvumo santykinės vertės matuoti ir vaizdams analizuoti buvo naudojama *Philips DICOM Viewer R3.0-SP3* programa.

2.2 Rezultatai

2.2.1 Superparamagnetinių nanodalelių tyrimų rezultatai

Pilkumo skalės sudarymas ir optimaliausios Fe₃O₄ koncentracijos nustatymas

Nuskanavus skirtingos Fe₃O₄ koncentracijos tirpalus buvo gauti T2W MR koronaliųjų pjūvių vaizdai – pilkumo skalė (32 pav.). Signalo priklausomybė nuo Fe₃O₄ koncentracijos esant skirtingiems T2W sekos parametrams pavaizduota 32 pav. dešinėje.



32 pav. Kairėje – pilkumo skalė (c1 – didžiausia Fe₃O₄ koncentracija, c15 – mažiausia. Dešinėje – signalo priklausomybė nuo Fe₃O₄ koncentracijos esant skirtingiems MR vaizdinimo sekos parametrams

Kaip matome 32 pav., yra aiškiai matoma signalo intensyvumo priklausomybė nuo Fe₃O₄ koncentracijos (tiksliai koncentracijas žiūrėti 1 lentelėje). Yra stebimas aiškus MR signalo mažėjimas didėjant geležies oksido koncentracijai lyginant su vandens registruojamu signalu.

Taigi Fe_3O_4 suteikia neigiamą kontrastą. Matome, kad esant labai mažoms tirpalų koncentracijoms c13 – c15 praktiškai yra registruojamas vandens signalas. Esant didelėms tirpalų koncentracijoms c1 – c3 yra registruojamas toks pat MR signalas kaip ir fono – oro. Taigi c4 koncentracija (13mg/l) yra riba, kai pradeda mažėti kontrastingumas. Labai panašūs rezultatai yra gauti naudojant skirtingus T2W TSE vaizdinimo sekos parametrus, kas leidžia daryti išvadą, kad būtent ši koncentracija yra potencialiausia tolimesniems tyrimams, nes didinant Fe_3O_4 koncentraciją nebepasiekiamas didesnis efektas.

Biologinio objekto ex vivo MR vaizdinimo rezultatai

Siekiant įvertinti, kaip Fe_3O_4 kontrastas matysis biologiniame objekte, buvo atliekamas vištos krūtinėlės, į kurią buvo įvestos nanodalelės, MR vaizdinimas. T2W MR vaizdai pateikti **33 pav.** Kairėje yra pateiktas kontrolinis vaizdas, o dešinėje – MR vaizdai, kuriame matome įterptą į biologinį objektą kiuvetę su 0,2 ml 13mg/l koncentracijos tirpalu (raudonas apskritimas) bei suleistas 0,1 ml 13 mg/l koncentracijos nanodaleles (raudona elipsė).



33 pav. Kairėje – kontrolė, viduryje – injekcijos vietos (apskritimas – kiuvetė su Fe_3O_4 , elipsė – suleistų Fe_3O_4 vieta), dešinėje – injekcijos vietų kito pjūvio vaizdas.

Vaizduose aiškiai matomas kontrastas, kai į objektą yra įterpta kiuvetė su Fe_3O_4 tirpalu. Kontrastas matomas ir suleidimo vietoje, tačiau jis pasiskirstęs labai netolygiai. Taip yra todėl, kad suleidus nanodaleles ir ištraukus adatą, skystis per įdūrimo vietą ėmė veržtis atgal. Tačiau atliekant *in vivo* tyrimus toks efektas nebus stebimas dėl gyvo organizmo fiziologijos. O dešiniame vaizde per vidurį matoma pailga juoda dėmė yra oro tarpas (žymi raudona rodyklė).

Taigi iš šio *ex vivo* tyrimo galime teigti, kad parinkta Fe_3O_4 tirpalo koncentracija yra tinkama tolimesniems tyrimams *in vivo*.

Biologinio objekto in vivo MR vaizdinimo rezultatai

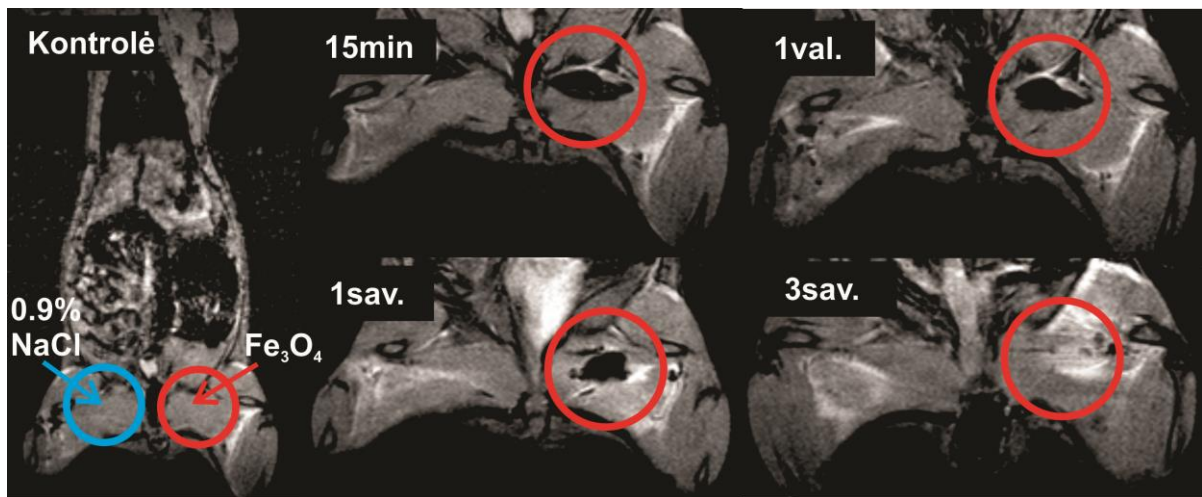
MR vaizdinimas *in vivo* buvo atliekamas siekiant įvertinti injekcijos vietoje registruojamo MR signalo santykinio intensyvumo kitimo laikinę priklausomybę esant skirtingoms Fe_3O_4 nanodalelių injekcijos dozėms.

Pirmiausia buvo atliekamas MR vaizdinimas suleidžiant žiurkei $520 \text{ Fe}_3\text{O}_4 \mu\text{g}/\text{kg}$ į kairės užpakalinės kojos šlaunies raumenį. Kontrolės vaizdai ir vaizdai praėjus atitinkamam laikui po injekcijos yra pavaizduoti **34 pav.** Yra stebimas aiškus neigiamas kontrastas apibrėžtame ROI (raudoni apskritimai) visuose vaizduose lyginant su kontroliniu vaizdu. Tačiau matyti, kad laikui bėgant kontrastas mažėja, t.y. magnetinės nanodalelės yra šalinamos iš injekcijos vietos.

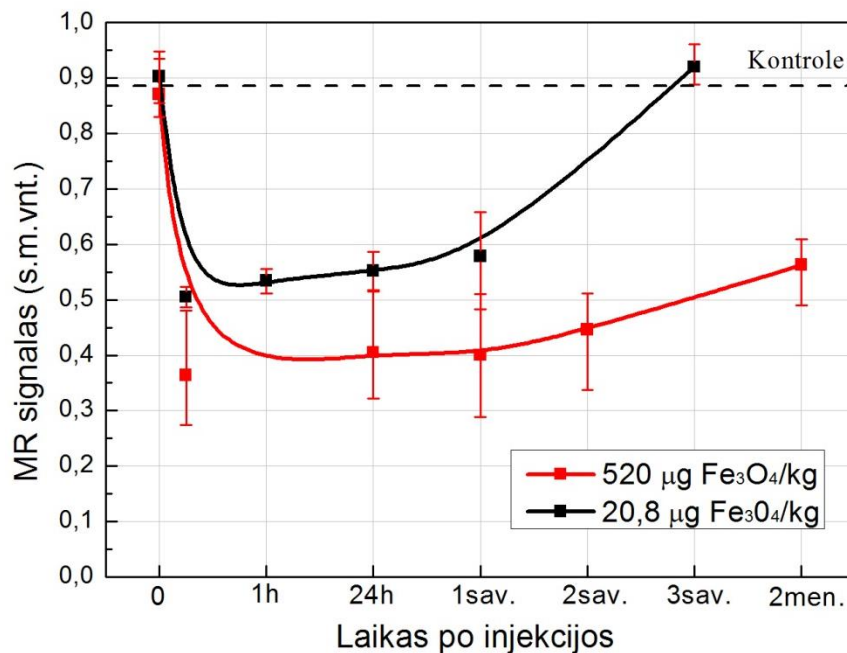


34 pav. Žiurkės MR kontrolinis vaizdas ir vaizdai po $520 \text{ Fe}_3\text{O}_4 \mu\text{g}/\text{kg}$ injekcijos, praėjus 15 min, 1,2 sav. ir 2 mėn. Raudoni apskritimai žymi kontrasto vietą.

Tuomet buvo atliekamas MR vaizdinimas esant $20,8 \mu\text{g}/\text{kg}$ Fe_3O_4 nanodalelių injekcijai. Kontrolės vaizdai ir vaizdai po injekcijos praėjus atitinkamam laikui yra pavaizduoti **35 pav.** Čia taip pat yra stebimas aiškus neigiamas kontrastas injekcijos vietoje lyginant su kontroliniu vaizdu. Tačiau yra matoma, kad jau po 3 savaičių kontrasto injekcijos vietoje nebėra – Fe_3O_4 nanodalelės yra visiškai pašalintos iš injekcijos vietos. **36 pav.** vaizduoja injekcijos vietos (ROI) signalo santykinio intensyvumo kitimo laikinę priklausomybę esant skirtingoms Fe_3O_4 nanodalelių koncentracijos dozėms. Matoma aiški lėtai didėjanti intensyvumo priklausomybė nuo laiko.



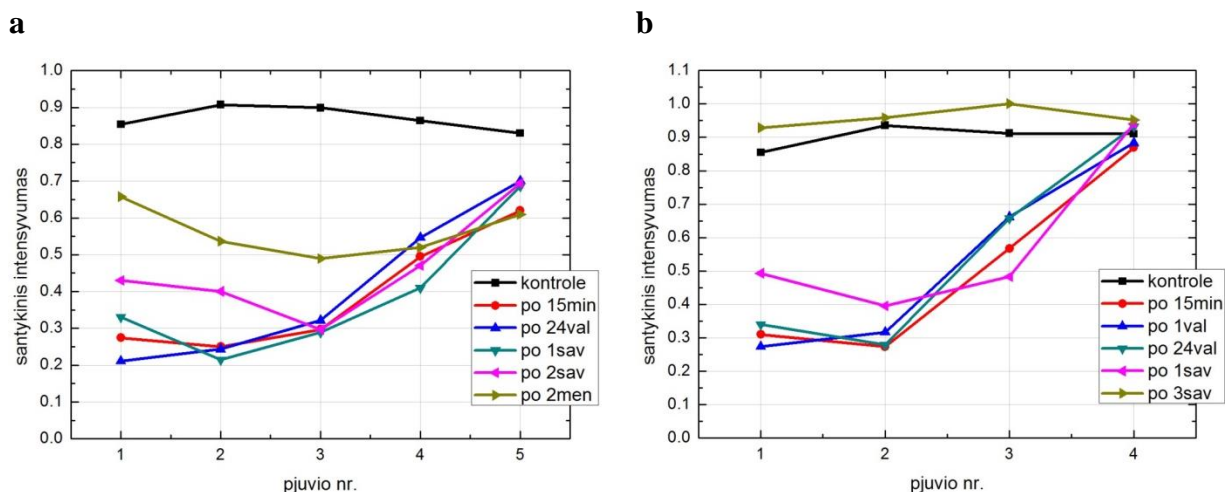
35 pav. Žiurkės MR kontrolinis vaizdas ir vaizdai po 20,8 Fe_3O_4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ injekcijos, praėjus 15 min, 1val, 2 ir 3 sav. Raudoni apskritimai žymi kontrasto vietą.



36 pav. Injekcijos vietos kontrasto signalo santykinio intensyvumo priklausomybė nuo laiko esant skirtingoms injekcijos koncentracijoms

Kadangi kiekvieno skenavimo metu yra gaunami keliolikos tiriamojo objekto pjūvių vaizdai, buvo analizuojamas kiekvienas pjūvio vaizdas ir nustatomas signalo santykinis intensyvumas injekcijos vietoje. Signalo intensyvumo priklausomybė nuo atskirų vieno skenavimo pjūvių yra pateikta 37 pav. Kiekviena spalvota kreivė atitinka atitinkamą skenavimo laiką po injekcijos. Juoda kreivė žymi kontrolę – intensyvumas yra aukštas ir visuose pjūviuose beveik nekinta. Tačiau matome, kad kuo mažesnis laiko tarpas yra praėjęs po injekcijos, tuo mažesnis MR signalo intensyvumas matomas pjūviuose – registruojamas didesnis neigiamas kontrastas. Iš 37a pav., kuriame yra pateiktas grafikas esant 520 Fe_3O_4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ injekcijos dozei,

matome, kad po 2 mėn. signalo intensyvumas (samaninė spalva) visuose pjūviuose yra išaugęs, tačiau dar nėra grįžęs į savo pradinę padėtį. Būtent tai įrodo, kad Fe_3O_4 nanodalelės nėra visiškai pašalintos iš injekcijos vietos. Panaši situacija ir su 20,8 $Fe_3O_4\mu g/kg$ doze (**37b pav.**), tik šiuo atveju signalo sumažėjimas yra matomas mažesniame pjūvių skaičiuje, ir, kaip jau minėta anksčiau, po 3 savaitių (samaninė spalva) nanodalelės yra visiškai pašalintos iš injekcijos vietos.



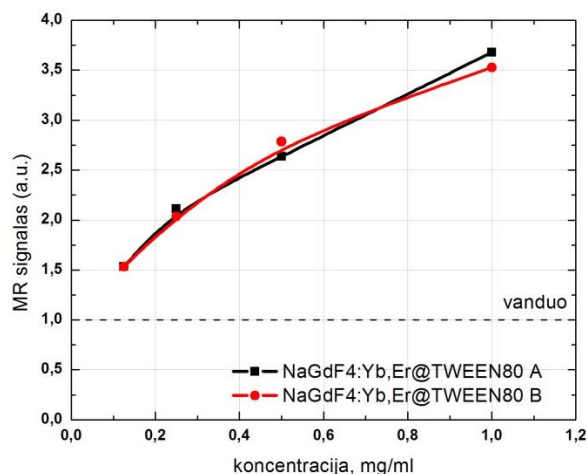
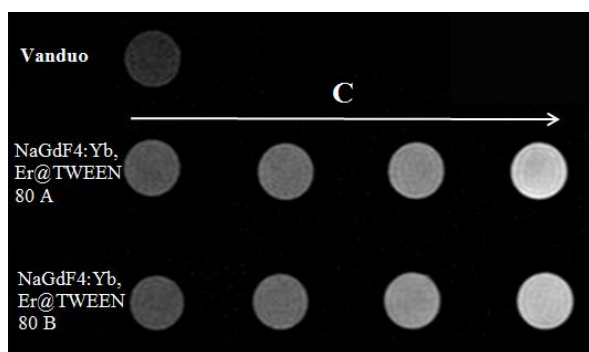
37 pav. Injekcijos vietos MR signalo intensyvumo priklausomybė nuo atskirų vieno skenavimo pjūvių. **a** – esant 520 $Fe_3O_4\mu g/kg$, o **b** – 20,8 $Fe_3O_4\mu g/kg$ injekcijos dozei.

2.2.2 Aukštyneičių nanodalelių tyrimų rezultatai

2.2.2.1 *In vitro* MRV tyrimų rezultatai

NaGdF₄:Yb,Er@TWEEN80 nanodalelių kokybės įvertinimas

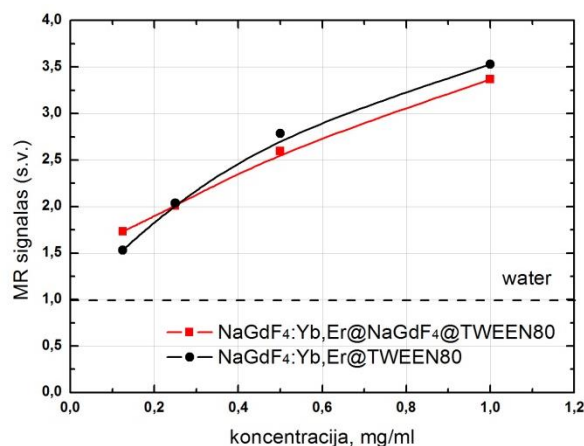
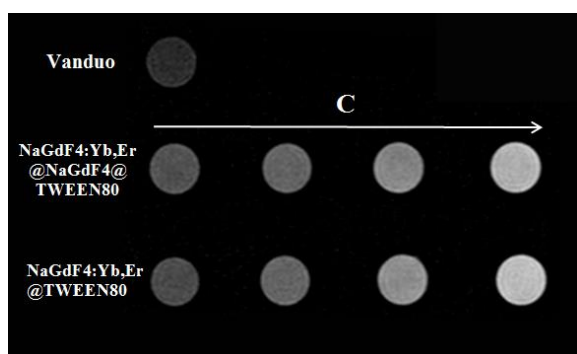
Siekiant įvertinti naujai susintetintų $NaGdF_4:Yb,Er@TWEEN80$ nanodalelių sintezės kokybiškumą buvo atliekami tyrimai su $NaGdF_4:Yb,Er@TWEEN80$, kurios buvo pagamintos skirtingu metu (A ir B). Pirmiausia buvo skenuojami skirtingų koncentracijų tiriamų medžiagų tirpalai ir taip gaunami MR pjūvių vaizdai – pilkumo skalė. MR signalo intensyvumo priklausomybė nuo bandinio koncentracijos ir intensyvumo pilkumo skalė yra pateiktos **38 pav.** Matome, kad abejais atvejais priklausomybės sutampa - mažinant koncentraciją signalas silpnėja. Taigi aukštyneičės nanodalelės suteikia teigiamą kontrastą. Esant 1mg/ml koncentracijai yra pasiekiamas A atveju - 3,69, o B – 3,54 kartų signalo stiprinimą lyginant su vandens registruojamu signalu. Taigi galime teigti, kad $NaGdF_4:Yb,Er@TWEEN80$ nanodalelės yra kokybiškos, nes yra matomas aiškus atsikartojamumas.



38 pav. $\text{NaGdF}_4\text{:Yb,Er@TWEEN80}$ skirtingų sintezių: kairėje - pilkumo skalė, dešinėje – MR signalo priklausomybė nuo $\text{NaGdF}_4\text{:Yb,Er@TWEEN80}$ koncentracijos

$\text{NaGdF}_4\text{:Yb,Er@TWEEN80}$ ir $\text{NaGdF}_4\text{:Yb,Er@NaGdF}_4\text{@TWEEN80}$ palyginimas

Siekiant įvertinti dangalo NaGdF_4 įtaką magnetinio rezonanso signalui, buvo nustatytos dengtų ir nedengtų $\text{NaGdF}_4\text{:Yb,Er}$ nanodalelių MR signalo priklausomybės nuo koncentracijos, nustatyti MR signalo stiprinimai ir sudarytos intensyvumo pilkumo skalės (**39 pav.**).

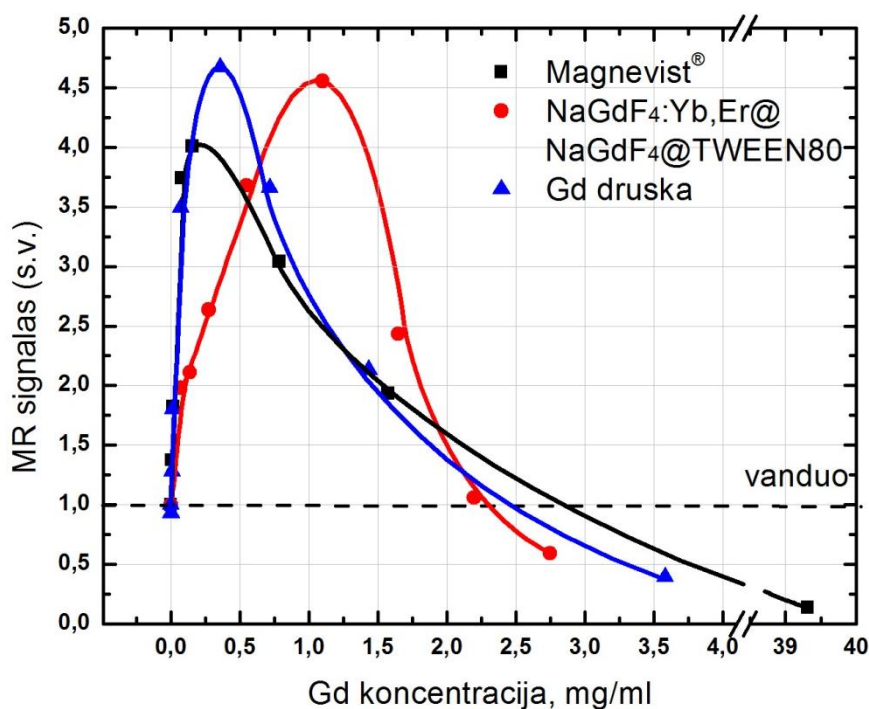
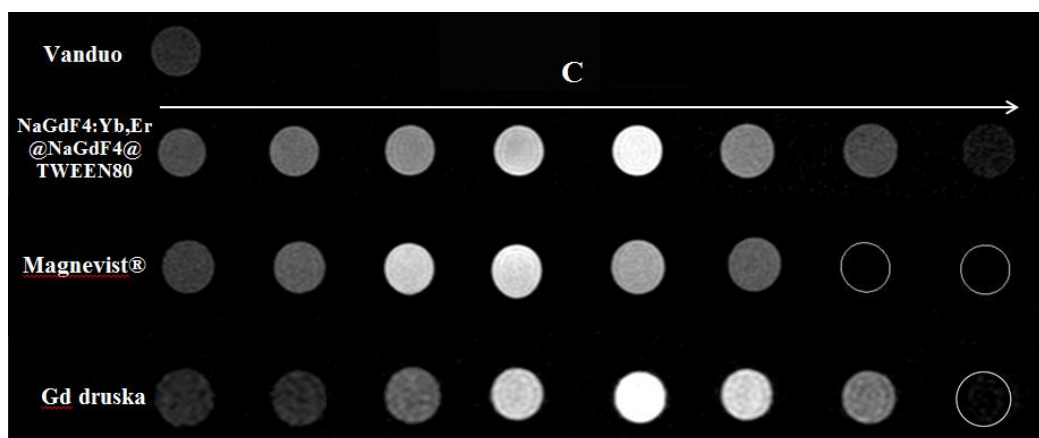


39 pav. $\text{NaGdF}_4\text{:Yb,Er@TWEEN80}$ ir $\text{NaGdF}_4\text{:Yb,Er@NaGdF}_4\text{@TWEEN80}$: kairėje - pilkumo skalės, dešinėje – MR signalo priklausomybės nuo medžiagos koncentracijos

Iš **39 pav.** matome, kad reikšmingų skirtumų tarp skirtingų aukštyneikių nanodalelių tipų nėra. Nedengtų nanodalelių MR signalo stiprinimas esant 1mg/ml koncentracijai siekia 3,54 kartų, o dengtų – 3,38. Todėl galime daryti išvadą, kad papildomas dangalas NaGdF_4 nekeičia MR signalo stiprinimo. Tai yra labai geras rezultatas, nes dengtos auštynekitės nanodalelės pasižymimai žymiai geresnėmis optinėmis savybėmis (**23 pav.**). Todėl toliau darbe buvo naudotos tik dengtos AK ND - $\text{NaGdF}_4\text{:Yb,Er@NaGdF}_4\text{@TWEEN80}$.

AK ND, Gd druskos ir Magnevist® MR signalo stiprinimo palyginimas

Atlikus skirtingų koncentracijų tiriamų medžiagų tirpalų MRV, buvo gauti pjūvių vaizdai (40 pav. viršuje). Tiriamų medžiagų MR signalo priklausomybė nuo tiriamosiose medžiagose esančio gadolinio koncentracijos yra pavaizduotas 40 pav. apačioje. Yra stebimas aiškus MR signalo didėjimas iki tam tikros vertės β_{\max} , pasiekus ją – signalas pradeda silpti, kerta kontrolinę vandens vertę ir toliau silpsta. Toks signalo silpimas sutampa su 1.1.3. skyriuje aprašytu teoriniu modeliu (Bjørnerud, 2008). Šis reiškinys yra matomas visais tiriamų medžiagų atvejais, tačiau β_{\max} pasiekia jau nevienodai, o ir pačios β_{\max} vertės priklauso nuo pačios medžiagos. Magnevist® esant mažai Gd koncentracijai (0,16 mg/ml) pasiekia maksimalų signalo stiprinimą ($\beta_{\max} = 4$ kartai). Gd druska maksimalią signalo vertę $\beta_{\max} = 4,68$ pasiekia esant 0,36 Gd mg/ml koncentracijai. Tuo tarpu tiriamos auštynkeitės nanodalelės pasiekia 4,55 kartų stiprinimą, tačiau jis pasiekiamas jau su kur kas didesniu Gd kiekiu – 1,09 Gd mg/ml.

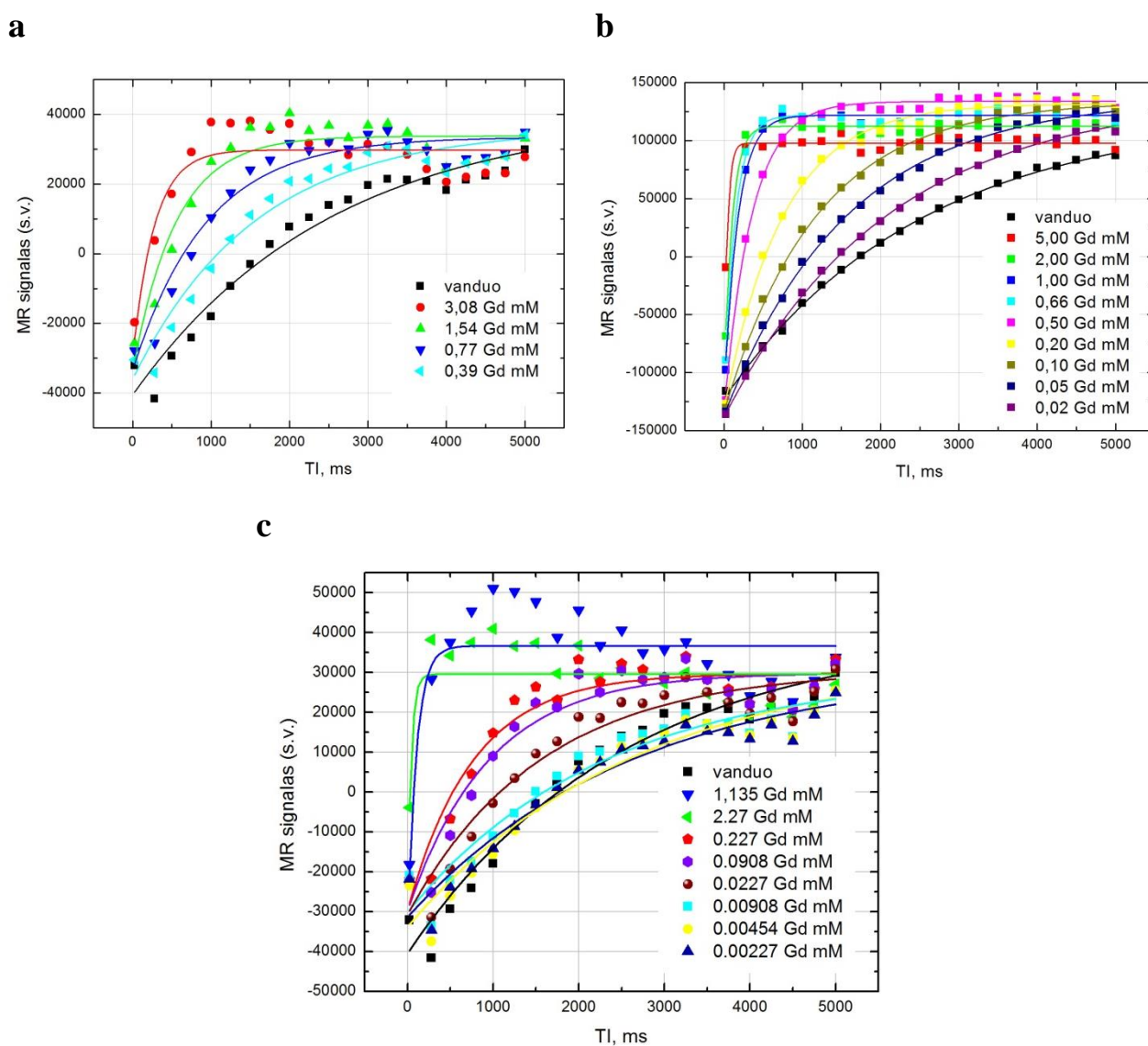


40 pav. Dengtų aukštynkeitėjų nanodalelių, Gd druskos ir Magnevist® viršuje - pilkumo skalė, apačioje – MR signalo priklausomybės nuo medžiagos koncentracijos.

Taigi didžiausią MR signalo stiprinimą suteikia Gd druska, o *Magnevist*[®] savo maksimalią vertę pasiekia su mažiausia Gd koncentracija. Tačiau ir NaGdF₄:Yb,Er@NaGdF₄@TWEEN80 nanodalelės neatsilieka nuo jų. Gauti rezultatai sutampa ir su literatūroje pateiktais (Carniato ir kt., 2015; Ren ir kt., 2012). Iš gautų rezultatų matome, kad šios nanodalelės turi potencialą MR diagnostikos vaizdinime.

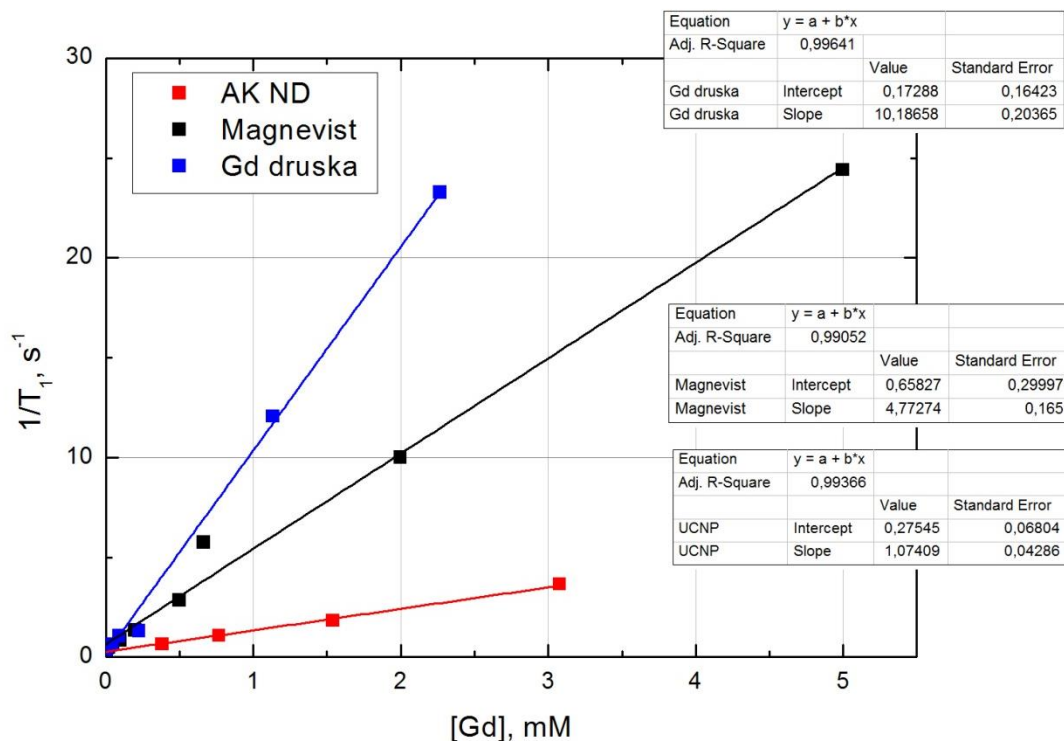
AK ND, Gd druskos ir Magnevist[®] relaksuojamumą apskaičiavimas ir palyginimas

Atlikus AK ND, *Magnevist*[®] ir Gd druskos skirtingų koncentracijų bandinių MRV su pasirinkta T1W IR seka, buvo gautos MR SI priklausomybių nuo TI laiko esant skirtingoms medžiagų koncentracijoms kreivės (*41a-c pav.*).



41 pav. a) NaGdF₄:Yb,Er@NaGdF₄@TWEEN80 **b)** *Magnevist*[®] ir **c)** Gd druskos tirpalų MR SI priklausomybė nuo TI esant įvairioms Gd molinėms koncentracijoms tirpale. Ištinės linijos yra aproksimuotos kreivės pagal teorinę (17) formulę.

Tada jos buvo apskisimuojamos (17) formule ir gautos T1 vertės (**3 lentelė**), iš kurių apskaičiuotos relaksacijos spartos $1/T_1$. Tuomet buvo brėžiamos relaksacijos spartų priklausomybių nuo Gd koncentracijos kreivės (**42 pav.**), iš kurių polinkių buvo apskaičiuotos AK ND, *Magnevist*[®] ir Gd druskos r1 reikšmės. Jos pateiktos **4 lentelėje**.



42 pav. Relaksacijos spartų priklausomybė nuo Gd koncentracijos AK ND, *Magnevist*[®] ir Gd druskos. Ištinės linijos žymi tiesinę aproksimaciją.

3 lentelė. Apskaičiuotos T1 ir $1/T_1$ vertės esant įvairioms AK ND, *Magnevist*[®] ir Gd druskos Gd koncentracijoms tirpale.

<i>NaGdF4:Yb,Er@NaGdF4@TWEEN80</i>			<i>Magnevist</i> [®]			<i>Gd druska</i>		
[GD], mM	T1,ms	$1/T_1, s^{-1}$	[GD], mM	T1,ms	$1/T_1, s^{-1}$	[GD], mM	T1,ms	$1/T_1, s^{-1}$
0	2540	0,3937	0	2500	0,4	0	2540	0,3937
0,385	1656	0,63898	0,02	2099	0,47642	0,00227	2637	0,37922
0,77	932	1,07296	0,05	1579	0,63331	0,00454	2652	0,37707
1,54	548	1,82482	0,1	1181	0,84674	0,00908	2297	0,43535
3,08	274	3,64964	0,2	752	1,32979	0,0227	1566	0,63857
			0,5	352	2,84091	0,0908	945	1,0582
			0,666	141	5,74713	0,227	764	1,3089
			2	100	10	1,135	83	12,04819
			5	41	24,39024	2,27	43	23,25581

4 lentelė. Apskaičiuotos AK ND, Magnevist[®] ir Gd druskos relaksuojamumo r1 vertės.

NaGdF₄:Yb,Er@NaGdF₄@ TWEEN80	1,07 mM ⁻¹ s ⁻¹
Magnevist[®]	4,77 mM ⁻¹ s ⁻¹
Gd druska	10,18 mM ⁻¹ s ⁻¹

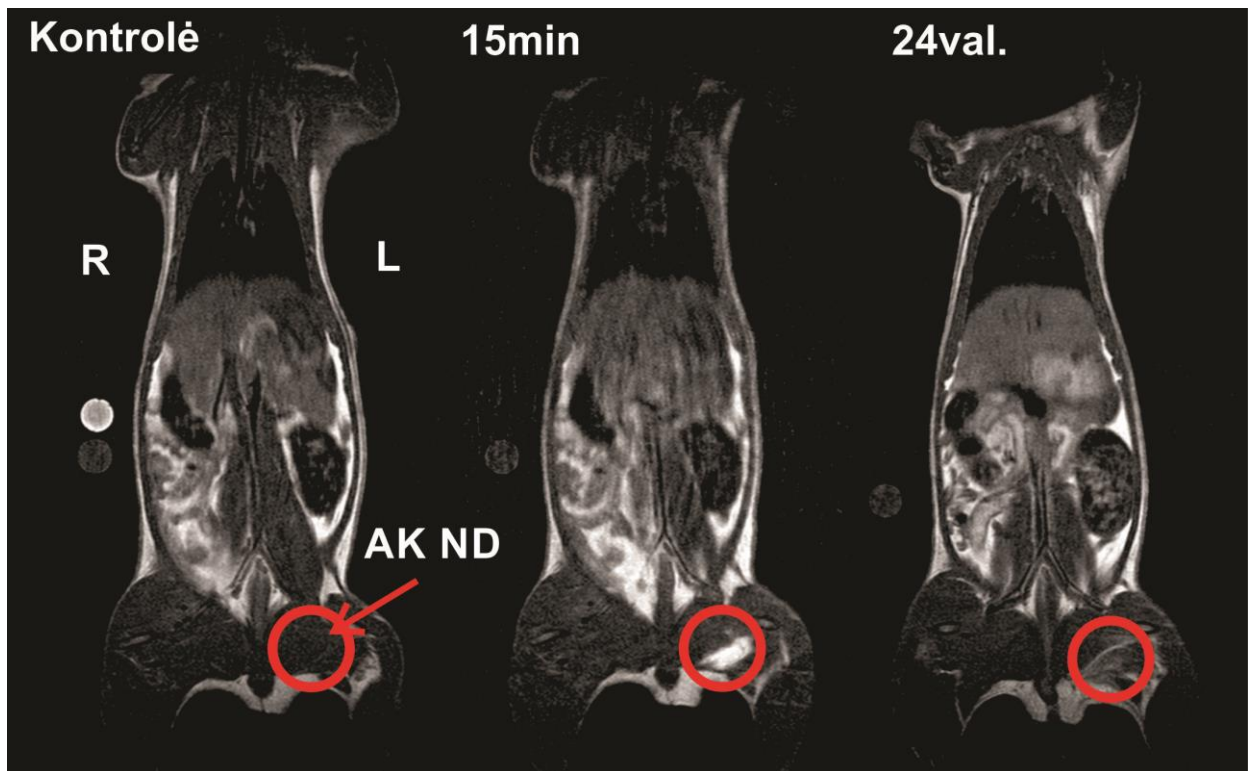
Iš 3 lentelės matome, kad kaip ir teorija aprašo, didėjant Gd koncentracijai trumpėja relaksacijos laikas T1. Kitaip tariant kuo didesnė paramagnetiko koncentracija tirpale, tuo didesnė įtaka yra daroma vandenilio protonų relaksacijai. Tačiau matome, kad Gd esantis skirtingose medžiagos skirtingai veikia protonų relaksaciją. Tai labai gerai matyti iš apskaičiuotų r1 verčių. Didžiausia vertė yra gauta esant Gd druskai - 10,18 mM⁻¹s⁻¹, mažiausia – mūsų tiriamų AK ND - 1,07 mM⁻¹s⁻¹. Tai reiškia, kad vienas Gd atomas, esantis Gd druskoje, labiau spartina T1 relaksaciją, nei Gd atomai, esantys Magnevist[®] ar AK nanodalelėse. Magnevist[®] gauta r1 vertė sutampa su literatūroje pateiktomis vertėmis (Liu ir kt., 2013a; Wang ir kt., 2013), kas leidžia daryti išvadą, kad pasirinktas metodas yra tinkamas.

2.2.2.2 *In vivo* MRV tyrimų rezultatai

AK ND MRV po injekcijos į žiurkės kojos raumenį

Siekiant pamatyti, kaip tiriamų AK ND suteikiamas kontrastas atrodys gyvame organizme, buvo atliekamas MR vaizdinimo *in vivo* tyrimas suleidžiant žiurkei NaGdF₄:Yb,Er@NaGdF₄@ TWEEN80 nanodaleles į kairės užpakalinės kojos šlaunies raumenį. Kontrolės vaizdai ir vaizdai praėjus atitinkamam laikui po injekcijos yra pavaizduoti **43 pav.** Yra stebimas aiškus teigiamas kontrastas apibrėžtoje injekcijos vietoje (raudoni apskritimai) iškart po injekcijos lyginant su kontroliniu vaizdu. Tačiau matyti, kad praėjus 24val po injekcijos, praktiškai kontrasto stiprinimo injekcijos vietoje nebėra, o tai reiškia, kad tiriamos nanodalelės labai greitai yra šalinamos iš injekcijos vietos. Tai patvirtina ir išmatuoti MR signalo stiprinimo koeficientai β injekcijos vietoje. Gauta, kad injekcijos vietoje β - 2,4 karto didesnis nei injekcijos vietoje prieš injekciją. Po 24 val., šis santykis yra jau tik 1,4.

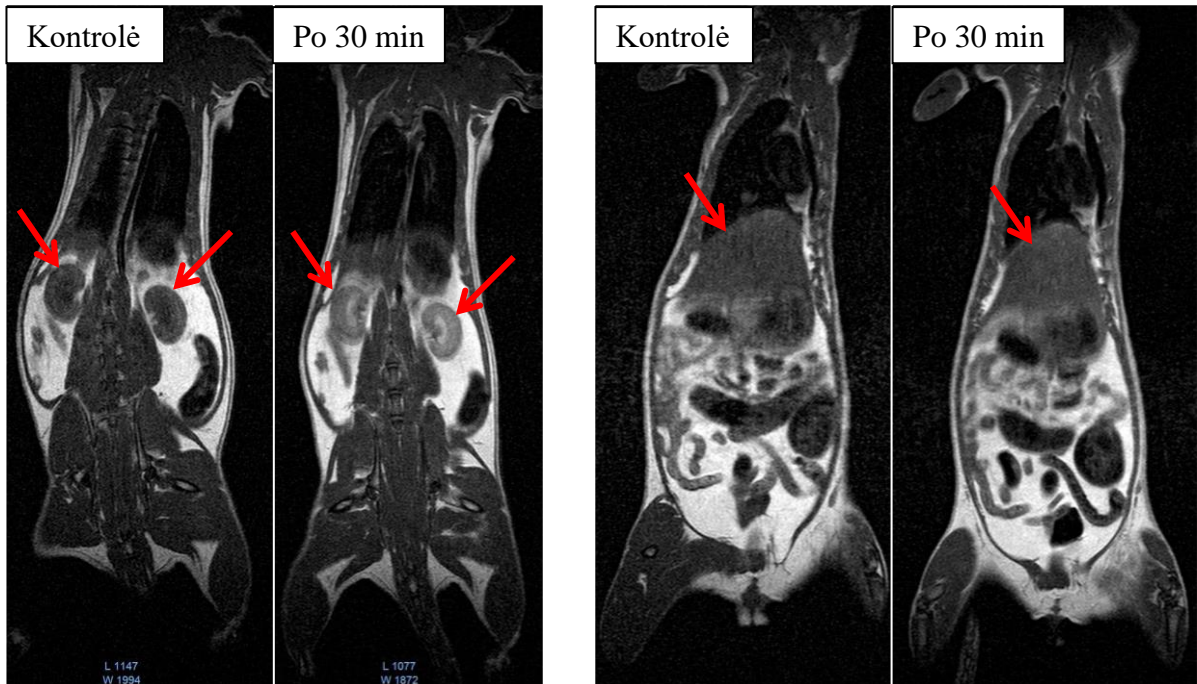
Taigi aiškus teigiamas kontrastas matomas suleidimo vietojo rodo, kad tiriamos AK ND yra tinkamos tolimesniems *in vivo* tyrimams.



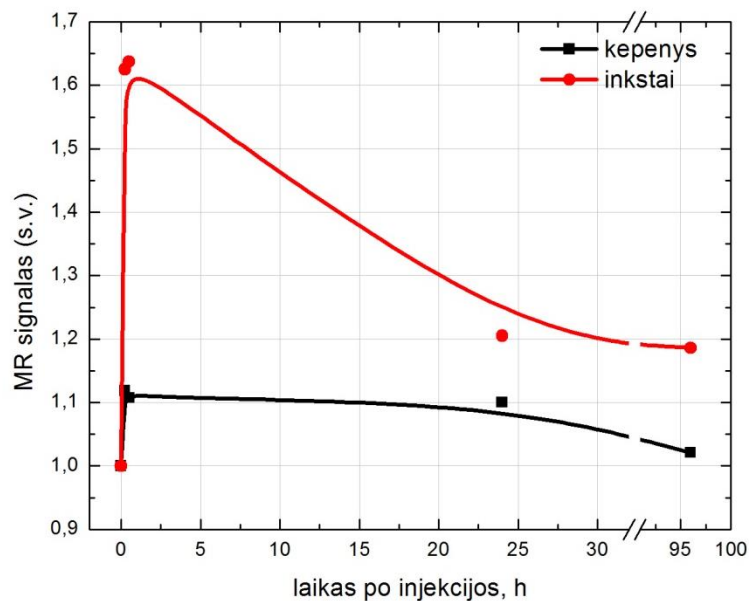
43 pav. Žiurkės MR kontrolinis vaizdas ir vaizdai po $\text{NaGdF}_4\text{:Yb,Er@NaGdF}_4\text{@TWEEN80}$ injekcijos, praėjus 15 min ir 24 val. Raudoni apskritimai žymi injekcijos vietą.

AK ND, Gd druskos ir Magnevist[®] farmakokinetikos po injekcijos į veną palyginimo tyrimas

Pirmiausia buvo atliekami vaizdinimo tyrimai suleidžiant į žiurkės uodegos veną 0,2 ml *Magnevist[®]* kontrastinio preparato, kas atitinka 12,8 Gd mg/kg dozę. Vaizdinimo rezultatai yra pateikti **44 pav.** Yra matomas aiškus teigiamas kontrastas inkstuose po 30 min po injekcijos lyginant su kontroliniu vaizdu. Tačiau MR vaizduose kepenyse aiškaus matomo kontrasto nėra. Tikslesni duomenys yra pateikti **45 pav.** Matome staigų MR signalo kilimą inkstuose iškart po injekcijos į veną. Užregistruotas 1,64 karto stiprinimas. Yra stebimas ir pakankamai greitas pašalinimas iš inkstų. Jau po 24 valandų po injekcijos inkstuose tiriamos medžiagos sumažėjo beveik 3 kartus. Bet tai, jog po 96 val. dar yra registruojamas padidintas signalas, rodo, kad iš inkstų dar nėra visiškai pašalintos dalelės. Tuo tarpu kepenyse MR signalas padidėja ne taip smarkiai kaip inkstų atveju iškart po injekcijos – tik 1,1 karto, tačiau toks pokytis yra per mažas, kad galėtų būti stebimas plika akimi. Kaip ir inkstuose, taip ir kepenyse, vėliau matomas signalo mažėjimas link kontrolinės ribos, bet po 96val, vis dar nesugrįžta į pradinę padėtį.



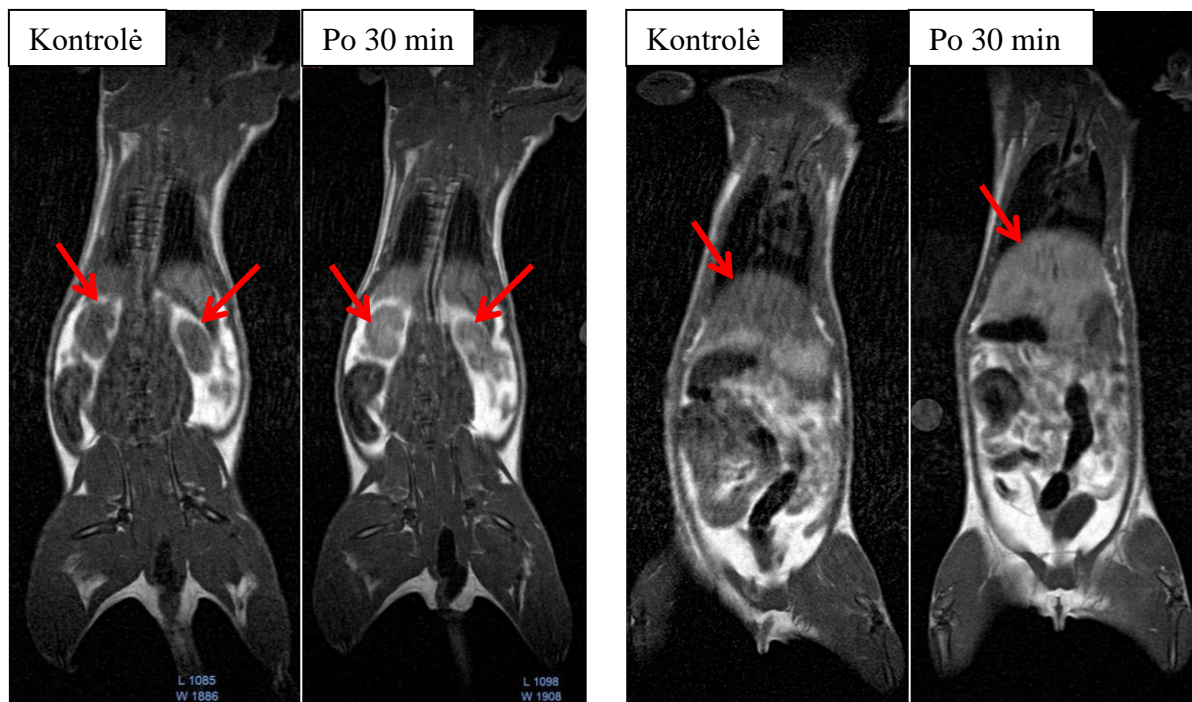
44 pav. Žiurkės MR kontroliniai ir praėjus 30 min po Magnevist® suleidimo į uodegos veną vaizdai. Kairėje stebimi inkstai, dešinėje – kepenys (žymi rodyklės).



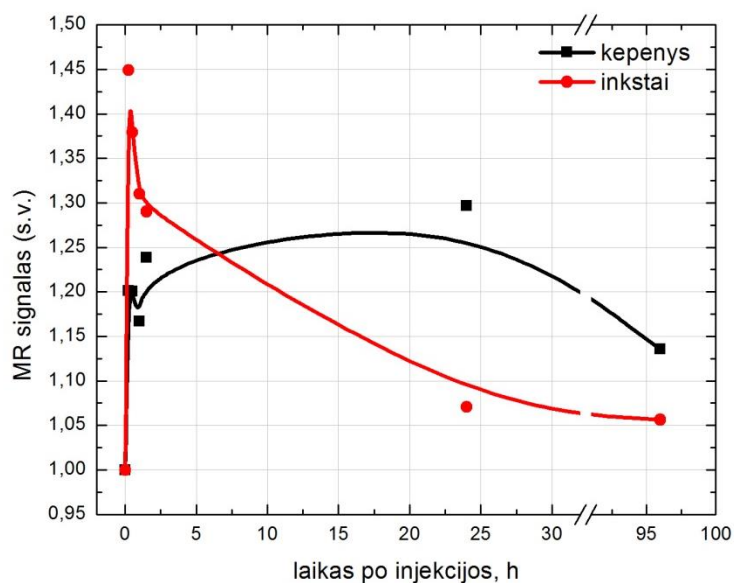
45 pav. MR signalo inkstuose ir kepenyse santykinio intensyvumo priklausomybė nuo laiko po Magnevist® injekcijos į uodegos veną.

Šiek tiek kitokie rezultatai yra gauti Gd druskos suleidimo į veną atveju. Rezultatai yra pateikti **46 pav.** Kaip ir *Magnevist*® atveju yra stebimas aiškus teigiamas kontrastas inkstuose po 1val. po injekcijos lyginant su kontroliniu vaizdu. Tačiau, priešingai nei inkstų atveju, MR vaizduose kepenys jau šiek tiek kontrastuoja, t.y. matoma plika akimi. Tikslesni duomenys yra pateikti **47 pav.** Vėlgi matome staigų MR signalo kilimą inkstuose iškart po injekcijos į veną. Užregistruotas 1,45 karto stiprinimas. Yra stebimas ir pasišalinimas iš inkstų. Po 24 valandų po injekcijos inkstuose beveik neregistruojamas padidintas signalas (1,07 kart.). Tuo tarpu

kepenyse matome staigų signalo šuolį, tačiau, priešingai nei *Magnevist*[®] atveju, nėra staigaus šalinimo ir netgi atvirkščiai – matome kaupimąsi kepenyse – po 24val signalas dar labiau išaugęs (1,3 karto) lyginant su signalais (~1,24 karto), registruotais iškart po injekcijos (1val. tarpe).



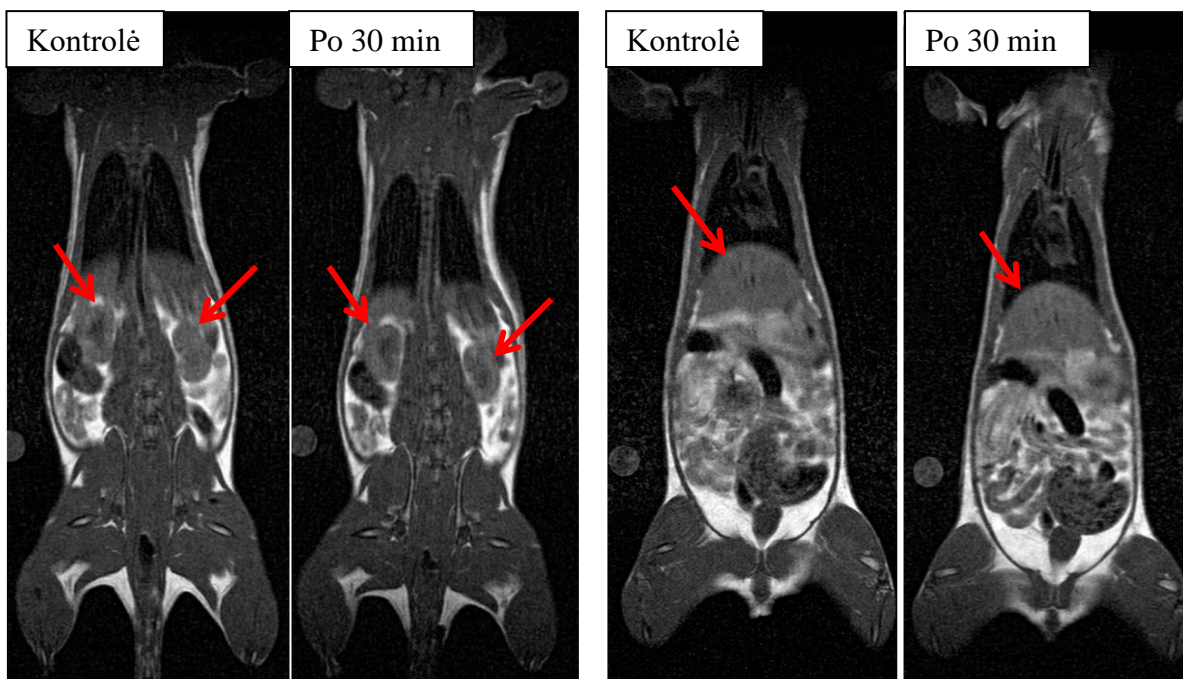
46 pav. Žiurkės MR kontroliniai ir praėjus 30 min po Gd druskos suleidimo į uodegos veną vaizdai. Kairėje stebimi inkstai, dešinėje – kepenys.



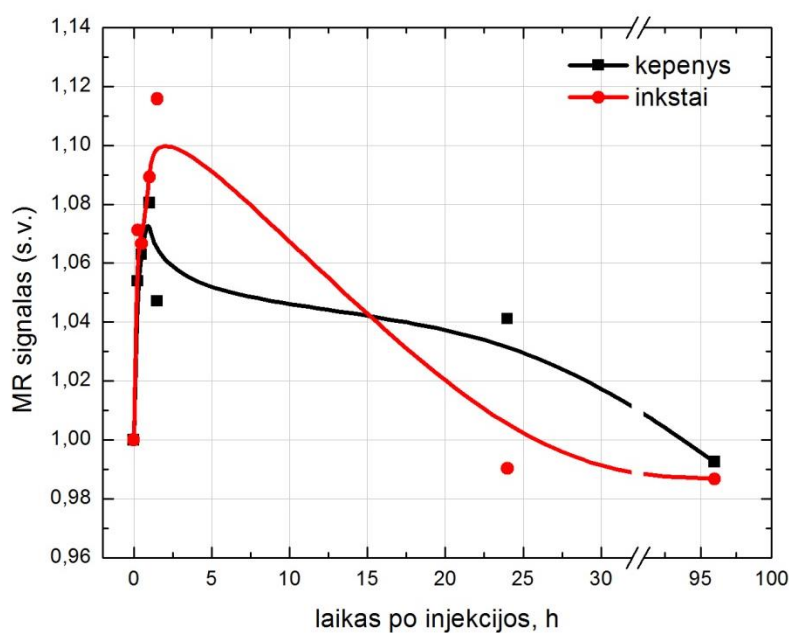
47 pav. MR signalo inkstuose ir kepenyse santykinio intensyvumo priklausomybė nuo laiko po Gd druskos injekcijos į uodegos veną.

Tiriant $\text{NaGdF}_4:\text{Yb,Er}@/\text{NaGdF}_4@\text{TWEEN80}$ nanodalelių kinetiką po injekcijos į veną yra gauti panašūs rezultatai kaip ir inkstų atveju, tik signalas neišauga taip stipriai po intraveninės injekcijos. Kontroliniai vaizdai ir po atitinkamo laiko po injekcijos yra pateikti **48 pav.** MR vaizduose tiek inkstuose, tiek kepenyse aiškiau, plika akimi matomo kontrasto nėra.

Tikslesni duomenys yra pateikti **49 pav.** Matome nežymų, bet staigų MR signalo kilimą (1,11 karto) inkstuose iškart po injekcijos į veną. Taip pat yra stebimas signalo grįžimas į savo pradinę padėtį jau po 24 valandų. Panašūs rezultatai ir kepenyse registruojamų signalų, tačiau jie dar silpnesni ir negalima daryti konkrečių išvadų, nes SI registruojamas paklaidų ribose.

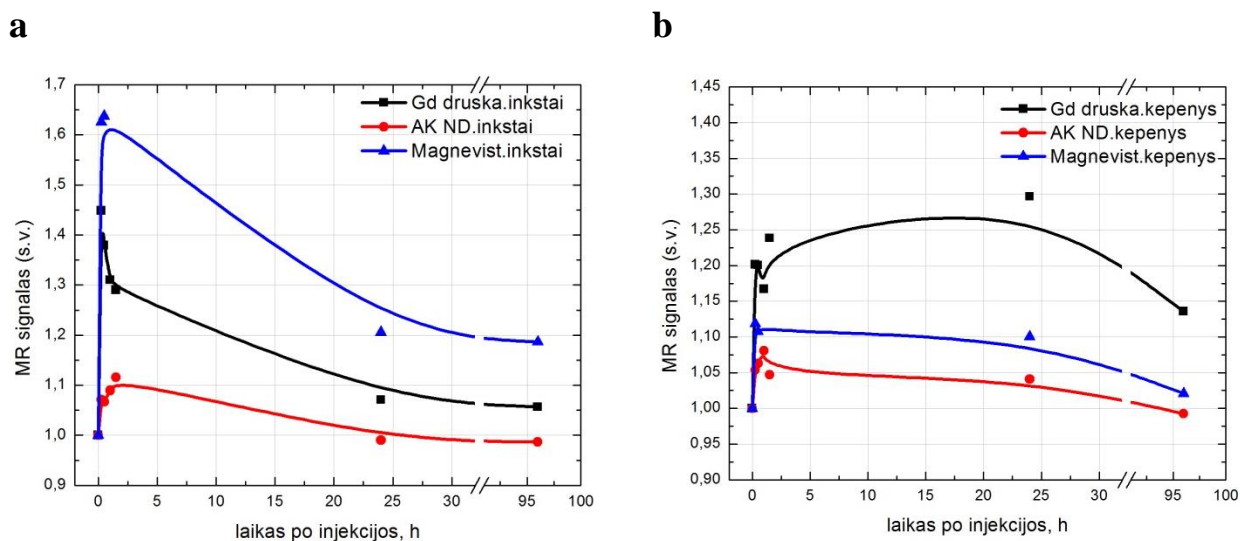


48 pav. Žiurkės MR kontroliniai ir praėjus 30 min po $\text{NaGdF}_4\text{:Yb,Er@NaGdF}_4\text{@TWEEN80}$ nanodalelių tirpalo suleidimo į uodegos veną vaizdai. Kairėje stebimi inkstai, dešinėje – kepenys.



49 pav. MR signalo inkstuose ir kepenyse santykinio intensyvumo priklausomybė nuo laiko po $\text{NaGdF}_4\text{:Yb,Er@NaGdF}_4\text{@TWEEN80}$ nanodalelių tirpalo injekcijos į uodegos veną.

Bendri visų trijų tiriamųjų kontrastinių medžiagų rezultatai yra pateikti **50 pav.**



50 pav. MR signalo a) inkstuose, b) kepenyse santykinio intensyvumo priklausomybė nuo laiko po Magnevist[®], Gd druskos ir NaGdF₄:Yb,Er@NaGdF₄@TWEEN80 nanodalelių tirpalo injekcijos į uodegos veną.

2.3 Rezultatų aptarimas

Superparamagnetinių geležies oksido nanodalelių MRV tyrimai *in vitro* ir *in vivo* parodė, kad Fe₃O₄ nanodalelės suteikia ryškų neigiamą kontrastą T2* nulemtuose vaizduose. Iš tyrimų su eksperimentinėmis žiurkėmis užregistruotų skirtingų kontrasto signalo intensyvumų po injekcijos į šlaunies raumenį matyti, kad bėgant laikui kontrastas mažėja, t.y. Fe₃O₄ nanodalelės yra lėtai šalinamos iš injekcijos vietos. Tačiau Fe₃O₄ nanodalelių šalinimo sparta iš injekcijos vietos priklauso nuo suleistos kontrastinės medžiagos dozės. Į tai labai svarbu atsižvelgti norint šias daleles taikyti klinikinėje praktikoje, nes pašalinių medžiagų nešalinimas iš organizmo, gali sukelti įvairius šalutinius poveikius. Apibendrinus tyrimų rezultatus, galiam teigti, kad susintetintos naujos Fe₃O₄ nanodalelės gali būti taikomos kaip neigiama MRV kontrastinė medžiaga, tačiau reikia dar atlikti daug ikiklinikinių tyrimų siekiant naudoti klinikinėje praktikoje.

Aukštyneikių NaGdF₄:Yb,Er@NaGdF₄@TWEEN80 nanodalelių MRV tyrimai *in vitro* ir *in vivo* parodė, kad NaGdF₄:Yb,Er@NaGdF₄@TWEEN80 nanodalelės suteikia ryškų teigiamą kontrastą T1 nulemtuose vaizduose.

Atlikus palyginamąjį AK ND, Magnevist[®] ir Gd druskos daromos įtakos MR signalo stiprinimui tyrimą, buvo gautos MR SI priklausomybės nuo medžiagų koncentracijos ir sudarytos pilkumo skalės. Buvo gauta, kad visais trim atvejais koncentracijai didėjant, stiprėja kontrastas lyginant su vandeniu, tačiau tik iki tam tikros maksimalios ribinės vertės. Vėliau

kontrastas pradeda silpti, kol galiausiai tampa netgi mažesnis negu nesant kontrastinei medžiagai. Maksimalios ribinės vertės, kurios rodo maksimalų MR signalo stiprinimo koeficientą β , visais atvejais yra panašios – nuo 4,0 iki 4,5. Gauti rezultatai sutampa ir su literatūroje pateiktais (Carniato ir kt., 2015; Ren ir kt., 2012). MR signalo slopinimo reiškiny, esant didelėm medžiagos koncentracijom, gali būti paaiškintas tuo, kad tik esant mažesnėm Gd koncentracijom pagreitėja išilginė T1 relaksacija, todėl matome MR signalo stiprėjimą T1 nulemtuose vaizduose. Tačiau, kai turime dideles Gd koncentracijas dėl padidėjusių sąveikų su aplinkinėmis molekulėmis žymiai sutrumpėja skersinė relaksacija – T2, kuri ir pradeda dominuoti, kas lemia signalo silpnėjimą – neigiamą kontrastą. Tokie gauti rezultatai atitinka teorijoje aprašomus (Bjørnerud, 2008). Todėl yra labai svarbu nustatyti tinkamą koncentraciją siekiant šias medžiagas įvesti į gyvą organizmą. Reikia įvertinti, kiek medžiagos prasiskies patekusios į organizmo skysčius, ar per daug nesikaups kurioje nors vietoje, kas sąlygotų signalo slopinimą. Taigi per didelė ar per maža suleista koncentracija gali neduoti jokio efekto, o tinkamas koncentracijos kitimo dinaminis diapazonas vaizdinimui, kaip matyti iš **40 pav.**, yra tikrai labai siauras. Tačiau jis šiek tiek skiriasi esant skirtingoms kontrastinėms medžiagoms. Norint pasiekti maksimalų signalo stiprinimą su Gd druska ir *Magnevist*[®] turime labai tiksliai atitaikyti koncentracijas, nes net labai mažas koncentracijos pokytis lemia labai didelį signalo pokytį. Tuo tarpu AK ND atveju, šis vaizdinimo diapazonas yra kur kas platesnis, kas leidžia naudoti didesnes koncentracijų variacijas. Taigi iš šių gautų rezultatų matome, kad tiriamos AK ND turi potencialą MR diagnostikos vaizdinime.

Siekiant įvertinti kokią įtaką daro gadolinio atomas atskirose medžiagose vandenilio protonų relaksacijai buvo apskaičiuotos medžiagų relaksuojamų r1 vertės, kurios parodo, kaip kinta protonų relaksacijos sparta nuo kontrastinės medžiagos koncentracijos. Gautos r1 vertės (AK ND – $1,07 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$, *Magnevist*[®] – $4,77 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$, Gd druskos – $10,18 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$) parodė, kad didžiausią įtaką T1 relaksacijai turi gadolinis esantis Gd druskoje, o mažiausią – AK ND. Šie rezultatai yra panašūs į literatūroje aprašomus. *Magnevist*[®] r1 skirtingose literatūrose varijuoja nuo $3,5 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ iki $5,5 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ (Liu ir kt., 2013a; Wang ir kt., 2013). AK ND aprašomos r1 vertės labai varijuoja, priklausomai nuo jų cheminės sudėties. Panašiausių į mūsų tiriamas AK ND r1 vertės yra – nuo 0,9 iki $6 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ (Cheng ir kt., 2014; Liu ir kt., 2013a; Liu ir kt., 2013b). Tačiau r1 vertės negali būti vertinamos vienareikšmiškai. Priklausomai nuo to, kokiam tikslui bus naudojamos kontrastinės medžiagos, gali reikėti tiek didelio, tiek mažo relaksuojamumo kontrastinių medžiagų. Mažo relaksuojamumo medžiagos turi didesnę koncentracijos kitimo dinaminį diapazoną, kuris yra labai svarbus norint gauti detalų kontrastinį pasiskirstymą. T.y. kad būtų aiškiai matyti, kur yra didesnis kontrasto susikaupimas, kur mažesnis. Turint didelio relaksuojamumo medžiagas labai aiškiai galime matyti didelį medžiagos susikaupimą, tačiau

nepamatysime mažo kaupimosi. Kitaip tariant didelio relaksuojamumo medžiagos tarsi turi binarinį MR signalo stiprinimą – yra arba nėra, o mažo relaksuojamumo medžiagos geriau suteikia tarpinius kontrastus.

AK ND MRV po injekcijos į žiurkės kojos raumenį parodė, kad injekcijos vietoje iškart po suleidimo MR signalas išaugo 2,4 karto. Tuo tarpu po 24 val. – tik 1,4 karto. Tokie gauti rezultatai yra labai perspektyvūs, nes rodo, kad tiriamos AK ND labai greitai yra pašalinamos iš injekcijos vietos, vadinasi neužsilaiko organizme ir taip išvengiama galimo didelio šalutinio poveikio, priešingai nei tirtų SPION atveju, kurie organizme užsilaiko labai ilgą laiką (**36 pav.**).

50 paveiksle yra pateikti apibendrinti visų trijų tirtų medžiagų rezultatai, iš kurių matome, kad didžiausią signalo stiprinimą suteikia *Magnevist*[®] inkstuose. Kepenyse signalas smarkiai didėja suleidus Gd druskos. Po 24 val, kai kitų tiriamų medžiagų atvejais, kepenyse signalas jau buvo smarkiai nusilpęs lyginant iškart po injekcijos, kai tuo tarpu Gd druska siekė didžiausią signalo stiprinimą (1,3 karto). Taigi matomas kaupimasis kepenyse. Tai galime sieti su paties Gd prigimtimi. Kadangi laisvas Gd³⁺ yra potencialiai toksiškas, o Gd druskoje laisvų Gd³⁺ jonų yra daug - pasireiškė toksinis poveikis – kaupimasis kepenyse. Tačiau jau po 96 valandų yra matomas ženklus signalo sumažėjimas (1,13), todėl galime manyti, kad kepenys po truputį valosi. Gauti rezultatai yra panašūs su įvairiuose straipsniuose pateiktais rezultatais (Ersoy ir Rybicki, 2007; Fretellier ir kt., 2015), kuriuose teigiama, kad didžiausias Gd³⁺ kiekis iškart po injekcijos yra stebimas inkstuose, tačiau praėjus daugiau laiko po injekcijos yra matomas Gd³⁺ kaupimas kepenyse lyginant gadolinio druską su gadolinio chelatais. Tuo tarpu aukštyneitės nanodalelės suteikia tik nežymų signalo stiprinimą ir tarsi atkartoja *Magnevist*[®] rezultatus, tik žymiai silpniau. AK ND nesikaupimas kepenyse rodo AK ND nėra potencialiai toksiškos. Tačiau atsižvelgiant į ankstesnius palyginamuosius rezultatus *in vitro* (**40 pav.**), galima manyti, kad buvo galima visais atvejais siekti didesnio MR signalo stiprinimo. Viena iš priežasčių, kodėl nebuvo gautas didesnis signalo stiprinimas - buvo pasirinktos netinkamos koncentracijos. Kaip aptarta anksčiau, tiriamųjų medžiagų koncentracijų kitimo dinaminiai diapazonai yra pakankamai siauri, todėl negalime atmesti galimybės, kad buvo pasirinkta per didelė koncentracija – gavome signalo silpnimo efektą, arba per maža – gautas nepakankamas signalo stiprinimas. Tačiau tai galėjo lemti ir medžiagų farmakokinetinės savybės. Gali būti, kad šalinimas iš inkstų ir kepenų yra greitesnis nei iš kraujotakos, todėl MR signalas inkstuose ar kepenyse niekada negalės būti maksimalus. Kadangi dėl nebuvo galimybės MRV atlikti greičiau nei per 15 min, neturime pačių priminių rezultatų iškart po injekcijos, kurie galbūt parodytų detalesnę kinetiką inkstuose ir kepenyse. Taigi yra reikalingi pakartotini ir papildomi tyrimai, siekiant tiksliau įvertinti NaGdF₄:Yb,Er @NaGdF₄@TWEEN80 nanodalelių įtaką MR signalui *in vivo* tyrimuose.

Išvados

1. MR signalo intensyvumas yra atvirkščiai proporcingas superparamagnetinių Fe_3O_4 nanodalelių koncentracijai ir tiesiogiai proporcingas aukštyneičių $\text{NaGdF}_4:\text{Yb,Er}$ nanodalelių koncentracijai iki ribinės vertės.
2. $\text{NaGdF}_4:\text{Yb,Er}$ nanodalelių suteikiamo MR signalo stiprinimas ir platus koncentracijos kitimo dinaminis diapazonas vaizdinimui rodo $\text{NaGdF}_4:\text{Yb,Er}$ nanodalelių potencialą tapti MRV kontrastine medžiaga.
3. Didžiausią įtaką vandenilio protonų T1 relaksacijai turi gadolinis esantis Gd druskoje, o mažiausią - $\text{NaGdF}_4:\text{Yb,Er}$ nanodalelėse.
4. Atlikus Fe_3O_4 nanodalelių MRV *in vivo* buvo nustatyta, kad Fe_3O_4 nanodalelių šalinimo sparta iš injekcijos vietos priklauso nuo injekcijos dozės.
5. $\text{NaGdF}_4:\text{Yb,Er}$ nanodalelių potencialą MRV *in vivo* rodo tyrimų su eksperimentinėmis žiurkėmis metu užregistruotas MR signalo stiprinimas inkstuose ir kepenyse. Tačiau lyginant jį su užregistruotais *Magnevist*[®], Gd druskos ir $\text{NaGdF}_4:\text{Yb,Er}$ nanodalelių *in vitro* MR signalo stiprinimais, jis yra mažesnis nei tikėtasi, todėl yra reikalingi papildomi tyrimai.

Literatūra

1. **Bayer HealthCare Pharmaceuticals Inc.**, MAGNEVIST® [Prieiga per internetą]. [Žiūrėta: 2016 m. gegužės 14 d.]. Adresas: http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2013/019596s056,021037s029lbl.pdf
2. **Balevičius V, Kimtys L, Misiūnas GA.** Magnetinio rezonanso spektrometrija. Vilnius: VU leidykla; **2000**.
3. **Biagi BA, Enyeart JJ.** Gadolinium blocks low- and high-threshold calcium currents in pituitary cells. *Am. J. Physiol.* **1990**;259(3 Pt 1):C515-520.
4. **Bitar R, Leung G, Perng R, Tadros S, Moody AR, Sarrazin J ir kt.** MR Pulse Sequences: What Every Radiologist Wants to Know but Is Afraid to Ask1. *RadioGraphics.* **2006**;26(2):513–37.
5. **Bjørnerud A.** The Physics of Magnetic Resonance Imaging [Prieiga per internetą]. Department of Physics University of Oslo; [Žiūrėta: 2016 m. gegužės 19 d.] **2008**. Adresas: <http://www.uio.no/studier/emner/matnat/fys/FYS-KJM4740/v14/kompendium/kompendium-mri-feb-2009.pdf>
6. **Carniato F, Tei L, Phadngam S, Isidoro C, Botta M.** NaGdF₄ Nanoparticles Coated with Functionalised Ethylenediaminetetraacetic Acid as Versatile Probes for Dual Optical and Magnetic Resonance Imaging. *ChemPlusChem.* **2015**;80(3):503–10.
7. **Cheng H-LM, Haedicke IE, Cheng W, Nofiele JT, Zhang X.** Gadolinium-Free T-1 Contrast Agents for MRI: Tunable Pharmacokinetics of a New Class of Manganese Porphyrins. *Journal of magnetic resonance imaging : JMRI.* **2014**;40(6).
8. **CNS Clinic.** <http://www.iomonitoring.org/mrphysics.htm> [Prieiga per internetą]. [Žiūrėta: 2016 m. gegužės 22 d.]. Adresas: <http://www.iomonitoring.org/mrphysics.htm>
9. **Corot C, Robert P, Idee J, Port M.** Recent advances in iron oxide nanocrystal technology for medical imaging☆. *Advanced Drug Delivery Reviews.* **2006**;58(14):1471–504.
10. **De Haën C.** Conception of the first magnetic resonance imaging contrast agents: a brief history. *Topics in Magnetic Resonance Imaging.* **2001**;12(4):221–230.
11. **Dong H, Du S-R, Zheng X-Y, Lyu G-M, Sun L-D, Li L-D ir kt.** Lanthanide Nanoparticles: From Design toward Bioimaging and Therapy. *Chemical Reviews.* **2015**;115(19):10725–815.
12. **Enriquez-Navas PM, Garcia-Martin ML.** Application of Inorganic Nanoparticles for Diagnosis Based on MRI. *Frontiers of Nanoscience.* Elsevier; **2012**. p. 233–45.
13. **Errante Y, Cirimele V, Mallio CA, Di Lazzaro V, Zobel BB, Quattrocchi CC.** Progressive increase of T1 signal intensity of the dentate nucleus on unenhanced magnetic resonance images is associated with cumulative doses of intravenously administered gadodiamide in patients with normal renal function, suggesting dechelation. *Invest Radiol.* **2014**;49(10):685–90.

14. **Ersoy H, Rybicki FJ.** Biochemical safety profiles of gadolinium-based extracellular contrast agents and nephrogenic systemic fibrosis. *Journal of Magnetic Resonance Imaging.* **2007**;26(5):1190–7.
15. **European Medicines Agency.** Assessment report for Gadolinium-containing contrast agents. Nr. EMEA/H/A-31/1097 [Prieiga per internetą]. [Žiūrėta: 2016 m. gegužės 15 d.] **2010.** Adresas: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Referrals_document/gadolinium_31/WC500099538.pdf
16. **European Medicines Agency.** EMA reviewing gadolinium contrast agents used in MRI Nr.EMA/200364/2016 [Prieiga per internetą]. **2016.**
17. **Fortin M-A.** Nanoparticles for magnetic resonance imaging (MRI) applications in medicine. Functional materials : for energy, sustainable development and biomedical sciences. Berlin: Walter de Gruyter; **2014.** p. 332–74.
18. **Franklin K, Muir P, Scott T, Wilcocks L, Yates P.** Introduction to Biological Physics for the Health and Life Sciences. John Wiley & Sons; **2010.**
19. **Frey NA, Peng S, Cheng K, Sun S.** Magnetic nanoparticles: synthesis, functionalization, and applications in bioimaging and magnetic energy storage. *Chem. Soc. Rev.* **2009**;38(9):2532–42.
20. **Fretellier N, Salhi M, Schroeder J, Siegmund H, Chevalier T, Bruneval P ir kt.** Distribution profile of gadolinium in gadolinium chelate-treated renally-impaired rats: Role of pharmaceutical formulation. *European Journal of Pharmaceutical Sciences.* **2015**;72:46–56.
21. **Gamarra LF, Pontuschka WM, Amaro E, Costa-Filho AJ, Brito GES, Vieira ED ir kt.** Kinetics of elimination and distribution in blood and liver of biocompatible ferrofluids based on Fe₃O₄ nanoparticles: An EPR and XRF study. *Materials Science and Engineering: C.* **2008**;28(4):519–25.
22. **Greenberg SA.** Zinc transmetallation and gadolinium retention after MR imaging: case report. *Radiology.* **2010**;257(3):670–3.
23. **Gries HD, Rosenberg DD, Weinmann H-JD.** Paramagnetische komplexsalze, deren herstellung und verwendung bei der nmr-diagnostik [Prieiga per internetą]. [Žiūrėta: 2016 m. gegužės 14 d.] **1983.** Adresas: <http://www.google.com.na/patents/DE3129906A1>
24. **Grobner T.** Gadolinium--a specific trigger for the development of nephrogenic fibrosing dermopathy and nephrogenic systemic fibrosis? *Nephrol. Dial. Transplant.* **2006**;21(4):1104–8.
25. **Hendrick RE.** Tissue Relaxation. *Breast MRI: Fundamentals and Technical Aspects.* **2008**;19–29.
26. <http://mriquestions.com/what-is-relaxivity.html>. [Prieiga per internetą]. Questions and Answers
in MRI. [Žiūrėta: 2016 m. gegužės 22 d.] **2016.**
27. **Jaganathan NR.** Recent Advances in MR Imaging and Spectroscopy. Jaypee Brothers Publishers; **2005.**

28. **Janionytė J, Basevičienė I, Atstupėnaitė V.** Kontrastinės medžiagos, vartojamos.pdf. *Lietuvos bendrosios praktikos gydytojas*. **2010**;
29. **Kanda T, Fukusato T, Matsuda M, Toyoda K, Oba H, Kotoku J 'ichi ir kt.** Gadolinium-based Contrast Agent Accumulates in the Brain Even in Subjects without Severe Renal Dysfunction: Evaluation of Autopsy Brain Specimens with Inductively Coupled Plasma Mass Spectroscopy. *Radiology*. **2015**;276(1):228–32.
30. **Laurent S, Elst LV, Copoix F, Muller RN.** Stability of MRI paramagnetic contrast media: a proton relaxometric protocol for transmetallation assessment. *Invest Radiol*. **2001**;36(2):115–22.
31. **Liu C, Gao Z, Zeng J, Hou Y, Fang F, Li Y ir kt.** Magnetic/Upconversion Fluorescent NaGdF₄:Yb,Er Nanoparticle-Based Dual-Modal Molecular Probes for Imaging Tiny Tumors *in Vivo*. *ACS Nano*. **2013a**;7(8):7227–40.
32. **Liu F, He X, Liu L, You H, Zhang H, Wang Z.** Conjugation of NaGdF₄ upconverting nanoparticles on silica nanospheres as contrast agents for multi-modality imaging. *Biomaterials*. **2013b**;34(21):5218–25.
33. **Ma HL, Xu YF, Qi XR, Maitani Y, Nagai T.** Superparamagnetic iron oxide nanoparticles stabilized by alginate: Pharmacokinetics, tissue distribution, and applications in detecting liver cancers. *International Journal of Pharmaceutics*. **2008**;354(1–2):217–26.
34. **Madru R, Kjellman P, Olsson F, Wingardh K, Ingvar C, Stahlberg F ir kt.** 99mTc-Labeled Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles for Multimodality SPECT/MRI of Sentinel Lymph Nodes. *Journal of Nuclear Medicine*. **2012**;53(3):459–63.
35. **Na HB, Song IC, Hyeon T.** Inorganic Nanoparticles for MRI Contrast Agents. *Advanced Materials*. **2009**;21(21):2133–48.
36. **Naccache R, Chevallier P, Lagueux J, Gossuin Y, Laurent S, Vander Elst L ir kt.** High Relaxivities and Strong Vascular Signal Enhancement for NaGdF₄ Nanoparticles Designed for Dual MR/Optical Imaging. *Advanced Healthcare Materials*. **2013**;2(11):1478–88.
37. **Ortuño JE, Ledesma-Carbayo MJ, Simões RV, Candiota AP, Arús C, Santos A.** DCE@urLAB: a dynamic contrast-enhanced MRI pharmacokinetic analysis tool for preclinical data. *BMC bioinformatics*. **2013**;14(1):316.
38. **Penfield JG, Reilly RF.** What nephrologists need to know about gadolinium. *Nat Clin Pract Neph*. **2007**;3(12):654–68.
39. **Perazella MA.** Current Status of Gadolinium Toxicity in Patients with Kidney Disease. *CJASN*. **2009**;4(2):461–9.
40. **Reichenbach JR, Hackländer T, Harth T, Hofer M, Rassek M, Mödder U.** 1H T1 and T2 measurements of the MR imaging contrast agents Gd-DTPA and Gd-DTPA BMA at 1.5 T. *European radiology*. **1997**;7(2):264–274.
41. **Ren W, Tian G, Zhou L, Yin W, Yan L, Jin S ir kt.** Lanthanide ion-doped GdPO₄ nanorods with dual-modal bio-optical and magnetic resonance imaging properties. *Nanoscale*. **2012**;4(12):3754.
42. **Rinkevičius V.** Elektra ir Magnetizmas. Vilniaus universiteto leidykla; **2004**.

43. **Rohrer M, Bauer H, Mintorovitch J, Requardt M, Weinmann H-J.** Comparison of magnetic properties of MRI contrast media solutions at different magnetic field strengths. *Invest Radiol.* **2005**;40(11):715–24.
44. **Rotomskis R, Karabanovas V, Poderys V, Bagdonas S, Didžiapetrienė J.** Įvadas į nanomediciną. VĮ Mokslotyros institutas, AB “Aušra”, Kaunas; 2008; 64-75.
45. **Silva AC, Oliveira TR, Mamani JB, Malheiros SM, Malavolta L, Pavon LF ir kt.** Application of hyperthermia induced by superparamagnetic iron oxide nanoparticles in glioma treatment. *Int J Nanomedicine.* **2011**;6:591–603.
46. **Stephen ZR, Kievit FM, Zhang M.** Magnetite Nanoparticles for Medical MR Imaging. *Mater Today (Kidlington).* **2011**;14(7–8):330–8.
47. **Suijver JF.** Upconversion Phosphors. Ronda C, sudarytojas. *Luminescence: From Theory to Applications.* Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA; **2007.** p. 133–77.
48. **Tattersall RJ, Prashar A, Singh KD, Tokarczuk PF, Erichsen JT, Hocking PM ir kt.** Ex vivo magnetic resonance imaging of crystalline lens dimensions in chicken. *Mol Vis.* **2010**;16:144–53.
49. **Veiseh O, Gunn JW, Zhang M.** Design and fabrication of magnetic nanoparticles for targeted drug delivery and imaging. *Advanced Drug Delivery Reviews.* **2010**;62(3):284–304.
50. **Wang G, Peng Q, Li Y.** Lanthanide-Doped Nanocrystals: Synthesis, Optical-Magnetic Properties, and Applications. *Accounts of Chemical Research.* **2011**;44(5):322–32.
51. **Wang Y, Ji L, Zhang B, Yin P, Qiu Y, Song D ir kt.** Upconverting rare-earth nanoparticles with a paramagnetic lanthanide complex shell for upconversion fluorescent and magnetic resonance dual-modality imaging. *Nanotechnology.* **2013**;24(17):175101.
52. **Wang Y-XJ.** Superparamagnetic iron oxide based MRI contrast agents: Current status of clinical application. *Quant Imaging Med Surg.* **2011**;1(1):35–40.
53. **Weinmann H, Brasch R, Press W, Wesbey G.** Characteristics of gadolinium-DTPA complex - a potential NMR contrast agent. *American journal of roentgenology.* **1984**;(142):619–24.
54. **Wu T, Hua M-Y, Chen J, Wei K-C, Jung S-M, Chang Y-J ir kt.** Effects of external magnetic field on biodistribution of nanoparticles: A histological study. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials.* **2007**;311(1):372–5.
55. **Xing H, Bu W, Zhang S, Zheng X, Li M, Chen F ir kt.** Multifunctional nanoprobe for upconversion fluorescence, MR and CT trimodal imaging. *Biomaterials.* **2012**;33(4):1079–89.
56. **Zhai X, Lei P, Zhang P, Wang Z, Song S, Xu X ir kt.** Growth of lanthanide-doped LiGdF₄ nanoparticles induced by LiLuF₄ core as tri-modal imaging bioprobes. *Biomaterials.* **2015**;65:115–23.
57. **Zhou J, Yu M, Sun Y, Zhang X, Zhu X, Wu Z ir kt.** Fluorine-18-labeled Gd³⁺/Yb³⁺/Er³⁺ co-doped NaYF₄ nanophosphors for multimodality PET/MR/UCL imaging. *Biomaterials.* **2011**;32(4):1148–56.

58. **Zhou J, Liu Z, Li F.** Upconversion nanophosphors for small-animal imaging. *Chem. Soc. Rev.* **2012**;41(3):1323–49.
59. **Zhu D, Liu F, Ma L, Liu D, Wang Z.** Nanoparticle-Based Systems for T1-Weighted Magnetic Resonance Imaging Contrast Agents. *International Journal of Molecular Sciences.* **2013**;14(5):10591–607.

TEIGIAMO IR NEIGIAMO KONTRASTO NANODARINIŲ TAIKYMO MAGNETINIO REZONANSO VAIZDINIMUI TYRIMAI *IN VIVO*

Eglė Daugėlaitė

Santrauka

Magnetinio rezonanso vaizdinimas – vienas iš pagrindinių metodų, taikomų klinikinėje diagnostikoje. Siekiant pagerinti vidinių organizmų struktūrų kontrastą, magnetinio rezonanso tyrimo metu dažnai yra naudojamos papildomos išorinės kontrastinės medžiagos. Šiuo metu dažniausiai naudojamos kontrastinės medžiagos yra gadolinio chelatai. Tačiau šios tradicinės kontrastinės medžiagos sulaukia vis daugiau kritikos dėl savo toksiškumo, kurį lemia laisvi Gd^{3+} jonai, taip pat dėl per mažo kontrasto jautrumo. Todėl nuolat yra tobulinamos jau esamos arba kuriamos naujos, geresnėmis savybėmis pasižyminčios kontrastinės medžiagos. Šio darbo tikslas yra įvertinti naujai susintetintų neigiamo kontrasto superparamagnetinių Fe_3O_4 nanodalelių ir teigiamo kontrasto aukštyneičių $NaGdF_4:Yb^{3+},Er^{3+}$ nanodalelių kaip MRV kontrastinių medžiagų potencialą.

Superparamagnetinių geležies oksido nanodalelių MRV tyrimai *in vitro* ir *in vivo* parodė, kad Fe_3O_4 nanodalelės suteikia ryškų neigiamą kontrastą $T2^*$ nulemtuose vaizduose. Iš tyrimų su eksperimentinėmis žiurkėmis užregistruotų skirtingų kontrasto signalo intensyvumų po injekcijos į šlaunies raumenį matyti, kad bėgant laikui kontrastas mažėja, t.y. Fe_3O_4 nanodalelės yra lėtai šalinamos iš injekcijos vietos. Tačiau Fe_3O_4 nanodalelių šalinimo sparta iš injekcijos vietos priklauso nuo suleistos kontrastinės medžiagos dozės.

Aukštyneičių nanodalelių MRV tyrimai *in vitro* ir *in vivo* parodė, kad $NaGdF_4:Yb,Er$ nanodalelės suteikia žymų teigiamą kontrastą $T1$ nulemtuose vaizduose. Aukštyneitės nanodalelės stiprina MR signalą didėjant koncentracijai, tačiau pasiekus maksimalią kritinę koncentracijos vertę, signalas pradeda staigiai silpnėti. Maksimalus signalo stiprinimas (4,55 karto) *in vitro* leidžia daryti išvadą, kad $NaGdF_4:Yb,Er$ nanodalelės gali būti veiksminga MRV kontrastinė medžiaga. Tačiau MRV *in vivo* tyrimų metu užregistruotas mažesnis $NaGdF_4:Yb,Er$ nanodalelių MR signalo stiprinimas inkstuose ir kepenyse nei tikėtasi, rodo tolimesnių tyrimų *in vivo* poreikį.

Apibendrinus tyrimų rezultatus, galiam teigti, kad susintetintos naujos Fe_3O_4 nanodalelės gali būti taikomos kaip neigiama, o $NaGdF_4:Yb,Er$ nanodalelės kaip teigiama MRV kontrastinė medžiaga, tačiau yra reikalingi platesni *in vivo* tyrimai siekiant taikyti šias medžiagas klinikinėje praktikoje.

APPLICATIONS OF NEGATIVE AND POSITIVE CONTRAST NANOPARTICLES IN MAGNETIC RESONANCE IMAGING *IN VIVO*

Eglé Daugélaité

Summary

Magnetic resonance imaging (MRI) is a widely used method for clinical diagnosis. To improve the diagnostic value of MR images, MRI contrast agents are often required. The most commonly used contrast agents are gadolinium-based compounds. Unfortunately, these contrast agents have several disadvantages such as high toxicity or sometimes too low contrast. That leads to investigation of novel MRI contrast agents. The aim of this study was to evaluate the newly synthesized negative contrast superparamagnetic Fe_3O_4 nanoparticles and positive contrast $\text{NaGdF}_4:\text{Yb,Er}$ nanoparticles as an efficient MRI contrast agents.

The MRI results of superparamagnetic nanoparticles *in vitro* and *in vivo* revealed that the Fe_3O_4 gives a negative contrast in the T_2^* -weighted MR images. *In vivo* MRI studies showed that the nanoparticles are slowly removed from the injection site. It was concluded that the Fe_3O_4 nanoparticle clearance rate from the injection site depends on the concentration of the injected contrast agent.

In vitro and *in vivo* studies of the upconverting nanoparticles showed that $\text{NaGdF}_4:\text{Yb,Er}$ nanoparticles provide significant positive contrast on the T_1 -weighted MR images. The upconverting nanoparticles enhanced MR signal was increasing with the concentration until it reaches a critical value and the signal begins to decrease. The obtained MR signal enhancement of the $\text{NaGdF}_4:\text{Yb,Er}$ nanoparticles in liver and kidneys of a rat was rather weak.

These findings indicate that superparamagnetic Fe_3O_4 nanoparticles and upconverting $\text{NaGdF}_4:\text{Yb,Er}$ nanoparticles could be applied as an efficient MRI contrast agent. Nevertheless, further investigation is required.

Rezultatų sklaida

1. E. Daugėlaite, M. Stalnionis. Magnetic resonance imaging of superparamagnetic iron oxide nanoparticles distribution *in vivo*. Konferencija „Naujametė fizikos konferencija LTΦ 2015“, p. 35, Vilnius (2015)
2. G. Jarockyte, E. Daugelaite, U. Statkute, M. Stalnionis, V. Karabanovas, S. Hsu, R. Rotomskis. Biological effects of Fe₃O₄ magnetic nanoparticles *in vitro* and *in vivo*. Konferencija „Current Trends in Cancer Theranostics“, p. 71, Jena (2015)
3. E. Daugėlaitė, G. Jarockytė, V. Poderys, U. Statkutė, M. Stalnionis, V. Karabanovas, S. Hsu, R. Rotomskis. Superparamagnetinių Fe₃O₄ nanodalelių fizikinės savybės ir jų ikiklinikiniai tyrimai. 41-oji Lietuvos nacionalinė fizikos konferencija, p. 284, Vilnius (2015)
4. E. Daugėlaitė, M. Stašys, D. Baziulytė, R. Rotomskis. Upconversion nanoparticles in magnetic resonance imaging. Konferencija „Open Readings 2016“, p. 115, Vilnius (2016)

Šiuo metu yra pateiktas straipsnis žurnalui *International Journal of Molecular Sciences* (IF >2,8).