

Сведения о выполненных работах в 2015 году
по проекту «**Неинвазивное количественное картирование миелинизации серого
вещества головного мозга у человека и животных**»,
поддержанному Российским научным фондом

Соглашение № 14-45-00040

Руководитель канд. хим. наук Ярных Василий Леонидович

В течение второго года работы над проектом исследования проводились в нескольких направлениях включающих в себя валидацию метода быстрого МРФ картирования в сверхвысоких магнитных полях, детальную характеристику нормальных значений МРФ в различных анатомических структурах мозга грызунов, сравнительную экспериментальную оценку потери миелина на экспериментальных моделях демиелинизации мозга, таких как купризоновая модель и модель ишемии мозга, с использованием МРФ, гистологии и иммуногистохимии, также проводился сбор и анализ данных о возрастных изменениях МРФ в течении созревания мозга детей.

С целью валидации метода МРФ картирования в сверхвысоких магнитных полях была проведена детальная оценка параметров двухкомпарментной модели в тканях мозга крысы с использованием метода импульсной Z-спектроскопии на 11.7 Т сканере для мелких лабораторных животных. Детальная характеристика нейроанатомических структур была произведена на основе МРФ карт, полученных с помощью недавно предложенного нами одноточечного алгоритма с использованием синтетического референтного изображения и мультипараметрического анализа Z-спектров в рамках двухкомпарментной модели. Было показано, что значения МРФ, полученные двумя методами, значимо не отличаются, что обеспечивает валидацию метода МРФ картирования для применения в сверхвысоких магнитных полях. Кроме того, установлено, что МРФ обеспечивает максимальный контраст между белым и серым веществом мозга, который в 3-6 раз превышает контраст, полученный другими количественными параметрами МРТ. Получение значительного анатомического контраста с использованием традиционных методов основанных на релаксации представляет известную проблему магнитно-резонансной томографии в высоких магнитных полях из-за эффекта конвергенции времен релаксации. Наши результаты показывают, что МРФ картирование успешно решает данную проблему и обеспечивает уникальные возможности получения высококонтрастных нейроанатомических изображений с высоким пространственным разрешением и дополнительной возможностью объективной количественной оценки содержания миелина.

С целью демонстрации независимости результатов быстрого картирования МРФ от напряженности магнитного поля, было детально изучено распределение МРФ в регионах мозга мыши на основании данных, полученных с использованием сверхвысокопольных систем с напряженностью магнитного поля 11.7 и 14 Т. Нормативные значения МРФ для ряда структур белого и серого вещества были получены с целью дальнейшего использования для исследования демиелинизации. Результаты, полученные на томографах с разной напряженностью поля, подтвердили отсутствие значимых

различий в измерениях MPF, обусловленных величиной магнитного поля, что позволяет использовать MPF в качестве универсального МРТ биомаркера демиелинизации.

Для достижения целей, поставленных в Задаче 2 (Гистологическая валидация точности измерения плотности миелина, полученного с помощью метода картирования макромолекулярной протонной фракции в сером веществе на фоне отека мозга с использованием модели инсульта у крыс) были проведены две серии экспериментов с моделями фокальной и тотальной ишемии. Оптимизированный протокол быстрого MPF картирования основанный на Z-спектроскопических измерениях был адаптирован для получения быстрых серийных MPF карт мозга крыс на модели экспериментальной ишемии с использованием специализированного томографа для мелких лабораторных животных с напряженностью магнитного поля 7 Т. Кроме того, в протокол сканирования было включено картирование измеряемого коэффициента диффузии (apparent diffusion coefficient, ADC), которое является общепризнанным методом оценки ишемического повреждения ткани. Осуществлено сканирование 5 крыс с моделированием ишемического инсульта (модель МСАО – окклюзия срединной церебральной артерии) и 5 контрольных крыс в четырех временных точках на 1, 3, 12 и 33 сутки после операции. Сравнение динамики изменений MPF и ADC показало, что MPF чувствительна к цитотоксическому и вазогенному отеку, однако снижение MPF, обусловленное отеком, существенно меньше, чем снижение MPF, обусловленное демиелинизацией. Величины MPF в хроническом инфаркте близки по значениям к немиелинизированному белому веществу и глиальным опухолям, что указывает на практически полную потерю миелина. Относительное снижение MPF в сером веществе (60-70%) оказалось существенно выше, чем в белом (30-35%), причем в коре наблюдалось более выраженное снижение MPF (71%), чем в стриатуме (61%). Наблюдаемые различия могут быть связаны как с меньшей степенью повреждения подкорковых структур по сравнению с корой, а также с возможной сопутствующей ремиелинизацией. Детальное объяснение описанным выше механизмам планируется проверить на следующем этапе исследований, включающим гистологические и иммуногистохимические исследования в разные временные точки на модели ишемического инфаркта.

Для достижения целей поставленных в Задаче 3 (Гистологическая валидация точности измерения плотности миелина, полученного с помощью метода картирования макромолекулярной протонной фракции в сером веществе на модели рассеянного склероза у мышей) были проведены две серии экспериментов на купризоновой модели демиелинизации. В эксперименты были включены разные линии мышей (C57Bl/6j и CD1) и разные способы введения купризона (с кормом и питьем). В обеих сериях контрольные животные и мыши, кормленные купризоном, сканировались на томографе для мелких лабораторных животных с напряженностью магнитного поля 11.7 Т с использованием протокола быстрого одноточечного MPF картирования и с последующим иммуногистохимическим и гистологическим определением содержания миелина в структурах белого и серого вещества мозга. Наиболее сильный эффект на развитие демиелинизации был обнаружен на мышах линии C57Bl/6j, которые получали купризон с питьем; в данной группе значительная демиелинизация была обнаружена

при помощи МРФ картирования, LFB окрашиванием, а также иммуногистохимическим окрашиванием, специфичным к миелину (МВР) в белом веществе и в корковых и подкорковых структурах серого вещества. Степень демиелинизации варьировала между 23% (мозолистое тело) и 5% (кора мозга). В эксперименте на мышях линии CD1 кормленных купризоном наблюдалась менее выраженная демиелинизация структур белого вещества и подкоркового серого вещества, которую можно было обнаружить методами МРФ картирования, LFB и МВР. В обеих сериях экспериментов значения МРФ для различных анатомических структур коррелировали с данными количественной гистологии и иммуногистохимии, коэффициент корреляции Пирсона варьировал между 0.85 и 0.95. Проведенное исследование является первой демонстрацией применения МРФ для обнаружения демиелинизации мозга на купризоновой модели с сильной корреляцией между МРФ и количественной гистологией на большой выборке животных. В заключение, наши результаты обеспечивают надежную валидацию МРФ как неинвазивного биомаркера для изображения миелина и подтверждает высокую аккуратность МРФ картирования для количественной оценки процесса демиелинизации белого и серого вещества.

Для решения Задачи 4 (внедрение метода, основанного на МРФ-картировании миелина, в клиническую МРТ и демонстрация возможности оценки миелинизации серого вещества в процессе постнатального созревания мозга человека) метод быстрого картирования МРФ был внедрен на клиническом томографе Toshiba Vantage Titan с напряженность поля 1.5 Т, установленном в Детской клинической больнице № 1 г. Томска. Была проведена оптимизация протокола МРФ картирования для обеспечения минимально возможного времени сканирования с учетом размера головы испытуемого и необходимого разрешения. Для детей разных возрастных групп были созданы 3 стандартных протокола МРФ картирования. Была реализована схема сбора данных для одноточечного картирования МРФ с синтетическим референтным изображением, которая включала 3 импульсных последовательности: МТ-, Т1 и PD-взвешенные последовательности. Проведено 23 МРТ исследования у детей в возрасте от 0 до 14 лет.

Проведен анализ возрастных изменений МРФ для исследования возможности использования этого параметра для мониторинга миелинизации серого и белого вещества при созревании мозга. Данные были проанализированы для четырех анатомических регионов белого и серого вещества, включая мозолистое тело, внутреннюю капсулу, стриатум и затылочные извилины коры мозга. Установлено, что возрастные изменения МРФ адекватно описываются общей логистической моделью с периодом быстрой миелинизации в течение первого года жизни. Скорость миелинизации оказалась различной в разных структурах мозга. В частности, для внутренней капсулы показана ранняя миелинизация с центральной точкой на логистической кривой в возрасте около 20 недель, в то время как для мозолистого тела эта точка достигается в возрасте приблизительно 45 недель. Поскольку эти наблюдения согласуются с текущими концепциями, основанными на нейроанатомических данных, полученные в проекте результаты дали принципиально новые знания о динамике миелинизации серого вещества мозга человека в процессе созревания, которая не была

исследована ранее. Стриатум и затылочная кора показали четкую миелинизацию с центральной точкой на логистической кривой в возрасте 20 и 30 недель соответственно.

В целом, предварительные результаты подтвердили уникальную возможность использования МРФ для оценки миелинизации как белого, так и серого вещества в процессе созревания мозга и позволяют рассматривать МРФ картирование в качестве универсального инструмента для фундаментальных и клинических исследования развития и созревания мозга. Более детальный анализ созревания мозга в разных мозговых регионах будет проведен на следующем этапе выполнения проекта с использованием большей выборки испытуемых и большим набором исследуемых анатомических структур мозга.

В 2015 году было проведено два международных научных мероприятия (симпозиум и конференция) с элементами молодежной научной школы.

1. Симпозиум «Современные методы магнитно-резонансной томографии для исследования структурной и функциональной организации головного мозга» проходил в рамках Одиннадцатого международного междисциплинарного конгресса «Нейронаука для психологии и медицины» 6-7 июня в г. Судак, Россия. Были представлены пленарные лекции ведущих специалистов в области МРТ и доклады молодых ученых. В мероприятии приняло участие 32 российских и 11 зарубежных ученых (в том числе – членов международной научной группы), а также 48 российских молодых ученых, аспирантов и студентов очной формы обучения.

2. Вторая международная конференция с элементами молодежной научной школы «Магнитно-резонансная томография в биомедицинских исследованиях» проводилась с 7 по 9 сентября в Томском государственном университете (ТГУ), г. Томск, Россия. По итогам проведенной в 2014 году в ТГУ Первой международной конференции было принято решение расширить тематику конференции, включив в нее не только научные результаты МРТ-исследований, проводимых на лабораторных животных, но и результаты передовых клинических исследований, для того, чтобы обеспечить тесную взаимосвязь фундаментальных направлений с последующей трансляцией новейших технологий в клинику. В мероприятии приняло участие 25 российских и 13 зарубежных ученых (в том числе – членов международной научной группы), а также 152 российских молодых ученых, аспирантов и студентов очной формы обучения. По итогам Конференции подготовлен сборник статей, который будет опубликован издательством IOP Publishing Group журнале «Journal of Physics: Conference Series», индексируемом в Scopus.