

Tekst publiciran dec.1991 v Radiol. Jugosl.

Univerzitetni klinični center,
Inštitut za diagnostično in interventno radiologijo

KONTRASTNA SREDSTVA PRI SLIKANJU Z MAGNETNO RESONANCO

CONTRAST AGENTS IN MR IMAGING

Kristl V.

Abstract:

Basic mechanisms of contrast agents enhancement in MR imaging are presented. The most important chemical compounds, which are contrast carriers like paramagnetic ions, nitroxides, superparamagnetic and ferromagnetic particles are described. Their proton relaxivity, stability, toxicity and usability are given.

Key words: contrast agents, magnetical resonance imaging

Uvod

Kvaliteta slike je pri slikanju z magnetno resonanco (MR) odvisna od intenzitete merjenega signala. Signal je neodvisen od števila protonov (^1H) in hitrosti relaksacije. Osnovni vir kontrasta v MR sta različna relaksacijska časa posameznih tkiv in razlike v gostoti vode (protonov H). MR sliko dobimo tako, da v močno magnetno polje postavimo vzorec in ga obsevamo z radiofrekvenčnimi (RF) pulzi. Protoni z magnetnimi lastnostmi se v polju usmerijo, RF pulzi pa jih izmaknejo iz ravnovesne lege. T_1 ali longitudinalni oz. spin - mrežni relaksacijski čas je interval, ki ga skupina protonov potrebuje, da se ponovno uredi z magnetnim poljem in se vzpostavi longitudinalna (vzdolžna) magnetizacija. T_2 ali transverzalni oz. spin-spinski relaksacijski čas pove, kako dolgo tkivo zadrži začasno pravokotno magnetizacijo, ki smo jo inducirali z RF pulzom. To

je torej čas, ki je potreben, da izgine pravokotna magnetizacija na osnovno zunanje magnetno polje (1).

Kontrast slike lahko teoretično spreminjamo z:

I. variacijo parametrov snemanja (poseg v računalniški program)

II. poseganjem v tkiva (v pacienta)

- spreminjanje gostote protonov ^1H (uporaba diuretikov, alkohol, hormoni, dehidracija, veliko vode v GIT ...)

- spreminjanje temperature (T_1 je odvisen od temperature zato lahko spreminjamo kontrastnost z ogrevanjem ali ohlajevanjem posameznega dela telesa ali vzorca) - spreminjanje magnetnega polja (kar dosežemo s kontrastnimi sredstvi (KS)).

S KS v MR skrajšamo T_1 in T_2 . Kontrasta na sliki dejansko ne vidimo, pač pa je viden le njegov učinek oziroma vpliv KS na magnetno polje vode. V tem se MR KS ločijo od rentgenskih. Tudi uporabne doze so različne. Doze pri MR so od 10^{-5} do 10^{-3} mol/kg, pri rentgenskih jodnih KS pa so doze 10^{-3} do 10^{-2} mol/kg. Tkiva, ki so brez notranjega MR signala ali je šibak, so neprimerna za prikazovanje s KS. To so tkiva z nizko spinsko gostoto, zaradi majhne gostote protonov, kratek T_2 (skelet) ali premikajoči deli (tekoča kri). S povečevanjem koncentracije KS se MR signal ne spreminja linearno in pri večjih koncentracijah KS MR signal povsem izgine (slika 1). Najpomembnejša fizikalna lastnost KS je pozitivna magnetna dovzetnost (magnetna susceptibilnost) (2), ki predstavlja razmerje inducirane magnetizacije proti uporabljenemu polju. Ta vrednost podaja sprejemljivost določene snovi za magnetizacijo z zunanjim magnetnim poljem. Odvisna je od atomske zgradbe in porazdelitve elektronov na orbitalah.

Snovi delimo v diamagnetne, paramagnetne, superparamagnetne in feromagnetne. Diamagnetne snovi imajo negativno magnetno dovzetnost in zato se v njih inducira negativna magnetizacija. Ta efekt je zelo šibak. Večina organskih in anorganskih spojin kaže le diamagnetne lastnosti in so kot take nezanimive kot KS za slikanje z MR.

Princip delovanja kontrastnih sredstev

Značilen za paramagnetne, superparamagnetne in feromagnetne snovi je magnetni učinek nesparjenih elektronskih spinov. Te snovi imajo pozitivno magnetno dovzetnost in zato povzročajo pozitivno inducirano magnetizacijo v magnetnem polju. Magnetni tok okrepi v teh snoveh magnetno polje. Povišana temperatura kvira magnetno urejenost snovi in manjša magnetno dovzetnost. Pri določeni temperaturi (Neelova temperatura) je magnetna dovzetnost enaka nič. Pri spreminjanju magnetnega polja kažejo feromagnetni materiali lastno magnetizacijo, ki ostane tudi po njegovi odstranitvi. Tak magnetni "spomin" se med drugim uporablja za magnetne zapise in za stalne magnete. Superparamagnetne snovi obravnavamo kot termodinamsko neodvisne delce. Njihova magnetna dovzetnost (po atomu ali molu npr. železa) daleč presega odgovarjajoče

paramagnetne snovi. Superparamagnetna dovzetnost se linearno veča z močjo polja pri šibkih jakostih in se nasiti (doseže maksimum) pri zadostni jakosti magnetnega polja. Po odstranitvi zunanjega magnetnega polja se inducirana magnetizacija izgubi. Paramagnetna KS vnašamo v organizem kot vodne raztopine, superparamagnetna pa suspendirana. Prva imajo široko uporabnost, druga pa le pri prikazovanju retikuloendotelialnega sistema (RES), kjer izkoriščajo fagocitozo.

Relaksacijski vplivi paramagnetnih snovi so bili prvič opisani leta 1946 (3). Paramagnetizem izhaja iz nesparjenega elektrona, ki tvori magnetno polje in spremeni relaksacijo. Pozitivna magnetna dovzetnost je potrebna, ni pa zadostna za povečanje relaksacije. Večanje relaksacije je odvisno od bližine jedrskih in elektronskih spinov in časa medsebojnega delovanja. Molekuli vode in paramagnetnega KS morata biti zelo blizu, da se prva hitreje relaksira. Različen vpliv na T_1 in T_2 lahko razumemo kot posledico neravnotežja magnetnih momentov, bližine različnih spinov in vpliv faktorja spin/čas. Dogajanja niso popolnoma razjasnjena, čeprav opisujeta naslednji enačbi približne osnove za oblikovanje paramagnetnih KS (4)

$$\frac{1}{T_{1\text{opazovan}}} = \frac{1}{T_{1\text{paramagneten}}} + \frac{1}{T_{1\text{diamagneten}}}$$

$$\frac{1}{T_{2\text{opazovan}}} = \frac{1}{T_{2\text{paramagneten}}} + \frac{1}{T_{2\text{diamagneten}}}$$

$1/T_1$ in $1/T_2$ sta relaksacijski razmerji, opazovani v prisotnosti paramagnetnih molekul. So le vsota proton relaksacijskih razmerij, ki bi se pokazala brez paramagnetne snovi in razmerij ki so povzročena z vnašanjem le teh. Paramagnetne snovi znižajo T_1 in T_2 . Relaksivnost pomeni relativno spremembo relaksacije merjenega vzorca ali tkiva glede na koncentracijo KS (npr. relaksivnost 8 pomeni, da se ob uporabi 1mmol KS poveča relaksacija tkiva za 8-krat).

Kot prva KS v MR poglejmo topne paramagnetne snovi (5,6). Določeni kovinski kationi Gd^{+3} , Mn^{+2} , Fe^{+3} in Cr^{+3} so paramagnetni zaradi nesparjenih elektronskih spinov v 3d (prehodne kovine) ali 4f (lantanidi) atomskih orbitalah. Število nesparjenih elektronov je lahko od 0 do 7. Neto molekularni magnetni moment je odvisen od orbitalnega gibanja elektronov in zaščitnega vpliva, ki ga povzroča elektronska vezava v molekularnem povezovanju. Druga bistvena zahteva za KS je visoka toleranca (Tabela 1). Slabo prenašanje Gd^{+3} , Cr^{+3} , Mn^{+2} , Fe^{+3} prostih kovinskih

ionov je bil vzrok, da so jih izločili iz proučevanj, čeprav imajo izrazito relaksirajoče delovanje. Učinkovita strategija za zmanjšanje toksičnosti, pri tem pa se ohrani paramagnetni učinek, je keliranje ionov z makrocikličnimi ligandi (slika 2). S tem se onemogoči možnost vezave ionov na biološka vezna mesta. Keliranje zmanjša toksičnost, vpliva na biodistribucijo, stabilnost in izločanje. Stabilnost kompleksov predstavlja kritičen podatek za toksično delovanje. Gd^{+3} -ion je v Gd-DTPA tesno pripet s termodinamsko stabilnostno konstanto $K_s = 10^{23}$, v DOTA pa še močnejše, $K_s = 10^{28}$, kar rezultira v višji letalni dozi. Keliranje kovine spremeni njeno obnašanje. Pristop molekul topila do kovinskega iona je zmanjšan, upočasni se njegovo gibanje, čuti se vpliv liganda na relaksacijo.

Lantanidi

Uporabnost lantanidov se je pokazala šele pri razvoju MR KS. Močno skrajšajo relaksacijske čase. Gd^{+3} in Eu^{+2} imata sedem nesparjenih elektronov in najvišje spinsko kvantno število. Gd^{+3} ima od vseh proučevanih paramagnetnih snovi največji relaksacijski učinek. Keliranje lantanidov spremeni relaksivnost in toksičnost. Lantanidi imajo veliko afiniteto vezave z poliaminopolikarboksilnimi kislinami. Testirajo dietilentriaminpentaocetno kislino (DTPA), ki se je že uporabljala kot antidot pri zastrupitvah z lantanidi. Gd^{+3} kaže največjo protonsko relaksacijo pri vezavi v makromolekularne komplekse z aminokarboksilnimi kislinami, derivati albumina, imunoglobulini ali biokompatibilnimi polimeri. Lantanidov v telesu sesalcev normalno ni. Prosti lantanidi so v dozah od 10 do 20 mol/kg močno hepatotoksični. Pojavijo se maščobne degeneracije jeter in fokalne nekroze že po 12 urah. Pri poskusih in vitro povzročijo nizke doze lantanidov precipitacijo nukleinskih kislin, inhibirajo RNA polimerazo, inhibirajo jetrno lipoproteinsko mobilizacijo, inhibirajo glukoneogenezo, tvorijo efekte kalcijevega antagonizma, stimulirajo izolirano sproščanje nadledvičnih kateholaminov in nadomeščajo kalcij v encimih, ki vsebujejo kovino (metaloencimi) in s tem spremenijo njihovo aktivnost. Znanih je nekaj Gd^{+3} izredno stabilnih kompleksov, ki se tudi zadovoljivo izločajo iz organizma: Gd-DTPA, Gd-CDTA (cikloheksandiamintetraocetna kislina) in Gd-DOTA (tetraciklododekantetraocetna kislina). So anionski kelati, ki se nespecifično porazdelijo ekstracelularno in izločijo z glomerularno filtracijo. Normalno ne prestopijo hemato-encefalne bariere. Za razliko od prostih kovin in manj stabilnih kelatov se v uporabljenih dozah dobro prenašajo. Gd-DTPA dimeglumin je prvo klinično testirano parenteralno KS za MR (7) in junija 1988 registrirano pri Food and Drug Administration (FDA) v ZDA. Dosegljiv je pod zaščitenim imenom Magnevist^R (Schering). Reverzibilni stranski učinki Gd-DTPA so hipotenzija, dvig serumskega železa (pri 15 do 30 % pacientih, vzrok je neznan) in pojav nenormalnih jetrnih funkcijskih testov z dvigom bilirubina (pri 2% pacientov, mehanizem neznan).

Druge spojine gadolinija kažejo predvsem afiniteto do RES -a in hepatobiliarnega sistema. Gd-oksidi in hidroksidi so pri fiziološkem pH-ju netopni in se lahko oblikujejo kot suspenzije. Nekateri Gd-kompleksi kot npr. Gd-iminodiacetati se večinoma pojavijo v hepatobiliarnem sistemu in izločijo preko biliarnih poti (8). Ostali lantanidi so bili zaradi izredne toksičnosti manj testirani, čeprav imajo nekateri večji magnetni moment.

Prehodne kovine

so močno relaksirajoči elementi. Sem sodijo posebno Mn^{+2} , Cr^{+3} in Fe^{+3} z nesparjenimi elektroni. Omenjeni elementi so prisotni tudi v biomolekulah. Mn^{+2} je odličen relaksirajoč element z najdaljšim elektron-spinskim relaksacijskim časom med prehodnimi kovinami. $MnCl_2$ povzroči takojšnjo hepatobiliarno relaksacijo, ki pojenja šele po več urah. Mehanizem te nenavadne poti izločanja je neznan. Nekateri Mn-kelati kot npr. Mn -PDTA (mangan-propanodiaminotetraocetna kislina) in Mn -EGTA (mangan-etilenglikolaminoetiletetraocetna kislina) kažejo podobno afiniteto do hepatobiliarnega sistema (9). Vnešeni manganovi kompleksi se v telesu metabolizirajo, metaboliti še niso popolnoma znani. Verjetno se Mn v krvnem obtoku veže z makromolekulami. Prost Mn^{+2} je strupen. $MnCl_2$ v večjih dozah kot 10 mol/kg je kardiovaskularno toksičen zaradi blokade kalcija. Pojavijo se spremembe v EKG zapisu (QT in PR interval se podaljšata), pojavi se povišan krvni tlak in lahko tudi ventrikularna fibrilacija, tahikardija ali bradikardija pri dozi 0,2 mmol/kg. Cr^{+3} so proučevali v kompleksu z EDTA, kot prost pa je strupen.

V skupini prehodnih kovin so obetavni kontrasti z železom. Železove spojine vsebujejo nevtravno železo (Fe), ione v feri (Fe^{+3}) ali fero (Fe^{+2}) obliki. Feri in fero spojine vsebujejo štiri ali pet 3d orbitalnih elektronov, ki se obnašajo paramagnetno ali superparamagnetno. Železo je normalno prisotno v telesu (1 mmol/kg), njegov metabolizem je dobro poznan. Nahaja se v eritrocitih, kostnem mozgu, RES-u in mišicah, kjer je vezano na funkcionalne proteine (hemoglobin, mioglobin, hem- ali nehem-encime, transportne proteine - transferin,...). Glavna biološka naloga železa so redoks reakcije v transportu kisika in elektronov. Znale so tudi zastrupitve z železom. Posebno so pogoste akutne zastrupitve pri otrocih pri peroralnem vnosu večjih količin zdravil z železom. Pojavijo se gastrointestinalne (GIT) motnje, hepatična in srčna nekroza. Opisana je celo smrt že pri nizki peroralni dozi (2 mmol/kg). Parenteralno vnešeno prosto železo je toksično še v nižjih koncentracijah. Doze parenteralno vnešenega železa 2 mmol Fe/dan kot železo z dekstranom lahko povzročijo lokalno bolečino, limfadenitis, glavobol, slabost, vročino, artikularijo, artralgijsko, mialgijsko, hipotenzijo in redko anafilaksijo. KS v MR vsebujejo železo v obliki soli za peroralno uporabo (za prikaz GIT) in v obliki stabilnih kelatov za parenteralno. Prva uporabljena Fe-sol je bil $FeCl_3$, vendar ni ustrezal, ker draži GIT, boljši je železo-amonijevcitrat. Lepo prikaže proksimalni del GIT, v distalnem pa je efekt slabši, ker verjetno pride do razredčitve in redukcije spojine (10). Železov kompleks Ferrioxamin B koristijo za prikazovanje sečnih poti, je pa kardiovaskularno toksičen in kot tak nevaren. Obetavna sta železova fenolata, Fe-EHPG (etilendihidroksifenilglicin) in Fe-HBED (hidroksibenziletildiamin), ki se izločata hepatobiliarno (11,12). Fe-HBED je najstabilnejši železov kelat, ki povzroči takojšnjo hepatobiliarno obarvanje in obarvanje sečnih poti pri T_1 obteženih slikah MR.

Superparamagnetni železov oksid apliciran subkutano se zbira v bezgavkah in predstavlja KS na MR limfografijo (13).

Nitroksili

Nitroksili so organski radikali z vsaj enim nesparjenim elektronom. Pred razvojem MR so jih uporabljali kot paramagnetne snovi v biokemiji. Organski prosti radikali so relativno malo toksični. V organizmu se metabolizirajo po oksidacijsko-redukcijskem encimskem mehanizmu v hidrosilamine, ki pa niso paramagnetni. Hitrost redukcije je višja v hipoksičnih celicah, kar se lahko izkorišča za merjenje intracelularnega nivoja kisika (14). Farmakološka proučevanja vključujejo vrednotenje farmakokinetičnih parametrov. Možno jih je modificirati s kemijsko sintezo. Relaksacijski učinki nitroksilov se povečajo s povečanjem molekulske mase, s proteinsko bogatim okoljem, šibkejšim magnetnim poljem, z uvedbo alkoholnih ali amidnih skupin. Večji efekt imajo nitroksili piridinskega tipa, piperidinski pa so v organizmu stabilnejši. V primerjavi s kovinskimi paramagnetnimi spojinami so nitroksili znatno šibkejši, vendar imajo najdaljši elektron-spinski relaksacijski čas. Iz tega sledi, da imajo makromolekularni konjugati nitroksilov s proteini, maščobnimi kislinami ali aminokislinami upočasnjeno molekularno gibanje in s tem izboljšano relaksivnost (ca. 10-krat) (15,16). Za povečanje učinkovitosti in varnosti nitroksilov kot KS v MR potekajo intenzivne raziskave. Posebno pozornost zasluži dejstvo, da bi nitroksile potencialno lahko uporabili kot indikatorje metabolične aktivnosti organizma (14). Jasno je, da prosti radikali okvarjajo DNA, ni pa podatkov, ki bi pripisovali nitroksilom mutageno ali kancerogeno delovanje.

Tehnološke možnosti

Oblikovanje KS za MR vključuje vgrajevanje paramagnetnih (Gd-DTPA, Mn^{+2} -kelatov,...), superparamagnetnih ali feromagnetnih spojin v liposome ali koloidno disperzne sisteme (17). Ti so se izkazali zelo uporabni za prikazovanje RES-a, ker se liposomi z vgrajenim manganom kopičijo izključno v RES-u s fagocitozo. Hkrati se pokažejo tudi jetra (Kupferjeve celice). Uporaba gadolinijevega oksida je v teh oblikah omejena zaradi njegovega hepatotoksičnega delovanja (subakutni multifokalni hepatitis). Superparamagnetne in feromagnetne spojine v RES-u zmanjšajo intenzivnost signala, kar privede do bistvenega skrajšanja T_2 in se tako razlikujejo od učinkovanja topnih paramagnetnih snovi. Zaradi zmanjšanja signala organ na sliki ni več viden. Patološko spremenjeno tkivo obdrži svoj signal in je zaradi večje kontrastnosti bistveno bolj vidno. Glavni problem je dolgo zadrževanje teh oblik kontrasta v RES-u, za kar so potrebna dodatna klinična testiranja.

Ciljana kontrastna sredstva

Ciljana kontrastna sredstva predstavljajo KS za specifično področje organizma. Pristop je podoben kot pri protitelesih označenih z radioindikatorjem v scintigrafiji. Poslužujejo se konjugiranja specifičnih proteinov z DTPA in paramagnetnim ionom. Zaradi upočasnjene rotacijskega gibanja kompleksa se poveča relaksivnost in obdrži imunoreaktivnost (18). Pri biološkem testiranju so dokazali pojav preobčutljivosti, kar omejuje uporabnost teh kompleksov. Pri označevanju protiteles z železom nastopi prevelika obremenitev organizma z železom.

Raziskujejo tudi druge snovi kot so iskalci tumorjev (porfirini) in intravaskularni označevalci. Pomankljivost le teh je njihova akutna toksičnost.

Zaključek

V članku je opisan osnovni mehanizem delovanja KS v MR. Povdarjene so najvažnejše kemične skupine, ki so nosilci kontrasta: paramagnetni ioni, nitroksili, superparamagnetni in feromagnetni delci. Predstavljene so glede na protonsko relaksivnost, stabilnost, toksičnost in uporabnost v MR slikanju.

Literatura

1. Schild HH. MRI made easy. Schering AG, Berlin 1990
2. Stark DD, Bradley WG. Magnetic resonance imaging. Mosbey Company, New York, 1988
3. Bloch F, Hansen WW, Packard P. The nuclear induction experiment. *Physiol Rev* 1946; 70: 474-485
4. Bertini I, Luchinat JD. NMR of paramagnetic molecules. Menlo Park. CA 1986 Benjamin/cammings
5. Lauterbur PC, Mendosa-Dias MH, Rudin AM. Augmentation of tissue water proton spin lattice relaxation rates by in vivo addition of paramagnetic ions. V: Dutton PL, Leigh JS, Scarpa A (eds). *Frontiers of biological energetics*. Academic Press, inc. New York 1978
6. Bačić G. MRI kontrasti: mehanizam dejstva i primena. *Farm vestn* 1990;41:280-85
7. Brasch RC. Principles of MRI contrast enhancement. V: Budinger T.F., Margulis A.R. (ed.), *Medical Magnetic Resonance*, Society of Magnetic Resonance in Medicine. 1988, 121-28.
8. Lauffer RB. Paramagnetic metal complexes as water proton relaxation agents for NMR imaging: theory and design. *Chem Rev* 1987;87:901-27.
9. Spiller M, Brown RD, Koenig SH et al. The state of Mn^{+2} in liver bile and blood after iv injection or infusion of Mn^{+2} chelates in rabbits investigated using the field dependence of $1/T_1$. *Soc Magn Res Med* 1986; 25-26

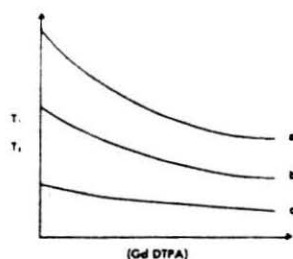
10. Wesbey GE, Brasch RC, Goldberg HI, et al. Clinical experience with dilute oral iron solutions used for GIT contrast enhancement in abdominal NMR imaging. *Magn Reson Imaging* 1985; 3: 57-64
11. Engelstad BL, Ramos EC, Macapinlac HA, et al. Fe-HBED and Fe-EHPG iron complexes exhibiting hepatobiliary enhancement in MRI. *Clin Nucl Med* 1986; 11: p 19
12. Renshaw PF, Owen CS, Mc Laughline AC, et al. Ferromagnetic contrast agents: a new approach. *Magn Reson Med* 1986; 3: 217-25
13. Saini S, Modic MT, Hamm B, Hahn PF. Advances in contrast-enhanced MR imaging. *AJR* 1991; 156: 235-39
14. Demšar F, Kveder M, Rugelj S. et al. Hydroxylamines as oxygen-sensitive procontrast agents for in vivo MRI. *J Magn Reson* 1991;95: (in press)
15. Lovin JD, Wesbey GE, Engelstad BL, et al. Structure-relaxivity relationships for sixteen nitroxide spin labels potentially suitable as NMR contrast agents. *Magn Reson Imaging* 1985; 3: 73-81
16. Ehman LR, Brasch RC, McNamara MT, et al. Diradical nitroxyl spin label contrast agents for magnetic resonance imaging. A comparison of relaxation effectiveness. *Invest Radiol* 1986; 21: 125-31.
17. Unger E, Needleman P, Cullis P, Tilcock C. Gadolinium-DTPA liposomes as a potential MRI contrast agent. *Invest Radiol* 1988; 23: 928-932
18. Schreier P, Aisen AM. Monoclonal antibodies labeled with polymeric paramagnetic ion chelates. *Magn Reson Med* 1986; 3: 336-40

Dr. Franciju Demšarju, Institut Jožef Stefan, Ljubljana, se iskreno zahvaljujem za strokovne nasvete in pomoč.

Naslov avtorja: Vinko Kristl, rentgenolog, IDIR, UKC Ljubljana, Zaloška 7, 61000 Ljubljana, Slovenia.

Slika 1: Vpliv koncentracije Gd-DTPA na spremembe T_1 ali T_2 (a-cerebrospinalna tekočina, b-mišica, c-jetra) (2).

Figure 1: Effect of Gd-DTPA concentration on changes in T_1 or T_2 (a-cerebrospinal fluid, b-muscle, c-liver) (2).



Slika 2: Strukturne formule Gd-kelatov
Figure 2: Structural formules of Gd-chelates

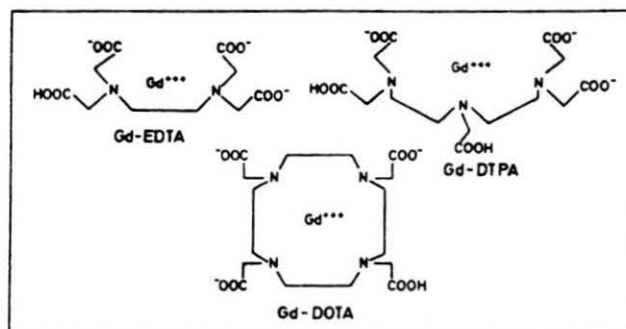


Tabela 1: Toksičnost različnih paramagnetnih kontrastnih spojin, ki so potencialno zanimive za MR slikanje

Table 1: Toxicity of several paramagnetic contrast agents which are of potential interest in MR imaging

Spojina Compound	Toksičnost Toxicity (mM/kg)
MnCl ₂	0,22
Na ₃ MnDTPA	1,9
Na ₂ MnEDTA	7,0
GdCl ₃	0,26
Na ₂ GdDTPA	20,0