

О Т З Ы В

официального оппонента

на диссертационную работу Городецкого Артема Александровича

«Развитие методов томографии ЭПР и ОМРТ

для визуализации оксигенации и ацидоза биологических тканей»,

представленную на соискание ученой степени кандидата физико-математических наук по специальности 01.04.17 - химическая физика, горение и взрыв, физика экстремальных состояний вещества.

Методы магнитно-резонансной томографии широко используются для диагностики паталогических процессов и состояний человека и животных. С их помощью возможно исследование пространственного распределения в организме парамагнитных частиц, в том числе кислорода, и магнитных ядер с большим магнитным моментом. Использование специальных методов измерения сигналов магнитного резонанса и математической обработки многомерных экспериментальных данных позволяет визуализировать различные характеристики тканей живых организмов в норме и патологии. Развитие методов измерения распределения кислорода в тканях и степени их закисленности является одной из важнейших задач современной диагностики. Такие патологии, как ишемическая болезнь сердца и злокачественные новообразования, наносят серьезный урон здоровью и часто являются причиной смерти в популяции вида *Homo sapiens*. Поэтому тема диссертации является важной и актуальной.

Диссертация общим объемом 119 страниц состоит из списка обозначений и сокращений; введения и четырех глав, включающих обзор литературы по использованию методов ЭПР для исследований *in vivo*, по методам реконструкции томографических изображений, и по теории метода Оверхаузер-усиленной магнитно-резонансной томографии (ОМРТ); главу с описанием экспериментальных методик, и 2 главы, где представлены результаты изучения оксигенации и рН сердца крысы в условиях искусственной ишемии и визуализация распределения контрастного реагента, кислорода, рН и неорганического фосфата (Pi) в опухолевой и здоровой тканях мышцы; заключения, результатов и выводов; списка литературы из 136 пунктов и благодарностей. Работа содержит 51 рисунок и 5 таблиц.

Во введении правильно и четко обоснованы актуальность работы, выбор методов и объектов изучения, сформулированы постановка задачи и цели исследования, приведены выносимые на защиту положения, сведения об апробации работы, личном вкладе соискателя и краткое описание диссертации.

Первая глава диссертации является литературным обзором, состоящим из трех частей. В первой части проведен репрезентативный анализ публикаций, посвященных изучению живых биологических объектов *in vivo* с применением метода ЭПР, описаны основные свойства спиновых меток и зондов, позволяющих получать информацию о концентрациях различных веществ в образце, таких как кислород (pO_2), NO, pH, сульфгидрильные группы, и т.п., представлены основы метода ЭПР томографии и особенности ОМРТ для работы *in vivo*. Во второй части приведен обзор основных методов реконструкции томографического изображения и изложены общие принципы получения проекций из первичных данных. Визуализация пространственного распределения измеряемых характеристик системы получается в результате решения обратной задачи томографии и требует применения специальных программ, реализующих сложные алгоритмы обработки многомерных массивов данных. Материал данной части литературного обзора подкреплён необходимыми математическими выкладками, что позволяет в должной мере понять характерные особенности каждого алгоритма реконструкции. В третьей части обзора описаны теоретические модели, используемые для расчета интенсивностей сигнала динамически поляризованных ядерных спинов за счет эффекта Оверхаузера при накачке электронных спинов контрастного агента достаточно сильным СВЧ полем. Использование теоретических моделей необходимо для корректной интерпретации данных ОМРТ и определения pO_2 и pH с помощью соответствующих контрастных агентов.

Во второй главе приведено описание экспериментальных подходов, методик подготовки образцов и калибровки параметров измеренных сигналов. Приведен разработанный автором алгоритм реконструкции спектрально-пространственных томограмм ЭПР. Материал главы разделен на две части, относящиеся к двум типам объектов – изолированное сердце крысы и ткани живых мышей, здоровые и опухолевые.

Третья глава посвящена визуализации и исследованию распределения кислорода и pH в изолированном сердце крысы. На первом этапе проведено изучение свойств радикалов, чувствительных к параметрам среды, 1) изотопзамещенного дикарбоксипроксила – нитроксильного радикала, чей спектр ЭПР зависит от концентрации кислорода в растворе, позволяя определять pO_2 в образце, проведены калибровочные измерения лоренцева вклада в ширину линии радикала; 2) радикала RSG, нитроксильного радикала, ковалентно связанного с молекулой глутатиона, спектр ЭПР которого зависит от pH в физиологически важном диапазоне значений из-за протонирования-депротонирования молекулы спинового зонда, изменяющего константу СТВ. На втором этапе автором проведен выбор алгоритма реконструкции спектрально-

пространственных томограмм ЭПР и проделана его модификация, которая позволяет получать неискаженную спектральную информацию из данных измерений за счет использования априорной информации о форме линии сигнала ЭПР. Разработанный модифицированный алгоритм был применен на последующих этапах для изучения фантомных образцов и изолированного живого сердца крысы в условиях перфузии, искусственно вызванной региональной ишемии и реперфузии. Опыты на фантомных образцах – пробирках известной формы с известными значениями определяемых параметров наглядно продемонстрировали корректность разработанного автором математического алгоритма реконструкции томограмм ЭПР. На последнем этапе было проведено изучение пространственного распределения pO_2 , pH и спинового зонда в изолированном сердце крысы в условиях перфузии (прокачки питательного раствора через сосудистую систему органа), искусственно вызванной региональной ишемии за счет наложения лигатуры на одну из коронарных артерий, и при реперфузии после снятия лигатуры. Измерения показали уменьшение pH в области ишемии на 0.5-0.7 единиц – миокардиальный ацидоз ткани сердечной мышцы, уменьшение концентрации кислорода в этой области от трех до десяти раз. При реперфузии снабжение кислородом пораженной области увеличивалось, но не восстанавливалось полностью до нормы.

В четвертой главе описана визуализация распределения в тканях живой мыши концентрации кислорода, pH, P_i и концентрации контрастного реагента методом ОМРТ. В первой, теоретической, части получены достаточно простые аналитические и полуэмпирические зависимости сигнала ЯМР, усиленного за счет эффекта Оверхаузера, от указанных величин. Эти зависимости были использованы в дальнейшем для решения обратной задачи ОМРТ с помощью разработанных автором алгоритмов. Возможность определения в одном эксперименте нескольких величин основана на уникальных свойствах дейтерированного фосфорилированного триарилметильного радикала $dpTAM$. Положение и форма линий ЭПР данного контрастного агента зависят от концентрации кислорода и самого радикала, протонирования-депротонирования карбоксильных групп, и концентрации неорганического фосфата в образце. Парамагнитная релаксация радикала, определяющая усиление сигнала ЯМР за счет эффекта Оверхаузера, также зависит от концентраций кислорода и радикала. Автором показано, что для визуализации распределения 4-х параметров необходимо провести измерения фактора усиления сигнала на трех частотах ЯМР (для протонированной и депротонированной форм $dpTAM$ и посередине между ними) при двух значениях мощности накачки, т.е. использовать 6 наборов данных ОМРТ и одно изображение МТР для устойчивого решения обратной задачи.

Во второй части главы продемонстрировано влияние присутствующих в системе парамагнитных центров, помимо основного контрастного агента (пердейтерированный финский тритильный радикал, dTAM), на сигнал ОМРТ. На модельных системах было доказано, что из-за появления дополнительного канала релаксации для поляризации ядер, обусловленного добавочной парамагнитной примесью, концентрация контрастного агента будет занижена, если при обработке данных этот канал не будет учтен. Обычно дополнительным парамагнетиком является кислород, значит pO_2 также будет заниженным. В диссертации впервые предложено учитывать этот эффект. Проверка на фантомных образцах показала необходимость учета утечки поляризации для корректного измерения распределения кислорода в образце. Эксперименты на опухолевых тканях мышей показали, что без учета описанного канала утечки ядерной поляризации занижение концентрации кислорода может достигать 30%.

В следующей части главы впервые продемонстрирован метод одновременной визуализации распределения контрастного агента, кислорода, рН и неорганического фосфата методом ОМРТ. Проверочные эксперименты с фантомными образцами продемонстрировали количественное согласие реконструированных величин с использованными при приготовлении образцов. Измерения здоровых и опухолевых тканей молочных желез мышей *in vivo* продемонстрировали коррелированное уменьшение pO_2 и рН и увеличение концентрации P_i в опухолевых тканях по сравнению со здоровыми.

Наиболее важными новыми результатами, полученными в диссертационной работе А. А. Городецкого, являются:

1. Разработка метода и экспериментальное доказательство возможности одновременной визуализации функциональных параметров pO_2 , рН, P_i и концентрации контрастного агента в водных растворах, здоровой и опухолевой тканях *in vivo* на примере молочных желез мыши.
2. Карты оксигенации и рН изолированного сердца крысы при региональной ишемии, а также карты оксигенации при перфузии и реперфузии. Продемонстрировано неполное восстановление оксигенации в условиях реперфузии, то есть в условиях эксперимента последствия искусственно вызванной ишемии обратимы только частично.
3. Разработан эффективный алгоритм реконструкции спектрально-пространственных томограмм ЭПР, позволяющий получать качественное изображение при относительно малом числе проекций без искажения спектральной информации.

Следует особо подчеркнуть серьезное методическое значение работы. Разработанные автором алгоритмы и методики достаточно универсальны и могут быть

использованы для изучения *in vivo* иных, по сравнению с диссертацией, органов, состояний и процессов в норме и патологии.

Диссертация содержит тщательно выполненные и подробно обсужденные данные, не оставляющие сомнений в их достоверности и обоснованности указанных выше выводов. Защищаемые положения содержат полученные впервые результаты и не противоречат известным достижениям фундаментальных и прикладных научных дисциплин.

Работа оформлена аккуратно, строго выдержана логическая последовательность хорошо структурированного текста, качественные иллюстрации дополняют основной материал и облегчают понимание полученных результатов.

По работе у меня есть следующие замечания:

- 1) В литературном обзоре (глава 1) на 4-ом рисунке использованы метки в виде звездочек, значение которых не разъяснено, подпись к этому рисунку лучше сделать более подробной либо убрать метки.
- 2) В подразделе 2.1.12 сказано, что при обработке первичных экспериментальных данных для избежания появления искажений при 256 экспериментальных точках на проекцию эти проекции дополнялись 64 нулями с обеих сторон, тогда как количество нулевых точек должно быть равно количеству экспериментальных (по 128 точек с каждого конца) для ликвидации корреляций между краями при использовании преобразования типа Фурье.
- 3) В модели для определения распределения неорганического фосфата 4.1.4 используется серия упрощающих предположений. Было бы полезно сравнить упрощенные и более точные формулы для нахождения диапазона параметров, где искажения из-за упрощений не существенны.
- 4) Для обработки экспериментальных данных автором разработано несколько оригинальных программ, которые уместно было бы защитить как объекты авторского права, зарегистрировав их официально, и, независимо от регистрации, привести в работе как приложения.

Указанные замечания, тем не менее, не снижают общую высокую оценку диссертации.

Название работы соответствует ее содержанию, автореферат и опубликованные статьи правильно и полно отражают содержание диссертации. Основные материалы диссертации опубликованы в виде 3-х статей в рецензируемых журналах, входящих в список ВАК и базу данных Web of Science, две из них относятся к квартили Q1. Результаты работы прошли апробацию в виде докладов на 10-ти конференциях, включая международные, что дополнительно свидетельствует о достоверности и важности

полученных результатов. По моему мнению, автор диссертационной работы продемонстрировал, что он является сформировавшимся исследователем, способным ставить и решать значимые научные задачи в области химической физики и смежных областях науки.

Считаю, что диссертационная работа «*Развитие методов томографии ЭПР и ОМРТ для визуализации оксигенации и ацидоза биологических тканей*» отвечает критериям п.9 Положения о порядке присуждения ученых степеней, утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 г., а ее автор, Городецкий Артем Александрович, заслуживает присуждения ученой степени кандидата физико-математических наук по специальности 01.04.17 – химическая физика, горение и взрыв, физика экстремальных состояний вещества.

Официальный оппонент

Марьясов Александр Георгиевич

кандидат физико-математических наук

специальность 01.04.17 - химическая физика, горение и взрыв, физика экстремальных состояний вещества

старший научный сотрудник лаборатории теоретической химии

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки

Институт химической кинетики и горения им. В.В.Воеводского

Сибирского отделения Российской академии наук (ИХКГ СО РАН)

630090, Россия, г.Новосибирск, ул.Институтская, д.3

Тел. 8(383)3331503,

Электронная почта: maryasov@kinetics.nsc.ru

26.09.2019

Согласен на включение моих персональных данных в документы, связанные с работой диссертационного совета, и их дальнейшую обработку.

Подпись Марьясова А.Г.  заверяю

Ученый секретарь ИХКГ СО РАН

д.ф.-м.н.




Н.А.Какуткина