

Губский Илья Леонидович

**Импульсные МРТ-последовательности, взвешенные по
магнитной восприимчивости, в исследовании геморрагической
трансформации при острой фокальной ишемии мозга
(клинико-экспериментальное исследование)**

1.5.2 – Биофизика

3.1.25 – Лучевая диагностика

АВТОРЕФЕРАТ

**диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук**

Москва – 2021

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Федеральный центр мозга и нейротехнологий» Федерального медико-биологического агентства

Научные руководители:

член-корр. РАН, доктор биологических наук, профессор
доктор медицинских наук, профессор

Осипов Анатолий Николаевич
Лелюк Владимир Геннадьевич

Официальные оппоненты:

кандидат медицинских наук, доцент

Петряйкин Алексей Владимирович

Государственное бюджетное учреждение здравоохранения города Москвы «Научно-практический клинический центр диагностики и телемедицинских технологий Департамента здравоохранения города Москвы», отдел инновационных технологий сектора стандартизации и контроля качества, ведущий научный сотрудник

доктор медицинских наук, профессор

Синицын Валентин Евгеньевич

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова», отдел лучевой диагностики Медицинского научно-образовательного центра, заведующий

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится «___»_____2021 года в _____ часов на заседании Диссертационного совета 21.2.058.07 на базе ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России по адресу: 117997, Москва, ул. Островитянова, д.1.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России по адресу: 117997, Москва, ул. Островитянова, д.1 и на сайте: <http://www.rsmu.ru>

Автореферат разослан «___»_____2021 года

Ученый секретарь Диссертационного совета
доктор медицинских наук, профессор



Кягова Алла Анатольевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность работы

К методам, взвешенным по магнитной восприимчивости, в магнитно-резонансной томографии (МРТ) в первую очередь относят T2*-взвешенные режимы [G.B. Chavhan с соавт., 2009] или появившиеся относительно недавно изображения, взвешенные по магнитной восприимчивости [Е.М. Нааске с соавт., 2004]. Все эти импульсные последовательности созданы для выявления изменений, обусловленных различиями T2*-времени релаксации ткани и фазовой неоднородностью поля. В то же время, все импульсные последовательности перед регистрацией сигнала переводят суммарную намагниченность в поперечную плоскость, а сигнал детектируется с определённой временной задержкой. Таким образом, импульсные последовательности в МРТ обладают той или иной T2*-взвешенностью. В некоторых случаях она компенсируется, как например, в спиновом эхе, в других – не только превалирует, но и оказывается усиленной с учетом фазовой составляющей, в частности, при визуализации с использованием изображений, взвешенных по магнитной восприимчивости (SWI) [Е.М. Нааске, 2006]. Чувствительность различных импульсных последовательностей также неодинакова и сопряжена с величиной индукции магнитного поля. Несмотря на очевидную перспективность практического использования импульсных последовательностей, взвешенных по магнитной восприимчивости, как в клинической практике, так и в исследовательских целях, их чувствительность к выявлению локальных неоднородностей поля различна и изучена недостаточно полно в сферах, где их начали активно применять.

Одним из церебральных изменений, которые диагностируются при острой фокальной ишемии головного мозга МР-методами, взвешенными по магнитной восприимчивости, является геморрагическая трансформация инфаркта мозга, которая может существенно осложнять течение ишемического инсульта и служить неблагоприятным фактором его прогноза [E.S. Sussman с соавт., 2013]. Известно также, что частота и тяжесть геморрагической трансформации связана с использованием наиболее перспективных методов лечения ишемического инсульта – тромболитической и эндоваскулярной терапии [J. Alvarez-Sabin с соавт., 2013], в связи с чем ранняя и точная диагностика данной патологии с применением современных импульсных последовательностей МРТ является актуальной.

Кровоизлияние при МРТ визуализируется по-разному не только при использовании различных импульсных последовательностей, но и в связи с неодинаковым состоянием молекулы гемоглобина, эритроцитов и многих других факторов [T. Allkemper с соавт., 2004]. Особенности визуализации таких изменений в модельном эксперименте методами, взвешенными по магнитной восприимчивости, также требуют дальнейшего изучения для более полного понимания биологических процессов, соответствующих получаемым при магнитно-резонансном исследовании изображениям.

В последние годы активно развиваются перспективные экспериментальные и клинические направления лечения ишемического инсульта, среди которых – клеточная терапия [Z. Li с соавт., 2020]. Наиболее приемлемыми из доступных для клинического применения с целью трансплантации являются мезенхимальные стволовые клетки (МСК). При этом особый интерес представляет частота геморрагической трансформации и степень её тяжести при экспериментальном инфаркте мозга и различных путях доставки стволовых клеток.

Применение стволовых клеток в лечении инфаркта мозга и необходимость контроля процессов лечения обусловили создание различных способов трекинга клеток, но одним из самых безопасных и точных прижизненных методов является их визуализация с использованием суперпарамагнитных наночастиц оксида железа (superparamagnetic iron oxide, SPIO) [J.T. Rosenberg с соавт., 2016]. Благодаря методам, взвешенным по магнитной восприимчивости и использованию SPIO, возможна визуализация меченных клеток при МРТ. Установление особенностей распределения и миграции меченных стволовых клеток в эксперименте требует уточнений и рассматривается как важнейший и актуальный этап перед трансляцией клеточных технологий в клиническую медицину [C.V. Borlongan, 2019].

Цель и задачи

Целью исследования явилось изучение особенностей диагностики церебральных изменений, выявляемых методами МРТ, взвешенными по магнитной восприимчивости, у пациентов с ишемическим инсультом и у экспериментальных животных с естественным течением острой фокальной церебральной ишемии и в условиях применения клеточной терапии.

Для достижения поставленной цели были сформулированы следующие задачи.

1. Оценить особенности различных импульсных последовательностей, позволяющих получать изображения, взвешенные по магнитной восприимчивости, для визуализации церебральных кровоизлияний на МР-томографах с различной величиной магнитной индукции.

2. Изучить и описать частоту геморрагической трансформации, выявляемой при использовании импульсных последовательностей, позволяющих получать изображения, взвешенные по магнитной восприимчивости, у пациентов с инфарктом головного мозга.

3. Исследовать частоту геморрагической трансформации, выявляемой с применением импульсных последовательностей, взвешенных по магнитной восприимчивости, у экспериментальных животных с острой фокальной ишемией головного мозга на фоне клеточной терапии при стереотаксической, внутривенной и внутриартериальной трансплантации мезенхимальных стволовых клеток.

4. Провести качественную и количественную оценку процессов биodeградации гемоглобина, мембран эритроцитов и агрегатного состояния крови в состоянии, моделирующем кровоизлияние в мозг с применением методов, позволяющих получать изображения, взвешенные по магнитной восприимчивости, в эксперименте. На основе полученных данных разработать математическую модель с использованием алгоритмов машинного обучения для классификации содержимого гематомы по данным количественной МРТ.

5. Проанализировать возможность использования импульсных последовательностей, предполагающих получение изображений, взвешенных по магнитной восприимчивости, для визуализации мезенхимальных стволовых клеток, меченных суперпарамагнитной меткой.

Теоретическая и практическая значимость работы

Разработана модель и охарактеризован (качественно и количественно) процесс биodeградации внутримозгового кровоизлияния с использованием МР-методов, взвешенных по магнитной восприимчивости, что позволяет расширить представления о биологических процессах, определяющих МРТ-изменения при данной патологии.

Показано, что импульсная последовательность SWI, взвешенная по магнитной восприимчивости, обладает лучшим уровнем чувствительности в сравнении с другими

последовательностями, взвешенными по магнитной восприимчивости. В свою очередь, чувствительность последних возрастает с увеличением магнитной индукции.

Обоснованы рекомендации по использованию МРТ-методов, взвешенных по магнитной восприимчивости, для визуализации геморрагической трансформации у экспериментальных животных с моделью церебрального инфаркта и у людей с инфарктом мозга.

Изучены частота геморрагической трансформации на экспериментальной модели инфаркта мозга у крыс при различных путях трансплантации стволовых клеток, что имеет большое практическое значение и должно учитываться при осуществлении дальнейших исследований терапевтической эффективности клеточной терапии при инфаркте мозга, а также трансляции разрабатываемой технологии в клинику.

Визуализация меченных суперпарамагнитной меткой стволовых клеток при высокопольной МРТ даже в малых количествах обосновывает возможность объективной оценки их миграции в экспериментальных и клинических исследованиях.

Научная новизна работы

Сравнение магнитно-резонансных изображений, полученных при использовании импульсных последовательностей, взвешенных по магнитной восприимчивости, позволило показать, что с увеличением магнитной индукции томографа возрастает чувствительность последовательностей к локальной неоднородности магнитного поля, что в свою очередь обосновывает возможность применения малочувствительных импульсных последовательностей для визуализации геморрагических изменений на высокопольных МР-системах.

Экспериментальная магнитно-резонансная томография с индукцией поля 7 Тл при исследовании образцов, содержащих различные формы и агрегатные состояния крови, и последующая обработка результатов путём создания количественных карт позволила создать модель, которая с использованием алгоритма машинного обучения правильно классифицировала содержимое геморрагической трансформации экспериментального инфаркта у крыс в виде гематомы, за исключением оксигемоглобина. Геморрагическая трансформация очага по типу петехиального кровоизлияния правильно распознана не была.

Впервые с применением магнитно-резонансной томографии у экспериментальных животных с моделью острой фокальной церебральной ишемии продемонстрированы различия частоты геморрагической трансформации ишемического очага в зависимости от способа трансплантации мезенхимальных стволовых клеток и при естественном течении экспериментального инфаркта на 1, 7 и 14 сутки после моделирования инфаркта мозга. Наиболее часто геморрагическая трансформация обнаруживалась при стереотаксической трансплантации на 14 сутки, составив 63,6% случаев.

Доказано, что магнитно-резонансная томография с индукцией поля 7 Тл и использованием импульсных последовательностей, взвешенных по магнитной восприимчивости, позволяют визуализировать и локализовать мезенхимальные стволовые клетки, меченные наночастицами оксида железа, в крайне незначительных концентрациях – 10^2 в 20 мкл при стереотаксической трансплантации и единичные – при внутриаартериальной.

Положения, выносимые на защиту

1. Модель на основе градиентного бустинга на деревьях решений способна автоматически определять состав экспериментальной гематомы за исключением оксигемоглобина, но не

позволяет установить содержимое очагов петехиальной геморрагической трансформации при экспериментальном инфаркте мозга у крыс.

2. Импульсная последовательность SWI обладает наилучшей чувствительностью при визуализации изменений магнитной восприимчивости (как при регистрации признаков кровоизлияний, так и при визуализации суперпарамагнитной метки), в то же время, выбор импульсной последовательности, взвешенной по магнитной восприимчивости, зависит также от ряда других факторов, включая необходимость минимизации времени сканирования.

3. Имеет место повышение частоты геморрагической трансформации у крыс с экспериментальной моделью инфаркта мозга при стереотаксическом введении мезенхимальных стволовых клеток в сравнении с контрольной группой животных с аналогичной патологией без клеточной терапии; частота геморрагической трансформации при внутриартериальном и внутривенном введении мезенхимальных стволовых клеток не отличается от таковой в группе без клеточной терапии.

Личный вклад автора

Автором самостоятельно были осуществлены: подготовка обзора литературы; разработка и реализация экспериментальных моделей, связанных с МР-визуализацией; написание и оптимизация программных алгоритмов обсчета данных; анализ полученных результатов и оформление публикаций, подготовка научных докладов; написание текста диссертации.

Внедрение результатов в практику

Результаты исследования внедрены в повседневную клиническую практику отделения общей рентгенологии, рентгеновской компьютерной и магнитно-резонансной томографии НИЦ радиологии и клинической физиологии ФГБУ «Федеральный центр мозга и нейротехнологий» ФМБА России, рентгенологического отделения ГБУЗ города Москвы «Городская клиническая больница имени С.С. Юдина Департамента здравоохранения города Москвы», применяются при осуществлении научно-исследовательских разработок НИЦ радиологии и клинической физиологии ФГБУ «Федеральный центр мозга и нейротехнологий» ФМБА России, в центре коллективного пользования "Медицинские и биотехнологические нанотехнологии" Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Апробация работы

Материалы диссертации были представлены на российских и международных конференциях. Апробация работы состоялась 28 января 2021 года на совместной научной конференции научно-исследовательского центра радиологии и клинической физиологии федерального государственного бюджетного учреждения «Федеральный центр мозга и нейротехнологий» Федерального медико-биологического агентства и кафедры общей и медицинской биофизики медико-биологического факультета федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Публикации материалов исследования

По теме диссертации опубликовано 17 печатных работ, в том числе 5 статей в рецензируемых научных журналах и 12 тезисов.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 148 страницах машинописного текста и состоит из введения, 3 глав, заключения и выводов, практических рекомендаций, списка литературы и списка сокращений. Представленный материал иллюстрирован 53 рисунками и 11 таблицами. Список литературы включает 127 источников, из которых 9 отечественных и 118 зарубежных.

Работа выполнена при поддержке Министерства высшего образования и науки РФ, соглашение № 075-15-2020-792, уникальный идентификатор RF----190220X0031.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Краткий план работы

Выделено три основных блока актуальных проблем (рисунок 1), решению которых посвящена данная диссертационная работа.

Первый блок предполагал детальное изучение импульсных последовательностей, взвешенных по магнитной восприимчивости, сравнению их чувствительности в зависимости от индукции магнитного поля томографа, описанию особенностей их применения в клинической практике.

Второй блок проблем связан с основным осложнением ишемического инсульта, диагностируемого с использованием импульсных последовательностей, взвешенных по магнитной восприимчивости – геморрагической трансформации у человека, в эксперименте на животных и при создании математической модели автоматической классификации. Для решения задач этого блока использовано моделирование процессов биodeградации гематомы и создание системы автоматической классификации.

Третий блок состоял из вопросов, связанных с самым частым использованием импульсных последовательностей, взвешенных по магнитной восприимчивости, в экспериментах на животных, а именно – визуализацией суперпарамагнитных меток.



Рис. 1. Три основных блока актуальных проблем, решению которых посвящена диссертационная работа.

Материал и методы исследования

Моделирование экспериментального внутримозгового кровоизлияния и его качественная и количественная оценка методом магнитно-резонансной томографии.

Экспериментальное моделирование различных состояний, соответствующих разным стадиям биodeградации гемоглобина (оксигемоглобин, дезоксигемоглобин, метгемоглобин), лизиса эритроцитов в гематоме, а также других составляющих (сыворотка, плазма), для создания автоматического алгоритма классификации производилось с использованием крови самцов крыс линии Вистар. Верификация каждой из форм гемоглобина осуществлялась посредством спектрофотометрии лизированной крови.

Автоматическое определение содержания различных форм гемоглобина с использованием машинного обучения

Для создания модели автоматической классификации различных состояний гематомы у образцов *in vitro* измерялись T1-, T2- и T2*-время релаксации и измеряемый коэффициент диффузии. Количественный расчет получаемых карт производился в разработанном скрипте на базе программного пакета MATLAB. Полученные количественные карты с помощью программного пакета ImageJ трансформировались в матрицы данных, на основе которых с использованием программного пакета R с расширением CatBoost производилось обучение модели на основе градиентного бустинга на деревьях решений.

Для верификации созданной модели автоматической классификации состояний, соответствующих разным стадиям биodeградации гемоглобина и лизиса эритроцитов в гематоме, использовали двух здоровых самцов крыс линии Wistar с моделью внутримозгового кровоизлияния. Для *in vivo* данных вычислялись T1-, T2- и T2*-карты времён релаксации и карта измеряемого коэффициента диффузии в разработанном скрипте на базе программного пакета MATLAB. Полученные количественные карты с помощью программного пакета Advanced Normalization Tools корегистрировались для нивелирования возможного смещения в пространстве и различной матрицы сканирования. Затем на базе программного пакета MATLAB создавались первичные таблицы данных при повоксельном анализе. На основании этих данных с использованием программного пакета R с расширением CatBoost и использованием ранее созданной и обученной модели на основе градиентного бустинга на деревьях решений производилась автоматическая классификация данных. С применением программного пакета MATLAB создавались карты классификации для качественного анализа и количественной оценки с применением программного пакета ImageJ.

Автоматическое определение содержания различных форм гемоглобина у крыс с моделью острой фокальной ишемии и геморрагической трансформацией

На двух крысах линии Вистар с моделью острой фокальной ишемии и геморрагической трансформацией по типу петехиальных кровоизлияний оценивалась способность созданной модели на основе градиентного бустинга на деревьях решений классифицировать выявляемые геморрагические осложнения. Для этого применялась вышеописанная модель по аналогии с оценкой гематомы у экспериментальных животных с моделированным внутримозговым кровоизлиянием.

Магнитно-резонансное исследование

В работе использовались МР-системы ClinScan Bruker BioSpin с магнитной индукцией 7 Тл и Toshiba Vantage Atlas-X с магнитной индукцией 1,5 Тл. Используемые импульсные последовательности: Gradient Echo, Fast Imaging with Steady state Precession, Fast Low Angle Shot, Multiple Echo Recombined Gradient Echo, Susceptibility weighted imaging, Turbo Gradient Spin Echo, SE Echo Planar Imaging, GRE Echo Planar Imaging.

Геморрагическая трансформация инфаркта мозга у экспериментальных животных с моделью острой фокальной ишемии на фоне клеточной терапии и без таковой

Для оценки частоты геморрагической трансформации (ГТ) при ишемическом инсульте на фоне клеточной терапии было исследовано 80 животных. Всем животным моделировался инфаркт мозга согласно описанной ранее методике [I.L. Gubskiy с соавт., 2018]. На следующий день (через 24 часа после моделирования инфаркта мозга) экспериментальные животные разделялись на 4 группы по типу лечения и методу введения стволовых клеток. В качестве клеточного препарата использовались мезенхимальные стволовые клетки (МСК), выделенные из плаценты человека. Первая группа, контрольная, не получала лечения, всего в неё вошло 33 животных. Второй группе стереотаксически в стриатум контралатерально от инфаркта вводилось 300 тысяч клеток в 15 мкл среды, всего в неё вошло 13 животных. Крысам третьей группы внутривенно через бедренную вену вводилось 500 тысяч клеток в 1 мл среды, всего в неё вошло 18 животных. Животным четвертой группы внутриартериально, ипсилатерально от инфаркта, через катетер во внутренней сонной артерии вводилось 500 тысяч клеток в 1 мл среды, всего в неё вошло 16 животных. Всем животным выполнялось МР-исследование в динамике на 1, 7 и 14 сутки после моделирования инфаркта мозга. С использованием шкалы геморрагической трансформации Heidelberg [R. von Kummer с соавт., 2015] осуществлялась оценка её у включенных в эксперимент животных.

Геморрагическая трансформация у пациентов с ишемическим инсультом

Геморрагическая трансформация ишемического очага была оценена у 21 пациента с полушарным и вертебробазилярным инфарктами мозга с использованием шкалы геморрагической трансформации Heidelberg [R. von Kummer с соавт., 2015]. Ни одному из включенных в исследование лиц не выполнялись тромболизис или тромбоэкстракция. Все геморрагические трансформации, выявленные более чем через 90 дней после инфаркта мозга, относились к хроническим и расценивались как выявленные на 90 сутки.

МР-визуализация внутриклеточной суперпарамагнитной метки

В эксперименте для визуализации внутриклеточной суперпарамагнитной метки использовались частицы оксида железа с диаметром 0,50–0,99 μm (MC03F Bangs Laboratories). Мезенхимальные стволовые клетки метились частицами оксида железа и затем стереотаксически в различных концентрациях в объёме 20 мкл вводились здоровым животным в область правого стриатума. Всего было исследовано 36 животных, 4 из них вводился физиологический раствор, 5 животным вводилось 10^1 меченных клеток, 8 животным вводилось 10^2 меченных клеток, 4 животным вводилось 10^3 меченных клеток, 7 животным вводилось 10^4 меченных клеток и 8 животным вводилось 10^5 меченных клеток. На полученных МР-изображениях оценивались объём зоны выпадения МР-сигнала за счет влияния суперпарамагнитной метки, а также соотношение минимальной интенсивности сигнала в области расположения меченных клеток к средней интенсивности окружающей ткани.

Основные результаты исследования

Результаты исследования импульсных последовательностей, обладающие взвешенностью по магнитной восприимчивости, для визуализации кровоизлияний на томографах с различной индукцией магнитного поля

Для оценки чувствительности различных импульсных последовательностей, взвешенных по магнитной восприимчивости, было произведено их сравнение в зависимости от индукции магнитного поля томографа. Для этого на МР-системе с индукцией магнитного поля 1,5 Тл исследовались пациенты с внутримозговым микрокровоизлиянием, а на системе с индукцией магнитного поля 7 Тл сканировалось лабораторные животные (крысы) с геморрагической трансформацией экспериментального инфаркта мозга. В обоих случаях присутствовали продукты биodeградации гемоглобина, которые в свою очередь влияли на магнитную восприимчивость и регистрируемый МР-сигнал. Качество визуализации кровоизлияния для различных импульсных последовательностей было неодинаковым. Варьировали как степень выпадения сигнала, так и объём крови (по данным МРТ) – проявление так называемого «blooming effect», при котором искажение магнитного поля в виду сильного влияния образования на магнитную восприимчивость, визуализируется на изображениях областью, значительно превосходящей истинный размер образования [D. Namestnikova с соавт., 2017].

Для количественного анализа степени выпадения МР-сигнала при использовании различных импульсных последовательностей измерялось соотношение минимальной интенсивности МР-сигнала в кровоизлиянии к средней интенсивности МР-сигнала в окружающем веществе мозга. Данный параметр характеризует контрастность получаемого изображения при использовании конкретной импульсной последовательности и чем он ниже, тем значительнее разница между зоной кровоизлияния и окружающими тканями.

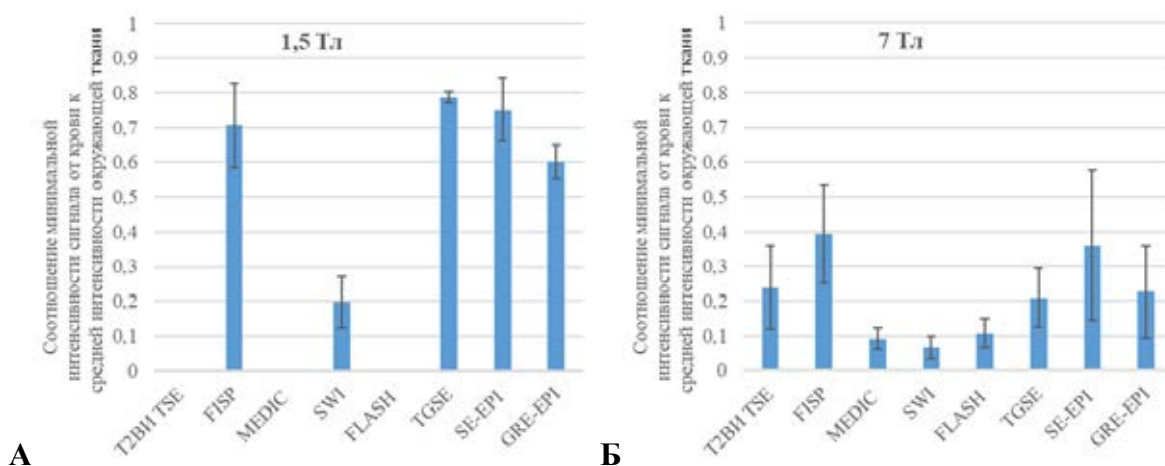


Рис. 2. Диаграмма соотношений минимальной интенсивности сигнала от кровоизлияния к средней интенсивности МР-сигнала вещества мозга по периферии от него при визуализации микрокровоизлияния на МР-томографе с индукцией магнитного поля 1,5 Тл (рисунок А) и геморрагической трансформации экспериментального инфаркта мозга на МР-томографе с индукцией магнитного поля 7 Тл (рисунок Б) с использованием различных импульсных последовательностей. Приведены средние значения и стандартные отклонения.

Как видно из рисунка 2, на 1,5 Тл-системе импульсная последовательность SWI обладает наилучшим соотношением минимальной интенсивности МР-сигнала к средней окружающей исследуемый участок, содержащий кровь, что обеспечивает её высокую контрастность на получаемых изображениях. Для экспериментальной МР-системы с магнитной индукцией поля 7

Тл импульсные последовательности MEDIC и FLASH оказались почти столь же эффективны, как SWI. В то же время, MEDIC является двухмерной импульсной последовательностью и обладает меньшим пространственным разрешением; FLASH же разработан на основе трехмерной импульсной последовательности и представляет собой основу для SWI и ввиду этого не может превосходить его по контрастности [Е.М. Нааске с соавт., 2004].

SWI продемонстрировала высокую контрастность при визуализации изменений магнитной восприимчивости, обусловленных кровоизлиянием, но его практическое использование не всегда целесообразно. Так, время сбора данных при применении SWI исчисляется минутами, а набор k-пространства осуществляется в трёхмерном режиме, в связи с чем любые, даже минимальные, движения во время сканирования существенно снижают качество получаемых изображений. В то же время, эхопланарная импульсная последовательность при каждом радиочастотном возбуждении реконструирует один срез с очень грубым разрешением, однако, длительность всего сканирования при этом измеряется секундами. Поэтому выбор импульсной последовательности для визуализации изменений магнитной восприимчивости, обусловленных, к примеру, кровоизлиянием, может отличаться при решении различных задач. Одним из примеров использования сверхбыстрых импульсных последовательностей SE-EPI в диагностике геморрагических осложнений возникает в момент, когда исследование выполнено, однако, ни одного T2*ВИ получено не было. В таком случае возможно применение диффузионно-взвешенных изображений с b-фактором 0 с/мм², которые являются T2*ВИ на основе SE-EPI и необходимы для расчёта измеряемого коэффициента диффузии.

Из полученных результатов следует, что импульсная последовательность SWI обладала наибольшей контрастностью при визуализации кровоизлияний среди всех тестируемых. Однако, её практическое применение ввиду длительности, по сравнению с другими ИП, может быть ограничено у ряда лиц с выраженной двигательной активностью, где целесообразнее использование других ИП, взвешенных по магнитной восприимчивости (такие как SE-EPI и GRE-EPI). С ростом магнитной индукции поля чувствительность импульсных последовательностей к визуализации изменений в магнитной восприимчивости растёт, благодаря чему возможно использование менее чувствительных ИП для визуализации кровоизлияний.

Результаты применения импульсных последовательностей, взвешенных по магнитной восприимчивости, для визуализации геморрагической трансформации при ишемическом инсульте

Для изучения особенностей диагностики и оценки частоты геморрагической трансформации при ишемическом инсульте у людей, перенесших инфаркт мозга в различные сроки после его развития, было выполнено МР-исследование с получением изображений, взвешенных по магнитной восприимчивости (FISP, FSBB). Полученные при этом МР-изображения позволяли не только зарегистрировать признаки наличия геморрагической трансформации, но и оценить её особенности и классифицировать по шкале Heidelberg [R. von Kummer с соавт., 2015].

При исследовании частоты различных типов геморрагической трансформации в зависимости от времени от момента развития клинических симптомов у пациентов с ишемическим инсультом получены данные, представленные на рисунке 3.

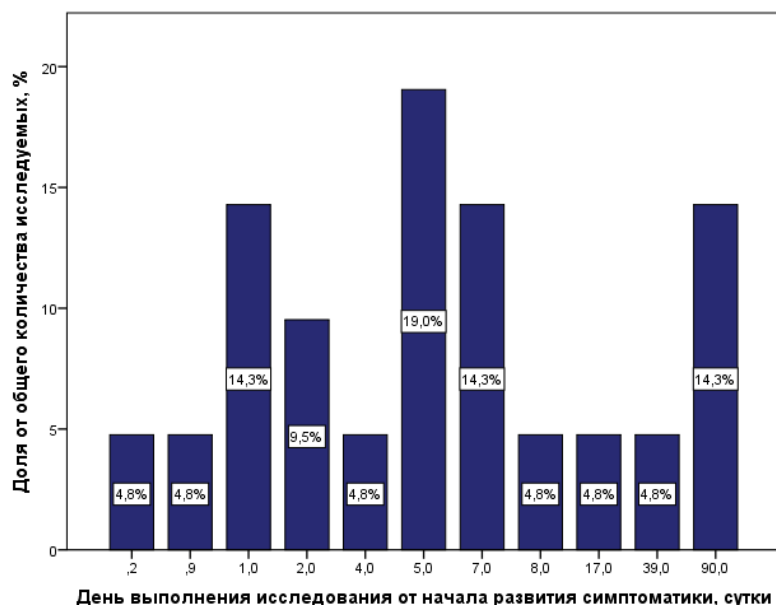


Рис. 3. Частота геморрагической трансформации инфаркта мозга в зависимости от времени после развития симптоматики (указаны сутки выполнения МР-исследования от момента развития клинических симптомов). Частота выявления геморрагической трансформации при исследованиях, выполненных позже 90 суток от начала развития симптоматики, представлена крайним правым столбцом.

Согласно полученным данным, отмечается два пика выявления геморрагической трансформации – конец первых суток и конец первой недели. Наиболее частым типом геморрагической трансформации инфаркта мозга явилось петехиальное кровоизлияние, суммарная частота которых составила 81%. Согласно полученным данным, наиболее часто геморрагическая трансформация наблюдалась при инфарктах мозга, расположенных в бассейне дистальных ветвей кровоснабжения крупной мозговой артерии – до 52,4%, следующие по частоте были территориальные инфаркты – до 28,6%, минимальная частота (4,8%) имела место для глубинных инфарктов.

Результаты исследования частоты геморрагической трансформации, выявляемой МР-методами, взвешенными по магнитной восприимчивости, у экспериментальных животных с острой фокальной ишемией мозга без лечения и на фоне клеточной терапии при их стереотаксической, внутривенной и внутриартериальной трансплантации

Была проанализирована частота геморрагических трансформаций, зарегистрированных методом МРТ, в четырёх группах экспериментальных животных с моделью острой фокальной ишемии головного мозга, отличающихся наличием терапии и способом введения мезенхимальных стволовых клеток. Единичные петехиальные кровоизлияния встречались уже на первые сутки после моделирования острой фокальной ишемии головного мозга с частотой от 6,7% в группе контроля и до 22,2% у животных с внутривенным введением МСК. В группе контроля также отмечалось появление сливных петехиальных кровоизлияний.

На 7-е сутки после моделирования острой фокальной ишемии головного мозга геморрагическая трансформация инфаркта мозга проявлялась отчетливо во всех группах, но с разной частотой. Наиболее часто единичные петехиальные кровоизлияния наблюдались в группе контроля и внутривенного введения МСК, составляя 70,8% и 75% случаев соответственно, в группе с внутриартериальным введением частота составила 40%. У животных со стереотаксическим введением МСК частота единичных петехиальных кровоизлияний на 7-е сутки оказалось минимальной и составила 27,3%, однако в этой группе имела место наибольшая частота геморрагических трансформаций по типу сливных петехиальных кровоизлияний – до 45,5%. В остальных группах частота этого типа геморрагических трансформаций оказалась сопоставимой и колебалась от 18,8% при внутривенном введении МСК до 20% и 20,8% при внутриартериальном

введении МСК и без клеточной терапии соответственно. Отмечалось появление геморрагической трансформации по типу кровоизлияния, занимающего меньше 30% зоны инфаркта мозга, в контрольной группе и при стереотаксическом введении МСК в 4,2% и 9,1% соответственно.

На 14-е сутки после моделирования острой фокальной ишемии головного мозга частота геморрагических трансформаций по типу сливных петехиальных кровоизлияний в контрольной группе, а также группах с внутривенным и внутриартериальным введением МСК оказалась сопоставимой – 76,2%, 73,3% и 70% соответственно. В группе со стереотаксическим введением МСК частота петехий составила 27,3%, однако, по сравнению с остальными группами, преобладала частота геморрагических трансформаций по типу сливных петехиальных кровоизлияний – до 54,5%. В остальных группах частота этого вида геморрагической трансформации оказалась сопоставимой и колебалась от 19% в контрольной группе до 20% в группах с внутривенным и внутриартериальным введением МСК. Появление геморрагической трансформации по типу кровоизлияния, занимающего меньше 30% зоны инфаркта мозга, имело место в группе со стереотаксическим введением с частотой 9,1%.

Единичные петехиальные кровоизлияния, 1а по классификации Heidelberg, явились одними из самых частых подтипов геморрагической трансформации. Более серьезные подтипы геморрагической трансформации инфаркта мозга, такие как сливные петехии (1b) или гематомы, занимающие менее 30% от объема инфаркта мозга (1с), встречались менее часто. Другие, более неблагоприятные подтипы геморрагических трансформаций в нашей работе не регистрировались.

Для статистического анализа частоты типов геморрагических трансформаций с использованием различных методов клеточной терапии была осуществлена перегруппировка следующим образом (рисунок 4): 0 и 1а по классификации Heidelberg составили группу I, 1b и 1с по классификации Heidelberg составили группу II. Единичные петехиальные кровоизлияния вошли в группу I из-за высокой частоты в каждой из групп.

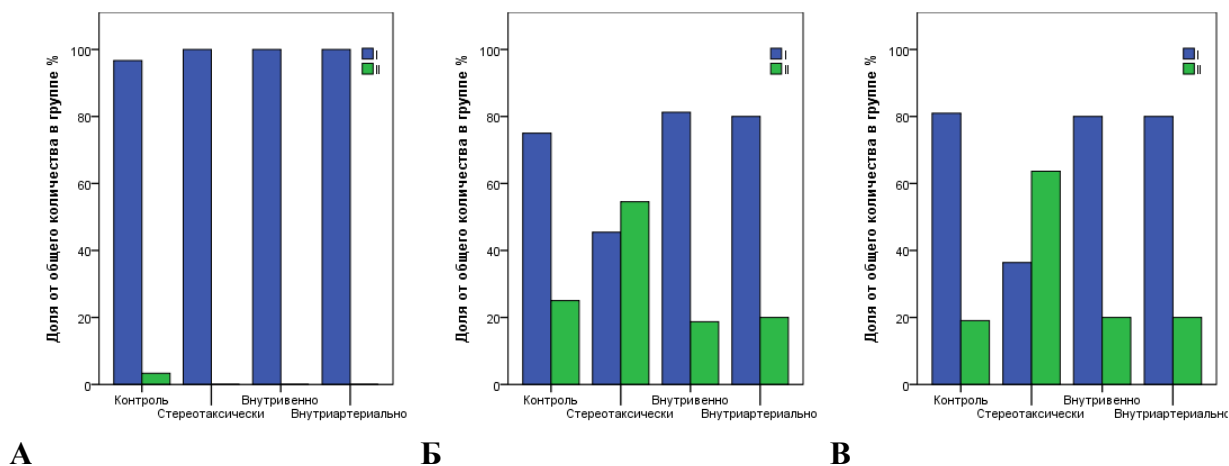


Рис. 4. Частота геморрагической трансформации во вновь сформированных группах экспериментальных животных на 1-е (А), 7-е (Б) и 14-е (В) сутки после моделирования инфаркта головного мозга. 0 и 1а по классификации Heidelberg [R. von Kummer с соавт., 2015] составили группу I, 1b и 1с по классификации Heidelberg составили группу II.

При оценке с применением точного критерия Фишера статистически значимая разница ($p \leq 0,05$) между контрольной группой и группой с клеточной терапией, а именно со стереотаксическим введением МСК, была выявлена на 14 сутки, частота их оказалась выше по сравнению с контрольной группой – 63,6% против 19% соответственно, при этом стоит отметить, что уже на 7-е сутки аналогичное соотношение частот составляло 54,5% против 25%. Оценка

частоты геморрагической трансформации инфаркта мозга в сравнении с контролем в другие сроки статистически значимых отличий не выявила.

Исходя из полученных данных, геморрагическая трансформация инфаркта мозга по типу единичных петехий является одной из самых частых форм. Геморрагическая трансформация возникает с 1-х суток после моделирования инфаркта мозга и выражено проявляется уже на 7-е. Ни внутривенное, ни внутриаартериальное введение мезенхимальных стволовых клеток при инфаркте мозга у экспериментальных животных не увеличивает частоту геморрагической трансформации на 1-й, 7-й и 14-й день. Одновременно отмечается значимое увеличение частоты геморрагической трансформации на 14 день при стереотаксическом введении МСК.

Результаты ex vivo моделирования различных форм гемоглобина для обучения модели на основе градиентного бустинга на деревьях решений

Для автоматического определения различных форм гемоглобина, состояния мембран эритроцитов и формирования сгустка в гематоме in vitro использовали 15 различных образцов крови. Осуществлялось их исследование методами количественной МРТ: измерение карт T1-, T2-, T2*-релаксации и измеряемого коэффициента диффузии молекул воды. Полученные данные в дальнейшем использовались для создания и обучения модели на основе градиентного бустинга на деревьях решений (рисунок 5).



Рис. 5. Схема эксперимента с машинным обучением, шаг 1 – создание и обучение модели, основанной на экспериментальных данных in vitro.

Каждый из количественных параметров (карты релаксации T1, T2, T2* и карты измеряемого коэффициента диффузии молекул воды) по-разному характеризует исследуемые образцы. По результатам анализа T1-времени релаксации можно отметить более низкое его значение у образцов, содержащих метгемоглобин. Зарегистрированные экспериментальные значения T2-времени релаксации образцов с дезоксигемоглобином и метгемоглобином продемонстрировали его укорочение в сравнении с образцами с оксигемоглобином, а также увеличение времени T2-релаксации у образцов плазмы и сыворотки. T2*-время релаксации образцов имело перекрывающийся диапазон изменений во времени релаксации с небольшим акцентом на образцы, содержащие дезоксигемоглобин. Измеряемый коэффициент диффузии продемонстрировал выраженные различия между частью образцов с дезоксигемоглобином и метгемоглобином, а также плазмы, сыворотки и фибринового сгустка.

Ввиду значительного количества параметров и исследуемых образцов, для анализа результатов, полученных у экспериментальных животных in vivo, была создана и апробирована обученная модель in vitro.

В качестве обучающейся использовалась модель на основе градиентного бустинга на деревьях решений. Для анализа вся выборка количественных значений из эксперимента с образцами крови in vitro была разделена на две неравные части – 85% и 15%, где 85% составили данные для обучения модели, 15% – для её верификации. Общее количество итераций составило 3000. Для оптимизации других параметров моделирования использовалась логистическая функция

потерь (LogLoss), для которой высчитывалось наименьшее абсолютное значение по модулю из всех возможных. Оптимальное значение (-0,48331) было достигнуто на ранних шагах, после чего дальнейшие вычисления приводили к «переобучению» модели и увеличению абсолютного значения логистической функции потерь. Оптимальной глубиной деревьев классификации, высчитанной с помощью логистической функции потерь, оказалось 9.

Результаты использования машинного обучения на основе градиентного бустинга на деревьях решений для автоматического определения содержания различных форм гемоглобина при экспериментальном внутримозговом кровоизлиянии

Двум экспериментальным животным после моделирования внутримозгового кровоизлияния путем стереотаксического введения артериальной крови в область стриатума выполнялись МРТ-исследования в динамике с получением качественных (T1-взвешенных изображений, T2-взвешенных изображений, изображений, взвешенных по магнитной восприимчивости и диффузионно-взвешенных изображений). Объем экспериментального внутримозгового кровоизлияния составил соответственно 15,7 мм³ и 36,0 мм³.

При качественном анализе полученных данных зафиксировано, что динамика изменений сигнальных характеристик гематом в значительной степени зависит от времени. Так, гиперинтенсивность на T1-взвешенных изображениях, обусловленная присутствием парамагнетика метгемоглобина, регистрируется со 2-х суток и присутствует до 8-х. Лизис эритроцитов с выходом молекул гемоглобина в межклеточное пространство и сопряженным с этим резким увеличением времени T2-релаксации наблюдались с 4-х суток.

Для количественной оценки динамики биodeградации гемоглобина в экспериментальных гематомах была выполнена релаксометрия с вычислением карт релаксации T1, T2, T2* и измеренных карт диффузии (ИКД) молекул воды. Из-за сложности оценки получаемых данных, являющихся количественными, на основе их был выполнен автоматический анализ биodeградации экспериментальных гематом с использованием модели градиентного бустинга на деревьях решений.

Результаты автоматического определения содержания различных форм гемоглобина при геморрагической трансформации инфаркта мозга по типу гематомы

Обученная и проверенная на тестовой выборке модель была использована для автоматической классификации компонентов экспериментального внутримозгового кровоизлияния у крыс в динамике (рисунок 6, шаг 2). Полученные количественные карты *in vivo* трансформировались в таблицы данных с привязкой к положению каждого пикселя, после чего подгружались в созданную модель. Модель рассчитывала карты классификации, которые в дальнейшем трансформировались в изображения с их наложением на анатомические для более наглядной визуализации. На рисунке 7 представлен результат такой классификации.



Рис. 6. Общая схема эксперимента с машинным обучением, шаг 2 – использование созданной модели in vivo.

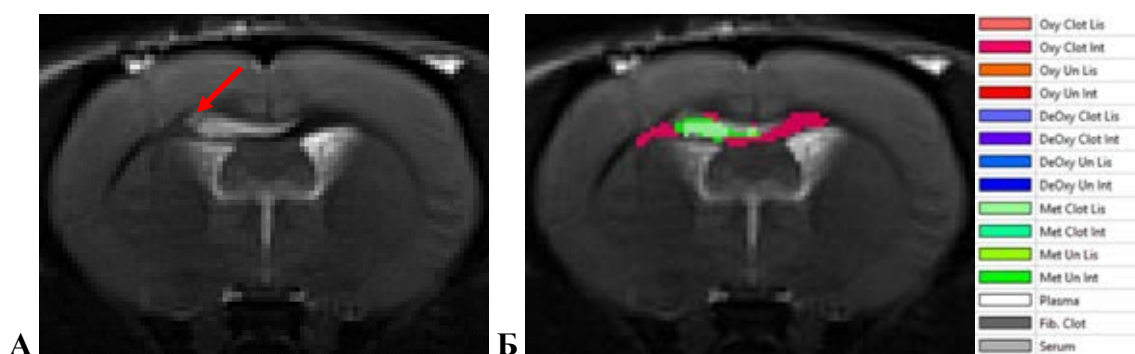


Рис. 7. Экспериментальное внутримозговое кровоизлияние (гиперинтенсивная зона на T2ВИ, красная стрелка) объёмом 15,7 мм³, 4-е сутки после моделирования. Изображение А – T2-взвешенное изображение; изображение Б – T2-взвешенное изображение с наложенной картой классификации гематомы, легенда с описанием классификации.

Полученные в результате классификации карты попиксельно анализировались, при этом оценивались соотношения исследуемых форм в различные сроки после моделирования экспериментального внутримозгового кровоизлияния объёмом 15,7 мм³. Как это следует из данных, приведенных на рисунке 7, используемая модель позволяла правильно определить зону кровоизлияния на МР-изображениях. Также оказалось возможным классифицировать его. В результате была реализована возможность количественно оценить процесс биodeградации гематомы во времени.

Как это следует из полученных данных, формы с оксигемоглобином превалировали во все сроки после моделирования кровоизлияния, что невозможно, поскольку гемоглобин быстро трансформируется в дезоксигемоглобин [M. Barth с соавт., 1997; W.G. Bradley, Jr., 1993] и расценено как ошибка. Для нивелирования описанной ошибки классификации из дальнейших расчётов были полностью исключены формы, содержащие оксигемоглобин.

После удаления данных, содержащих оксигемоглобин, из расчетов у двух экспериментальных животных с экспериментальной гематомой анализировалось содержание всех состояний, за исключением содержащих оксигемоглобин, включая различные формы гемоглобина, наличие сгустка или его отсутствие, а также различные состояния стенки эритроцитов. Из полученных данных биodeградация гемоглобина у двух исследуемых животных имела схожую тенденцию, но несколько отличалась по времени. У экспериментального животного с кровоизлиянием объёмом 36,0 мм³ процесс перехода дезоксигемоглобина в метгемоглобин был пролонгирован (переломный момент фиксировался на 8 сутки) по сравнению с животным с

объёмом гематомы в $15,7 \text{ мм}^3$ (переломный момент имел место на 4 сутки), что, скорее всего было связано с объёмом внутримозгового кровоизлияния. Метгемоглобин начинал определяться уже с первых часов и в дальнейшем только увеличивался по количеству по сравнению с другими регистрируемыми формами. Общая тенденция лизиса сгустка крови была схожей у обоих экспериментальных животных, а также не отличалась по динамике от процесса биodeградации гемоглобина из оксигемоглобина в дезоксигемоглобин. Исключение составило лишь то, что переломный момент для экспериментального животного с кровоизлиянием в $15,7 \text{ мм}^3$ был зарегистрирован на 5-е сутки, а не на 4-е. Время лизиса сгустка крови также отличалось в зависимости от объёма внутримозгового кровоизлияния. Соотношение лизированных и нелизированных эритроцитов, оцененное с помощью созданной модели классификации, каких-либо определенных закономерностей не выявило.

Анализируя полученные данные, можно констатировать, что созданная модель на основе градиентного бустинга на деревьях решений оказалась способной различать образцы с дезоксигемоглобином и метгемоглобином, а также дифференцировать агрегатное состояние внутримозгового кровоизлияния – сгусток или лизис. При этом долю оксигемоглобина, плазмы, сыворотки и состояние стенки эритроцитов оценить не удалось, вероятно, ввиду их невыраженных различий по магнитной восприимчивости с окружающим гематому веществом мозга.

Результаты машинного обучения применительно к геморрагической трансформации инфаркта мозга в эксперименте

Было произведено тестирование созданной модели *in vivo* петехиальной геморрагической трансформации инфаркта мозга для возможности её применения при инфаркте мозга. У двух экспериментальных животных была смоделирована острая фокальная ишемия.

На 7-е сутки после моделирования инфаркта мозга при МРТ-исследовании были визуализированы признаки петехиальных кровоизлияний. Данные количественного МРТ-исследования были проанализированы с использованием созданной модели автоматической классификации (рисунок 8).

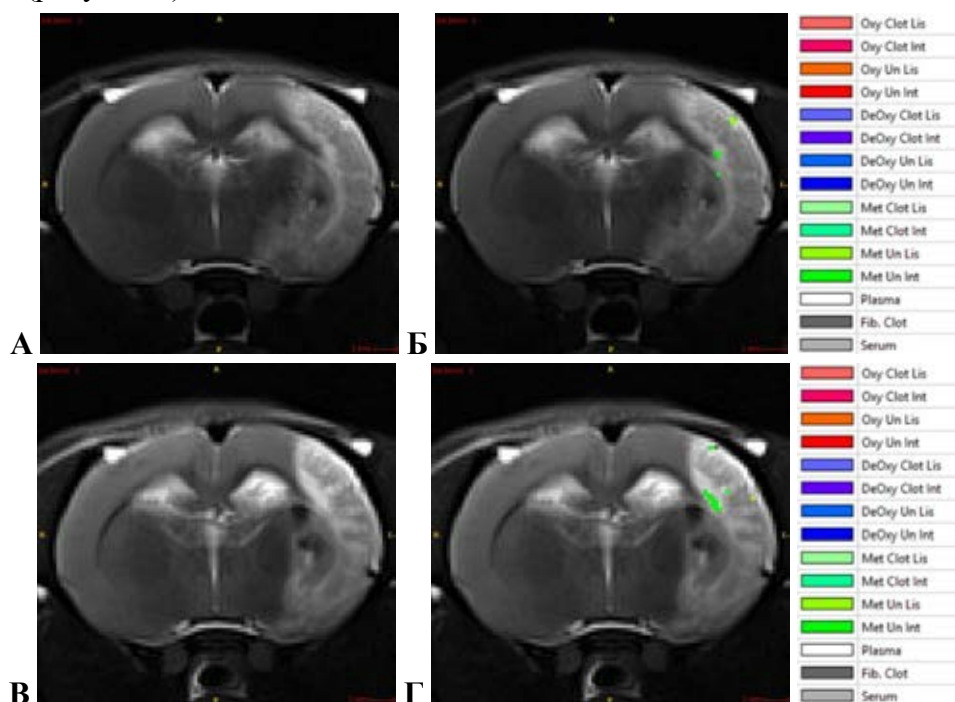


Рис. 8. МР-изображения головного мозга двух экспериментальных животных (первого – А, Б и второго – В, Г) с острой фокальной ишемией (гиперинтенсивная область в правой гемисфере

мозга на T2-взвешенных изображениях, соответствующая участку инфаркта мозга). Изображение А – T2-взвешенное изображение; изображение Б – T2-взвешенное изображение с наложенной картой классификации кровоизлияния согласно посчитанной модели, легенда с описанием классификации.

Зоны петехиального кровоизлияния инфаркта мозга, хорошо визуализируемые на изображениях, взвешенных по магнитной восприимчивости, как гипоинтенсивные участки выпадения МР-сигнала, никак не отражаются на финальной карте классификации (рисунок 8, панель Б, Г). При этом визуализируется небольшое количество разрозненных участков, соответствующих метгемоглобину (зеленые пиксели), в участках мозга вне петехиальных кровоизлияний, что является артефактом.

Созданной модели не удалось классифицировать изменения в области петехиального кровоизлияния (рисунок 8). Наиболее вероятной причиной этого явилось пространственное усреднение получаемого МР-сигнала от крови, пропитывающей вещество мозга в области инфаркта и самим веществом мозга. В результате количественные показатели *in vivo* в этой области, регистрируемые при количественной МРТ, не могут быть классифицированы и причислены ни к одной из групп, смоделированных *in vitro*. Таким образом, у двух рассматриваемых лабораторных животных с геморрагической трансформацией инфаркта мозга по типу петехиальных кровоизлияний созданная на основе градиентного бустинга на деревьях решений модель не способна корректно визуализировать и классифицировать кровоизлияние.

Результаты использования импульсных последовательностей, взвешенных по магнитной восприимчивости, для визуализации меченных суперпарамагнитной меткой мезенхимальных стволовых клеток

Для изучения возможностей высокопольной (7 Тл) магнитно-резонансной томографии в регистрации распределения и миграции меченных суперпарамагнитными наночастицами оксида железа (SPIO) мезенхимальных стволовых клеток в эксперименте были применены различные импульсные последовательности, взвешенные по магнитной восприимчивости: SWI, FLASH 3D, MEDIC и TSE (T2ВИ). Исследовались особенности МР-визуализации при внутримозговом введении МСК в различной концентрации.

Во всех случаях в месте стереотаксического введения МСК при МРТ были визуализированы характерные изменения (рисунок 9). Определялась гипоинтенсивная зона в области стереотаксической трансплантации, соответствующая введенным меченым суперпарамагнитной меткой мезенхимальным стволовым клеткам. Помимо этого, визуализировалась область, соответствующая травматическому кровоизлиянию (в случае введения физиологического раствора), как отражение стереотаксической трансплантации в вещество головного мозга. Размер области, соответствующей скоплению меченных МСК, был пропорционален концентрации трансплантированных клеток и чувствительности применяемой импульсной последовательности к изменениям магнитной восприимчивости.

Как видно из данных, представленных на рисунке 9, зависимость не является линейной, а гипоинтенсивная зона превосходит истинные размеры трансплантата. Последний феномен, как уже отмечалось ранее, получил название *blooming effect* и обусловлен выраженным искажением магнитного поля из-за увеличения концентрации суперпарамагнитных наночастиц. «*Blooming effect*» был более выражен при использовании импульсной последовательности SWI, а также

FLASH 3D и MEDIC и зависел от чувствительности ИП к изменениям магнитной восприимчивости.

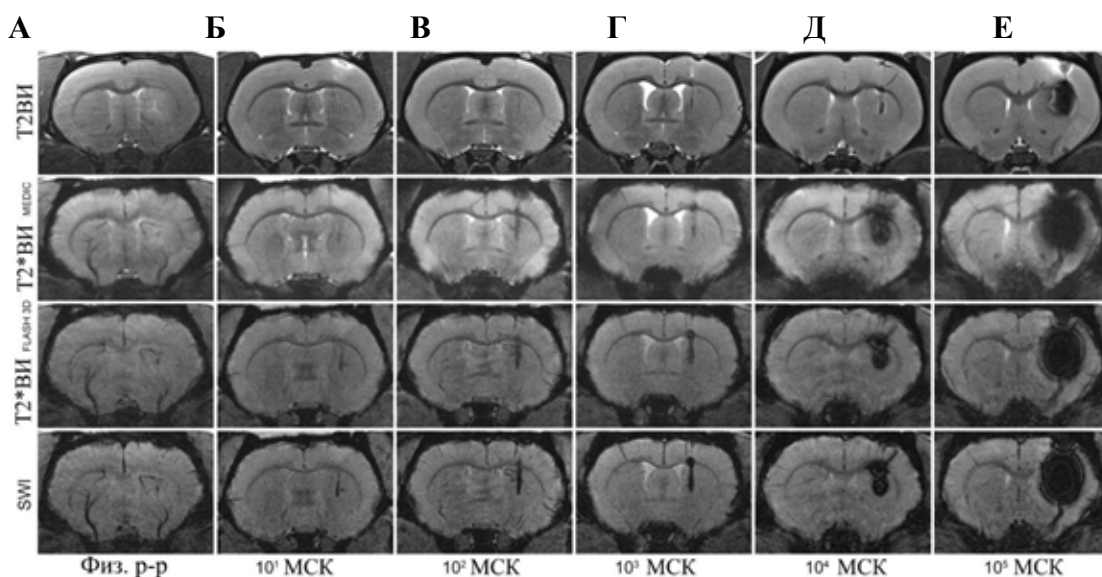


Рис. 9. МР-изображения мозга экспериментальных животных после стереотаксического введения меченных суперпарамагнитной меткой (СПМО) стволовых клеток в различной концентрации с использованием импульсных последовательностей, взвешенных по магнитной восприимчивости (SWI, FLASH 3D, MEDIC и TSE). Гипоинтенсивная область в правой гемисфере, увеличивающаяся с ростом концентрации меченных стволовых клеток, соответствует области стереотаксического введения. Несоответствие размера гипоинтенсивной зоны на МР-изображениях и объёма введения (при высоких концентрациях меченных стволовых) клеток обусловлены наличием «blooming effect».

Пояснения к рисунку: физ. р-р – физиологический раствор NaCl (столбец А); 10^1 - 10^5 МСК – количество меченных мезенхимальных стволовых клеток в 20 мкл (столбцы Б-Е: Б – 10^1 , В – 10^2 , Г – 10^3 , Д – 10^4 , Е – 10^5).

По полученным данным оценивалась степень выпадения МР-сигнала при использовании различных импульсных последовательностей после трансплантации МСК в различной концентрации: как соотношение минимальной интенсивности МР-сигнала в месте трансплантации МСК к средней интенсивности МР-сигнала окружающего вещества головного мозга. Данный параметр характеризует контрастность и чем его значение ниже, тем контрастность выше.

Наибольшей контрастностью при визуализации меченных МСК при всех исследуемых концентрациях, а также кровоизлиянии в области введения физиологического раствора, согласно полученным результатам, обладала SWI. Контрастность, измеренная при использовании SWI, оказалась достоверно большей (соответственно, обладала наименьшим соотношением минимальной интенсивности МР-сигнала в месте стереотаксической трансплантации МСК к средней интенсивности МР-сигнала окружающего вещества головного мозга) и отличалась от таковой, измеренной при применении других импульсных последовательностей.

Для определения порога чувствительности (минимальной концентрации МСК) визуализации меченных клеток при их стереотаксическом введении в мозг экспериментальных животных импульсной последовательности SWI определялся объём гипоинтенсивной зоны, визуализирующейся при введении МСК, а также соотношение минимальной интенсивности МР-сигнала в месте стереотаксической трансплантации МСК в различной концентрации и физиологического раствора к средней интенсивности МР-сигнала окружающего вещества головного мозга.

При анализе порога чувствительности импульсной последовательности SWI при визуализации меченных наночастицами оксида железа мезенхимальных стволовых клеток было выявлено, что SWI способен статистически значимо отличать от кровоизлияния, вызванного стереотаксическим введением 20 мкл физиологического раствора концентрацию меченных МСК 10^2 клеток в 20 мкл физиологического раствора. Концентрация меченных МСК 10^1 клеток в 20 мкл статистически значимо не отличалась от выявляемых изменений на SWI от кровоизлияния в области стереотаксического введения 20 мкл физиологического раствора.

Для оценки максимальной чувствительности SWI в визуализации меченных суперпарамагнитными наночастицами мезенхимальных стволовых клеток, экспериментальному животному через правую внутреннюю сонную артерию трансплантировали меченные МСК, сразу после чего выполняли МРТ-исследование и гистологическую верификацию. В результате при таком способе введения и при отсутствии других субстратов, влияющих на магнитную восприимчивость (таких как кровоизлияние в области стереотаксической имплантации), SWI показала возможность визуализировать единичные МСК в веществе головного мозга.

ВЫВОДЫ

1. Изображения, взвешенные по магнитной восприимчивости (SWI), обладают наименьшим отношением интенсивности МР-сигнала от участка, содержащего кровь, к средней величине МР-сигнала от участков мозга, окружающих гематому, составившим 19,7%, по сравнению с другими импульсными последовательностями, взвешенными по магнитной восприимчивости, на МР-системе с магнитной индукцией поля 1,5 Тл. На экспериментальной МР-системе с магнитной индукцией поля 7 Тл SWI демонстрирует схожее (6,6%) соотношение с импульсными последовательностями MEDIC (9,1%) и FLASH (10,8%).

2. Анализ изображений, взвешенных по магнитной восприимчивости, показал, что геморрагическая трансформация у пациентов с инфарктом мозга чаще развивается в конце первых суток в 14,3% случаев и на 5–7 сутки – в 23,3% случаев. Наиболее частым типом геморрагической трансформации инфаркта мозга явилось петехиальное кровоизлияние, суммарная частота его составила 81%.

3. Применение импульсных последовательностей, взвешенных по магнитной восприимчивости, позволило зарегистрировать признаки геморрагической трансформации экспериментального церебрального инфаркта у крыс, которые достоверно чаще (в 63,6% случаев) имели место при стереотаксическом введении мезенхимальных стволовых клеток на 14 сутки в сравнении с контрольной группой животных с естественным течением смоделированного ишемического инсульта, где частота составила 19%. Геморрагическая трансформация ишемического очага при внутриартериальном и внутривенном введении мезенхимальных стволовых клеток встречалась с одинаковой частотой в опытной и контрольной группах. Стереотаксическое введение мезенхимальных стволовых клеток обуславливало увеличение частоты геморрагической трансформации ишемического инсульта у экспериментальных животных.

4. На основании качественной и количественной оценки процессов биодegradации гематомы с использованием алгоритмов машинного обучения нами была создана математическая модель с показателем логистической функции потерь, равной -0,48331. Разработанная математическая модель позволила автоматически отличать друг от друга участки гематомы,

содержащие дезоксигемоглобин и метгемоглобин, а также определять агрегатное состояние крови в гематоме.

5. МР-исследования при экспериментальном инфаркте у крыс показали, что импульсная последовательность SWI обладает значимо меньшим отношением интенсивности МР-сигнала в зоне стереотаксической трансплантации мезенхимальных стволовых клеток, меченных суперпарамагнитной меткой, к средней интенсивности МР-сигнала от окружающего вещества головного мозга, по сравнению с T2- и T2*-взвешенными изображениями. Последовательность SWI позволяет достоверно визуализировать меченные мезенхимальные стволовые клетки при их стереотаксическом введении в минимальной концентрации 10^2 клеток в 20 мкл физиологического раствора.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

На основании полученных в настоящем исследовании результатов разработаны следующие практические рекомендации для использования в клинической, научно-исследовательской и преподавательской деятельности.

1. Для выявления и уточнения характеристик геморрагической трансформации церебрального инфаркта, изучения распределения и миграции меченных суперпарамагнитной меткой стволовых клеток после их трансплантации рекомендуется применять изображения, взвешенные по магнитной восприимчивости, из которых наиболее чувствительными являются SWI\FSBB\SWAN.

2. Выбор T2*-взвешенных импульсных последовательностей для диагностики геморрагической трансформации у лиц с ишемическим инсультом должен осуществляться с учетом особенностей их применения, в частности, в случаях неконтролируемой двигательной активности обосновано использование менее чувствительных сверхбыстрых импульсных последовательностей, взвешенных по магнитной восприимчивости – GRE-EPI\SE-EPI.

3. В случае отсутствия T2*-взвешенных изображений в протоколе сканирования головного мозга возможно использование сырых данных диффузионно-взвешенных изображений с b-фактором 0 с/мм², которые обладают T2*-взвешенностью и основаны на импульсной последовательности SE-EPI.

4. Разработанная в настоящем исследовании модель автоматической классификации содержимого внутримозговой гематомы может использоваться для практического применения в экспериментальных исследованиях на животных, где основной задачей является автоматическая классификация содержащихся в гематоме форм гемоглобина. Основным ограничением при этом является невозможность регистрации наличия оксигемоглобина. В клинической практике данную модель в существующем виде использовать не рекомендуется.

5. Включение импульсных последовательностей, взвешенных по магнитной восприимчивости, в протокол МР-сканирования в остром периоде инфаркта мозга, а также в раннем и позднем восстановительном периодах ишемического инсульта является обоснованным. Цель использования этих последовательностей – верификация наличия продуктов биodeградации гемоглобина – маркеров кровоизлияний различной давности, в том числе и микрокровоизлияний.

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ НАУЧНЫХ ТРУДОВ

1. Namestnikova D. Methodological aspects of MRI of transplanted superparamagnetic iron oxide-labeled mesenchymal stem cells in live rat brain / Gubskiy I., Kholodenko I., Melnikov P.,

- Sukhinich K., Gabashvili A., Vishnevskiy D., Soloveva A., Abakumov M., Vakhrushev I., Lupatov A., Chekhonin V., Gubsky L., Yarygin K. // PLoS One. – 2017. – Т. 12, № 10. – С. e0186717. IF (JCR) – 3,24
2. Gubskiy I.L. MRI Guiding of the Middle Cerebral Artery Occlusion in Rats Aimed to Improve Stroke Modeling / Namestnikova D.D., Cherkashova E.A., Chekhonin V.P., Baklaushev V.P., Gubsky L.V., Yarygin K.N. // Transl Stroke Res. – 2018. – Т. 9, № 4. – С. 417-425. IF (Springer) – 6,247
3. Namestnikova D.D. Intra-Arterial Stem Cell Transplantation in Experimental Stroke in Rats: Real-Time MR Visualization of Transplanted Cells Starting With Their First Pass Through the Brain With Regard to the Therapeutic Action / Gubskiy I.L., Revkova V.A., Sukhinich K.K., Melnikov P.A., Gabashvili A.N., Cherkashova E.A., Vishnevskiy D.A., Kurilo V.V., Burunova V.V., Semkina A.S., Abakumov M.A., Gubsky L.V., Chekhonin V.P., Ahlfors J.E., Baklaushev V.P., Yarygin K.N. // Front Neurosci. – 2021. – Т.2, №15. – С. 641970. IF (Frontiers) – 4,677
4. Гудкова В.В. Геморрагическая трансформация инфаркта мозга в постинсультном периоде (клиническое наблюдение) / Губский Л.В., Губский И.Л., Панов Г.В., Волкова Н.Н., Никогосова А.К., Логунова Т.А., Гуцалюк А.Г., Подерина В.П., Кимельфельд Е.И., Усанова Е.В. // Consilium Medicum. – 2016. – Т. 18, № 2. – С. 27-30. IF (РИНЦ) – 0,625
5. Cherkashova E.A. Comparative Analysis of the Effects of Intravenous Administration of Placental Mesenchymal Stromal Cells and Neural Progenitor Cells Derived from Induced Pluripotent Cells on the Course of Acute Ischemic Stroke in Rats / Burunova V.V., Bukharova T.B., Namestnikova D.D., Gubskii I.L., Salikhova D.I., Galitsina E.V., Leonov G.E., Chekhonin V.P., Gubskii L.V., Kisevov S.L., Goldstein D.V., Yarygin K.N. // Bull Exp Biol Med. – 2019. – Т. 166, № 4. – С. 558-566. IF (Springer) – 0,804
6. Gubskiy I.L. Hypoperfusion syndrome at susceptibility-weighted MR imaging in experimental model of acute focal cerebral ischemia / Namestnikova D.D., Gubskiy L.V. // International Journal of Stroke –2014. – Т. 9. – С. 45.
7. Namestnikova D. Susceptibility-weighted MRI for in vivo stem cells tracking in intact rat brain / Gubsky I., Gubsky L., Kholodenko I., Yarygin K., Sukhinich K., Vakhrushev I., Pogoreltsev V., Abakumov M. // ECR – Vienna 4-8 March 2015.
8. Gubskiy I. Mathematical determination of hemoglobin species in intracranial hemorrhage on MRI / Namestnikova D., Gubsky L., Lelyuk L., Osipov A. // European Stroke Journal –2017. – Т. 2. – С. 472.
9. Gubskiy I. Quantitative evaluation of blood on MRI / Namestnikova D., Nebesniy D., Gubsky L., Lelyuk V., Osipov A. // European Stroke Journal –2018. – Т. 3. – С. 532.
10. Gubskiy I. Determination of the form of hemoglobin in intracerebral hemorrhage using quantitative Magnetic Resonance Imaging / Namestnikova D., Nebesniy D., Gubsky L., Lelyuk V., Osipov A. // International Journal of Stroke. – 2018. – Т. 13. – С. 149.
11. Gubskiy I. Gradient boosting in automatic determination of hemoglobin specimen in intracerebral hemorrhage / Namestnikova D., Nebesniy D., Gubsky L., Osipov A., Lelyuk V. // European Stroke Journal. – 2019. – Т. 4. – С. 150.
12. Губский И.Л. Сравнение МРТ режимов SWI и T2*ВИ в норме и при геморрагической трансформации на модели экспериментального инфаркта мозга у крыс / Черкашева Э.А., Губский Л.В. // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2014. – Т. 114. – С. 12-13.
13. Губский И.Л., Синдром гипоперфузии на МРТ-изображениях в режиме SWI при острой фокальной ишемии мозга у крыс / Наместникова Д.Д., Губский Л.В. // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2014. – Т. 114. – С. 13-14.
14. Наместникова Д.Д., Прижизненная визуализация мезенхимальных стволовых клеток в головном мозге крыс с использованием различных режимов магнитно-резонансной томографии. / Губский И.Л., Холоденко И.В., Куташева А.А., Сухинич К.К., Мельников П.А., Витушев Е.Я., Ярыгин К.Н., Губский Л.В. // 2 национальный конгресс по регенеративной медицине – Москва, 3–5 декабря, 2015.
15. Курило В.В. Визуализация синдрома гипоперфузии при острой фокальной ишемии мозга у крыс на МР-изображениях, взвешенных по магнитной восприимчивости / Киргинев Д.Э., Губский И.Л., Наместникова Д.Д., Кондаков А.К. // Вестник РГМУ. – 2015. – Т. 2. – С. 464-465.

16. Губский И.Л. Возможности и области применения метода визуализации магнитной восприимчивости (SWI) / Панов В.О., Тюрин И.Е. // 11-й Международный Междисциплинарный Конгресс «Нейронаука для медицины и психологии» / Под ред. Лосевой Е. В. и др. – Судак, Крым, Россия, 2-12 июня 2015.

17. Губский И.Л. МРТ методы, взвешенные по магнитной восприимчивости, и церебральные изменения, выявляемые с их помощью / Наместникова Д.Д., Логунова Т.А., Никогосова А.К., Губский Л.В., Лелюк В.Г., Осипов А.Н. // Нейронаука для медицины и психологии: 12-й Международный междисциплинарный конгресс. / Под ред. Лосевой Е. В. и др. – Судак, Крым, Россия: МАКС Пресс, 1–11 июня 2016.

Список сокращений и условных обозначений

ГТ – геморрагическая трансформация
ДВИ – диффузионно-взвешенные изображения
ИКД – измеряемый коэффициент диффузии
ИП – импульсная последовательность
МРТ – магнитно-резонансная томография
МСК – мезенхимальные стволовые клетки
T1ВИ – T1-взвешенные изображения
T2*ВИ – T2*-взвешенные изображения
T2ВИ – T2-взвешенные изображения
DeOxy Clot Int – дезоксигемоглобин в сгустке с интактными эритроцитами
DeOxy Clot Lis – дезоксигемоглобин в сгустке с лизированными эритроцитами
DeOxy Un Int – дезоксигемоглобин в жидкой фазе с интактными эритроцитами
DeOxy Un Lis – дезоксигемоглобин в жидкой фазе с лизированными эритроцитами
ECASS – European Cooperative Acute Stroke Study
EPI – Echo Planar Imaging
FA – flip angle
Fib. Clot – фибриновый сгусток
FISP – Fast Imaging with Steady state Precession
FLASH – Fast Low Angle Shot
GRE – Gradient Echo
MEDIC – Multiple Echo Recombined Gradient Echo
Met Clot Int – метгемоглобин в сгустке с интактными эритроцитами
Met Clot Lis – метгемоглобин в сгустке с лизированными эритроцитами
Met Un Int – метгемоглобин в жидкой фазе с интактными эритроцитами
Met Un Lis – метгемоглобин в жидкой фазе с лизированными эритроцитами
Oxy Clot Int – оксигемоглобин в сгустке с интактными эритроцитами
Oxy Clot Lis – оксигемоглобин в сгустке с лизированными эритроцитами
Oxy Un Int – оксигемоглобин в жидкой фазе с интактными эритроцитами
Oxy Un Lis – оксигемоглобин в жидкой фазе с лизированными эритроцитами
Plasma – плазма
Serum – сыворотка.
SPIO – superparamagnetic iron oxide
SWI – susceptibility-weighted imaging
TE – time echo, время эха
TGSE – Turbo Gradient Spin Echo
TR – time repetition, время повторения