

ЗАГЛЯНУТЬ В ЧЕЛОВЕКА: ВИЗУАЛИЗАЦИЯ В МЕДИЦИНЕ

Л. В. Осипов^{1,a}, М. Б. Долгушин^{2,b}, А. И. Михайлов^{2,b}, Б. Эпель^{3,c}, К. А. Румянцев^{4,5,d}, К. К. Туроверов^{4,d}, В. В. Верхуша^{5,d}, Е. Ю. Куликова⁶✉

¹ ООО «ИзоМед», Москва

² Отделение позитронной эмиссионной томографии, Российский онкологический научный центр имени Н. Н. Блохина, Москва

³ Отделение радиологии и клеточной онкологии, Университет Чикаго, Чикаго, США

⁴ Лаборатория структурной динамики, стабильности и фолдинга белков, Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург

⁵ Отдел анатомии и структурной биологии, Колледж медицины имени Альберта Эйнштейна, Нью-Йорк, США

⁶ Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Москва

^aраздел по ультразвуковым технологиям; ^bраздел по томографическим технологиям; ^cраздел по оксиметрии; ^dраздел по флуоресцентной визуализации

Медицина развивается стремительно: разрабатываются новые более эффективные препараты, предлагаются все менее травматичные способы оперативных вмешательств, а для замещения тканей и органов используются искусственные материалы и управляемые протезы. Однако по-прежнему успех лечения во многом определяется своевременным и точным диагностированием заболевания, а также адекватным мониторингом эффективности терапии. Эти задачи решают с применением различных технологий визуализации. Многие ассоциируют их с представлением анатомических структур тела, но в действительности гораздо чаще они позволяют определить функциональное состояние тканей и органов. Разнообразие технологий визуализации велико, и описать их все в одной работе не представляется возможным, поэтому для настоящего обзора были выбраны наиболее распространенные и интересные из них: ультразвуковые и томографические технологии, прижизненная оксиметрия и флуоресцентная визуализация.

Ключевые слова: ультразвуковая визуализация, компьютерная томография, магнитно-резонансная томография, позитронно-эмиссионная томография, оксиметрия *in vivo*, флуоресцентная визуализация *in vivo*

✉ Для корреспонденции: Куликова Елена Юрьевна
117997, г. Москва, ул. Островитянова, д. 1; elena.yu.kulikova@gmail.com

Статья поступила: 15.08.2016 Статья принята к печати: 20.08.2016

LOOKING INSIDE MAN: MEDICAL IMAGING

Osipov LV^{1,a}, Dolgushin MB^{2,b}, Mikhaylov AI^{2,b}, Epel B^{3,c}, Rumyantsev KA^{4,5,d}, Turoverov KK^{4,d}, Verkhusha VV^{5,d}, Kulikova EYu⁶✉

¹IzoMed Ltd., Moscow, Russia

²Department of Positron Emission Tomography, N. N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Moscow, Russia

³Department of Radiation and Cellular Oncology, University of Chicago, Chicago, USA

⁴Laboratory of the Structural Dynamics, Stability and Folding of Proteins, Institute of Cytology of Russian Academy of Sciences, Saint-Petersburg, Russia

⁵Department of Anatomy and Structural Biology, Albert Einstein College of Medicine, New York, USA

⁶Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

^aultrasound technologies; ^btomographic technologies; ^coximetry; ^dfluorescence imaging

The rapid progress of medical sciences has brought about novel effective medications, new techniques that make surgery less traumatic, artificial materials that serve to replace tissues and organs, and robotic prostheses. Still, treatment success is largely a question of timely and accurate diagnosis and proper patient monitoring. Here, various imaging techniques come in handy. Those are often thought of as tools for anatomy visualization, but in fact, they are often highly effective for the assessment of the functional state of organs and tissues. Imaging techniques are so diverse that it is impossible to cover them all in one review. Therefore, we have decided to touch upon the most common and interesting ones, such as ultrasound imaging, tomography, oximetry and fluorescence imaging.

Keywords: ultrasound imaging, computed tomography, magnetic resonance imaging, positron emission tomography, oximetry *in vivo*, fluorescence imaging *in vivo*

✉ Correspondence should be addressed: Elena Kulikova
ul. Ostrovityanova, d. 1, Moscow, Russia, 117997; elena.yu.kulikova@gmail.com

Received: 15.08.2016 Accepted: 20.08.2016

Ультразвуковая диагностика

Одним из наиболее востребованных методов медицинской визуализации является ультразвуковое исследование (УЗИ). Основные режимы работы УЗ-приборов — двумерный В-режим получения серошкальных изображений и доплеровские методы, в том числе спектральный режим для количественной оценки кровотока в сечении сосуда и цветное двумерное картирование динамики кровотока в сосудах и сердце, а также движения структур сердца (прежде всего, левого желудочка) с помощью тканевого доплера. Если УЗИ в В-режиме может уступать другим методам визуализации в некоторых областях применения, то доплеровские методы имеют преимущество за счет получения информации в режиме реального времени.

Названные основные режимы УЗИ непрерывно совершенствуются. Для повышения качества визуализации злокачественных опухолей и других патологических образований в клиническую практику внедряется технология эластографии при исследовании в В-режиме. Она основана на выявлении различий в жесткости исследуемых структур относительно окружающих тканей. Существует два подхода к оценке жесткости структур: компрессионный, при котором сравнивают изображения, полученные до и после сжатия исследуемой области, например молочной железы или простаты, и метод измерения скорости сдвиговых волн, которые возникают в результате надавливания на ткань или в результате воздействия акустического импульса в узком направлении [1, 2]. Каждый из подходов имеет свои достоинства, и в приборах экспертного класса поддерживаются оба метода.

Допплеровские технологии имеют недостаток — зависимость от величины доплеровского угла, что иногда приводит к появлению на изображениях артефактов, а также затрудняет интерпретацию результатов визуализации движения крови и структур сердца. Методы, позволяющие преодолеть это ограничение, активно разрабатываются. Например, с помощью сложных методов алгоритмической обработки результатов доплеровского анализа потока крови и движения стенок левого желудочка удалось получить векторное отображение кровотока в сердце.

Развиваются и недопплеровские технологии: В-flow для визуализации кровотока и обнаружения бляшек в сосудах и спекл-трекинг в эхокардиографии для анализа движения выделенных сегментов тканей сердца [1].

Датчики для УЗИ-аппаратов

В ультразвуковой диагностике высокое качество изображения чрезвычайно важно, особенно при исследовании глубоко расположенных структур и при работе с «трудными» пациентами. Опросы специалистов УЗИ в Европе показывают, что большинство из них не удовлетворены качеством изображений, формируемых их приборами [3]. Одно из направлений решения проблемы связано с разработкой новых датчиков для УЗИ-аппаратов.

Все большее распространение получают матричные датчики. В отличие от традиционных датчиков на основе одномерной решетки с числом пьезоэлементов n (где n может быть равно 64–256), в матричных датчиках используется двумерная решетка с числом элементов $n \times m$. Они обеспечивают управляемую фокусировку на передачу и непрерывную фокусировку на прием не только в плоскости сканирования, но и в перпендикулярной ей плоскости, формируя узкую диаграмму на излучение и прием во всем

диапазоне исследуемых глубин и улучшая контрастное разрешение. Важнейшая характеристика полноразмерных матричных датчиков — высокий темп 3D-сканирования и реализация режима 4D (3D в реальном времени) за счет формирования сразу нескольких сканирующих лучей [1]. Получаемые при этом объемные изображения широко применяются в кардиологии, гинекологии, акушерстве и хирургии.

Еще одна перспективная технология — монокристаллические датчики, в которых вместо пьезокерамики используются искусственно выращенные монокристаллы с более высокими характеристиками, обеспечивающими большую глубину исследования и более высокую разрешающую способность.

Принципиально иной подход к изготовлению датчиков основан на технологиях MEMS (micro-electro-mechanical systems). Одна из них, pMUT (piezoelectric micromachined ultrasound transducer), предполагает создание решетки из элементов настолько малого размера, что позволяет реализовать миниатюрные матричные решетки для транспищеводных датчиков для наблюдения сердца с близкого расстояния и катетерных высокочастотных датчиков, позволяющих исследовать внутренние области сердца с получением объемных изображений. Другая технология, cMUT (capacitive micro-fabricated ultrasound transducers) основана на применении емкостных элементов с подвижной мембраной, повышающих чувствительность и разрешающую способность датчиков [4].

Устройства передачи и приема

Одно из ключевых требований к современным УЗИ-приборам — широкая полоса частот приемно-передающих каналов, которая дает возможность применять короткие импульсы с более высокой разрешающей способностью как в В-режиме, так и в цветовых доплеровских режимах. Однако с возрастанием частоты увеличивается затухание сигнала в тканях и уменьшается глубина исследования. Преодолеть это ограничение можно было бы путем повышения энергии сигнала, но это небезопасно. Справиться с этим ограничением можно, используя особый вид сигналов — «сложные сигналы», в частности, кодированные последовательности импульсов: вследствие большей длительности они увеличивают глубину исследования для высокочастотных датчиков и при этом за счет алгоритма «сжатия» помогают сохранить высокую разрешающую способность.

В системах высокого класса все чаще находит применение многокурсное сканирование. Эта технология предусматривает многократный осмотр нужной области — каждый раз при различной угловой ориентации лучей. Затем полученные изображения суммируются, что обеспечивает улучшенное контрастное разрешение и дифференциацию тканей, более четкое отображение границ органов. Очевидная плата за эту технологию — снижение частоты кадров во столько раз, сколько ракурсов используется.

Адаптивные режимы и автоматизация измерений

Ультразвуковое исследование является «чемпионом» по числу режимов и настроек среди всех методов визуализации. Врачи заинтересованы в упрощении работы на УЗИ-аппаратах, особенно врачи скорой помощи и терапевты, использующие приборы возле постели больного

(point-of-care applications). Производители предусматривают режимы предустановки (presetting), которые позволяют автоматически выбирать настройки в зависимости от диагностической задачи и исследуемых органов. Автоматизированы непрерывная фокусировка на прием, выбор частоты в зависимости от глубины исследования, обеспечение постоянного среднего уровня отображаемых сигналов во всем диапазоне глубин, оценка важных диагностических характеристик (выделение огибающих доплеровского спектра скоростей и вычисление на их основе количественных диагностических индексов, оценка толщины комплекса интима-медиа и т. д.).

Хорошим примером адаптивного режима является технология автоматической оценки скорости звука в исследуемой области и ее учет при формировании изображения, что заметно улучшает его качество. К методам адаптации можно также отнести и непрерывную фокусировку на передачу по глубине. Фокусировку на передачу при обычном сканировании нельзя сделать такой же непрерывной, как на прием. Успешно реализован способ, основанный на технологии синтезированной апертуры (synthetic aperture), которая формирует изображение в результате постпроцессорной обработки [1]. Непрерывная фокусировка на передачу позволяет улучшить качество изображения без снижения частоты кадров.

Автоматические измерения и вычисления упрощают работу специалиста по ультразвуковой диагностике и уже используются в кардиологии, ангиологии, акушерстве, урологии и других областях, но предъявляют дополнительные требования к качеству изображений. Чаще всего для хороших автоматических измерений необходима высокая контрастная разрешающая способность и четкие контуры структур. Так, для точного измерения изменения диаметра артерий с целью оценки эластичности сосудов и измерения толщины интима-медиа (intima-media thickness), что важно для определения степени развития атеросклероза, применяют специальные радиочастотные методы.

Томографическая диагностика

Открытое в 1895 г. рентгеновское излучение долгие годы являлось основой всех методов лучевой диагностики и до сих пор реализуется в самостоятельных методиках для получения плоскостных изображений (рентгенография, маммография, флюороскопия). Следующим шагом в развитии технологии стало получение томографических изображений (последовательных изображений внутренней структуры объекта) путем взаимного смещения рентгеновской трубки и пластины (детектора). Качество таких изображений оставалось низким до изобретения в 1969–1971 гг. Годфри Хаунсфилдом и Алланом Кормаком компьютерной томографии. Соединение компьютерных технологий и рентгеновского излучения позволило отойти от плоскостных изображений.

Компьютерная томография

Компьютерная томография (КТ) — метод неинвазивного послойного исследования, основанный на измерении и сложной компьютерной (математической) обработке разности ослабления рентгеновского излучения различными по плотности тканями. В настоящее время КТ является наиболее распространенным томографическим методом исследования человека.

Развитие компьютерной томографии связано с увеличением числа детекторов и числа одновременно собираемых проекций, за счет чего растет скорость исследования и расширяется зона одномоментного сканирования. Первые томографы обеспечивали пошаговое сканирование: один оборот рентгеновской трубки на каждый слой и одна рентгеновская трубка, направленная на один (в приборах первого поколения; время обработки слоя — 4 мин) или несколько (в приборах второго поколения; время обработки слоя — 20 с) детекторов [1]. Затем появилось понятие спиральной компьютерной томографии (СКТ; приборы третьего поколения): трубка и детекторы за один шаг стола синхронно осуществляли полное вращение по часовой стрелке, что значительно уменьшило время исследования, а дальнейшее увеличение числа детекторов и некоторое наложение слоев позволило значительно сократить время обработки изображений и заметно повысить качество реконструкций [5].

Приборы четвертого поколения (мультиспиральная компьютерная томография, МСКТ) имеют несколько слоев датчиков, расположенных по всему кольцу (гентри). С высокой скоростью (до 0,33 с на оборот) вращается лишь рентгеновская трубка с модифицированной формой пучка излучения, что позволяет задействовать параллельно до 320 рядов детекторов (среди аппаратов экспертного класса наиболее распространены сканеры с 64 или 128 рядами детекторов, рутинные томографы оснащены 16–32 рядами детекторов). Дальнейшее развитие МСКТ связано с совершенствованием методов компьютерной реконструкции изображений — «гонку» по числу детекторов производители приостановили. Основным преимуществом МСКТ в сравнении с СКТ является возможность получения изотропного изображения при сканировании с субмиллиметровой толщиной среза (0,5 мм) без потери качества при последующей реконструкции в любых плоскостях и коррекции плотностных характеристик. Благодаря этому развились методы виртуальной эндоскопии, в частности, виртуальной колонографии и бронхоскопии, позволяющие с большой точностью реконструировать эндоскопическую картину, а с совершенствованием методов постобработки — даже проводить виртуальную интраваскулярную эндоскопию [6].

Увеличение скорости сканирования обеспечило возможность оценивать динамику накопления рентгеноконтрастных веществ с высоким пространственным разрешением. Так, КТ-ангиография по характеристикам почти не уступает прямому ангиографическому исследованию, но при этом неинвазивна. Сегодня это рутинная методика, позволяющая оценивать не только любые дефекты кровотока (стеноз, аневризмы, полная окклюзия), но и состояние сосудистых стенок (наличие атеросклеротических бляшек), что при прямой ангиографии невозможно. С помощью современных методов реконструкции можно получать качественные изображения с крайне низкой лучевой нагрузкой [7].

КТ-перфузия — метод, основанный на вычислении изменения плотностных характеристик исследуемой области при внутривенном введении рентгеноконтрастного препарата. Математический анализ получаемых данных позволяет рассчитать ряд показателей кровотока, основными среди которых являются скорость, объем и время. Существует несколько методов анализа временных зависимостей концентрации контрастного вещества для получения количественных оценок тканевой гемодинамики. На основе большого числа гемодинамических характеристик

можно проводить дифференциальную диагностику между доброкачественными и злокачественными опухолями, ятрогенными изменениями, оценивать степень злокачественности опухоли и определять зоны поражения различных органов при нарушениях кровообращения [8].

Особый интерес вызывает двухэнергетическая КТ, названная так за использование сканеров с двумя источниками рентгеновского излучения. Например, при исследованиях сердца (постоянно движущийся объект) требуется очень короткий период сканирования, синхронизированный с ритмом сердечных сокращений. При МСКТ минимальный промежуток времени, требуемый для регистрации неподвижного среза (при времени обращения трубки, равном 0,33 с), составляет 173 мс, т. е. время полуоборота трубки обеспечивает временное разрешение, достаточное для нормальной частоты сердечных сокращений (65–80 уд./мин). Однако чаще всего у пациентов с кардиопатологией частота сердечных сокращений выше и наблюдается аритмия. Использование двух рентгеновских трубок, расположенных под углом 90°, дает временное разрешение, равное четверти периода обращения трубки (83 мс), и это позволяет получать высококачественные изображения сердца даже при высокой частоте сокращений [9].

Двухэнергетические сканеры имеют еще одно значительное преимущество: каждая трубка может работать с различными значениями напряжения и тока. В комплексе со сложными вычислительными методами это обеспечивает лучшую дифференцировку близких по плотности тканей, уменьшение числа артефактов от близко расположенных объектов различной плотности (повышение качества ангиографии и перфузии сосудов и новообразований, расположенных близко к костям или металлоконструкциям), создание виртуальных нативных изображений при использовании контрастного вещества. Указанный эффект основан на различном поглощении излучения тканями при изменении его параметров в присутствии йодсодержащего контрастного вещества, в то время как параметры поглощения излучения в гидроксипатитах (основа кости) или металлах не меняются [10].

Существуют также методы компьютерной обработки данных, позволяющие определять содержание различных солей по изменению параметров поглощения ими излучения различной энергии, что в клинической практике нашло применение в диагностике подагры (оценка содержания урата натрия) [11].

Магнитно-резонансная томография

Магнитно-резонансная томография (МРТ) — способ исследования внутренних органов и тканей с использованием явления ядерного магнитного резонанса. В основу метода положено измерение электромагнитного отклика атомных ядер (чаще всего ядер атомов водорода) при возбуждении их различными сочетаниями электромагнитных волн в постоянном магнитном поле (0,5–3,0 Тесла) [12, 13].

Поначалу МРТ использовали для исследований головного мозга (и она до сих пор является «золотым стандартом» в нейровизуализации), затем с ее помощью стали визуализировать различные области тела. Развитие технологии единого виртуального поля обзора с использованием отдельных элементов поверхностных катушек позволили сканировать в автоматическом режиме и одновременно большие анатомические области и даже тело целиком.

В случае с МРТ всего тела подвижный стол для укладки пациента и интегрированные приемные катушки исключают поэтапную ручную репозицию пациента [13].

МРТ отличается от КТ полным отсутствием лучевой нагрузки и более высоким разрешением при исследовании мягких тканей, в том числе за счет возможности подавлять сигнал от тканей определенных типов. Наличие органоспецифичных магнитно-резонансных контрастных препаратов (гадоксетовой кислоты — для печени, наночастиц суперпарамагнетического оксида железа — для лимфоузлов) определяет выход магнитно-резонансной томографии на один «молекулярный» уровень с позитронно-эмиссионной томографией (ПЭТ) [12, 13].

Диффузионно-взвешенная томография (ДВТ) — метод МРТ, основанный на регистрации скорости перемещения (покрываемой движением площади) меченных радиоимпульсами протонов. Он позволяет полуколичественно оценить броуновское движение (температурную миграцию) молекул воды в организме. Таким способом можно характеризовать сохранность мембран клеток и состояние межклеточных пространств. Диффузионно-взвешенная томография нашла применение в диагностике острых нарушений мозгового кровообращения по ишемическому типу — с ее помощью распознают инсульт в острой и острейшей стадиях (это невозможно при КТ). ДВТ также активно используют для дифференциальной диагностики внутримозговых образований и демиелинизирующих заболеваний, а ДВТ всего тела — это высокоэффективный и чувствительный метод стадирования онкопатологий и скрининговый метод для лиц с повышенным риском развития онкозаболевания или его рецидива (в комплексе с ПЭТ-КТ позволяет снизить лучевую нагрузку) [14].

Одно из приложений ДВТ — трактография. Измерив тензор диффузии, можно рассчитать ее направление, а затем, получив информацию о геометрическом строении тканей, определить направление крупных пучков нервных или мышечных волокон. Такие данные важны при планировании хирургического лечения опухолей головного и спинного мозга и прогнозирования возможного неврологического дефицита [15].

Магнитная резонансная спектроскопия (МРС) — метод, позволяющий по концентрации определенных метаболитов определить биохимический состав тканей. В МРС используют ядра любых атомов с нечетным числом протонов, но наилучший сигнал формируют ядра водорода. Метод был предложен еще в 1970-х гг., но долгое время его развитие сдерживалось отсутствием должного аппаратного обеспечения [16]. Из-за высоких требований к однородности поля и чувствительности к подвижности органов МРС используют в основном для исследования головного мозга и простаты. Известно, что нарушения метаболизма в тканях возникают до клинических проявлений заболевания, поэтому на основе данных МРС можно диагностировать заболевания на более ранних стадиях [17]. Благодаря совершенствованию алгоритмов обработки данных стало возможным преобразовывать обычные спектроскопические данные в метаболические карты больших областей мозга [18].

Магнитно-резонансная ангиография (МРА) позволяет оценивать как анатомическое строение сосудов, так и функциональные особенности кровотока. Метод основан различии сигналов от перемещающихся протонов (крови) и окружающих неподвижных тканей. Так можно получать изображения сосудов без использования контрастных средств [19].

Относительно новым методом оценки гемодинамических, перфузионных характеристик мозгового вещества является перфузионная МРТ. Ее преимущества перед КТ-перфузией — отсутствие рентген-излучения и необходимости вводить контрастное вещество, что крайне важно при исследованиях у детей [8, 20].

Функциональная МРТ (фМРТ) — метод картирования коры головного мозга, позволяющий определить индивидуальное местоположение и особенности областей мозга, отвечающих за движение, речь, зрение, память и другие высшие корковые функции. Суть метода заключается в фиксации повышенного кровотока в активированных отделах коры головного мозга [21].

Возможности современных МР-томографов решили проблему анатомической визуализации структур головного мозга, включая сосудистую и ликворную системы, а также позволяют в определенной мере оценивать функциональное состояние головного мозга.

Позитронно-эмиссионная томография

Клиническое применение ПЭТ началось более 30 лет назад, преимущественно в неврологии и кардиологии. С 2000-х гг. ПЭТ особенно востребована в онкологии: более 90 % всех исследований с помощью этого метода выполняется у онкологических больных [22].

Физический принцип метода — регистрация излучения от радиофармацевтического препарата (РФП), накапливающегося в тканях организма. Нормальные и пораженные ткани по-разному накапливают РФП, в том числе в зависимости от их функционального состояния. Самым распространенным РФП является ¹⁸F-фтордезоксиглюкоза (¹⁸F-ФДГ) [22]. Совмещение радионуклидных и томографических технологий (ПЭТ-КТ, ПЭТ-МРТ) повышает качество анатомической пространственной визуализации, позволяя получать большой объем дополнительной информации о метаболизме в опухолях и решать ряд клинических задач: устанавливать распространенность опухолевого процесса, рано выявлять его прогрессирование, определять степень ответа на терапию, проводить дифференциальную диагностику злокачественных и доброкачественных

новообразований и неопухолевых заболеваний [23]. На рис. 1 приведен пример использования нескольких методов для диагностики одного и того же заболевания [24].

Доказана высокая диагностическая эффективность ПЭТ с ¹⁸F-ФДГ при раке легкого, пищевода, колоректальном раке, опухолях головы и шеи. ПЭТ-КТ с ¹⁸F-ФДГ — «золотой стандарт» при меланоме, лимфомах, поиске невыявленного первичного очага при метастазах. Нет однозначного показания к выполнению ПЭТ с ¹⁸F-ФДГ при высокодифференцированном раке молочной железы (РМЖ), щитовидной железы, поджелудочной железы, яичников, яичка, при саркомах [20]. При раке почки, предстательной железы, мочевого пузыря, при гепатоцеллюлярном раке, нейроэндокринных опухолях, опухолях головного мозга ПЭТ с ¹⁸F-ФДГ недостаточно информативна, что компенсируется применением других РФП. Ниже мы проиллюстрируем это на нескольких примерах.

При опухолях головного мозга чаще всего используют радиофармпрепараты, отражающие особенности метаболизма аминокислот, с относительно слабым накоплением в неизменном мозговом веществе. Наибольшее распространение получил ¹¹C-метионин, специфичность которого в диагностике внутримозговых опухолей достигает 90 %. Препаратом следующего поколения является ¹⁸F-фторэтилтирозин, имеющий более длительный период полураспада, что позволяет расширить сферу его применения. ¹⁸F-тимидин характеризует интенсивность процесса сборки цепей ДНК и позволяет оценить снижение пролиферативной активности опухолевой ткани на фоне лечения, прежде всего — лекарственного. Большой интерес вызывает ¹¹C-бутират натрия — жирная аминокислота, обладающая уникальными свойствами, позволяющими определить не только гемодинамические свойства (степень васкуляризации) опухоли, но и уровень ее метаболизма [25]. Холин-содержащие препараты, меченные ¹¹C или ¹⁸F, при исследовании головного мозга позволяют оценить формирование мембранных комплексов (фосфолипидов) и ацетилхолиновых рецепторов. Как известно, активно растущие злокачественные опухоли требуют быстрого обновления и производства клеточных мембран, что находит свое отражение в накоплении РФП [26].

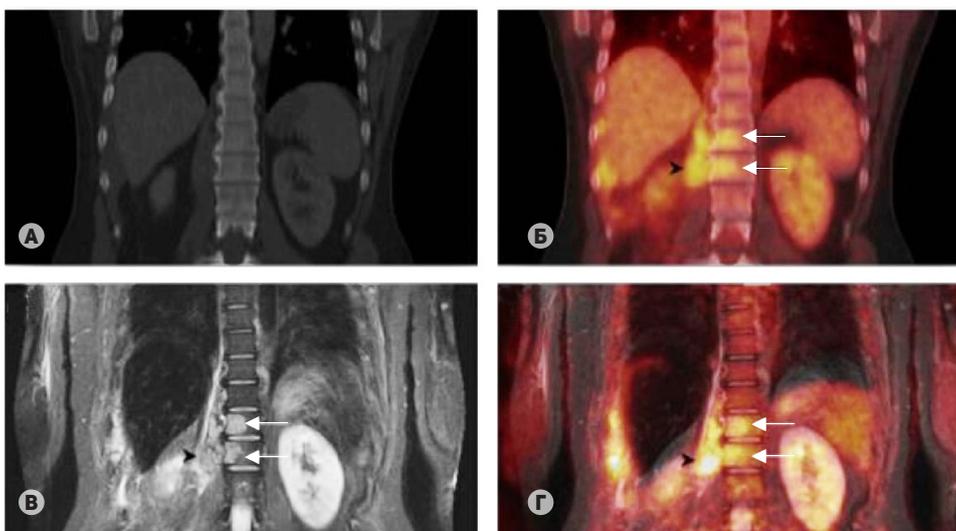


Рис. 1. Неходжкинская лимфома с поражением костного мозга. Компьютерная томография в костном окне (А) позволяет определить паравerteбральные опухолевые массы, но не инфильтрацию позвонков, в то время как магнитно-резонансная томография (В) позволяет выявить эти поражения (указаны стрелками), подтверждаемые также с помощью гибридных технологий — ПЭТ-КТ (Б) и ПЭТ-МРТ (Г) с ¹⁸F-фтордезоксиглюкозой. Таким образом, МРТ более чувствительна в диагностике поражений костного мозга и выявляет первые признаки инфильтрации плазматическими клетками до гиперстимуляции остеокластов и деструкцию кости (Buchbender и соавт., [24])

Назначение ПЭТ при обследовании больных раком молочной железы — не первичная диагностика, а оценка биологической активности первичной опухоли, диагностика наличия регионарных и отдаленных метастазов, оценка эффективности терапии и выявление местных рецидивов, и для этих целей обычно применяют ^{18}F -ФДГ [27]. Но некоторые типы РМЖ эффективнее выявляются с помощью ^{18}F -фторэстрадиола, специфичного к эстрогеновым рецепторам. Другой РФП, ^{18}F -Galacto-RGD, помогает визуализировать инвазивные протоковые карциномы и используется в планировании лечения препаратами, блокирующими неоангиогенез [28].

В диагностике рака предстательной железы ПЭТ-КТ с ^{18}F -ФДГ имеет ограниченную эффективность вследствие накопления ^{18}F -ФДГ в ткани доброкачественной гиперплазии железы. В последние годы широко используется ^{18}F -Холин и ^{11}C -холин. Назначение ПЭТ-КТ с препаратами на основе холина — выявление рецидивов рака после лучевой терапии, брахитерапии и простатэктомии (при «биохимическом» рецидиве), т. к. после этих методов лечения МРТ-диагностика крайне затруднена [29]. Этот же метод эффективен при уточняющей диагностике местнораспространенного рака простаты и выявления метастазов в регионарных лимфатических узлах. Для выявления отдаленных метастазов (в особенности костных) обычно требуются МРТ всего тела, остеосцинтиграфия, УЗИ печени и другие исследования, но все их заменяет ПЭТ-КТ [30]. Кроме препаратов на основе холина, используют другие РФП для диагностики рака простаты, например ^{18}F -фтордигидротестостерон (FDHT) — один из инновационных препаратов для ПЭТ. Исследования с его использованием базируются на повышенной экспрессии рецепторов андрогенов, что может быть свойственно как опухолевым, так и здоровым клеткам предстательной железы [31], поэтому FDHT больше подходит для мониторинга терапии, а не для диагностики первичного рака простаты. Ga-68-PSMA — препарат на основе простатического специфического мембранного антигена. Он не только обладает высокой специфичностью, но и позволяет планировать лечение радиоактивными ^{90}Y - или ^{177}Lu -PSMA [32].

Чувствительность ПЭТ с ^{18}F -ФДГ слишком низкая для диагностики нейроэндокринных опухолей различной локализации, и в этой области нашли широкое применение другие РФП: ^{18}F -фтор-L-дигидроксифенилаланин, ^{11}C -гидрокси-L-триптофан и лиганды соматостатиновых рецепторов, меченные ^{68}Ga (^{68}Ga -DOTA-TOC, ^{68}Ga -DOTA-NOC, ^{68}Ga -DOTA-TATE) [33]. Сравнительные исследования эффективности сцинтиграфии и ПЭТ со сходными пептидами демонстрируют более высокую чувствительность и специфичность последней, а возможность совмещения данных ПЭТ и КТ повышает информативность исследования [34].

При подозрении на наличие костных метастазов для ПЭТ-КТ помимо ^{18}F -ФДГ используют ^{18}F -NaF (фторид натрия). Его диагностическая ценность схожа с таковой у эксаметазима для ОФЭКТ. Важные преимущества ПЭТ-КТ с ^{18}F -NaF в отношении остеосцинтиграфии — низкая лучевая нагрузка и более высокое пространственное разрешение, благодаря чему удается выявлять мельчайшие метастазы в костной системе [35].

Оксиметрия методом ЭПР-спектроскопии *in vivo*

Метод электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) с пространственным разрешением (ЭПР-томография) —

быстро развивающийся метод визуализации распределения в пространстве парамагнитных центров, ПЦ (молекул, имеющих неспаренные электроны, спиновых меток и спиновых зондов, СЗ), и исследования их кинетических свойств, спектральных параметров и релаксационных характеристик. ЭПР-томография схожа с томографией, основанной на ядерном магнитном резонансе, однако есть и особенности [36]. Так, ЭПР-томография требует в 658 раз меньших магнитных полей, что позволяет отказаться от дорогих сверхпроводящих магнитов. Для получения пространственного распределения ПЦ используется линейный градиент магнитного поля G , который накладывается на постоянное магнитное поле B_0 . Дополнительное магнитное поле, действующее на парамагнитную частицу, позволяет определить ее положение.

В природе, особенно в живых организмах, редко встречаются ПЦ в высокой концентрации. Поэтому для получения изображений в ЭПР-томографии используют различные спиновые зонды. В зависимости от задачи могут быть синтезированы СЗ, чувствительные к различным физическим и химическим параметрам — вязкости, температуре, pH, окислительно-восстановительному потенциалу клеток и парциальному давлению кислорода $p\text{O}_2$. СЗ вводят в организм внутривенно или внутриартериально, а в некоторых случаях, например при мониторинге раковых опухолей, — прямой инъекцией в интересующую область. Зонды легко проникают в межклеточное пространство и выводятся из организма в течение 10–50 минут [37].

Оксиметрия — одно из основных применений современной ЭПР-томографии. Молекулярный кислород — один из важнейших компонентов клеточного баланса. Для нормального функционирования тканей необходимо их адекватное снабжение кислородом, а по уровню содержания O_2 можно диагностировать различные патологические состояния. В онкологии также необходимо знать пространственное распределение кислорода в раковых опухолях, поскольку уровень $p\text{O}_2$ в значительной степени определяет чувствительность злокачественного новообразования к воздействию радио- или химиотерапии [38, 39]. Разработка более точных методов визуализации уровня $p\text{O}_2$ в тканях имеет широкие перспективы практического применения в биологии и медицине [40].

Успехи оксиметрии методом ЭПР-спектроскопии связаны с применением в качестве спиновых зондов триарилметилловых радикалов, которые имеют узкие линии ЭПР, что положительно влияет на пространственное разрешение метода (0,5–1,0 мм) [41]. Скорости продольной (спин-решеточной) и поперечной релаксации этих радикалов линейно зависят от уровня $p\text{O}_2$ и позволяют определять его с точностью до 1 мм рт. ст. Главный недостаток метода — необходимость использования СЗ, которые пока не сертифицированы для клинического применения.

В качестве примера практического применения оксиметрии методом ЭПР-томографии приведем результаты исследования Erel и соавт. [42]. Речь идет о доклинических испытаниях метода пространственно-модулированной радиотерапии на основе распределения кислорода в опухолевой ткани. В качестве моделей использовались мыши с искусственно выращенной фибросаркомой. Идея заключалась в следующем: смертельная доза радиации для хорошо оксигенированных раковых тканей в 3 раза ниже, чем для тканей с $p\text{O}_2$ менее 10 мм рт. ст., поэтому есть возможность дифференцировать дозы для разных участков опухоли. Протокол облучения включал две стадии. На первой стадии на опухоль воздействовали

облучением на уровне 30 % дозы, необходимой для уничтожения опухоли (tumor control dose, TCD₃₀). Этого достаточно для разрушения 99 % клеток хорошо оксигенированных участков опухоли. На второй стадии дополнительно облучали участки опухоли с низким содержанием кислорода и потому устойчивые к действию излучения. Кумулятивная доза облучения для этих областей была сравнима с TCD₉₈. На второй стадии требовалась субмиллиметровая точность доставки излучения. В исследовании использовали новую систему радиотерапии животных — XRAD225Cx micro-CT/radiation therapy delivery system — и протокол, состоящий из пяти лучей под различными углами. Поток излучения формировали с помощью напечатанных на 3D-принтере блоков из пластика с добавлением вольфрама. На рис. 2 показаны стадии изготовления таких блоков по данным ЭПР-томографии. Расчет геометрии лучей и создание блоков занимают всего около 30 мин с момента проведения ЭПР-измерений. Это важно, поскольку длительность интервала между ЭПР-измерениями и началом радиотерапии критически важна вследствие потенциальных изменений содержания кислорода в тканях. В доклинических испытаниях описанный метод показывает достаточно высокую эффективность.

В прошлом году Национальные институты здоровья США (National Institutes of Health) спонсировали первые клинические испытания, в которых используется оксиметрия методом ЭПР-спектроскопии для предсказания эффективности радиотерапии. Успех этой программы и положительные результаты наших исследований позволят перейти к внедрению метода в практику. ЭПР-томограф прост в устройстве и может быть встроены в существующие облучатели для успешного лечения раковых опухолей.

Флуоресцентная визуализация

Флуоресцентная визуализация является универсальным методом анализа различных биологических систем — от единичных молекул до целых организмов. За последние два десятилетия использование GFP-подобных флуоресцентных белков (fluorescent protein, FP) позволило не только визуализировать динамические процессы, происходящие в клетках, но также стимулировало развитие новых методов микроскопии. В настоящее время усилия ученых направлены на создание генетически кодируемых оптических биомаркеров, имеющих спектры поглощения и излучения света в так называемом ближне-инфракрасном (near-infrared, NIR) «окне прозрачности» биологических тканей (650–900 нм), где излучение уже не поглощают гемоглобин эритроцитов и меланин кожи и еще не поглощают молекулы воды. Это требуется для того, чтобы неинвазивно визуализировать динамические процессы, происходящие в глуболежащих тканях млекопитающих. Новые флуоресцентные биомаркеры могут быть востребованы как при проведении фундаментальных исследований в биологии, так и в медицине, поскольку их использование сможет в ряде случаев заменить рентген. Однако получить GFP-подобные FP, удовлетворяющие описанным спектральным требованиям, не удалось.

Решением проблемы стало использование в качестве флуоресцентных биомаркеров комплексов бактериального фитохрома с биливердином (biliverdin, BV) — хромофором, который является продуктом распада гема и присутствует в тканях животных и человека. За последние годы на основе бактериальных фитохромов были получены

NIR FP, постоянно флуоресцирующие, фотоактивируемые и образующие сплит-системы [43–48].

В частности, использование NIR FP белков семейства iRFP позволило визуализировать небольшие опухоли на ранних стадиях развития, а также исследовать их рост и метастазирование в организмах модельных животных [43, 49]. Белок iRFP713 был успешно использован для наблюдения за опухолями глубоко залегающих органов, таких как печень, простата и мозг, а также внутрикостных опухолей [50]. Использование флуоресцентной визуализации в сочетании с компьютерной томографией позволило проследить за развитием воспалительного рака молочной железы и его метастазирования в лимфатические узлы [51]; обнаружить пути миграции клеток меланомы [50].

NIR FP обладают большим потенциалом в качестве биомаркеров для доклинических испытаний противораковых препаратов, поскольку способны визуализировать регрессию и рецидив опухоли при ее лечении [52].

Возможность визуализации меченых клеток в целом организме животного делает NIR FP перспективными биомаркерами для исследования стволовых клеток. Мечение клеток-предшественников кардиомиоцитов белком iRFP713 позволило визуализировать процесс восстановления миокарда в модели ишемии у мышей [53]. Была показана способность пересаженных клеток костного мозга, меченых iRFP713, восстанавливать гемопоэз у облученных рентгеном мышей [54].

Отсутствие у белков семейства iRFP цитотоксичности обеспечивает возможность их применения не только для мечения клеточных линий или органов, но и организмов целиком. Недавно была получена линия трансгенных мышей с высоким уровнем экспрессии белка iRFP713 во всех тканях и органах, включая мозг, сердце, легкие, печень, почки, селезенку, поджелудочную железу, тимус и костную и жировую ткани [54]. Экспрессия iRFP713 в первичной культуре нейронов гиппокампа и в нейронах сетчатки

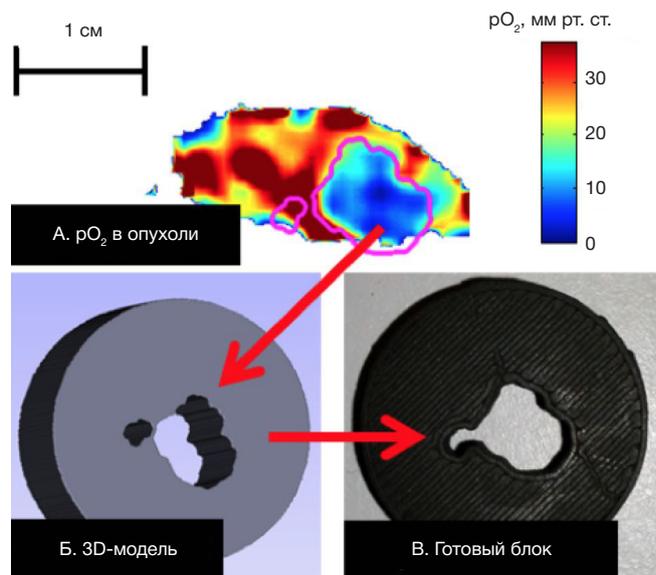


Рис. 2. Схема изготовления блоков для проведения прицельного облучения злокачественной опухоли на основе распределения кислорода в ткани. (А) Срез 3D-изображения уровней pO_2 в разных участках фибросаркомы мыши; малиновым контуром показана проекция поля облучения опухоли. (Б) Компьютерная модель блока облучения. (В) Блок облучения, напечатанный на 3D-принтере (Epel и соавт., [42])

глаза мыши позволила визуализировать нейроны и охарактеризовать происходящие в них процессы метаболизма [55].

Способность NIR FP эффективно связывать эндогенный BV в клетках простейших позволяет тестировать новые лекарства для доклинических исследований паразитарных заболеваний *ex vivo* и *in vivo*. Клетки нескольких видов рода *Leishmania*, экспрессирующих белок iRFP713, успешно использовали для отбора перспективных антипаразитарных лекарств, а также для наблюдения за развитием инфекции у мышей на протяжении нескольких недель [56].

Наличие спектрально различных NIR FP позволяет производить одновременное наблюдение за несколькими тканями и органами модельных животных. Использование пары биомаркеров семейства iRFP (iRFP670 и iRFP720) позволило визуализировать одновременно две близко расположенные опухоли, меченные разными биомаркерами, в живой мыши [43]. На рис. 3 приведен пример визуализации такого рода. Применение математических алгоритмов для обработки изображений, встраиваемых в современные микроскопы и системы биоимиджинга, позволяет одновременно использовать до пяти спектрально различных NIR FP [43].

Преимуществом фотоактивируемых NIR FP (PAiRFP) является возможность биоимиджинга с высокой чувствительностью в условиях высокой фоновой автофлуоресценции тканей. Для получения изображения с высокой контрастностью используется дифференциальный метод, в котором фоновый сигнал вычитается путем получения изображений объекта до и после фотоактивации PAiRFP в клетках ткани. Благодаря способности к фотоактивации PAiRFP также могут использоваться для селективного фотомечения и краткосрочного наблюдения за динамикой групп клеток *in vivo* [46].

Для изучения взаимодействий пар белков в клеточных культурах и на организменном уровне был разработан NIR-сенсор iSplit, флуоресценция которого возникает при взаимодействии комплементарных составляющих, что приводит к сборке функционального NIR FP. Несмотря на необратимость процесса комплементации, iSplit способен отражать динамику редких повторяющихся событий взаимодействия белков за счет относительно быстрой деградации комплексов восстановленного NIR FP [47]. Преимуществом другого NIR-сплит-сенсора взаимодействия белков, IFP PCA, является обратимость процесса комплементации. Его использование позволило оценить взаимодействие нескольких пар белков в клетках дрожжей и животных [57]. Однако яркость IFP PCA в животных клетках на порядок ниже, чем у iSplit, что требует добавления к клеткам или инъекции дополнительного количества биливердина.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Технологии визуализации в медицине крайне разнообразны. Разнообразны и области применения одной и той же технологии. Однако общим для них является стремление визуализировать в первую очередь функциональное состояние ткани или органа, что позволяет подобрать наиболее эффективную терапию или оценить ее действенность.

Для ультразвуковых исследований крайне важно высокое качество изображения, и во многом именно в этом направлении совершенствуют современные приборы. Объемные изображения (3D и 4D) пока не нашли массово-

го применения в клинической практике, что объясняется сразу несколькими причинами: недоказанной эффективностью или различными ограничениями их использования в некоторых областях медицины, неумением врачей их интерпретировать и отсутствием аппаратуры нового поколения во многих учреждениях. Тем не менее, некоторые специалисты полагают, что будущее именно за объемными изображениями [58]. Другая тенденция в сфере УЗ-технологий — более широкое распространение портативных УЗИ-аппаратов [58].

Развитие КТ идет по пути создания более эффективных методов компьютерной реконструкции изображений. Регулярно испытываются новые радиофармацевтические препараты для МРТ и ПЭТ. Возможно, в ближайшие годы следует ожидать большого числа исследований в области ПЭТ-МРТ: совмещение модальностей стало возможным за счет разработки новых датчиков в 2010 г. Эта технология обеспечивает более высокую точность исследований и меньшую лучевую нагрузку на пациента [59]. ПЭТ-МРТ может дать особенно интересные результаты при оценке функций головного мозга при сочетанном применении нескольких различных радиофармацевтических препаратов со специализированными протоколами МРТ [60].

Оксиметрия *in vivo* применяется в различных областях медицины, но, пожалуй, наиболее перспективно определение содержания кислорода в злокачественных опухолях для планирования радиотерапии. Ожидается, что в ближайшие несколько лет будет подтверждена клиническая эффективность метода.

Результаты работ, выполненных с использованием NIR FP, созданных на основе бактериальных фитохромов, свидетельствуют о большом потенциале этих оптических биомаркеров для неинвазивного биоимиджинга *in vivo* и возможности их использования в доклинических исследованиях [57, 61, 62].



Рис. 3. Прижизненное изображение мыши с трансплантированной опухолью и инфицированной аденовирусом печенью, полученное методом диффузионной флуоресцентной томографии. Клетки опухоли экспрессируют белок iRFP670, а клетки печени — белок iRFP713. Окраска опухоли и печени представлена в зеленом и красном псевдоцветах соответственно (Shcherbakova, Verkhusha, [43])

Литература

- Осипов Л. В. Ультразвуковые диагностические приборы: режимы, методы и технологии. М.: Изомед; 2011. 316 с.
- Осипов Л. В. Технологии эластографии в ультразвуковой диагностике. Обзор. Медицинский алфавит: Диагностическая радиология и онкотерапия. 2013; 3–4: 5–22.
- Medimaging International staff writers. Poll's Findings Reveal Adaptable Imaging Systems to Transform Ultrasound Imaging. MedImaging.net. 2013 Sep 30.
- Tai A. XDclear Transducer Technology [Интернет]. GE Healthcare; c2016– [дата обращения: август 2016 г.]. Доступно по ссылке: <http://www3.gehealthcare.com/en>.
- Seeram E. Computed tomography: physical principles, clinical applications, and quality control. 4th ed. Saunders; 2015. 576 p.
- Sun Z. Coronary Virtual Intravascular Endoscopy. In: Tintoiu IC, Underwood MJ, Cook SP, Kitabata H, Abbas A, editors. Coronary Graft Failure. Springer International Publishing; 2016. p. 555–70.
- Schuhbaeck A, Achenbach S, Layritz C, Eisentopf J, Hecker F, Pflederer T, et al. Image quality of ultra-low radiation exposure coronary CT angiography with an effective dose <0.1 mSv using high-pitch spiral acquisition and raw data-based iterative reconstruction. Eur Radiol. 2013; 23 (3): 597–606.
- Bammer R. MR and CT Perfusion and Pharmacokinetic Imaging: Clinical Applications and Theory. Lippincott Williams and Wilkins; 2016. 1296 p.
- Carrascosa PM, Garcia MJ, Cury RC, Leipsic JA. Dual-Energy CT. In: Carrascosa PM, Cury RC, Garcia MJ, Leipsic JA, editors. Dual-Energy CT in Cardiovascular Imaging. Springer International Publishing; 2015. p. 3–9.
- Patino M, Prochowski A, Agrawal MD, Simeone FJ, Gupta R, Hahn PF, et al. Material Separation Using Dual-Energy CT: Current and Emerging Applications. Radiographics. 2016; 36 (4): 1087–105.
- Fritz J, Henes JC, Fuld MK, Fishman EK, Horger MS. Dual-Energy Computed Tomography of the Knee, Ankle, and Foot: Noninvasive Diagnosis of Gout and Quantification of Monosodium Urate in Tendons and Ligaments. Semin Musculoskelet Radiol. 2016; 20 (1): 130–6.
- Hashemi RH, Bradley WG, Lisanti CJ. MRI: The Basics. 3d ed. Lippincott Williams and Wilkins; 2012. 400 p.
- Westbrook C, Roth CK, Talbot J. MRI in Practice. 4th ed. John Wiley and Sons; 2011. 456 p.
- Taouli B, Beer AJ, Chenevert T, Collins D, Lehman C, Matos C, et al. Diffusion-weighted imaging outside the brain: Consensus statement from an ISMRM-sponsored workshop. J Magn Reson Imaging. 2016; 44 (3): 521–40.
- Leote J, Nunes R, Cerqueira L, Ferreira HA. Corticospinal MRI tractography in space-occupying brain lesions by diffusion tensor and kurtosis imaging methods. EJNMMI phys. 2015; 2 (Suppl 1): A82.
- Pinker K, Stadlbauer A, Bogner W, Gruber S, Helbich TH. Molecular imaging of cancer: MR spectroscopy and beyond. Eur J Radiol. 2012; 81 (3): 566–77.
- Rosen Y, Lenkinski RE. Recent advances in magnetic resonance neurospectroscopy. Neurotherapeutics. 2007; 4 (3): 330–45.
- Mabray MC, Barajas RF Jr, Cha S. Modern Brain Tumor Imaging. Brain Tumor Res Treat. 2015; 3 (1): 8–23.
- Schulz J, Boyacioglu R, Norris DG. Multiband multislab 3D time-of-flight magnetic resonance angiography for reduced acquisition time and improved sensitivity. Magn Reson Med. 2016; 75 (4): 1662–8.
- Griffith B, Jain R. Perfusion imaging in neuro-oncology: basic techniques and clinical applications. Radiol Clin North Am. 2015; 53 (3): 497–511.
- Uludağ K, Uğurbil K, Berliner L, editors. FMRI: From Nuclear Spins to Brain Functions. Springer US; 2015. 929 p.
- Weissleder R. Molecular imaging in cancer. Science. 2006; 312 (5777): 1168–71.
- Part 4: FDA-Approved PET/CT Tracers. In: Savir-Baruch B, Barron BJ. RadTool Nuclear Medicine Flash Facts. Springer International Publishing; 2016. 181–92.
- Buchbender C, Heusner TA, Lauenstein TC, Bokisch A, Antoch G. Oncologic PET/MRI, part 2: bone tumors, soft-tissue tumors, melanoma, and lymphoma. J Nucl Med. 2012; 53 (8): 1244–52.
- Tripathi RP. Recent trends in Molecular Imaging: PET/CT in Neurology. Ann Natl Acad Med Sci (India). 2014; 50 (1–2): 34–44.
- Долгушин М. Б., Оджарова А. А., Тулин П. Е., Вихрова Н. Б., Невзоров Д. И., Меньков М. А. и др. ПЭТ с ¹⁸F-фторхолином при исследовании глиальных опухолей головного мозга. Медицинская визуализация. 2014; 3: 73–83.
- Lebron L, Greenspan D, Pandit-Taskar N. PET imaging of breast cancer: role in patient management. PET clin. 2015; Apr; 10 (2): 159–95.
- Kurihara H, Shimizu C, Miyakita Y, Yoshida M, Hamada A, Kanayama Y, et al. Molecular imaging using PET for breast cancer. Breast Cancer. 2016; 23 (1): 24–32.
- Михайлов А. И., Тулин П. Е. Двухэтапная ПЭТ/КТ с ¹⁸F-фторхолином при биохимических рецидивах рака предстательной железы. Евразийский онкологический журнал. 2016; 2 (4): 388.
- Долгушин М. Б., Оджарова А. А., Михайлов А. И., Ширяев С. В., Тулин П. Е., Невзоров Д. И. и др. ПЭТ/КТ с ¹⁸F-фторхолином в режиме двухэтапного сканирования при биохимических рецидивах рака предстательной железы. Онкоурология. 2015; 11 (2): 46–54.
- Prosper A, Jadvar H. A Guided Tour of PET in Prostate Cancer. J Nucl Med. 2016; 57 (Suppl 2): 1319.
- Barwick T. PET/CT imaging in prostate cancer. Cancer Imaging. 2015; 15 (Suppl 1): O15.
- Ambrosini V, Fanti S, editors. PET/CT in Neuroendocrine Tumours. Springer International Publishing; 2016. p. 45–53.
- Долгушин М. Б., Ширяев С. В., Оджарова А. А., Тулин П. Е., Невзоров Д. И. ПЭТ-диагностика в онкологии. Вестник Московского онкологического общества. 2015; 12 (603 Приложение): 63–74.
- Jambor I, Kuisma A, Ramadan S, Huovinen R, Sandell M, Kajander S, et al. Prospective evaluation of planar bone scintigraphy, SPECT, SPECT/CT, ¹⁸F-NaF PET/CT and whole body ^{1.5} T MRI, including DWI, for the detection of bone metastases in high risk breast and prostate cancer patients: SKELETA clinical trial. Acta Oncol. 2016; 55 (1): 59–67.
- Epel B, Halpern H. Electron paramagnetic resonance oxygen imaging in vivo. In: Gilbert BC, Murphy DM, Chechik V, editors. Electron Paramagnetic Resonance. Vol. 23. RSC Publishing; 2013. p. 180–208.
- Matsumoto K, English S, Yoo J, Yamada K, Devasahayam N, Cook JA, et al. Pharmacokinetics of a triaryl-methyl-type paramagnetic spin probe used in EPR oximetry. Magnet Reson Med. 2004; 52 (4): 885–92.
- Elas M, Bell R, Hleihel D, Barth ED, McFaul C, Haney CR, et al. Electron paramagnetic resonance oxygen image hypoxic fraction plus radiation dose strongly correlates with tumor cure in FSA fibrosarcomas. Int J Radiat Oncol Biol Phys. 2008; 71 (2): 542–9.
- Elas M, Magwood JM, Butler B, Li C, Wardak R, Barth ED, et al. EPR Oxygen Images Predict Tumor Control by a 50 % Tumor Control Radiation Dose. Cancer Res. 2013; 73 (17): 5328–35.
- Tatum JL, Kelloff GJ, Gillies RJ, Arbeit JM, Brown JM, Chao KS, et al. Hypoxia: Importance in tumor biology, noninvasive measurement by imaging, and value of its measurement in the management of cancer therapy. Int J Radiat Biol. 2006; 82 (10): 699–757.
- Ardenkjaer-Larsen JH, Laursen I, Leunbach I, Ehnholm G, Wistrand LG, Petersson JS, et al. EPR and DNP properties of certain novel single electron contrast agents intended for oximetric imaging. J Magn Reson 1998; 133 (1): 1–12.
- Epel B, Maggio C, Pelizzari C, Halpern HJ. Tumor oxygen-guided radiation therapy optimization. In: Oxygen Transport to Tissue XXXIX. Advances in Experimental Medicine and Biology. Springer. [In prep.].

43. Shcherbakova DM, Verkhusha VV. Near-infrared fluorescent proteins for multicolor in vivo imaging. *Nat Methods*. 2013; 10 (8): 751–4.
44. Shcherbakova DM, Baloban M, Pletnev S, Malashkevich VN, Xiao H, Dauter Z, et al. Molecular Basis of Spectral Diversity in Near-Infrared Phytochrome-Based Fluorescent Proteins. *Chem Biol*. 2015; 22 (11): 1540–51.
45. Rumyantsev KA, Shcherbakova DM, Zakharova NI, Emelyanov AV, Turoverov KK, Verkhusha VV. Minimal domain of bacterial phytochrome required for chromophore binding and fluorescence. *Sci Rep*. 2015; 5: 18348.
46. Piatkevich KD, Subach FV, Verkhusha VV. Far-red light photoactivatable near-infrared fluorescent proteins engineered from a bacterial phytochrome. *Nat Commun*. 2013; 4: 2153.
47. Filonov GS, Verkhusha VV. A near-infrared BiFC reporter for in vivo imaging of protein-protein interactions. *Chem Biol*. 2013; 20 (8): 1078–86.
48. Tchekanda E, Sivanesan D, Michnick SW. An infrared reporter to detect spatiotemporal dynamics of protein-protein interactions. *Nat Methods*. 2014; 11 (6): 641–4.
49. Lu Y, Darne CD, Tan IC, Wu G, Wilganowski N, Robinson H, et al. In vivo imaging of orthotopic prostate cancer with far-red gene reporter fluorescence tomography and in vivo and ex vivo validation. *J Biomed Opt*. 2013; 18 (10): 101305.
50. Jiguet-Jiglaire C, Cayol M, Mathieu S, Jeanneau C, Bouvier-Labit C, Ouafik L, et al. Noninvasive near-infrared fluorescent protein-based imaging of tumor progression and metastases in deep organs and intrasosseous tissues. *J Biomed Opt*. 2014, 19 (1): 16019.
51. Agollah GD, Wu G, Sevick-Muraca EM, Kwon S. In vivo lymphatic imaging of a human inflammatory breast cancer model. *J Cancer*. 2014; 5 (9): 774–83.
52. Condeelis J, Weissleder R. In vivo imaging in cancer. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2010 Dec; 2 (12): a003848.
53. Wang Y, Zhou M, Wang X, Qin G, Weintraub NL, Tang Y. Assessing in vitro stem-cell function and tracking engraftment of stem cells in ischaemic hearts by using novel iRFP gene labelling. *J Cell Mol Med*. 2014; 18 (9): 1889–94.
54. Tran MT, Tanaka J, Hamada M, Sugiyama Y, Sakaguchi S, Nakamura M, et al. In vivo image analysis using iRFP transgenic mice. *Exp Anim*. 2014; 63 (3): 311–9.
55. Fyk-Kolodziej B, Hellmer CB, Ichinose T. Marking cells with infrared fluorescent proteins to preserve photoresponsiveness in the retina. *Biotechniques*. 2014; 57 (5): 245–53.
56. Calvo-Alvarez, E.; Stamatakis, K.; Punzon, C.; Alvarez-Velilla, R.; Tejeria, A.; Escudero-Martinez, J. M.; Perez-Pertejo, Y.; Fresno, M.; Balana-Fouce, R.; Reguera, R. M. Infrared fluorescent imaging as a potent tool for in vitro, ex vivo and in vivo models of visceral leishmaniasis. *PLoS Negl Trop Dis*. 2015; 9 (3): e0003666.
57. Yao J, Kaberniuk AA, Li L, Shcherbakova DM, Zhang R, Wang L, et al. Multiscale photoacoustic tomography using reversibly switchable bacterial phytochrome as a near-infrared photochromic probe. *Nat Methods*. 2016, 13 (1): 67–73.
58. Zagoudis J, Fornell D. The Latest in Ultrasound Technology. *Diagnostic and Interventional Cardiology [Интернет]*. 12 февраля 2016 г. Доступно по ссылке: <http://www.dicardiology.com/article/latest-ultrasound-technology>.
59. Kwon HW, Becker AK, Goo JM, Cheon GJ. FDG Whole-Body PET/MRI in Oncology: A Systematic Review. *Nucl Med Mol Imaging*. Epub 2016 Apr 7.
60. Vandenberghe S, Marsden PK. PET-MRI: a review of challenges and solutions in the development of integrated multimodality imaging. *Phys Med Biol*. 2015; 60 (4): R115–54.
61. Deliolanis NC, Ale A, Morscher S, Burton NC, Schaefer K, Radrich K, et al. Deep-tissue reporter-gene imaging with fluorescence and photoacoustic tomography: a performance overview. *Mol Imaging Biol*. 2014; 16 (5): 652–60.
62. Krumholz A, Shcherbakova DM, Xia J, Wang LV, Verkhusha VV. Multicontrast photoacoustic in vivo imaging using near-infrared fluorescent proteins. *Sci Rep*. 2014; 4: 3939.

References

1. Osipov LV. Ul'trazvukovye diagnosticheskie pribory: rezhimy, metody i tekhnologii. Moscow: Izomed; 2011. 316 p. Russian.
2. Osipov LV. Tekhnologii elastografii v ul'trazvukovoy diagnostike. *Obzor. Meditsinskiy afavit: Diagnosticheskaya radiologiya i onkoterapiya*. 2013; 3–4: 5–22. Russian.
3. Medimaging International staff writers. Poll's Findings Reveal Adaptable Imaging Systems to Transform Ultrasound Imaging. *Medimaging.net*. 2013 Sep 30.
4. Tai A. XDclear Transducer Technology [Internet]. GE Healthcare; c2016– [cited: 2016 Aug]. Available from: <http://www3.gehealthcare.com/en>.
5. Seeram E. Computed tomography: physical principles, clinical applications, and quality control. 4th ed. Saunders; 2015. 576 p.
6. Sun Z. Coronary Virtual Intravascular Endoscopy. In: Tintoiu IC, Underwood MJ, Cook SP, Kitabata H, Abbas A, editors. *Coronary Graft Failure*. Springer International Publishing; 2016. p. 55–70.
7. Schuhbaeck A, Achenbach S, Layritz C, Eisentopf J, Hecker F, Pflederer T, et al. Image quality of ultra-low radiation exposure coronary CT angiography with an effective dose <0.1 mSv using high-pitch spiral acquisition and raw data-based iterative reconstruction. *Eur Radiol*. 2013; 23 (3): 597–606.
8. Bammer R. MR and CT Perfusion and Pharmacokinetic Imaging: Clinical Applications and Theory. Lippincott Williams and Wilkins; 2016. 1296 p.
9. Carrascosa PM, Garcia MJ, Cury RC, Leipsic JA. Dual-Energy CT. In: Carrascosa PM, Cury RC, Garcia MJ, Leipsic JA, editors. *Dual-Energy CT in Cardiovascular Imaging*. Springer International Publishing; 2015. p. 3–9.
10. Patino M, Prochowski A, Agrawal MD, Simeone FJ, Gupta R, Hahn PF, et al. Material Separation Using Dual-Energy CT: Current and Emerging Applications. *Radiographics*. 2016; 36 (4): 1087–105.
11. Fritz J, Henes JC, Fuld MK, Fishman EK, Horger MS. Dual-Energy Computed Tomography of the Knee, Ankle, and Foot: Noninvasive Diagnosis of Gout and Quantification of Monosodium Urate in Tendons and Ligaments. *Semin Musculoskelet Radiol*. 2016; 20 (1): 130–6.
12. Hashemi RH, Bradley WG, Lisanti CJ. MRI: The Basics. 3d ed. Lippincott Williams and Wilkins; 2012. 400 p.
13. Westbrook C, Roth CK, Talbot J. MRI in Practice. 4th ed. John Wiley and Sons; 2011. 456 p.
14. Taouli B, Beer AJ, Chenevert T, Collins D, Lehman C, Matos C, et al. Diffusion-weighted imaging outside the brain: Consensus statement from an ISMRM-sponsored workshop. *J Magn Reson Imaging*. 2016; 44 (3): 521–40.
15. Leote J, Nunes R, Cerqueira L, Ferreira HA. Corticospinal MRI tractography in space-occupying brain lesions by diffusion tensor and kurtosis imaging methods. *EJNMMI phys*. 2015; 2 (Suppl 1): A82.
16. Pinker K, Stadlbauer A, Bogner W, Gruber S, Helbich TH. Molecular imaging of cancer: MR spectroscopy and beyond. *Eur J Radiol*. 2012; 81 (3): 566–77.
17. Rosen Y, Lenkinski RE. Recent advances in magnetic resonance neurospectroscopy. *Neurotherapeutics*. 2007; 4 (3): 330–45.
18. Mabray MC, Barajas RF Jr, Cha S. Modern Brain Tumor Imaging. *Brain Tumor Res Treat*. 2015; 3 (1): 8–23.
19. Schulz J, Boyacioglu R, Norris DG. Multiband multislab 3D time-of-flight magnetic resonance angiography for reduced acquisition time and improved sensitivity. *Magn Reson Med*. 2016; 75 (4): 1662–8.
20. Griffith B, Jain R. Perfusion imaging in neuro-oncology: basic techniques and clinical applications. *Radiol Clin North Am*. 2015; 53 (3): 497–511.
21. Uludağ K, Uğurbil K, Berliner L, editors. *fMRI: From Nuclear Spins to Brain Functions*. Springer US; 2015. 929 p.
22. Weissleder R. Molecular imaging in cancer. *Science*. 2006; 312 (5777): 1168–71.
23. Part 4: FDA-Approved PET/CT Tracers. In: Savir-Baruch B,

- Barron BJ. RadTool Nuclear Medicine Flash Facts. Springer International Publishing; 2016. 181–92.
24. Buchbender C, Heusner TA, Lauenstein TC, Bokisch A, Antoch G. Oncologic PET/MRI, part 2: bone tumors, soft-tissue tumors, melanoma, and lymphoma. *J Nucl Med.* 2012; 53 (8): 1244–52.
 25. Tripathi RP. Recent trends in Molecular Imaging: PET/CT in Neurology. *Ann Natl Acad Med Sci (India).* 2014; 50 (1–2): 34–44.
 26. Dolgushin MB, Odzharova AA, Tulin PE, Vikhrova NB, Nevzorov DI, Menkov MA, et al. [Use of ¹⁸F-choline PET in Cerebral Gliomas]. *Medical Visualization.* 2014; 3: 73–83. Russian.
 27. Lebron L, Greenspan D, Pandit-Taskar N. PET imaging of breast cancer: role in patient management. *PET clin.* 2015; Apr; 10 (2): 159–95.
 28. Kurihara H, Shimizu C, Miyakita Y, Yoshida M, Hamada A, Kanayama Y, et al. Molecular imaging using PET for breast cancer. *Breast Cancer.* 2016; 23 (1): 24–32.
 29. Mikhaylov AI, Tulin PE. Dvukhetapnaya PET/KT s ¹⁸F-ftorkholinom pri biokhimiicheskikh retsidivakh raka predstatel'noy zhelezy. *Evrzyskiy onkologicheskiy zhurnal.* 2016; 2 (4): 388. Russian.
 30. Dolgushin MB, Odzharova AA, Mikhaylov AI, Shiryaev SV, Tulin PE, Nevzorov DI, et al. [Dual-stage ¹⁸F-fluorocholine PET/CT scanning for biochemical recurrences of prostate cancer]. *Cancer Urology.* 2015; 11 (2): 46–54. Russian.
 31. Prosper A, Jadvar H. A Guided Tour of PET in Prostate Cancer. *J Nucl Med.* 2016; 57 (Suppl 2): 1319.
 32. Barwick T. PET/CT imaging in prostate cancer. *Cancer Imaging.* 2015; 15 (Suppl 1): O15.
 33. Ambrosini V, et al. PET/CT in Neuroendocrine Tumours. In: Ambrosini V, Fanti S, editors. *PET/CT in Neuroendocrine Tumours.* Springer International Publishing; 2016. p. 45–53.
 34. Dolgushin MB, Shiryaev SV, Odzharova AA, Mikhaylov AI, Tulin PE, Nevzorov DI. PET-diagnostika v onkologii. *Vestnik Moskovskogo onkologicheskogo obshchestva.* 2015; 12 (603 Suppl): 63–74. Russian.
 35. Jambor I, Kuisma A, Ramadan S, Huovinen R, Sandell M, Kajander S, et al. Prospective evaluation of planar bone scintigraphy, SPECT, SPECT/CT, ¹⁸F-NaF PET/CT and whole body 1.5 T MRI, including DWI, for the detection of bone metastases in high risk breast and prostate cancer patients: SKLETA clinical trial. *Acta Oncol.* 2016; 55 (1): 59–67.
 36. Epel B, Halpern H. Electron paramagnetic resonance oxygen imaging in vivo. In: Gilbert BC, Murphy DM, Chechik V, editors. *Electron Paramagnetic Resonance.* Vol. 23. RSC Publishing; 2013. p. 180–208.
 37. Matsumoto K, English S, Yoo J, Yamada K, Devasahayam N, Cook JA, et al. Pharmacokinetics of a triarylmethyl-type paramagnetic spin probe used in EPR oximetry. *Magnet Reson Med.* 2004; 52 (4): 885–92.
 38. Elas M, Bell R, Hleihel D, Barth ED, McFaul C, Haney CR, et al. Electron paramagnetic resonance oxygen image hypoxic fraction plus radiation dose strongly correlates with tumor cure in FSA fibrosarcomas. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2008; 71 (2): 542–9.
 39. Elas M, Magwood JM, Butler B, Li C, Wardak R, Barth ED, et al. EPR Oxygen Images Predict Tumor Control by a 50 % Tumor Control Radiation Dose. *Cancer Res.* 2013; 73 (17): 5328–35.
 40. Tatum JL, Kelloff GJ, Gillies RJ, Arbeit JM, Brown JM, Chao KS, et al. Hypoxia: Importance in tumor biology, noninvasive measurement by imaging, and value of its measurement in the management of cancer therapy. *Int J Radiat Biol.* 2006; 82 (10): 699–757.
 41. Ardenkjaer-Larsen JH, Laursen I, Leunbach I, Ehnholm G, Wistrand LG, Petersson JS, et al. EPR and DNP properties of certain novel single electron contrast agents intended for oximetric imaging. *J Magn Reson* 1998; 133 (1): 1–12.
 42. Epel B, Maggio C, Pelizzari C, Halpern HJ. Tumor oxygen-guided radiation therapy optimization. In: *Oxygen Transport to Tissue XXXIX. Advances in Experimental Medicine and Biology.* Springer. [In prep.].
 43. Shcherbakova DM, Verkhusha VV. Near-infrared fluorescent proteins for multicolor in vivo imaging. *Nat Methods.* 2013; 10 (8): 751–4.
 44. Shcherbakova DM, Baloban M, Pletnev S, Malashkevich VN, Xiao H, Dauter Z, et al. Molecular Basis of Spectral Diversity in Near-Infrared Phytochrome-Based Fluorescent Proteins. *Chem Biol.* 2015; 22 (11): 1540–51.
 45. Rumyantsev KA, Shcherbakova DM, Zakharova NI, Emelyanov AV, Turoverov KK, Verkhusha VV. Minimal domain of bacterial phytochrome required for chromophore binding and fluorescence. *Sci Rep.* 2015; 5: 18348.
 46. Piatkevich KD, Subach FV, Verkhusha VV. Far-red light photoactivatable near-infrared fluorescent proteins engineered from a bacterial phytochrome. *Nat Commun.* 2013; 4: 2153.
 47. Filonov GS, Verkhusha VV. A near-infrared BiFC reporter for in vivo imaging of protein-protein interactions. *Chem Biol.* 2013; 20 (8): 1078–86.
 48. Tchekanda E, Sivanesan D, Michnick SW. An infrared reporter to detect spatiotemporal dynamics of protein-protein interactions. *Nat Methods.* 2014; 11 (6): 641–4.
 49. Lu Y, Darne CD, Tan IC, Wu G, Wilganowski N, Robinson H, et al. In vivo imaging of orthotopic prostate cancer with far-red gene reporter fluorescence tomography and in vivo and ex vivo validation. *J Biomed Opt.* 2013; 18 (10): 101305.
 50. Jiguet-Jiglaire C, Cayol M, Mathieu S, Jeanneau C, Bouvier-Labit C, Ouafik L, et al. Noninvasive near-infrared fluorescent protein-based imaging of tumor progression and metastases in deep organs and intraosseous tissues. *J Biomed Opt.* 2014; 19 (1): 16019.
 51. Agollah GD, Wu G, Sevic-Muraca EM, Kwon S. In vivo lymphatic imaging of a human inflammatory breast cancer model. *J Cancer.* 2014; 5 (9): 774–83.
 52. Condeelis J, Weissleder R. In vivo imaging in cancer. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2010 Dec; 2 (12): a003848.
 53. Wang Y, Zhou M, Wang X, Qin G, Weintraub NL, Tang Y. Assessing in vitro stem-cell function and tracking engraftment of stem cells in ischaemic hearts by using novel iRFP gene labelling. *J Cell Mol Med.* 2014; 18 (9): 1889–94.
 54. Tran MT, Tanaka J, Hamada M, Sugiyama Y, Sakaguchi S, Nakamura M, et al. In vivo image analysis using iRFP transgenic mice. *Exp Anim.* 2014; 63 (3): 311–9.
 55. Fyk-Kolodziej B, Hellmer CB, Ichinose T. Marking cells with infrared fluorescent proteins to preserve photoresponsiveness in the retina. *Biotechniques.* 2014; 57 (5): 245–53.
 56. Calvo-Alvarez, E.; Stamatakis, K.; Punzon, C.; Alvarez-Velilla, R.; Tejeria, A.; Escudero-Martinez, J. M.; Perez-Pertejo, Y.; Fresno, M.; Balana-Fouce, R.; Reguera, R. M. Infrared fluorescent imaging as a potent tool for in vitro, ex vivo and in vivo models of visceral leishmaniasis. *PLoS Negl Trop Dis.* 2015; 9 (3): e0003666.
 57. Yao J, Kaberniuk AA, Li L, Shcherbakova DM, Zhang R, Wang L, et al. Multiscale photoacoustic tomography using reversibly switchable bacterial phytochrome as a near-infrared photochromic probe. *Nat Methods.* 2016, 13 (1): 67–73.
 58. Zagoudis J, Fornell D. The Latest in Ultrasound Technology. *Diagnostic and Interventional Cardiology [Internet].* 2016 Feb 12. Available from: <http://www.dicardiology.com/article/latest-ultrasound-technology>.
 59. Kwon HW, Becker AK, Cheon GJ. FDG Whole-Body PET/MRI in Oncology: A Systematic Review. *Nucl Med Mol Imaging.* Epub 2016 Apr 7.
 60. Vandenberghe S, Marsden PK. PET-MRI: a review of challenges and solutions in the development of integrated multimodality imaging. *Phys Med Biol.* 2015; 60 (4): R115–54.
 61. Deliolanis NC, Ale A, Morscher S, Burton NC, Schaefer K, Radrich K, et al. Deep-tissue reporter-gene imaging with fluorescence and photoacoustic tomography: a performance overview. *Mol Imaging Biol.* 2014; 16 (5): 652–60.
 62. Krumholz A, Shcherbakova DM, Xia J, Wang LV, Verkhusha VV. Multicontrast photoacoustic in vivo imaging using near-infrared fluorescent proteins. *Sci Rep.* 2014; 4: 3939.