

Autoreferat

1. Imię i nazwisko.

Grzegorz Kwiatkowski

2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe lub artystyczne – z podaniem podmiotu nadającego stopień, roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej.

2011-2015: Doktor Fizyki, University of Nottingham, Wielka Brytania (School of Physics, Sir Peter Mansfield Magnetic Resonance Centre). Praca doktorska: *“Dynamic nuclear polarization and relaxation in large spin ensembles”*; pod kierunkiem dr. WALTERA KÖCKENBERGERA i dr. JOSEFA GRANWEHRA;

2010-2011: Magister Biofizyki specjalność Fizyka Medyczna, Polska (Instytut Fizyki, Wydział Fizyki, Astronomii i Informatyki Stosowanej, Uniwersytet Jagielloński, Kraków, Polska). Praca magisterska: *“Dynamic Nuclear Polarization in Selected Biomolecular Systems”*; pod kierunkiem prof. dr hab. DANUTY KRUK, (Uniwersytet Jagielloński).

2007-2010: Licencjat Biofizyki specjalność Fizyka Medyczna, Uniwersytet Jagielloński (Instytut Fizyki, Kraków, Polska).

3. Informacja o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych lub artystycznych.

12/2019–obecnie: Adiunkt (do 03.2022 Asystent) naukowy, Jagiellońskie Centrum Rozwoju Leków (JCET), Uniwersytet Jagielloński, Kraków, Polska

06/2015–11/2019: PostDoc w Instytucie Inżynierii Biomedycznej, Politechnika Federalna w Zurichu (ETH), Szwajcaria

4. Omówienie osiągnięć, o których mowa w np.. 219 ust. 1 pkt. 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2021 r. poz. 478 z późn. zm.). Omówienie to winno dotyczyć merytorycznego ujęcia przedmiotowych osiągnięć, jak i w sposób precyzyjny określać indywidualny wkład w ich powstanie, w przypadku, gdy dane osiągnięcie jest dziełem współautorskim, z uwzględnieniem możliwości wskazywania dorobku z okresu całej kariery zawodowej.

Przedstawione osiągnięcie naukowe stanowi cykl powiązanych tematycznie czterech oryginalnych artykułów naukowych opublikowanych w latach 2019–2023, pt.:

Rozwój celowanych, ilościowych metod obrazowania tomografii rezonansu magnetycznego do oceny czynnościowej krążenia wieńcowego i płucnego w modelach zwierzęcych

4.2. Publikacje wchodzące w skład osiągnięcia

P1. *Extended quantitative dynamic contrast-enhanced cardiac perfusion imaging in mice using accelerated data acquisition and spatially distributed, two-compartment exchange modeling.*

G. KWIATKOWSKI & S. KOZERKE

NMR in Biomedicine 32 (9), e4123-e4123, 2019, <https://doi.org/10.1002/nbm.4123>, IF = 3.221, MNiSW = 100 pkt.

Indywidualny wkład w P1: jestem współautorem koncepcji, dokonałem niezbędnych zmian w sekwencji obrazowania, która pozwala na niepełne próbkowanie przestrzeni k , zaplanowałem i samodzielnie przeprowadziłem wszystkie pomiary, w tym pomiary testowe na fantomach, oraz właściwe pomiary na zwierzętach, dokonałem wszystkich analiz otrzymanych danych i sporządziłem ryciny do publikacji, jestem autorem pierwszej wersji manuskryptu, przygotowałem odpowiedzi na recenzje i poprawki zgodnie z zastrzeżeniami recenzentów.

P2. *Quantitative myocardial first-pass perfusion imaging of CO₂-induced vasodilation in rats*

G. KWIATKOWSKI & S. KOZERKE

NMR in Biomedicine, e4593, 2021, <https://doi.org/10.1002/nbm.4360>, IF = 4.478, MNiSW = 100 pkt.

Indywidualny wkład w P2: jestem współautorem koncepcji, dokonałem niezbędnych zmian w sekwencji obrazowania, która pozwala na niepełne próbkowanie przestrzeni k , zaplanowałem i samodzielnie przeprowadziłem wszystkie pomiary w tym pomiary testowe na fantomach oraz właściwe pomiary na zwierzętach, dokonałem wszystkich analiz otrzymanych danych i sporządziłem ryciny do publikacji, jestem autorem pierwszej wersji manuskryptu, przygotowałem odpowiedzi na recenzje i poprawki zgodnie z zastrzeżeniami recenzentów. Jestem autorem korespondencyjnym.

P3. *MRI-based in vivo detection of coronary microvascular dysfunction before alterations in cardiac function induced by short-term high-fat diet in mice*

G. KWIATKOWSKI, A. BAR, A. JASZTAL & S. CHŁOPICKI

Scientific Reports 11 (1), 18915, 2021, <https://doi.org/10.1038/s41598-021-98401-1>, IF = 4.997, MNiSW = 140 pkt.

Indywidualny wkład w P3: jestem współautorem koncepcji, jestem autorem wszystkich protokołów pomiarowych, jestem autorem wniosków do LKE, zaplanowałem i samodzielnie przeprowadziłem wszystkie pomiary na zwierzętach, w tym MRI oraz Dopplerowskie obrazowanie fal tętna w tętnicy wieńcowej, jestem jedną z osób która pobierała materiał do badań ex-vivo, dokonałem wszystkich analiz otrzymanych danych i sporządziłem ryciny do publikacji, jestem autorem pierwszej wersji manuskryptu, przygotowałem odpowiedzi na recenzje i poprawki zgodnie z zastrzeżeniami recenzentów.

P4. *Retrospectively gated ultrashort-echo-time MRI T_1 mapping reveals compromised pulmonary microvascular NO-dependent function in a murine model of acute lung injury*

G. KWIATKOWSKI, I. CZYZYNSKA-CICHON, B. TIELEMANS, L. GEERKENS, A. JASZTAL, G. VANDE VELDE & S. CHŁOPICKI

NMR in Biomedicine, e5105, 2023, <https://doi.org/10.1002/nbm.5105>, IF = 2.9, MNiSW = 100 pkt.

Indywidualny wkład w P4: jestem autorem koncepcji, jestem autorem wszystkich protokołów pomiarowych, jestem autorem wniosków do LKE, zaimplementowałem metody rekonstrukcji danych z obrazowania MRI w trajektorii radialnej, zaplanowałem i samodzielnie przeprowadziłem wszystkie pomiary na zwierzętach w tym MRI oraz Dopplerowskie obrazowanie fal tętna w tętnicy płucnej, asystowałem w pomiarach obrazowania na mikrotomografie komputerowym w Katholieke Universiteit Leuven, pobierałem materiał do badań ex-vivo, dokonałem wszystkich analiz otrzymanych danych i sporządziłem ryciny do publikacji, jestem autorem pierwszej wersji manuskryptu, przygotowałem odpowiedzi na recenzje i poprawki zgodnie z zastrzeżeniami recenzentów. Jestem autorem korespondencyjnym.

5.1 Wprowadzenie do problemu badawczego – tomografia magnetycznego rezonansu małych zwierząt i jej zastosowanie w badaniach przedklinicznych

Tomografia magnetycznego rezonansu jądrowego (ang. Magnetic Resonance Imaging, MRI) to nieinwazyjna technika obrazowania medycznego, która zapewnia szczegółowe i wysokiej rozdzielczości obrazy wewnętrznych struktur ciała. Opiera się na zasadach jądrowego rezonansu magnetycznego (ang. Nuclear Magnetic Resonance, NMR) w celu wizualizacji informacji anatomicznych i fizjologicznych. MRI zapewnia doskonały kontrast tkanek miękkich, dzięki czemu jest szczególnie skuteczny w wizualizacji struktur anatomicznych o subtelnych różnicach w ich gęstości lub składzie. Ma to kluczowe znaczenie dla identyfikacji nieprawidłowości w narządach, guzach i tkankach miękkich i pozwala na rejestrację potencjalnych zmian bez użycia dodatkowych środków kontrastowych. W przeciwieństwie do metod obrazowania opartych na promieniowaniu rentgenowskim, takich jak tomografia komputerowa (ang. Computer Tomography, CT), MRI nie wykorzystuje promieniowania jonizującego. MR umożliwia również wielokrotne powtarzanie obrazowania w krótkim odstępie czasu. W porównaniu do technik wykorzystujących obrazowanie optyczne (np. fluorescencję), rejestrowany sygnał MR nie jest ograniczony grubością tkanek lub ich lokalizacją w ciele. Co również istotne, tomografia MR umożliwia obrazowanie w dowolnie wybranym kierunku i nie jest ograniczona do płaszczyzn 2D. Ponadto, MRI może być również rejestrowany w 3D, znosząc wymóg doskonałej orientacji w anatomii obrazowanych narządów co jest niezbędne np. badań ultrasonograficznych (USG). Obrazowanie małych zwierząt laboratoryjnych, takich jak szczury i myszy, za

pomocą rezonansu magnetycznego stało się nieocenionym narzędziem w badaniach przedklinicznych, umożliwiając nieinwazyjne badanie anatomii, fizjologii i patologii w różnych modelach zwierzęcych. Technika ta dostarcza szczegółowych informacji strukturalnych i funkcjonalnych, umożliwiając badanie różnych aspektów postępu choroby, odpowiedzi na leczenie i rozwój nowych terapii. Obecne zastosowania obrazowania MR obejmują:

- *Obrazowanie anatomiczne:* MRI oferuje wysoką rozdzielczość przestrzenną, dzięki czemu idealnie nadaje się do wizualizacji struktur anatomicznych u małych zwierząt, przez co możliwe jest uzyskanie szczegółowych obrazów narządów, tkanek i struktur mięśniowo-szkieletowych w układach fizjologicznie prawidłowych i patologicznych.
- *Obrazowanie procesów nowotworowych:* MRI małych zwierząt jest szeroko stosowany do wykrywania i charakteryzowania guzów w przedklinicznych badaniach nad rakiem^{1,2}. Umożliwia monitorowanie wzrostu guza, ocenę unaczynienia i ukrwienia guza i ocenę skuteczności interwencji terapeutycznych w czasie.
- *Neuroobrazowanie, w tym obrazowanie funkcjonalne mózgu (functional MRI, fMRI):* Pozwala na szczegółową analizę struktur mózgu i ich połączeń (np. poprzez wykorzystanie zjawiska kierunkowo-zależnej dyfuzji cząsteczek wody w różnych strukturach mózgu), jak również badanie procesów fizjologicznych, takich jak przepływ krwi, natlenienie i perfuzja tkanek mózgu³⁻⁵. Obrazowanie fMRI można również wykorzystać do mapowania aktywności mózgu w odpowiedzi na bodziec zewnętrzny.
- *Obrazowanie metaboliczne:* Wykorzystując przesunięcie chemiczne jąder wodoru wielu metabolitów znajdujących się wewnątrz komórek, możliwa jest ocena średniego stężenia ok. 20 związków, dających informacje o metabolizmie energetycznym, neurotransmisji, mielinizacji, metabolizmie błon komórkowych, osmoregulacji, profilu antyoksydacyjnym i syntezie białek. Z kolei wykorzystując spektroskopię/obrazowanie ³¹P, możliwa jest ocena wysokoenergetycznych związków takich jak ATP czy fosfokreatyna^{6,7}. Dodatkowo, przy użyciu technik hiperpolaryzacji (o czym mowa jest w dalszej części autoreferatu) możliwe jest śledzenie szlaków metabolicznych substratów znakowanych ¹³C i uzyskanie wglądu w metabolizm komórkowy i bioenergetykę.
- *Obrazowanie molekularne:* Obrazowanie molekularne za pomocą MRI obejmuje stosowanie środków kontrastowych ukierunkowanych na określone markery molekularne (np. receptory lub białka obecne na powierzchni komórek). Pozwala to badaczom na wizualizację zjawisk na poziomie molekularnym i komórkowym *in vivo*, pomagając w opracowaniu ukierunkowanych terapii i zrozumieniu mechanizmów chorobowych⁸⁻¹⁰.

- *Obrazowanie układu sercowo-naczyniowego:* MRI bardzo dobrze nadaje się do oceny struktury i funkcji serca. Możliwa jest ocena anatomii serca, w tym objętości komór, ocena perfuzji mięśnia sercowego, jak również analiza kurczliwości komór.

5.2 Ograniczenia istniejących metod opartych o MRI do badań ilościowych czynności układu krążenia

Pomimo bezdyskusyjnych atutów i szerokich możliwości zastosowania obrazowania MR małych zwierząt w badaniach przedklinicznych, nadal istnieje wiele problemów związanych z opracowaniem celowanych protokołów obrazowania, dostarczających ilościowych parametrów oceny stanu układu sercowo-naczyniowego. Istotnie, wiele przedklinicznych badań opiera się na pół-ilościowych metodach oceny, np. normalizując otrzymany sygnał do arbitralnie wybranej wartości zamiast przeliczać go do koncentracji lub absolutnych wartości (np. perfuzji). Uzyskane w ten sposób wyniki są wypadkową wielu zmiennych – zależą od szczegółów wykorzystanej sekwencji obrazowania, indukcji pola B_0 oraz protokołu podania związków kontrastowych (jeśli zostały użyte). Pokonanie tych wyzwań ma zasadnicze znaczenie dla zapewnienia dokładnych i wiarygodnych wyników. Długodystansowym wyzwaniem jest translacja nowych metod obrazowania do warunków klinicznych, jak również zapewnienie powtarzalności badania pomiędzy różnymi grupami badawczymi w badaniach przedklinicznych. Niektóre z kluczowych wyzwań w obrazowaniu MR małych zwierząt wynikają ze znacząco różnej skali zjawisk fizjologicznych pomiędzy ludźmi i gryzoniami. Małe zwierzęta, zwłaszcza gryzonie, mają wysokie tętno i częstość oddechów. Szybki ruch serca i ruch oddechowy mogą prowadzić do artefaktów ruchu na obrazach, obniżając ogólną jakość obrazu. Strategie takie jak bramkowanie i wyzwalanie stosowane są w celu synchronizacji akwizycji obrazu z cyklami pracy serca i oddychania, ale metody te mogą nadal stanowić wyzwanie w utrzymaniu obrazów wolnych od ruchu, szczególnie u małych zwierząt z szybkim tętnem (np. w badaniach po podaniu dobutaminy, która naśladuje wysiłek fizyczny i skutkuje wzmożoną pracą serca, która u myszy może być większa niż 600 uderzeń na minutę). Co więcej, małe zwierzęta, w tym w szczególności myszy, mają ograniczoną objętość krwi (ok. 1.5–2.0 ml, w zależności od płci i wieku), co utrudnia podawanie odpowiedniej ilości środków kontrastowych w badaniach z dynamicznym wzmocnieniem kontrastowym. Optymalizacja dawki środka kontrastowego przy jednoczesnym uwzględnieniu wielkości zwierzęcia i jego reakcji fizjologicznej ma kluczowe znaczenie w przypadku badań na zwierzętach chorych. Podanie zbyt dużej dawki kontrastu w krótkim czasie może doprowadzić do nagłego wzrostu ciśnienia krwi i zatrzymania pracy serca. Jednocześnie zbyt stężone środki kontrastowe, ze względu na swoją zwiększoną gęstość, mogą mieć przedłużony czas przejścia przez system krążenia płucnego, również doprowadzając do zwiększonej śmiertelności zwierząt. W końcu, znacznie szybszy rytm oddechu i pracy serca może stanowić problem dla monitorowania fizjologicznego, które ma kluczowe znaczenie dla zapewnienia prawidłowego bramkowania i wyzwalania podczas akwizycji obrazu.

	Człowiek	Szczur	Mysz
Masa ciała	80 kg	0.3 kg	0.03 kg
Całkowita objętość krwi	5 L	18 mL	1.8 mL
Pojemność końcowo rozkurczowa lewej komory serca	180 mL	300 μ L	50 μ L
Masa lewej komory	150 g	0.6 g	0.1 g
Rytm serca [uderzeń/minutę]	80	300	600
Pojemność wyrzutowa serca	5 L/min	0.15 L/min	0.02L/min
Czas recyrkulacji krwi	60 s	7 s	5 s
Prędkość wyrzutowa krwi w aorcie	100 cm/s	200 cm/s	300 cm/s
Rytm oddechu [oddech/minutę]	12	70	110
Perfuzja w lewej komorze serca	1 mL/min/g	5 mL/min/g	7 mL/min/g

Tabela 1. Porównanie najważniejszych parametrów fizjologicznych układu sercowo naczyniowego u ludzi vs. myszy i szczury (zaadaptowane na podstawie danych przedstawionych w¹¹).

Druga grupa problemów jest związana z ograniczeniami sprzętowymi, w tym z rozdzielczością przestrzenną i czasową, wynikającymi z małych rozmiarów obrazowanego obiektu. Osiągnięcie wysokiej rozdzielczości przestrzennej ma kluczowe znaczenie dla dokładnej wizualizacji drobnych struktur u małych zwierząt (np. przy rozmiarach serca myszy wynoszących $\sim 10.0 \times 8.0 \times 5.0 \text{ mm}^3$ i przy standardowych parametrach obrazowania, woksel ma objętość $\sim 0.2 \times 0.2 \times 1.0 \text{ mm}^3$). Jednak ograniczenia w dostępnym stosunku sygnału do szumu i potrzeba wysokiej rozdzielczości czasowej ograniczają możliwość rejestracji sygnału w trakcie pojedynczego cyklu pracy serca. Dlatego też zastosowanie specjalistycznych cewek o wysokiej częstotliwości radiowej, zaprojektowanych dla małych zwierząt, ma kluczowe znaczenie dla uzyskania wysokiej jakości obrazów serca. Preferowane są cewki powierzchniowe, wieloelementowe, które pozwalają na uzyskanie możliwie największego stosunku sygnału do szumu. Również niejednorodności pola magnetycznego mogą powodować niejednorodności sygnału, szczególnie podczas obrazowania serca, które znajduje się blisko granicy powietrze-tkanka. Może to stanowić ograniczenie w badaniach spektroskopii pojedynczego wokselu, badaniach relaksacji T_2^* lub badaniach tensora dyfuzji. W przypadku obrazowania tkanki płuc niezbędne jest zastosowanie dedykowanych sekwencji obrazowania opartych na próbkowaniu sygnału w trajektorii radialnej, co pozwala na otrzymanie obrazów z bardzo krótkim czasem echa.

Sprostanie tym wyzwaniom wymaga połączenia zaawansowanych technik obrazowania, optymalizacji sprzętu i odpowiedniego zaprojektowania eksperymentu, który bierze pod uwagę specyfikę badanego modelu zwierzęcego. Należy podkreślić,

że przedkliniczne badania obrazowe na zwierzętach często mają charakter interdyscyplinarny, na styku badań z zakresu biomedycyny i biofizyki.

5.3 Cele badawcze zawarte w cyklu prac P1–P4

Celem prac badawczych, które zostały przedstawione w pracach P1–P4 było opracowanie ilościowych metod oceny stanu krążenia (w tym mikrokrążenia) serca i płuc z wykorzystaniem technik obrazowania tomografii MR, w szczególności:

- (1) obrazowanie perfuzji lewej komory metodą śledzenia pierwszego przejścia u myszy i szczurów;**
- (2) badanie zależnej od tlenu azotu funkcji mikrokrążenia serca i płuc;**
- (3) badanie przepuszczalności mikronaczyń płuc z wykorzystaniem makromolekularnego związku kontrastowego; oraz**
- (4) pomiar stresu oksydacyjnego z wykorzystaniem rodnika nitroksylowego w mikrokrążeniu płucnym.**

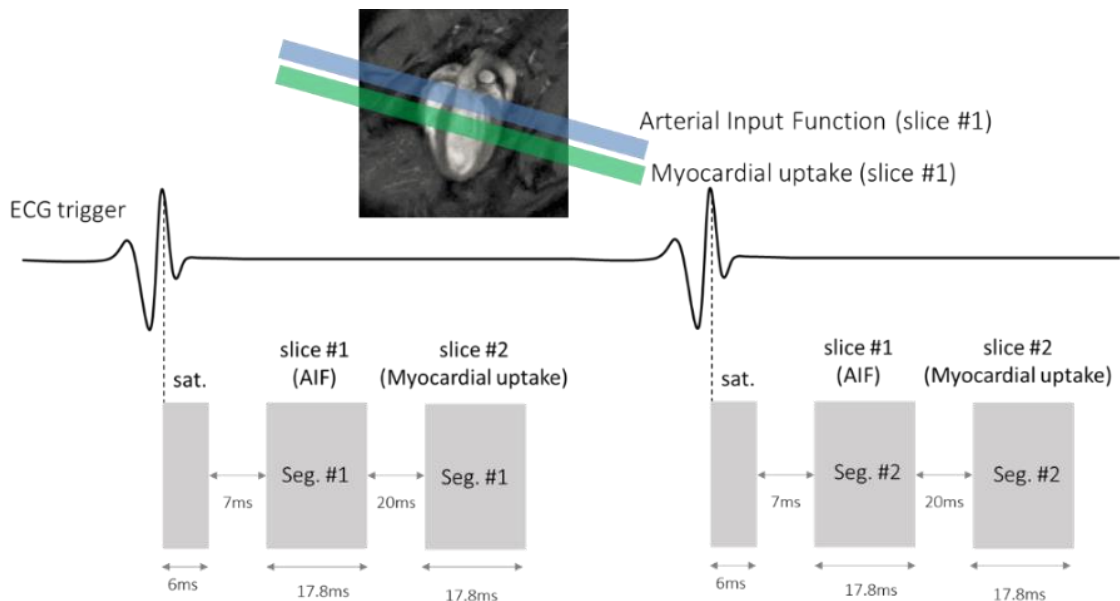
5.4 Zastosowane metody badawcze obrazowania MR (w pracach P1-P4)

5.4.1 Pomiar perfuzji lewej komory serca metodą pierwszego przejścia

Odpowiednie dostarczanie tlenu i innych składników odżywczych przez mikrokrążenie jest niezbędne dla prawidłowego funkcjonowania mięśnia sercowego. Szeroki zakres zaburzeń sercowo-naczyniowych wiąże się z upośledzeniem perfuzji do tkanek. Zarówno poziom bazowy perfuzji tkanek jak wzrost perfuzji po stymulacji adenozyną (lub jej analogami) ma znaczenie prognostyczne w chorobach serca.

Arterial Spin Labeling (ASL) to standardowa technika obrazowania metodą rezonansu magnetycznego, która stała się nieinwazyjną metodą oceny perfuzji mięśnia sercowego. Technika ta polega na znakowaniu (poprzez selektywne lub nieselektywne odwrócenie magnetyzacji) protonów wody we krwi tętniczej i wykorzystaniu ich jako endogenego znacznika do ilościowej oceny regionalnej perfuzji mięśnia sercowego^{11–13}. ASL jest techniką pozwalającą uniknąć konieczności stosowania środków kontrastowych. Jednak jedną z głównych wad ASL jest długi czas potrzebny na otrzymanie map obrazowania, a także duża podatność na artefakty ruchu serca i klatki piersiowej, co jest szczególnie istotne w obrazowaniu przedklinicznym małych zwierząt. Długi czas pomiaru perfuzji z ASL może uniemożliwiać uzyskanie stabilnego rozkurczu naczyń np. w odpowiedzi na infuzję adenozyiny, co z kolei jest niezbędne do pomiaru rezerwy perfuzji w krążeniu wieńcowym.

Alternatywną techniką (do ASL) oceny perfuzji mięśnia sercowego jest śledzenie bolusa pierwszego przejścia (ang. First Pass Perfusion, FPP). Metoda ta polega na



Rycina 1. Schemat sekwencji akwizycji danych w pomiarze perfuzji lewej komory metodą FPP (zaadaptowane na podstawie publikacji P1)

dożylnym wstrzyknięciu środka kontrastowego (na bazie gadolinu), a następnie monitorowanie jego pierwszego przejścia przez różne przedziały serca za pomocą dynamicznie rejestrowanych obrazów MR. Śledzenie bolusa jest szeroko stosowane do kwantyfikacji perfuzji mięśnia sercowego u ludzi i jako takie, stanowi doskonały przykład odwrotnej translacji: technika została najpierw opracowana i okazała się przydatna w badaniach sercowo-naczyniowych u ludzi, a dopiero później, dzięki postępowi w konstrukcji skanerów dedykowanych pomiarom małych zwierząt, została dostosowana do badań przed-klinicznych. Głównym wyzwaniem w tym przypadku jest to, że przejście bolusa środka kontrastowego przez różne przedziały serca jest niezwykle szybkie (patrz Tabela 1), co wymaga zastosowania ultraszybkich metod akwizycji obrazu. W celu otrzymania ilościowej zależności pomiędzy koncentracją kontrastu w tkance a rejestrowanym sygnałem wykorzystuje się metodę tzw. „saturation recovery”. W metodzie tej segment sekwencji składający się z impulsu 90° i gradientów rozfazujących magnetyzację poprzeczną, wyzwalany jest przez zewnętrzny system bramkowania oparty o EKG, a następnie po określonym czasie rejestrowany jest sygnał MR. W ten sposób tylko tkanki, w których znajduje się kontrast (który znacznie skraca czas relaksacji i pozwala na odrost magnetyzacji po segmencie saturacji) są widoczne na otrzymany obrazie. Cała sekwencja powtarzana jest przy każdym kolejnym uderzeniu serca. Stężenie kontrastu w tkance lewej komory serca w funkcji czasu pozwala na pół-ilościowe (wyrażane jako nachylenie krzywej napływu kontrastu) lub ilościowe określenie perfuzji (wyrażanej podobnie jak w technice ALS w $\text{ml} \times \text{g}/\text{min}$). Pierwsze doniesienia o zastosowaniu FPP do badań perfuzji serca u myszy zostały opisane przez Makowskiego et al.¹⁴, który wykorzystał do tego 10-krotnie przyspieszone obrazowanie echa gradientowego z pojedynczą warstwą obrazowania. Takie podejście ma jednak ograniczenie, ponieważ duże stężenie kontrastu we krwi na początku napływu powoduje nieliniową zależność rejestrowanego obrazu względem

stężenia gadolinu w świetle lewej komory co przekłada się na dokładność szacowanych wartości perfuzji. Rozwiązaniem tego problemu jest zastosowanie techniki podwójnego bolusu, w której najpierw podaje się bolus z małym stężeniem gadolinu do oceny funkcji wejścia (AIF), a po jakimś czasie drugi bolus z większym stężeniem gadolinu do opisu wzmocnienia sygnału w tkance mięśnia sercowego^{15,16}. Takie podejście wymaga jednak podania o wiele większej ilości kontrastu, co może nie być dobrze tolerowane przez zwierzęta obciążone patologiami serca. Kim et al.¹⁷ zaproponował pomiar FPP w technice tzw. podwójnego kontrastu. Opiera się ona na użyciu dwóch warstw obrazowania, w której każda warstwa ma inny czas opóźnienia po nasyceniu sygnału (czas od saturacji sygnału do jego pomiaru). AIF jest próbkowany przy użyciu krótkich opóźnień nasycenia sygnału, podczas gdy sygnał tkanki jest próbkowany z dłuższymi opóźnieniami nasycenia. Metoda podwójnego kontrastu zapewnia, że AIF i odpowiedź sygnału tkankowego są mierzone w identycznych warunkach, zapewniając dokładniejsze wyniki rejestrowane w tym samym stanie hemodynamicznym znieczulonego zwierzęcia. **Metoda pomiaru FPP w technice podwójnego kontrastu została zaimplementowana w pracach P1 i P2 do ilościowej oceny perfuzji lewej komory odpowiednio u myszy i szczurów.**

5.4.2 Metody przyspieszonej akwizycji obrazów MR

Przyspieszona akwizycja obrazów MR (ang. accelerated MRI) wykorzystuje różne zasady i techniki w celu skrócenia czasu skanowania i poprawy wydajności obrazowania. Celem jest uzyskanie wysokiej jakości obrazów o wystarczającej rozdzielczości przestrzennej i czasowej w krótszym czasie. Motywacją do zastosowania przyspieszonej akwizycji jest potrzeba skrócenia całkowitego czasu potrzebnego do otrzymania obrazów (np. w warunkach klinicznych) lub ograniczenia wynikające z szybkości procesów fizjologicznych, które uniemożliwiają rejestrację całego obrazu przed ich zakończeniem. Przykładem tego jest rejestracja przejścia bolusa kontrastu w technice FPP u myszy, których pojedynczy cykl pracy serca trwa ok. 100–120 ms. W kontekście obrazowania małych zwierząt wykorzystuje się trzy podejścia do przyspieszania akwizycji obrazowania MR:

- (1) Obrazowanie równoległe – techniki obrazowania równoległego pozyskują dane z wielu cewek odbiorczych jednocześnie, wykorzystując informacje przestrzenne zakodowane w profilu czułości każdej cewki. Powszechne techniki obrazowania równoległego obejmują kodowanie czułości (SENSE) lub GRAPPA¹⁸.
- (2) Próbkowanie oszczędne – uzupełniającą techniką matematyczną służącą do rekonstrukcji obrazów z danych o wysokim stopniu niedopróbkowania jest technika próbkowania oszczędnego (ang. Compressed Sensing, CS)¹⁹. Technika ta umożliwia przyspieszenie skanowania poprzez wykorzystanie wewnętrznej nadmiarowości (rzadkości) w samych obrazach MR, co umożliwia pozyskanie tylko niewielkiej części danych, a następnie odzyskanie obrazów wolnych od artefaktów. Aby CS MR działało, muszą być spełnione trzy wymogi. Po pierwsze, dane do rekonstrukcji powinny być rzadkie, tj. ściśle, co oznacza, że dane można zwięźle opisać w domenie przestrzennej lub w innej domenie transformaty np. w domenie Fouriera, falkowej lub różnic

skończonych. Po drugie, trajektoria akwizycji z niepełnym wektorem przestrzeni k powinna prowadzić do niespójnych, podobnych do szumu artefaktów nakładania się obrazu (ang. aliasing). Można to osiągnąć poprzez losowe próbkowanie kolejnych części przestrzeni k . Po trzecie, należy zastosować nieliniowy algorytm rekonstrukcji, który wykorzystuje rzadkość obrazu i pozyskane dane surowe do rekonstrukcji obrazów wolnych od artefaktów.

(3) Techniki redundancji przestrzenno-czasowej – w ostatnich latach opracowano różne metody obrazowania dynamicznego MR, które wykorzystują korelacje czasoprzestrzenne, ponieważ procesy dynamiczne, jak np. napływ kontrastu do tkanki lub ruch mięśnia sercowego, wykazują znaczące korelacje w przestrzeni k i czasie. Niektóre z tych technik rekonstrukcji zakładają, że zmiany sygnału pomiędzy kolejnymi krokami czasowymi są małe, a zatem można je odzyskać za pomocą technik interpolacji. Inne wykorzystują dane treningowe o niskiej rozdzielczości przestrzennej, z pełną rozdzielczością czasową, aby wywnioskować korelację czasową, którą można wykorzystać do odzyskania brakujących danych. Przykładami tych ostatnich są kt-BLAST²⁰ i kt-PCA²¹. Dla obu technik centralna część przestrzeni kt jest w pełni próbkowana i użyta jako źródło danych treningowych. Następnie zbierane są niedoprobkowane dane, które są rekonstruowane z pełną rozdzielczością czasową i przestrzenną przy użyciu danych treningowych. Technika kt-BLAST wykorzystuje analizę Fouriera do znalezienia korelacji czasowych, podczas gdy kt-PCA stosuje analizę składowych głównych.

Przyspieszona akwizycja sygnału MR została wykorzystana do rekonstrukcji obrazów FPP perfuzji lewej komory w pracach P1 i P2 a także w badaniach z dynamicznym wzmocnieniem po podaniu kontrastu w pracy P4.

5.4.3 Obrazowanie funkcji lewej komory przy użyciu CINE MRI

Wysoka rozdzielczość przestrzenna MR oferuje doskonałe narzędzia do oceny anatomii i morfologii układu sercowo-naczyniowego myszy. W szczególności obrazowanie MR może zostać wykorzystane do oceny pojemności komór i przedsionków serca w skurczu i rozkurczu. To z kolei pozwala na obliczenie końcowej objętości skurczowej/rozkurczowej, frakcji wyrzutowej, objętości minutowej i rzutu serca – podstawowych parametrów charakteryzujących czynność serca. W tym celu stosuje się tzw. obrazowanie kinematograficzne (CINE MRI). CINE MRI jest techniką pozyskiwania zestawu obrazów serca w trakcie cyklu pracy serca, generując w ten sposób film bijącego serca. Obecnie CINE MRI jest złotym standardem oceny funkcji serca *in vivo*. Zostało ono zastosowane w szeregu modeli chorób serca zarówno w badaniach przed-klinicznych jak i klinicznych. Aby uzyskać obrazy CINE MRI niezbędna jest synchronizacja rejestrowanego sygnału MR z ruchem serca. Do tego celu może zostać wykorzystany zewnętrzny czujnik oparty o EKG przyłączony do ciała zwierzęcia. W takim wypadku skaner MR zaczyna rejestrację sygnału po wyzwoleniu spowodowanym np. rejestracją załamka R w fali EKG. Takie bramkowanie sygnału MR nazywa się prospektywnym. Całkowity czas badania zależy od rytmu pracy serca. W celu uzyskania wartościowych obrazów CINE MRI w bramkowaniu prospektywnym

niezbędne jest, by rytm serca zwierzęcia mógł być odczytany przy użyciu EKG (co może być trudne w patologiach, które prowadzą do przerostu przedsionków i upośledzeniu funkcji elektrycznych serca) oraz by był on stabilny w trakcie kilkuminutowego badania. Alternatywą do bramkowania prospektywnego jest bramkowanie retrospektywne. W przeciwieństwie do bramkowania prospektywnego, przy bramkowaniu retrospektywnym dane są pozyskiwane w sposób ciągły, asynchronicznie z cyklem pracy serca. Po zakończeniu akwizycji obraz CINE jest rekonstruowany przez dzielenie danych na określoną liczbę klatek serca. Do identyfikacji poszczególnych części obrazu zarejestrowanych w różnych fazach/czasach cyklu pracy serca wykorzystuje się informacje z sygnału nawigatora. W tym celu sekwencja jest modyfikowana, tak aby obejmowała ona akwizycję sygnału nawigatora dla każdego czasu repetycji. Sygnał nawigatora można pozyskać z tej samej lub innej warstwy obrazowania. Intensywność sygnału nawigatora odzwierciedla zarówno ruch serca, jak i ruch oddechowy. W tym wypadku zmiany rytmu pracy serca lub oddechu nie mają wpływu na sekwencje rejestrowanych obrazów CINE MRI. Dużą zaletą bramkowania retrospektywnego jest możliwość uzyskania bardzo dobrej rozdzielczości czasowej, poniżej granicy danej przez minimalny czas repetycji. Tak uzyskane obrazy CINE MRI mogą być wykorzystane do oceny prędkości skurczu i rozkurczu lewej komory, a także od oceny wektora odkształceń jak pokazano to w pracy P3. Inną istotną zaletą bramkowania retrospektywnego jest to, że ciągłe wyzwalanie sygnału MR prowadzi do powstania tzw. stanu ustalonego (ang. steady state) wektora magnetyzacji, co jest niezbędne do otrzymania ilościowych map czasu relaksacji T_1 . **Obrazowanie CINE z bramkowanie retrospektywnym wykorzystana do otrzymania map czasu relaksacji T_1 badania mikrokążenia serca i płuc w pracach P3 i P4** (szczegóły w następnym paragrafie).

5.4.4 Pomiar zależnej od tlenu azotu czynności mikrokążenia mikrokążenie mięśnia sercowego i płuc

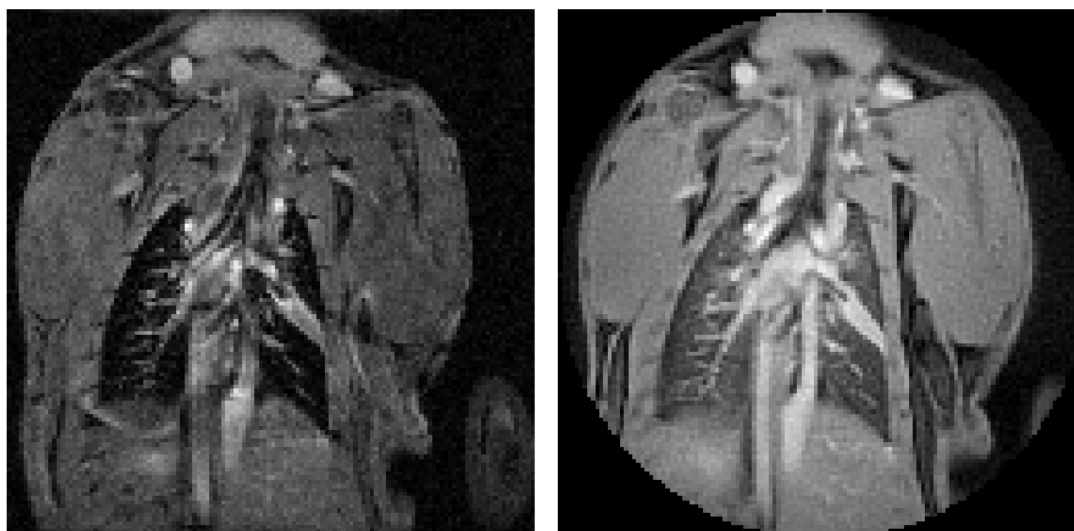
Śródbłonek naczyniowy to monowarstwa komórek wyściełająca wewnętrzną powierzchnię naczyń krwionośnych. Śródbłonkowa syntaza tlenu azotu (eNOS), enzym wytwarzający tlenek azotu (NO) w śródbłonku naczyniowym, odgrywa kluczową rolę w regulacji właściwości naczyniowych, takich jak napięcie, regionalny przepływ krwi i przepuszczalność mikronaczyniowa. Czynniki ryzyka sercowo-naczyniowego, takie jak otyłość, cukrzyca typu 2-go i nadciśnienie tętnicze, prowadzą do nadmiernej produkcji reaktywnych form tlenu w ścianie naczyniowej. Wynikający z tego naczyniowy stres oksydacyjny prowadzi do procesu określanego jako rozpręganie eNOS, w którym dochodzi do dysfunkcji eNOS i przekształcenia eNOS z enzymu wytwarzającego NO w enzym wytwarzający reaktywnych form tlen. W tych warunkach centralna rola eNOS w funkcji śródbłonka jest upośledzona, w konsekwencji czego, eNOS przyczynia się do stresu oksydacyjnego i dysfunkcji śródbłonka. Nieinwazyjna metoda obrazowania oceniająca funkcję eNOS umożliwiłaby badanie mechanizmów prowadzących do dysfunkcji eNOS i potencjalnych terapii ukierunkowanych na eNOS. Poprzednie badania wykazały, że farmakologiczne hamowanie eNOS za pomocą środków takich jak ester metylowy NG-nitro-L-argininy (L-NAME) szybko zmniejsza

lokalne stężenie NO w ścianie naczynia, prowadząc do wzrostu przepuszczalności mikronaczyń, wypływu białek z krwi do przestrzeni pozakomórkowej i zwiększenia objętości płynu pozanaczyniowego. Ten fakt może zostać użyty do oceny NO-zależnej funkcji mikrokrążenia poprzez wykorzystanie mapowania czasu relaksacji spin-sieć (T_1) w wybranych tkankach przed i po farmakologicznym zahamowaniu eNOS. Czas relaksacji T_1 zależy od dynamiki (mobilności) cząsteczek wody, która jest inna w świetle naczynia, a inna w płynie pozakomórkowym, gdzie ruch wody jest ograniczony strukturami macierzy międzykomórkowej. Wykorzystanie MR do oceny NO-zależnej funkcji mikrokrążenia wieńcowego zostało po raz pierwszy opisane przez Cui et al.²² w mysim modelu z dietą wysokotłuszczową. Autorzy ci wykazali, że zmiana w czasie relaksacji T_1 w mięśniu lewej komory wywołana przez podanie L-NAME, nie zależy od perfuzji mięśnia sercowego. Co więcej pomiary wykonane u myszy z knock-outem eNOS nie wykazywały zmian w T_1 lewej komory serca po podaniu L-NAME wskazując, że jest to metoda, która selektywnie bada dysfunkcję eNOS. Analogicznie jak w pomiarach T_1 po podaniu L-NAME w mięśniu lewej komory, zależna od NO funkcja mikrokrążenia może być badana w innych organach. **W pracy P4 po raz pierwszy wykorzystano tą metodę do oceny zmian w mikrokrążeniu płuc w trakcie rozwoju endotoksemii (po podaniu liposacharudu, LPS).** W celu uzyskania map T_1 tkanek wykorzystano metodę zmiennego kąta wychylenia magnetyzacji (ang. variable flip angle, VFA), w której rejestruje się kilka obrazów MR z różnym kątem wychylenia magnetyzacji przy tym samym czasie repetycji. Z analizy równań dynamiki magnetyzacji Blocha możliwe jest uzyskanie matematycznej zależności pomiędzy intensywnością sygnału MRI w funkcji kąta wychylenia magnetyzacji dla różnych czasów relaksacji T_1 . Poprzez procedurę dopasowania tej funkcji do danych eksperymentalnych uzyskuje się mapy T_1 *in vivo*. Zaletą wykorzystania mapowania T_1 z VFA jest możliwość użycia bramkowania retrospektywnego przez co rejestrowane sygnały nie zależą od aktualnej wartości rytmu serca i/lub oddechów zwierzęcia (ma to istotne znaczenie, gdy zwierzętom podaje się związki lub leki, które zmieniają te parametry jak np. inhibitor syntazy NO).

5.4.5 MR tkanki płuc z wykorzystaniem obrazowania z ultrakrótkim czasem echa

Obrazowanie miększu płuc za pomocą MRI jest technicznie trudne ze względu na duży gradient podatności magnetycznej spowodowany obecnością kieszeni powietrznych w pęcherzykach płucnych, co skutkuje bardzo szybką relaksacją T_2^* , rzędu kilkuset mikrosekund, przy wysokim polu magnetycznym. Ponadto, ze względu na strukturę wypełnioną powietrzem, tkanka płucna ma około czterokrotnie niższą średnią gęstość, co skutkuje obniżonym stosunkiem sygnału do szumu (SNR) rejestrowanego badania w porównaniu do innych typów tkanek. Obecność ruchów oddechowych i możliwych deformacji spowodowanych skurczami serca dodatkowo przyczyniają się do trudności w uzyskaniu parametrycznych pomiarów MRI tkanki płucnej. W celu obejścia tych ograniczeń wykorzystuje się obrazowanie ultra krótkiego czasu echa (ultra-sort echo time, UTE). Obrazowanie UTE wykorzystuje promieniowe (radialne) próbkowanie trajektorii wektora k , co pozwala na uzyskanie czasu echa w zakresie od kilku mikrosekund (w przypadku obrazowania 3D) do kilkuset mikrosekund (w przypadku

A) FLASH, TE = 1 ms B) UTE, TE = 0.26 ms



Rycina 2. Przykład obrazowania tkanki płuc myszy z wykorzystaniem (A) standardowej sekwencji echa gradientowego (FLASH) o czasie echa TE = 1 ms oraz (B) sekwencji obrazowania ultrakrótkiego czasu echa (UTE) z trajektorią radialną (czas echa, TE = 0.26 ms). Dane własne.

obrazowania 2D). Ten krótki czas echa ułatwia obrazowanie tkanki płucnej i został wykorzystany do uzyskania funkcjonalnych pomiarów płuc dla procesów takich jak perfuzja, wentylacja czy pomiar relaksacji T_1/T_2^* . **W pracy P4 wykorzystano obrazowanie UTE z bramkowaniem retrospektywnym do otrzymania ilościowych map czasu relaksacji T_1 oraz pomiarów dynamicznego wzmocnienia po podaniu kontrastu.**

Obrazowanie MR jest szeroko wykorzystywane w badaniach zwierząt laboratoryjnych. Pomimo znaczącego rozwoju technologii i zwiększonej dostępności dedykowanych skanerów MR do badań małych zwierząt laboratoryjnych zastosowanie obrazowania MRI do badań ilościowych czynności krążenia wieńcowego serca i płuc jest istotnie ograniczone szybkością procesów fizjologicznych gryzoni (które są najczęściej wykorzystywane w badaniach przedklinicznych). Z tego powodu, poza nielicznymi pracami, techniki obrazowania MRI nie są powszechnie stosowane do oceny zmian w mikrokrążeniu podczas rozwoju chorób sercowo-naczyniowych, pomimo bezdyskusyjnych zalet i możliwości translacyjnych obrazowania MRI. W **pracach P1-P4** przedstawiono komplementarne metody oceny mikrokrążenia serca i płuc oparte o ilościową ocenę perfuzji lewej komory serca (**P1,P2**), co dodatkowo zostało uzupełnione modelowaniem farmakokinetycznym (**P1**) dzięki czemu możliwa była ocena zmian w przepuszczalności naczyń wieńcowych. Do oceny bardzo wczesnych zmian w mikrokrążeniu serca wykorzystano badanie odpowiedzi na zahamowanie syntezy tlenu azotu. Metody zastosowane do oceny zmian w mikrokrążeniu wieńcowym zostały następnie zaadaptowane (**P4**) i rozszerzone o badanie stresu oksydacyjnego do oceny upośledzenia mikrokrążenia płuc w mysim modelu endotoksemii.

5.5 Omówienie najważniejszych wyników w pracach P1-P4.

5.5.1 Ilościowy pomiar perfuzji lewej komory u myszy z wykorzystaniem modelowania farmakokinetycznego

Abu umożliwić obrazowanie perfuzji pierwszego przejścia u myszy, akwizycja danych została przyspieszona o współczynnik $R = 4$. Na podstawie wyników przedstawionych w danych uzupełniających, niedoprobkowane dane zostały zrekonstruowane za pomocą k-t SPARSE, który przewyższa k-t PCA (dokładność rekonstrukcji) dla małych rozmiarów macierzy akwizycji i umiarkowanych współczynników przyspieszenia R . Akwizycja obrazów została oparta na echu gradientowym, podobnie do pracy Naresha et al.²³ Chociaż sekwencje swobodnej precesji w stanie ustalonym (bSSFP) mogą potencjalnie oferować lepszy kontrast i czułość, sekwencje echa gradientowego są lepszym wyborem w wysokim polu magnetycznym ($B_0 = 9.4T$). W sekwencjach pomiar pojedynczej dynamiki każdego z dwóch przekrojów został podzielony na dwa kolejne uderzenia serca, co skutkowało krokiem czasowym w przedziale 200–220 ms (w zależności od szybkości rytmu serca). W związku z tym rozdzielczość czasowa była wystarczająca do uchwycenia dynamiki napływu kontrastu, zarówno funkcji wejściowej (ang. Arterial Input Function, AIF), jak i wychwytu mięśnia sercowego (z około 25 punktami danych próbkowanymi w pierwszym przebiegu kontrastu). Dalszy wzrost rozdzielczości czasowej mógłby być uzyskany poprzez pominięcie segmentacji odczytu kosztem potencjalnych artefaktów ruchowych. Uśredniony MBF zmierzony w tym badaniu wynosił 6.56 ± 1.45 ml/g/min, co jest zgodne z wcześniej podawanymi wartościami. W literaturze zaproponowano kilka różnych modeli kinetycznych do analizy dynamiki napływu kontrastu w pomiarach FPP w celu ilościowego opisu perfuzji mięśnia sercowego tzw. MBP (Myocardial Blood Flow), wyrażony w mililitrach na gram tkanki na minutę (ml/g/min). Powszechne podejście opiera się na bezpośredniej dekonwolucji numerycznej danych z funkcją Fermiego przy założeniu pojedynczego przejścia środka kontrastowego. W tym celu dopasowanie uzyskuje się przy użyciu tylko początkowego (pierwszego przejścia) wychwytu kontrastu, a późniejsza dynamika kontrastu jest pomijana. Alternatywnym podejściem do analizy wychwytu mięśnia sercowego jest zastosowanie modelu farmakokinetycznego który wyraźnie zakłada wiele przedziałów o określonych objętościach (np. objętość krwi V_b i objętość śródmiąższowa V_{isf}) i wymianę środka kontrastowego między nimi przez przepuszczalną membranę (charakteryzującą się iloczynem powierzchni przepuszczalności mikronaczyń, PS). W związku z tym do oceny wykorzystywany jest pełny zestaw danych wychwytu mięśnia sercowego (poza pierwszym przejściem), a model jest dopasowywany przy użyciu czterech (MBF, V_b , V_{isf} , PS) lub więcej wolnych parametrów. W pracy P1 porównana dwa podejścia do analizy MBF (tj. uzyskane wartości MBP z dekonwolucją funkcji Fermiego „Fermi” lub model farmakokinetyczny „2CX”). Wartości MBF uzyskane przy użyciu modelu 2CX były w doskonałej zgodności ilościowej z wartościami opartymi na podejściu dekonwolucji Fermiego. Niewielka średnia różnica między wartościami MBF uzyskanymi za pomocą dwóch podejść (Fermi i 2CX) sugeruje brak błędu systematycznego. W dalszej części pracy

zbadano możliwość oszacowania parametrów naczyniowych (V_b , V_{isf} , PS). W tym celu porównano wyniki analiz opartych o model 2CX po podaniu standardowego środka kontrastowego, który ulega wypływowi przez ściany naczyń (Gadovist) z środkiem kontrastowym, który po podaniu przyłącza się do białek albuminy (Vasovist), dzięki czemu jego wypływ ze ścian naczynia jest minimalny. Analiza krzywej wychwytu mięśnia sercowego za pomocą modelu 2CX wykazała dobrą zgodność oszacowania MBF pomiędzy dwoma środkami kontrastowymi, z pewnymi tendencjami w kierunku wyższych wartości MBF i mniejszej zmienności dla Vasovistu. Podobne obserwacje odnotowali Jerosch-Herold et al.²⁴, którzy zasugerowali, że zastosowanie wewnątrznaczyniowego (zamiast zewnątrzkomórkowego) środka kontrastowego pozwala na zmniejszenie stopni swobody w modelowaniu wychwytu tkankowego (za pomocą przedziałowego modelu BTEX), a tym samym skutkuje poprawą dokładności szacowania MBF. W szczególności analiza MBF za pomocą modelu 2CX eliminuje problem wyboru granicy pierwszego przejścia kontrastu, niezbędnej do dekonwolucji Fermiego, ponieważ nie jest ona wyraźnie obserwowana na krzywych wychwytu mięśnia sercowego za pomocą Vasovistu. Odpowiednio, wartości przedziału objętości V_b zgadzają się dobrze między pomiarami z obydwoima środkami kontrastowymi. Zaobserwowano jednak wyraźne różnice między Gadovistem i Vasovistem w zakresie objętości V_{isf} i PS, co odzwierciedla brak wynacznienia tego ostatniego. Niezerową wartość PS dla Vasovistu można wyjaśnić stosunkowo krótkim czasem akwizycji lub zakłócającym wpływem wychwytu kontrastu przez inne narządy. Ponadto niektóre niezwiązane chelaty CA mogą być nadal obecne podczas pierwszego przejścia, bezpośrednio po wstrzyknięciu. Zmiana obserwowanych parametrów modelu jest zgodna z wynikami symulacji przedstawionych w pracy P1, co sugeruje, że model 2CX jest wystarczająco wrażliwy na zmiany objętości V_b/V_{isf} i PS.

5.5.2 Ilościowy pomiar perfuzji i rezerwy perfuzji lewej komory serca u szczurów z wykorzystaniem CO_2

Przepływ krwi w mięśniu sercowym (MBF) i jego zmiany podczas hiperemii są krytycznymi miarami czynności serca. Obecne protokoły indukowania hiperemii są w dużej mierze oparte na wlewie adenozyliny lub jednego z jej analogów. Stres wywołany farmakologicznie ma jednak kilka skutków ubocznych, w tym bardzo krótki czas życia adenozyliny, wymagający ciągłego wstrzykiwania. Potrzeba jest zatem znacząca całkowita objętość podawanych płynów, aby uwzględnić konieczność ciągłego wlewu środka do hiperemii i wstrzyknięcia środka kontrastowego w bolusie. Może to skutkować niestabilną fizjologią, szczególnie u zwierząt ze współistniejącymi schorzeniami (np. niewydolnością serca) lub u zwierząt, które niedawno przeszły operację. W związku z tym istnieje potrzeba zbadania potencjalnych alternatyw w celu uzyskania warunków hiperemii do obrazowania perfuzji serca u małych zwierząt.

Jednym z potencjalnych zamienników adenozyliny jest wywołanie hiperkapnii poprzez podniesienie ciśnienia parcjalnego CO_2 we krwi, co, jak wykazano, zwiększa przepływ mózgowy i MBF sugerując, że może to być odpowiednia alternatywa dla stresu

farmakologicznego lub wysiłku fizycznego do obrazowania perfuzji mięśnia sercowego. Działanie rozszerzające naczynia krwionośne zwiększonego PCO_2 przypisuje się aktywacji kanałów K_{ATP} . Jeśli CO_2 jest podawany w sposób kontrolowany, indukcja hiperemii z CO_2 jest uważana za bezpieczną klinicznie. Porównano zatem wartości MBF oraz rezerwy perfuzji (tj. stosunku wartości MBF w hiperemii to wartości MBF w spoczynku, oznaczanego jako Myocardial Flow Reserve, MFR) po próbie z CO_2 oraz podania agonisty receptora adenozynowego $\text{A}_{2\text{A}}$ (Regadenoson). Hiperemię wywołano albo przez 5-minutową próbę gazową z 10% CO_2 , albo przez wstrzyknięcie 0.1 $\mu\text{g/g}$ masy ciała regadenosonu. Regadenoson wstrzykiwano przez tę samą kaniulę, której używano do wstrzykiwania Gd, podłączając zawór trójdrożny, a akwizycję perfuzji rozpoczęto 10 minut po wstrzyknięciu. W przypadku prowokacji gazem CO_2 ciśnienie parcjalne CO_2 zwiększono z 40 ± 3 do 57 ± 6 mmHg w ciągu 5-minutowego okresu oddychania mieszaniną 10% CO_2 + 20% O_2 + 70% N_2 . Mieszanina gazów została dostarczona przy użyciu tej samej linii, co w przypadku znieczulenia izofluranem. Do monitorowania ciśnienia parcjalnego CO_2 wykorzystano przezskórny monitor gazowy zamontowany na udzie zwierzęcia. Aby zapewnić bezwzględną kwantyfikację MBF, zastosowano sekwencję z podwójnym kontrastem, która wykorzystuje kolejne akwizycje dwóch przekrojów z różnymi czasami powrotu nasycenia, podobnie jak w pracy P1. Takie podejście pozwala na dokładne oszacowanie krzywych AIF i wychwytu mięśnia sercowego. Aby umożliwić obrazowanie szybkiego przejścia bolusa kontrastowego, akwizycja była niedoszacowana w domenie k_y -t przez współczynnik $R = 5.3$. Otrzymane wyniki MBF za pomocą obu środków zostało wskazały na podobne wartości co potwierdza skuteczne wywołanie hiperemii u wszystkich zwierząt. w u wszystkich zwierząt. W każdym przypadku odnotowano znaczący wzrost MBF w hiperemii w stosunku do wartości w spoczynku. Ogólna średnia wartość MBF podczas rozszerzenia naczyń krwionośnych za pomocą regadenosonu wynosiła 14.3 ± 4 ml/g/min, podczas gdy dla stymulacji CO_2 wynosiła 13.9 ± 3.7 ml/g/min. Wartości te mieszczą się w zakresie wcześniej zgłaszanych MBF w hiperemii, z 10.46 ± 0.3 ml/g/min zgłaszanymi w przypadku rozszerzenia naczyń regadenosonem u myszy i 12.8 ± 0.7 ml/g/min podczas rozszerzenia naczyń adenozyną u szczurów. Nie stwierdzono różnicy między MBF w hiperemii dla obu środków. Jedynym wyjątkiem był odcinek przedni ściany lewej komory, dla którego korelacja liniowa nie była istotna statystycznie ($p = 0.07$). Chociaż można to przypisać różnym odpowiedziom wazodylatacyjnym lewej zstępującej tętnicy wieńcowej, zbyt mała wielkość próby wyklucza ostateczny wniosek. Stwierdzono, że średnie wartości MFR były takie same dla regadenosonu i stymulacji CO_2 w granicach odchylenia standardowego i są podobne do tych z poprzednich badań (2.0 ± 0.3 dla rozszerzenia naczyń krwionośnych regadenosonem u myszy i 2.4 ± 0.2 dla rozszerzenia naczyń krwionośnych adenozyną u szczurów). Wyniki te są zgodne z pracą Yang i et al²⁵., którzy również nie zaobserwowali różnicy w MBF i MFR między rozszerzeniem naczyń krwionośnych za pomocą wlewu adenozyny a hiperkapnią u psów.

5.5.3 Ocena zmiany NO-zależnej funkcji mikrokrążenia wieńcowego na wczesnym etapie żywienia dietą wysokotłuszczową

Dożylne wstrzyknięcie 100 mg/kg L-NAME spowodowało znaczące zmiany w czasie relaksacji T_1 mięśnia sercowego. W grupie zwierząt karmionych standardową dietą, hamowanie eNOS za pomocą L-NAME zwiększyło czas relaksacji T_1 z maksymalną zmianą występującą po 8 minutach od wstrzyknięcia i przy wartości około 15% wyjściowego czasu T_1 . Podobny przebieg czasowy zaobserwowano we wszystkich grupach zwierząt kontrolnych. W przeciwieństwie do tego, u zwierząt karmionych HFD zaobserwowano znacznie mniejszy wzrost lub nawet spadek czasu relaksacji T_1 zaobserwowano po zahamowaniu eNOS za pomocą L-NAME. Co zaskakujące, obszar pod krzywą czasu ΔT_1 - po wstrzyknięciu miał tendencję do zmniejszania się u zwierząt karmionych HFD nawet po zaledwie 3 dniach HFD i był znacznie mniejszy po 7 dniach HFD. Nasilenie dysfunkcji mikronaczyniowej naczyń wieńcowych, oceniane na podstawie odpowiedzi na L-NAME i skumulowanego ΔT_1 było podobne pod względem wielkości po 7 dniach, 2 tygodniach i 4 tygodniach HFD, ale uległo dalszemu pogorszeniu wraz z czasem trwania HFD wynoszącym 8 tygodni.

W celu sprawdzenia, czy dysfunkcja mikronaczyniowa naczyń wieńcowych u myszy karmionych HFD była związana z upośledzeniem rezerwy przepływu wieńcowego, odpowiedź wazodylatacyjna tętnicy wieńcowej na regadenoson (1 mg/kg) została zbadana za pomocą mapowania prędkości przepływu Dopplera u zwierząt kontrolnych i karmionych HFD po 7 dniach na obu dietach. Znacząco zwiększona prędkość przepływu krwi została uzyskana po wstrzyknięciu regadenozonu. Towarzyszył temu wzrost częstości akcji serca podczas protokołu wazodylatacji. Nie stwierdzono istotnych różnic w szczytowej rezerwie przepływu wieńcowego lub średniej rezerwie przepływu krwi między zwierzętami kontrolnymi i karmionymi HFD.

Analiza globalnej funkcji lewej komory wykazała że objętość wyrzutowa i rzut serca były zachowane u myszy HFD w porównaniu do myszy kontrolnych. Jednakże po 4 i 8 tygodniach karmienia HFD frakcja wyrzutowa była zmniejszona w porównaniu ze zwierzętami kontrolnymi. Natomiast zmniejszenie częstości wyrzutu zaobserwowano już po 7 dniach u myszy karmionych HFD w porównaniu z grupą kontrolną. Co prawda Izowolumetryczny czas relaksacji był skrócony we wszystkich grupach karmionych HFD w porównaniu ze zwierzętami kontrolnymi, ale różnice te nie były istotne statystycznie. Objętość końcowo rozkurczowa wykazywała tendencję do wzrostu po 3 i 7 dniach stosowania HFD, podczas gdy objętość końcowo skurczowa znacząco wzrosła po 2–8 tygodniach stosowania HFD. Zarówno obwodowa (E_{cc}) i promieniowe (E_{tr}) były zachowane u myszy karmionych HFD w porównaniu do zwierząt karmionych dietą standardową.

5.5.4 Kompleksowa ocena zmian w mikrokrążeniu płuc podczas rozwoju endotoksemii

Zmiany gęstości tkanki płucnej podczas ruchu oddechowego mogły utrudniać czułość i swoistość ilościowych wskaźników pochodzących z MR. W związku z tym przeprowadzono retrospektywne bramkowanie przy użyciu sygnału nawigatora pochodzącego z pierwszego punktu każdego rejestrowanego sygnału FID w celu

uzyskania obrazów tylko przy wydechu końcowym. Obrazowanie UTE płuc uzyskano z pojedynczego przekroju umieszczonego w płaszczyźnie czołowej przechylonej w celu uniknięcia komór serca. Retrospektywne bramkowanie ruchu uzyskano przy użyciu modulacji fazy lub wielkości pierwszego punktu FID. Sygnał został przefiltrowany przy użyciu filtra dolnoprzepustowego o częstotliwości odcięcia 2 Hz, który wyświetlał wyraźny ślad oddechowy. Spektrogram pokazuje charakterystyczne pasma częstotliwości około 1 Hz i 8 Hz, odpowiadające odpowiednio częstotliwości ruchu oddechowego i sercowego. Aby zapewnić ilościową metrykę tkanki, którą można wykorzystać do scharakteryzowania zmian w morfologii tkanki płucnej, wykonano mapowanie T_1 mięszu płuc. Warunkiem wstępnym mapowania VFA T_1 jest stały stan magnetyzacji podłużnej, którego nie można uzyskać za pomocą bramkowania prospektywnego. Dlatego bramkowanie retrospektywne dobrze nadaje się do zastosowania w mapowaniu T_1 VFA. Zaobserwowano poprawę ostrości małych rozgałęzień naczyń w tkance płucnej dla wszystkich kątów wychylenia magnetyzacji. Stwierdzone niewielkie zmiany wartości T_1 wzdłuż pnia naczynia płucnego. Rozkład T_1 uzyskany na obrazach bez kompensacji ruchu i z detekcją ruchu wykazał silną zgodność. Co więcej, średnie wartości T_1 w płucach uzyskane u różnych zwierząt na obrazach bez kompensacji ruchu i bramkowanych retrospektywnie nie różniły się statystycznie ($p = 0.18$). Zaobserwowano jednak znaczną poprawę rozrzutu danych, o czym świadczy zmniejszone odchylenie standardowe mapowania T_1 z detekcją ruchu (test $F = 0.051$). Ponadto mapowanie T_1 z rozdzielczością ruchu zapewniło lepszą odtwarzalność i zmniejszoną zmienność. Tak więc połączenie lepszej odporności obrazu zapewnianej przez rozdzielczość ruchu z bramkowaniem retrospektywnym zaowocowało mapami T_1 , które wykazały lepszą jakość i niezawodność i mogły być wykorzystane do wychwycenia niewielkich zmian w tkance płucnej.

Mapowanie T_1 z bramkowaniem retrospektywnym zostało następnie wykorzystane do oceny funkcji mikronaczyń płucnych zależnych od NO w oparciu o analizę wpływu hamowania eNOS za pomocą wstrzyknięcia L-NAME na mapowanie T_1 . W tym przypadku obrazy T_1 płuc rejestrowano przed i pięć razy po dożylnym wstrzyknięciu bolusa 100 mg/kg L-NAME, z odstępem czasowym 6 minut. Aby przetestować wykonalność mapowania eNOS T_1 w mięszu płucnym podczas rozwoju uszkodzenia mikronaczyniowego płuc wywołanego przez LPS, zwierzęta otrzymały dootrzewnowo (i.p.) dawkę 10 mg/kg LPS, a mapowanie T_1 wykonano po 2, 6 i 12 godzinach od wstrzyknięcia LPS. Zgodnie z oczekiwaniami, T_1 mięszu płuc wzrosła po wstrzyknięciu L-NAME w wyniku czasowego wzrostu przepuszczalności mikronaczyń i wynikającej z tego zmiany zawartości wody w tkance w grupie zwierząt kontrolnych. Średnie wartości T_1 przed wstrzyknięciem nie różniły się między grupami kontrolną i LPS. Bezwzględna zmiana T_1 po wstrzyknięciu L-NAME była znacząco większa w $t = 2$ h i $t = 6$ h, ale nie w $t = 12$ h po wstrzyknięciu LPS. Średni T_1 wzrósł znacząco po wstrzyknięciu L-NAME w stosunku do wartości wyjściowej przed wstrzyknięciem w próbach kontrolnych, LPS-2h i LPS-6h, podczas gdy umiarkowaną zmianę zaobserwowano dla LPS-12h. Aby uniknąć wpływu zmian w wyjściowych wartościach T_1 , obliczono względną zmianę T_1 (ΔT_1), którą zsumowano wzdłuż wymiaru czasu, aby

uzyskać skumulowaną wartość ΔT_1 . Największą skumulowaną zmianę wywołaną hamowaniem NO stwierdzono w grupie LPS-6h, która była znacznie zwiększona w porównaniu ze zwierzętami kontrolnymi. W przeciwieństwie do tego, w grupie LPS-12h zaobserwowano spadek T_1 po zahamowaniu eNOS, chociaż różnica nie była istotna statystycznie, ponieważ poważny spadek czasu T_1 wystąpił u dwóch z czterech zwierząt.

Do oceny zmian perfuzji i ukrwienia tkanki płuc wybrano pojedynczy punkt czasowy na podstawie wyników zmian w funkcji zależnej od NO, przy czym największe zmiany zaobserwowano dla $t = 6$ h po wstrzyknięciu LPS. W tym celu wykorzystano badanie dynamiki napływu i wypływu w obrazowaniu z dynamicznym wzmocnieniem po podaniu kontrastu (DCE).

Aby potwierdzić zmiany w dynamice wypłukiwania DCE, zwierzętom kontrolnym wstrzyknięto standardowy kliniczny środek kontrastowy na bazie gadolinu (Gadovist) lub polimer, który ze względu na dużą masę cząsteczkową nie przekracza ściany naczyń krwionośnych (GadoSpin). Krzywe DCE u myszy po podaniu LPS były znacząco zmienione w porównaniu z grupą kontrolną, z wydłużoną fazą wymywania i opóźnionym maksymalnym wzmocnieniem. Obszar pod krzywą DCE był znacznie większy dla LPS-6h w porównaniu ze zwierzętami kontrolnymi, co sugeruje upośledzoną mikronaczyniową perfuzję płucną i prawdopodobnie częściowe uwięzienie środka kontrastowego w mikrokrążeniu.

Aby ocenić zmiany związane ze stresem oksydacyjnym, zwierzęta otrzymały bolus 2 mmol/kg rodnika nitroksylogowego 3CP. Szybkość zaniku sygnału odzwierciedla zdolność redukcyjną tkanki i jako taka może być stosowana jako pośrednia miara stresu oksydacyjnego. Krzywe po podaniu rodnika 3CP wykazywał opóźnione i zmniejszone wzmocnienie w grupie LPS-6h w porównaniu ze zwierzętami kontrolnymi. Markery ilościowe wyodrębnione z dynamiki wzmocnienia wykazały znacznie zmniejszone nachylenie wypłukiwania, czas wypłukiwania i pole pod krzywą, co wskazuje na zwiększoną redukcję rodnika 3CP z tym samym wzmocnionym stresem oksydacyjnym w tkance płuc 6 h po podaniu LPS.

Aby ocenić swoistość i czułość nowej, opartej na MR oceny uszkodzenia płuc opisanej w poprzednich sekcjach, oddzielną grupę zwierząt wykorzystano do porównawczego obrazowania μ CT tkanki płucnej i mapowania prędkości przepływu krwi Dopplera w tętnicy płucnej. μ CT jest złotym standardem obrazowania płuc zarówno w badaniach klinicznych, jak i przedklinicznych. Zaobserwowano znaczący spadek średniej gęstości płuc zaobserwowano 12 godzin po LPS w porównaniu ze zwierzętami kontrolnymi, bez zmian w całkowitej objętości płuc lub objętości tkanki napowietrzanych i ze znaczącym spadkiem objętości tkanki nienapowietrzanych. W przeciwieństwie do tego, dopplerowskie mapowanie prędkości przepływu krwi w tętnicy płucnej wykazało znaczące pogorszenie prędkości przepływu krwi w tętnicy płucnej już 2 godziny po LPS, z jednoczesnym wydłużeniem czasu przed napływem i czasu wyrzutu odpowiednio w $t = 6$ h i $t = 12$ h po wstrzyknięciu LPS.

5.6 Dyskusja najważniejszych wyników otrzymanych w pracach P1–P4 w kontekście rozwoju dyscypliny

W niniejszym autoreferacie przedstawiono kompleksowe podejście do problemu obrazowania *in-vivo* mikrokążenia serca i płuc z wykorzystaniem tomografii MRI w zwierzęcych modelach chorób układu sercowo naczyniowego. Za najważniejsze rezultaty badań zrealizowanych w ramach opisanego osiągnięcia uważam:

- Obrazowanie mikrokążenia serca

Wykorzystując metody przyspieszonej akwizycji przeprowadzono pomiar bezwzględnej (tj. wyrażonej w ml/g/min) wartości perfuzji lewej komory u myszy (P1) i szczurów (P2). Ocena perfuzji lewej komory jest kluczowym, klinicznie istotnym parametrem stanu mikrokążenia serca którego translacja do pomiarów u zwierząt laboratoryjnych pozwoli na badania podstawowe jak i aplikacyjne nowych terapii chorób układu sercowo-naczyniowego. **W celu bardziej kompleksowej oceny stanu mikrokążenia zaproponowano wykorzystanie modelowania farmakokinetycznego, opartego o model dwukompartментowy (P1) który pozwolił na oszacowanie stałej przepuszczalności mikrokążenia wieńcowego. Ilościowy opis zmian w przepuszczalności naczyń wieńcowych może być potencjalnie czulszym markerem wczesnych zmian w czynności naczyń wieńcowych.** Oprócz bezwzględnego pomiaru perfuzji lewej komory, innym równie ważnym klinicznie parametrem mikrokążenia serca jest rezerwa perfuzji. W pracy P2 pokazano możliwość wykorzystania stymulacji gazowym CO₂ do indukcji hiperemii u szczurów. **Po raz pierwszy wykazano że hiperkapnia prowadzi to takiej samej wartości rezerwy perfuzji u szczurów jak standardowa stymulacja z dożylnym podaniem Regadenosonu.** To istotne odkrycie z punktu widzenia badań podstawowych mechanizmów regulujących rezerwę perfuzji. Wykorzystanie gazowego CO₂ do oceny rezerwy może być przeprowadzone kilkakrotnie u tego samego zwierzęcia z jednoczesnym zastosowaniem mediatorów regulujących przepływ wieńcowy. Kolejnym niezwykle ważnym elementem oceny stanu mikrokążenia serca jest badanie zależnej od NO czynności naczyń wieńcowych. **Jak pokazano w pracy P3, rozprężanie eNOS jest objawem dysfunkcji śródbłonna naczyń wieńcowych które pojawia się na bardzo wczesnym etapie i w modelu diety wysokotłuszczowej występuje już po 7 dniach diety, przed zmianami czynnościowym serca lub perfuzji lewej komory.** Te obserwacje podkreślają względną podatność mikrokążenia wieńcowego i jego kluczowe znaczenie jako celu terapeutycznego i diagnostycznego, co może być dalej wykorzystane do badań nad mechanizmami rozwoju niewydolności serca.

Biorąc pod uwagę coraz liczniejsze doniesiona wskazujące na istotną rolę mikrokążenia wieńcowego w patofizjologii chorób serca zaproponowane metody mogą mieć znaczący wkład w rozwój dyscypliny obrazowania *in-vivo* w modelach zwierzęcych. Tematyka obrazowania mikrokążenia serca jest obecnie dalej rozwijana w JCET włączając w nią obrazowanie Doppler

prędkości przepływu krwi w tętnicach wieńcowych co ma posłużyć do lepszego rozumienia roli upośledzenia mikrokrążenia serca w rozwoju niewydolności serca z zachowaną frakcją wyrzutową w mysim modelu tej choroby w ramach finansowania otrzymanego z Narodowego Centrum Nauki (projekt Sonata-16 którego habilitant jest kierownikiem).

Zaproponowane metody obrazowania wraz z obecnie rozwijanymi

- **Obrazowanie mikrokrążenia płuc**

Pomimo wszechstronnego zastosowania obrazowania magnetyczno-rezonansowego w badaniach zwierząt laboratoryjnych, wykorzystanie MRI do obrazowania płuc jest stosunkowo mało powszechne. Wynika to obecności kieszeni powietrznych w pęcherzykach płucnych które uniemożliwiają obrazowanie tkanki płuc na standardowych obrazach MRI. W pracy **P4** wykorzystano sekwencję obrazowania ultra krótkiego czasu echa co pozwoliło na uzyskanie ilościowych map czasu relaksacji płuc myszy. Opierając się na udoskonalonej metodzie obrazowania, wykorzystano ją do oceny zmian w mikrokrążeniu płucnym w trakcie rozwoju endotoksemii. **Po raz pierwszy pokazano zmiany w zależnej od NO czynności mikrokrążenia płuc, upośledzenie przepuszczalności mikrokrążenia płuc jak i wzrost stresu oksydacyjnego w trakcie rozwoju endotoksemii, wykorzystując nieinwazyjne metody obrazowania *in-vivo*. Jak pokazano w pracy P4, obserwowane zmiany w ilościowych parametrach uzyskanych w obrazowaniu MRI wyprzedzały zmiany wykryte z obrazowaniem przy użyciu mikro-tomografii komputerowej, która to uznawana jest za standardową metodę obrazowania płuc.** Biorąc pod uwagę wzrost zainteresowania w obrazowaniu *in-vivo* funkcji płuc związany z pandemią COVID-19, zaproponowane przez mnie podejście do obrazowania mikrokrążenia płucnego może przyczynić się do lepszego zrozumienia mechanizmów patogenezy i opracowania nowych schematów terapeutycznych w modelach zwierzęcych, które naśladują fenotyp ARDS występujący u ludzi.

5. Informacja o wykazywaniu się istotną aktywnością naukową albo artystyczną realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej.

- **Prace badawcze związane z uzyskaniem stopnia doktora**

Spektroskopia i obrazowanie z wykorzystaniem magnetycznego rezonansu jądrowego jest niezwykle wszechstronną metodą badawczą. NMR pozwala na obserwacje struktury i dynamiki w dużym zakresie złożoności od małych związków chemicznych po duże makromolekuły białek, w fazie ciekłej jak i stałej. Praktyczne zastosowanie NMR jest właściwie nieorganiczne i powszechnie wykorzystywane w chemii, biochemii, fizyce, badaniach materiałowych, a także w badaniach biomedycznych i obrazowaniu ciała żywych organizmów. Z definicji, w metodach spektroskopowych intensywność rejestrowanego sygnału jest proporcjonalna do różnicy obsadzenia poziomów energetycznych, z którymi związane jest

powstawanie danego sygnału co definiuje się jako polaryzacja. W spektroskopii NMR (oraz tomografii MR) obsadzenie poziomów energetycznych, opisane jest przez rozkład Boltzmann. Dla typowych warunków eksperymentalnych które używane są do badań biomedycznych tj. temperatura pokojowa, indukcja statycznego pola magnetycznego B_0 rzędu kilku tesli, wartość polaryzacji dla jąder wodoru jest rzędu 10^{-5} – 10^{-6} . W typowym eksperymencie NMR przeprowadzonym w warunkach równowagi termicznej, spiny jądrowe są tylko nieznacznie spolaryzowane ze względu na energię cieplną w danej temperaturze. Prowadzi to do stosunkowo słabych sygnałów NMR, co może stanowić ograniczenie w różnych zastosowaniach. Tak mała wartość polaryzacji jądrowej, nie zawsze bezpośrednio limituje zastosowanie NMR, szczególnie w przypadku jąder ^1H , które charakteryzują się bardzo dużym stężeniem w układach biologicznych co kompensuje małą wartość polaryzacji. Jednakże w przypadku innych jąder pierwiastków, takich jak ^{13}C czy ^{15}N , kombinacja bardzo małej polaryzacji jądrowej oraz małego stężenia w układach biologicznych (co ważne tylko 1.1% całego węgla to ^{13}C i jedynie 0.36% całego azotu to ^{15}N) jest często czynnikiem limitującym ich użycie w spektroskopii i obrazowaniu MR *in vivo*.

Hiperpolaryzacja w magnetycznym rezonansie jądrowym odnosi się do stanu, w którym polaryzacja spinów jądrowe niektórych atomów jest zwiększana poza wartość, która wynikała by z rozkładu Boltzmann w danej temperaturze i polu magnetycznym. Metody hiperpolaryzacji mają na celu manipulowanie stanami spinów jądrowych w celu osiągnięcia znacznie wyższego poziomu polaryzacji niż to, co można osiągnąć w warunkach równowagi termicznej. Zwiększona polaryzacja skutkuje silniejszym sygnałem MR, oferując zwiększoną czułość i umożliwiając wykrywanie substancji w niższych stężeniach. Istnieje kilka sposobów przez które można zwiększyć polaryzację jądrową, w tym polaryzacja indukowana parawodem (ang. Parahydrogen-Induced Polarisation, PHIP), pompowanie optyczne gazów, czy dynamiczna polaryzacja jądrowa (ang. Dynamic Nuclear Polarisation, DNP). DNP jest techniką, w której polaryzacja ze spinów elektronowych jest przenoszona na spiny jądrowe, wykorzystując w ten sposób moment magnetyczny spinów elektronowych wyższy o trzy rzędy wielkości od spinów jądrowych, wzmacniając w ten sposób siłę sygnału jąder docelowych. Proces ten zazwyczaj wykorzystuje substancje paramagnetyczne, często wolne rodniki lub stabilne związki paramagnetyczne. Środki paramagnetyczne mają niesparowane elektrony, tworząc silny moment magnetyczny, który można wykorzystać do polaryzacji pobliskich spinów jądrowych. W tym celu zamrożona próbka wzbogacona o paramagnetyczne rodniki naświetlana jest wiązką mikrofal o częstotliwości bliskiej częstotliwości Larmora dla spinów elektronowych.

DNP znalazła szerokie zastosowanie w badaniach materiałowych i chemii analitycznej ze względu na praktyczny brak ograniczeń w układach w fazie stałej. Co więcej, DNP odegrał kluczową rolę w rozwoju hiperpolaryzowanego MRI, poprzez rozwój metody z szybkim rozpuszczeniem próbki z fazy stałej do ciekłej (tzw „dissolution DNP”, o czym mowa w opisie dorobku po uzyskaniu stopnia

doktora). Pomimo wyteżonych badań licznych grup badawczych, otrzymywana doświadczalnie wartość polaryzacji w eksperymentach DNP nie przekracza kilka do kilkudziesięciu procent, co jest poniżej teoretycznej maksymalnej wartości (biorąc pod uwagę że większość eksperymentów DNP prowadzona jest w temperaturze ~ 1.5 K, wartość polaryzacji spinów elektronowych wynosi 100% i teoretycznie mogła być zostać przeniesiona na spiny jądrowe). W tym celu skonstruowano szereg modeli teoretycznych które opisywałyby szczegóły fizyczne zjawiska DNP i pozwoliły na zoptymalizowanie warunków eksperymentalnych, co skutkowało by większą wartością polaryzacji jądrowej. W szczególności podejście kwantowo-mechaniczne, które opiera się na numerycznym rozwiązaniu równania Liouville'a-von Neumanna, okazało się bardzo przydatne. Strategia ta jest jednak ograniczona tylko do małych układów spinowych ze względu na wykładniczego skalowania rozmiaru operatora gęstości z liczbą spinów. W celu uwzględnienia relaksacji w symulacjach dynamiki spinowej, rozmiar superoperatora Liouville'a skaluje się jako 4^N , gdzie N jest liczbą spinów. W konsekwencji, obliczenia dynamiki spinowej dla układów spinowych większych niż $N > 12$ stają się niewykonalne. Dlatego też głównym celem mojej rozprawy doktorskiej było opracowanie nowych i udoskonalenie istniejących metod, które pozwalają na redukcję problemu kwantowo-mechanicznego do znacznie mniejszej podprzestrzeni przestrzeni Liouville'a, zapewniając jednocześnie dokładne przybliżenie obliczeń dynamiki spinowej. Opracowane narzędzia numeryczne zostały użyte do badań nad rolą relaksacji spinów jądrowych w procesie DNP, zarówno w próbkach statycznych jak i rotujących (pomiar z wirowaniem próbki pod kątem magicznym, MAS-NMR).

Podczas pracy nad rozprawą dokorską zgłębiłem fundamentalne zasady fizyki zjawiska NMR oraz nabyłem praktycznych umiejętności symulacji numerycznych różnych pomiarów z zastosowaniem NMR i MRI, które następnie rozwinąłem na kolejnych etapach mojej kariery naukowej.

Wyniki tych badań zostały opublikowane jako cztery oryginalne prace (**P5-P8**):

P5. A. KARABANOV, G. KWIATKOWSKI & W. KÖCKENBERGER (2012) Quantum Mechanical Simulation of Cross Effect DNP Using Krylov–Bogolyubov Averaging. *Appl. Mag. Res.*, 43: 43–58.

P6. G. KWIATKOWSKI, A. KARABANOV & W. KÖCKENBERGER (2014) The Role of the Interaction Frame in the Theoretical Description of Solid Effect Dynamic Nuclear Polarization. *Isr. J. Chem.*, 54: 184–195.

P7. A. KARABANOV, G. KWIATKOWSKI & W. KÖCKENBERGER (2014) Spin dynamic simulations of solid effect DNP: the role of the relaxation superoperator. *Mol. Phys.*, 112: 1838–1854.

P8. A. KARABANOV, G. KWIATKOWSKI, C. PEROTTO, D. WISNIEWSKI, J. MCMASTER, I. LESANOVSKY & W. KÖCKENBERGER (2016) Dynamic nuclear polarisation by thermal mixing: quantum theory and macroscopic simulations. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 18: 30093–30104.

▪ **Prace badawcze po uzyskaniu stopnia doktora w trakcie zatrudnienia na ETH Zurich**

Po zakończeniu doktoratu uzyskałem zatrudnienie jako PostDoc w Instytucie Inżynierii Biomedycznej, Politechniki Federalnej w Zurychu (ETH) w grupie Prof. Sebastiana Kozerke. W tym czasie grupa Prof. Kozerke intensywnie pracowała nad zastosowaniem metod hyperpolaryzacji do oceny metabolizmu serca. Prace te toczyły się w ścisłej współpracy z Prof. Matthiasem Ernstem z Laboratorium Chemii Fizycznej, w której częściowo odbywały się zadania związane z konstrukcją polaryzatora DNP i miały charakter dwutorowy. W zespole Prof. Matthiasa Ernsta toczyły się prace nad konstrukcją nowego polaryzatora, który operowałby w $B_0 = 7$ T. Był to istotny przeskok w wartości indukcji pola B_0 , ponieważ większość polaryzatorów DNP pracowała w $B_0 = 3.34$ T. Taki wybór podyktowany był dostępnością stosunkowo tanich i wydajnych mostków mikrofalowych pracujących z częstotliwością ≈ 94 GHz, co odpowiada paśmie „W” w zakresie mikrofal. Podwojenie indukcji pola B_0 do 7 T istotnie pomogło wydłużyć czas relaksacji spinów elektronowych co przełożyło się na o wiele wyższą maksymalną wartość polaryzacji [$1\text{-}^{13}\text{C}$] pirogronianu z $\approx 40\%$ w polu $B_0 = 3.34$ T do $\approx 56\%$ w polu $B_0 = 7$ T, zgodnie z predykcjami modeli teoretycznych. W trakcie tych prac do moich obowiązków należała pomoc przy wybranych pracach eksperymentalnych oraz dyskusja otrzymanych wyników z realizującym pomiary doktorantem (Fabian Jähnig). Efektem jest praca przeglądowa (**P9**) oraz dwie prace oryginalne (**P10**, **P11**).

P9. F. JÄHNIG, G. KWIATKOWSKI & M. ERNST (2016) Conceptual and instrumental progress in dissolution DNP. J. Mag. Res., 264: 22–29.

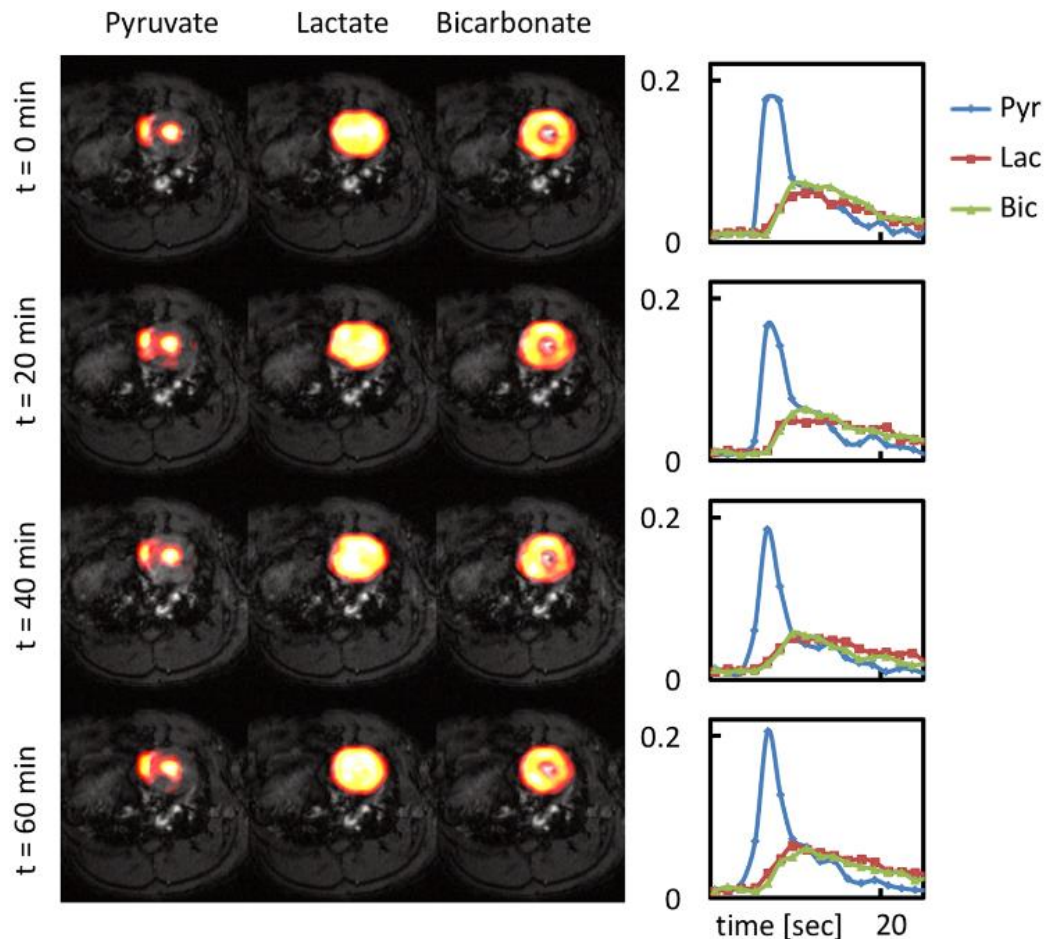
P10. F. JÄHNIG, G. KWIATKOWSKI, A. DÄPP, A. HUNKELER, B. H. MEIER, S. KOZERKE & M. ERNST (2017) Dissolution DNP using trityl radicals at 7 T field. Phys. Chem. Chem. Phys., 19: 19196–19204.

P11. F. JÄHNIG, A. HIMMLER, G. KWIATKOWSKI, A. DÄPP, A. HUNKELER, B. H. MEIER, S. KOZERKE & M. ERNST (2019) A Spin-Thermodynamic Approach to Characterize Spin Dynamics in TEMPO-Based Samples for Dissolution DNP at 7 T Field. J. Mag. Res., 301: 91–194.

Obrazowanie metaboliczne in vivo
hiperpolaryzowanych substratów znakowanych ^{13}C

Drugim torem mojej pracy była aplikacja metody tzw „dissolution DNP” do obrazowania i spektroskopii serca *in vivo* ^{13}C znakowanych substratów oraz obrazowanie z wykorzystaniem nano i mikrokryształów krzemu i węgla. Sama metoda DNP pozwala na otrzymanie dużej polaryzacji jądrowej w bardzo niskiej temperaturze przy użyciu promieniowania mikrofalowego. Przeniesienie polaryzacji wymaga od 30 minut do 3 godzin w zależności od różnych parametrów,

takich jak natężenie statycznego pola magnetycznego, użyte rodniki lub rodzaj zaangażowanych jąder. Aby móc wykorzystać efekt wzmocnienia sygnału NMR w temperaturach, które odpowiadają warunkom *in vivo*, próbka jest gwałtownie rozmrażana (czas < 5 s) przez strumień podgrzanej wody pod ciśnieniem 10 bar, a następnie przenoszona do systemu tomografu MR i podawana dożylnie zwierzęciu. Sumaryczne wzmocnienie sygnału NMR dla jąder ^{13}C mieści się typowo pomiędzy



Rycina 3. Przykład obrazowania *in vivo* w osi krótkiej serca szczura po podaniu $[1-^{13}\text{C}]$ pirogronianu. Mapy pirogronianu (Pyr), mleczanu (Lac) i wodorowęglanu (Bic), a także krzywe czasowe intensywności sygnału uzyskane w 0, 20, 40 i 60 minucie (pomiar został powtórzony 4 krotnie u tego samego zwierzęcia). Zreprodukowane na podstawie publikacji P12.

10 000–30 000, co pozwala na rejestrację przemian metabolicznych (jeśli polaryzowany substrat jest metabolicznie aktywny jak np. $[1-^{13}\text{C}]$ pirogronian) lub perfuzję tkanek (np. przy użyciu znakowanego ^{13}C mocznika). Czas obserwacji sygnału po wzmocnieniu jest limitowany czasem relaksacji T_1 jąder ^{13}C i mieści się on dla małych związków węgla w granicach 20–40 s w polu $B_0 = 9.4 \text{ T}$ (w takim polu odbywała się rejestracja widm *in vivo*). Sumarycznie zatem, cały proces rozmrażania, transportu i podania próbki oraz rejestracji widm nie powinien przekraczać ok. 3 min. Takie warunki pomiaru wymuszają użycie technik przyspieszonej akwizycji sygnału poprzez niepełne próbkowanie przestrzeni k . W trakcie realizacji tych prac do moich obowiązków należało przygotowanie i przeprowadzenie eksperymentów hyperpolaryzacji oraz pomoc innym uczestnikom

w pomiarach MR szczurów *in vivo*. Wyniki tych pomiarów zostały opisane w pięciu pracach oryginalnych (**P12–P16**).

P12. M. KRAJEWSKI, P. WESPI, J. BUSCH, L. WISSMANN, G. KWIATKOWSKI, J. STEINHAUSER, M. BATEL, M. ERNST & S. KOZERKE (2017) A multisample dissolution dynamic nuclear polarization system for serial injections in small animals. *Mag. Res. Med*, 77: 904–910.

P13. J. STEINHAUSER, P. WESPI, G. KWIATKOWSKI & S. KOZERKE (2018) Assessing the Influence of Isoflurane Anesthesia on Cardiac Metabolism Using Hyperpolarized [1-13C] Pyruvate. *NMR In Biomed.*, 31: 3856–3865.

P14. P. WESPI, J. STEINHAUSER, G. KWIATKOWSKI & S. KOZERKE (2018) High resolution hyperpolarized metabolic imaging of the rat heart using k-t PCA and k-t SPARSE. *NMR In Biomed.*, 31: 3876–3877.

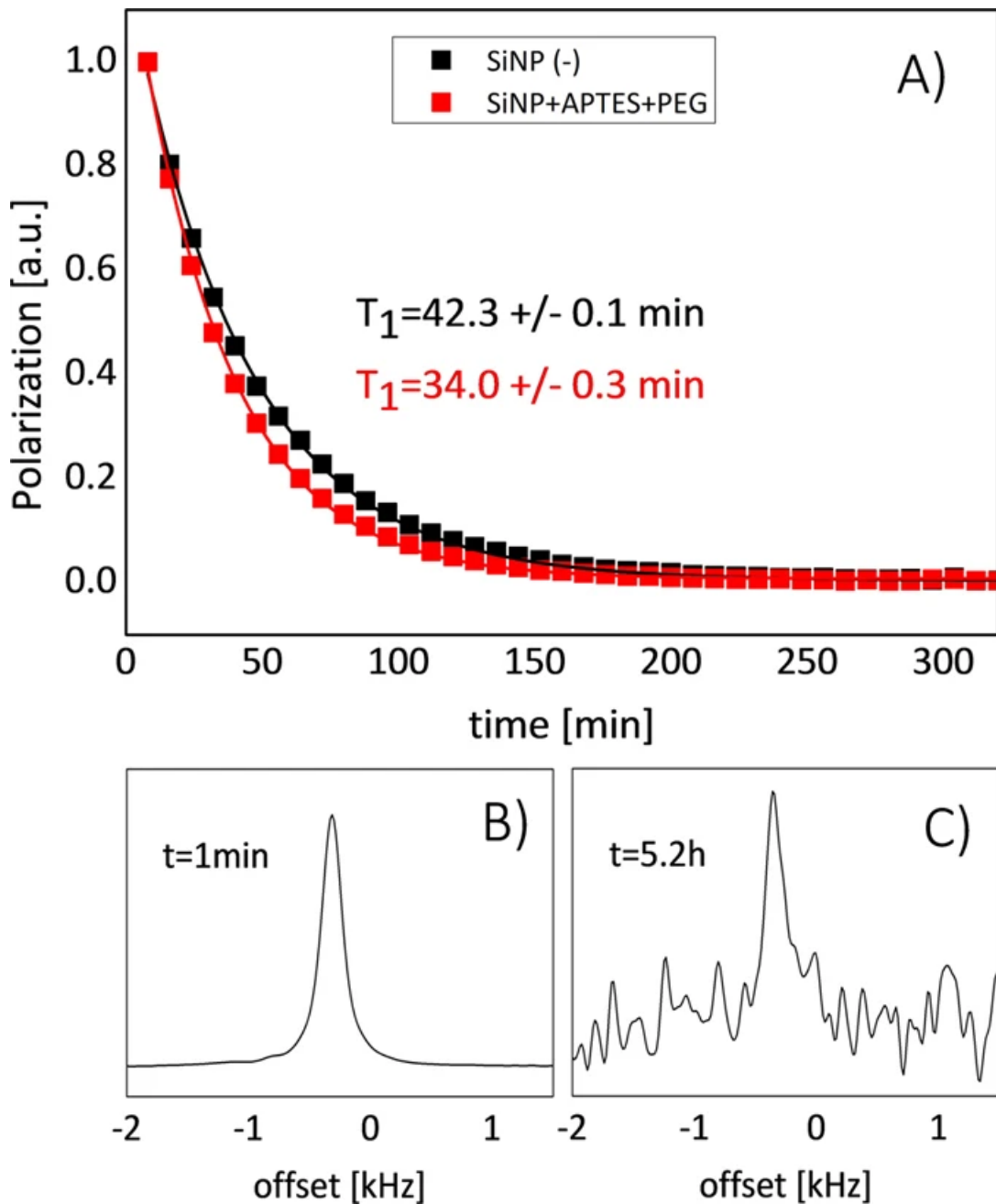
P15. P. WESPI, J. STEINHAUSER, G. KWIATKOWSKI & S. KOZERKE (2018) Overestimation of cardiac lactate production caused by liver metabolism of hyperpolarized [1-13C]pyruvate. *Mag. Res. Med*, 80: 1882–1890.

P16. J. STEINHAUSER, P. WESPI, G. KWIATKOWSKI & S. KOZERKE (2019) Production of Highly Polarized [1-13C]Acetate by Rapid Decarboxylation of [2-13C]Pyruvate – Application to Hyperpolarized Cardiac Spectroscopy and Imaging. *Mag. Res. Med*, 82: 1140–1149.

*Obrazowanie MR z wykorzystaniem hiperspolaryzowanych
mikro- i nanocząstek krzemu i węgla*

Zastosowanie mikro- i nanoobjektów w teranostyce to rozwijająca się dziedzina nauk biomedycznych. W szczególności krzem i jego pochodne zostały wykorzystane do stworzenia celowanych i specyficznych platform do możliwego dostarczania leków i obrazowania *in vivo*. Stosunkowo niska toksyczność i prosta chemia powierzchni sugerują, że krzem może być stosowany jako środek kontrastowy w różnych metodach obrazowania, w tym fluorescencji lub metodach radioizotopowych (PET). Na potrzeby obrazowania metodą rezonansu magnetycznego (MRI) uzyskano środki kontrastowe na bazie krzemu poprzez włączenie jonów metali przejściowych do cząsteczki lub poprzez przyłączenie ich do jej powierzchni. Skutkuje to skróceniem czasu relaksacji spinowo-sieciowej (T_1) pobliskich protonów w tkankach, a tym samym wzmocnieniem sygnału w obrazowaniu ^1H ważonym T_1 . Bezpośrednie wykrywanie sygnałów krzemowych za pomocą MR nie jest jednak możliwe ze względu na wewnętrznie niską czułość jąder ^{29}Si , co prowadzi do niepraktycznie długich czasów akwizycji. Podejściem do przewyżnienia tego ograniczenia jest zastosowanie hyperpolaryzacji do nano i mikrocząstek silikonu. Co istotne, w wypadku cząstek krzemu naturalnie występujące na powierzchni defekty P1 na styku SiO_2/Si mogą być użyte jako

źródło niesparowanych elektronów. Nie ma zatem potrzeby mieszania nanomikrocząstek z egzogennymi rodnikami, jak ma to miejsce w przypadku standardowych eksperymentów dissolution DNP. Opublikowane wcześniej wyniki eksperymentów z mikrocząstkami ^{29}Si o wielkości mikrometra wykazały czas życia hiperpolaryzowanego sygnału rzędu dziesiątek minut, przekraczający czas życia jakiegokolwiek innej hiperpolaryzowanej sondy opartej na jądrach ^{13}C . Dlatego też, łącząc wzmocnienie polaryzacji ^{29}Si za pomocą DNP z właściwościami długiej relaksacji krystalicznego krzemu, można uzyskać nowy, pozytywny, wolny od tła kontrast MRI. Badania proof-of-concept wykazały, że mikrocząstki krzemu mogą być podawane drogą dożołądkową (I.G.), dootrzewnową (I.P.), lub dożylną (I.V.) bez utraty jakichkolwiek długotrwałych właściwości. Jednak opublikowane wcześniej badania były w stanie uwzględnić tylko duże cząstki o wielkości mikrometrów, które mają ograniczone zastosowanie biomedyczne ze względu na ich ograniczoną dystrybucję w tkankach. Wcześniejsze doniesienia wykorzystujące cząstki o wielkości nanometrów wykazały raczej słabą wydajność, wykazując krótki czas relaksacji T_1 lub niewielkie wzmocnienie DNP, które nie są wystarczające do zastosowań obrazowania *in vivo*^{26,27}. W swojej pracy skupiłem się na otrzymaniu nanometrowych cząstek krystalicznego silikonu. We wcześniejszych pracach używano mechanicznego mielenia do uzyskania mikrometrowych cząstek silikonu, co doprowadziło do powstania fazy amorficznej wewnątrz nich, która najprawdopodobniej słabo ulega hiperpolaryzacji. Poprzez zastosowanie metody wypalania gazowego Si światłem lasera możliwe było uzyskanie wysokiej czystości nanokryształów Si o średnicy 50 ± 12 nm. Było to pierwsze doniesienie w którym tak małe, nanometrowe cząstki silikonu mogły być efektywnie spolaryzowane (maksymalna polaryzacja spinów ^{29}Si wynosiła $\sim 12\%$) przy czasie relaksacji T_1 w temperaturze pokojowej $T_1 = 30\text{--}40$ min (w zależności czy nanocząstki zostały pokryte mPEG). Efektywnie, możliwe było uzyskanie obrazu hiperspolaryzowanego fantomu ^{29}Si po czasie $t = 4$ h od włożenia go do tomografu MR. Wyniki tych badań zostały opublikowane w pracy **P17**.



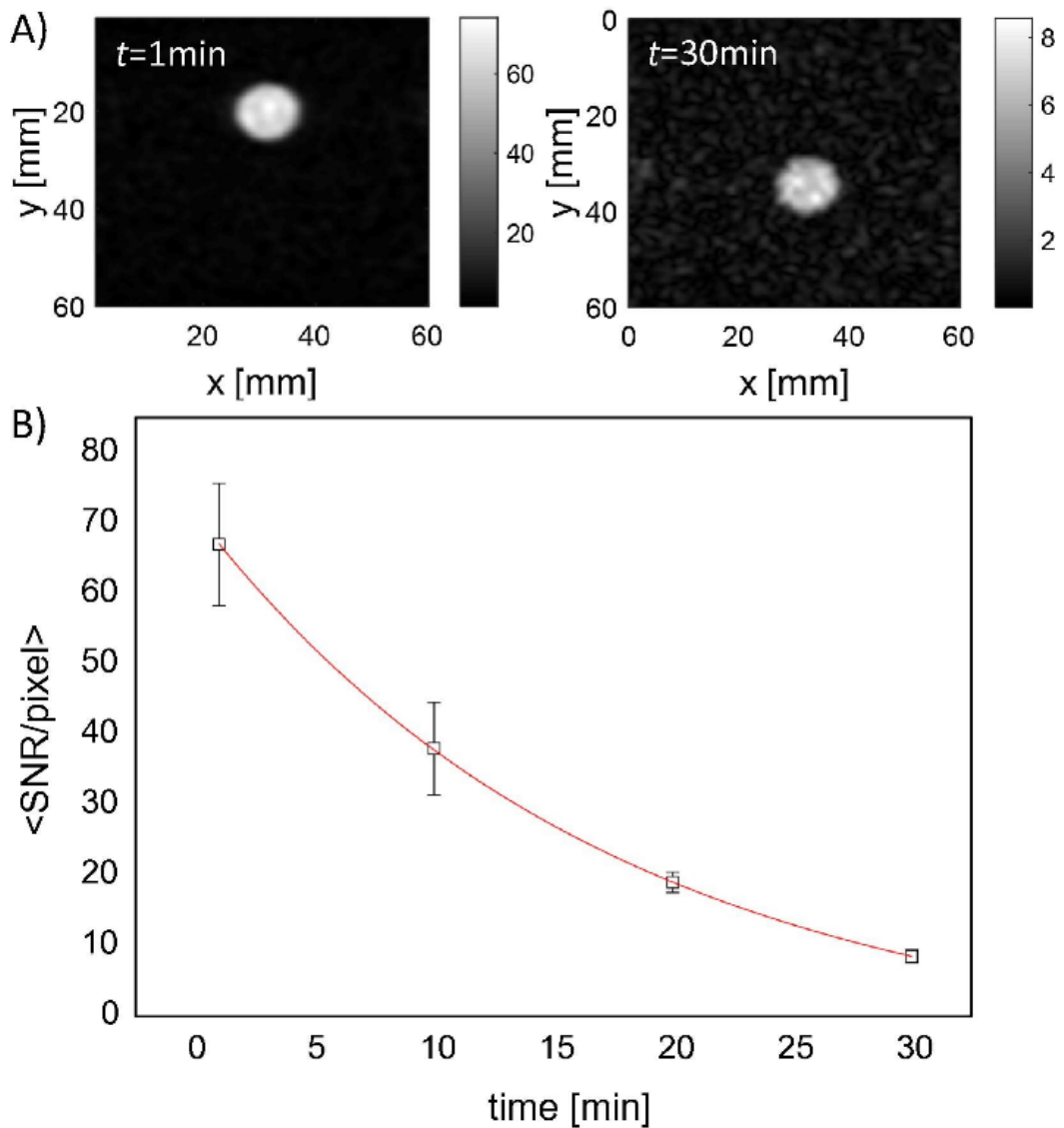
Rycina 4. (A) Porównanie relaksacji T_1 między czystymi (czarny) i funkcjonalizowanymi PEG (czerwony) nanocząstkami krzemu. Sygnał FID ^{29}Si uzyskany przy $t = 1 \text{ min}$ (B) i $t = 5,2 \text{ h}$ (C) w temperaturze pokojowej przy użyciu systemu obrazowania 9.4 T. Zreprodukowane na podstawie danych zawartych w publikacji P17.

W dalszych badaniach nad zastosowaniem hiperspolaryzowanego ^{29}Si skupiłem się na wyjaśnieniu różnych właściwości fizyko-chemicznych (takich jak gęstość defektów sieci, ilość fazy amorficznej, czas relaksacji spinów elektronowych centrów typu P1) dostępnych komercyjnie nano- i mikrocząstek krzemu na maksymalny poziom polaryzacji i czas relaksacji ^{29}Si . Celem tej pracy było systematyczne prześledzenie w jakiś sposób ww. czynniki wpływają na otrzymaną wartość polaryzacji ^{29}Si tak aby zdobyta w ten sposób wiedza mogła być

wykorzystana do syntezy nowych, optymalnych pod kątem hiperpolaryzacji nano- i mikrocząstek krzemu. Do tego celu wykorzystałem techniki spektroskopii rezonansu paramagnetycznego, dyfraktometrii XRD, magnetometrii SQUID i spektroskopii NMR w układzie wirującej próbki (MAS-NMR). Otrzymane wyniki wykazały, że własności relaksacyjne spinów jądrowych i elektronowych oraz gęstość defektów powierzchniowych korelują pozytywnie z maksymalną osiągalną polaryzacją jądrową ^{29}Si . Przede wszystkim optymalne warunki fizyczne i chemiczne, w tym stężenie defektów powierzchniowych dostosowane do wielkości cząstek, są niezbędne do osiągnięcia wysokiego poziomu wzmocnienia polaryzacji. Wśród badanych próbek mechaniczne mielenie było wystarczające do uzyskania dużych, mikrometrowych cząstek o pożądanych właściwościach, podczas gdy zastosowanie tej samej metody do wytworzenia małych cząstek o wielkości nanometrów skutkowało zwiększonym stężeniem defektów, a tym samym niskim wzmocnieniem polaryzacji. Stwierdzono, że wypalanie laserem jest najbardziej odpowiednią metodą produkcji w celu uzyskania cząstek krzemu o wielkości nanometrów, które wykazują dużą maksymalną osiągalną polaryzację jądrową ^{29}Si i długi czas relaksacji jądrowej T_1 w temperaturze pokojowej. Wyniki tych prac zostały opublikowane w pracy **P18**.

Analogicznie do badań nad mikro- i nanocząstkami silikonu istnieje wiele doniesień nad temat hiperpolaryzacji nanostrukturalnych diamentów, w tym tak zwaną polaryzację bezpośrednią, w której endogeniczne defekty w sieci krystalicznej są wykorzystywane przy użyciu promieniowania mikrofalowego lub optycznego pompowania centrów wakacji azotowych. Ta ostatnia metoda zapewnia wydajną polaryzację w temperaturze pokojowej i niskim polu magnetycznym. Chociaż na przestrzeni lat odnotowano znaczny rozwój, poziomy polaryzacji są stosunkowo niskie przy tym podejściu i wynoszą 5,2% w temperaturze 5 K i zaledwie 0,1–0,5% w temperaturze pokojowej. W związku z tym, praktyczne zastosowania tej metody *in vivo* nie zostały jeszcze przetestowane. Niezależnie od tego, optycznie spolaryzowane centra NV zostały wykorzystane jako czujniki magnetyczne w kilku badaniach do obrazowania mikroobiektów z rozdzielczością nawet 10 nm, co pokazuje, że diamenty mają potencjał co najmniej w kilku zastosowaniach NMR. Równoległe do hiperpolaryzacji generowanej przez optyczne pompowanie centrów NV, badano bezpośrednie DNP mikro- i nanokryształów diamentu przy użyciu promieniowania mikrofalowego w temperaturach kriogenicznych. Zalety bezpośredniego DNP w porównaniu z optycznym pompowaniem centrów NV obejmują wszechstronność w odniesieniu do siły pola polaryzacji i łatwość zastosowania do próbek proszkowych. Wstępne wyniki Dutta et al.²⁸ oraz Bretschneider et al.²⁹ przedstawiły możliwość zastosowania szybkiego rozpuszczania w celu wytworzenia zawiesiny nano/mikrodiamentów. Niedawno zbadano także pomysł wykorzystania endogenicznych defektów paramagnetycznych na powierzchniach diamentów do polaryzacji otaczającego rozpuszczalnika³⁰. Do charakterystyki materiału wykorzystano pomiar z wykorzystaniem wirowania próbki pod kątem magicznym (DNP MAS NMR) do

badania aromatycznych lub alifatycznych grup fosfonianowych przyczepionych na powierzchni nanodiamentów. W tej pracy endogenne defekty nie mogły zapewnić wystarczającego wzmocnienia dla sfunkcjonalizowanych kryształów diamentów i dlatego zostały spolaryzowane poprzez domieszkowanie stabilnym rodnikiem nitroksylowym. Jeśli chodzi o zastosowanie MRI, oprócz wspomnianego wcześniej wykorzystania centrów NV jako czujników magnetycznych do obrazowania nanometrycznego, istnieje badania wykorzystujące diamenty do obrazowania przeprowadzone przez Waddingtona et al.³¹. W ich pracy protony wody w wodnym roztworze nanodiamentu, a nie same diamenty, zostały spolaryzowane przy $B_0 = 6,5$ mT, osiągając maksymalne wzmocnienie około czterech co zostało użyte do rejestracji obrazów ^1H MRI. W moich badaniach skupiłem się na ocenie efektu rozmiaru kryształy diamentu (w przedziale od 125 nm do 10 μm) oraz porównaniu próbek mono- i polikrystalicznych syntetycznych kryształów diamentu z próbką naturalnego kryształu diamentu o średniej wielkości 2 μm w bezpośrednie polaryzacji DNP próbek proszkowych. Zbadany został również efekt funkcjonalizacji powierzchni kryształu diamentu w glikolu polietylenowym w celu zwiększenia jego stabilności w roztworach wodnych. Sprawdzone zostały optymalne warunki pomiaru oraz wpływ temperatury, mocy promieniowania mikrofalowego oraz indukcji pola B_0 na absolutną wartość polaryzacji ^{13}C . Dodatkowo zmierzona została relaksacja jądrowa spinów ^{13}C (warto tu zaznaczyć że wszystkie próbki diamentów nie były domieszkowane ^{13}C). Próbka o optymalnych warunkach do badań *in vivo* została następnie obrazowana w formie proszkowej oraz po zawieszeniu w 0.5 ml wody, w sposób analogiczny jak w przypadku eksperymentów z ^{29}Si . Były to pierwsze tego typu badania w których uzyskania obrazu ^{13}C po bezpośredniej polaryzacji bez użycia dodatkowych rodników. Moje wyniki wskazały na dużą osiągalną polaryzację i długie czasy relaksacji w temperaturze pokojowej, które są obiecującymi cechami do zastosowania hiperpolaryzowanych diamentów w obrazowaniu biomedycznym. Jednak duża utrata polaryzacji podczas przenoszenia próbki ogranicza ostateczne wzmocnienie sygnału zarejestrowane w systemie obrazowania. Z mojego doświadczenia wynika, że gdy próbka została wyjęta z polaryzatora, zostało utracone do 90% sygnału, pomimo zastosowania pojemnika wyposażonego w



Rycina 5. (A) Obraz fantomu składającego się z 180 mg sproszkowanych mikrodiamentów o wielkości $2\ \mu\text{m}$ w czasie $t = 1\ \text{min}$ i $t = 30\ \text{min}$ po przeniesieniu do systemu obrazowania. Obrazy zostały wyrażone w jednostkach stosunku sygnału do szumu (SNR). (B) Zanik średniej intensywności sygnału w czasie. **Zaadaptowane na podstawie danych umieszczonych w pracy P19**

magnes stały w, którym próbka pozostawała na czas transportu pomiędzy polaryzatorem a tomografem MR. Wy tłumaczeniem tak dużych strat jest szybka relaksacja spinów ^{13}C w niskim polu magnetycznym po usunięciu z magnesu polaryzującego. Jednakże pomimo dużej utraty polaryzacji po przeniesieniu próbki, zarejestrowane wzmocnienie nadal pozwoliło na przeprowadzenie badania proof-of-concept możliwości obrazowania hiperpolaryzowanych mikrodiamentów. Wyniki tych prac zostały opublikowane w pracy **P19**.

P17. G. KWIATKOWSKI, F. JÄHNIG, S. STEINHAUSER, P. WESPI, M. ERNST & S. KOZERKE (2017) Nanometer size silicon particles for hyperpolarized MRI. *Sci. Rep.*, 7: 7946–7952.

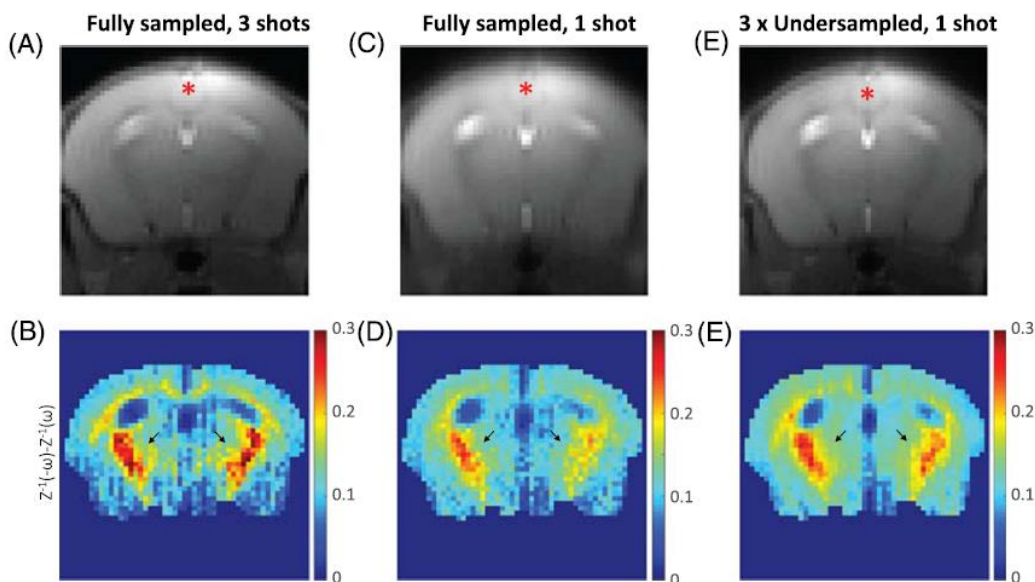
P18. G. KWIATKOWSKI, Y. POLYHACH, F. JÄHNIG, T. SHIROKA, F. H. L. STARSICH, M. ERNST & S. KOZERKE (2018) Exploiting Endogenous Surface Defects for Dynamic Nuclear Polarization of Silicon Micro- and Nanoparticles. *J. Chem. Phys. C*, 122: 25668–25680.

P19. G. KWIATKOWSKI, F. JÄHNIG, S. STEINHAUSER, P. WESPI, M. ERNST & S. KOZERKE (2018) Direct hyperpolarization of micro- and nanodiamonds for bioimaging applications – considerations on particle size, functionalization and polarization loss. *J. Mag. Res.*, 286: 42–51.

Zastosowanie metod przyspieszone akwizycji do obrazowania CEST MRI

Przeniesienie nasycenia wymiany chemicznej (ang. Chemical Exchange Saturation Transfer, CEST) to technika MRI, która wykorzystuje wymianę protonów między cząsteczkami o różnych środowiskach chemicznych³². Poprzez selektywne nasycenie magnetyzacji wymiennych protonów w związku docelowym, nasycenie (obniżona wartość magnetyzacji) jest przenoszone na pobliskie protony wody poprzez wymianę chemiczną, co prowadzi do zmniejszenia intensywności sygnału wody. Proces ten pozwala na pośrednie wykrywanie określonych związków lub cząsteczek z wymiennymi protonami (zawierających grupy chemiczne takie jak -OH lub -NH₂), zarówno endogennych metabolitów, jak i egzogennych środków kontrastowych. CEST MRI generuje widmo CEST (nazywane po angielsku „Z spectrum”), które przedstawia intensywność sygnału wody w funkcji częstotliwości nasycenia (zazwyczaj w referencji do wartości rezonansowej wody), umożliwiając identyfikację różnych związków molekularnych. Zastosowania obrazowania CEST obejmują obrazowanie molekularne, wykrywanie endogennych metabolitów, monitorowanie zmian pH i ocenę zmian tych parametrów w trakcie procesów patologicznych. Jednym z wyzwań w obrazowaniu CEST jest nakładanie się widm związków (związane z małymi różnicami przesunięć chemicznych), co skutkuje potrzebą rejestracji dużej liczby obrazów widm Z (zazwyczaj wykorzystuje się od 30 do 50 obrazów w celu rejestracji widm CEST). Tak duża liczba obrazów może skutkować niepraktycznie długimi czasami akwizycji danych, szczególnie w warunkach klinicznych gdzie często wykorzystuje się obrazowanie 3D całej organów (np. mózgu). Celem mojej pracy było więc porównanie wydajności rekonstrukcji trzech różnych podejść: *k-Z* SPARSE, *k-Z* analizy głównych składowych (PCA) i *k-Z* SLR w celu przyspieszenia akwizycji widm CEST. Postawiono hipotezę, że poprzez wykorzystanie rzadkości wzdłuż domeny Z (domena przesunięcia chemicznego) można uzyskać dalszy wzrost maksymalnego osiągalnego współczynnika przyspieszenia akwizycji. Opierając się na wcześniejszych doniesieniach, w których podobne podejście zastosowano w celu przyspieszenia akwizycji hiperpolaryzowanego obrazowania metabolicznego czy perfuzji pierwszego przejścia ze wzmocnieniem kontrastowym, wykorzystano rekonstrukcję niedoprobkowanej przestrzeni *k* wzdłuż domeny Z z zastosowaniem przestrzeni Fouriera (*k-Z* SPARE, *k-Z* PCA) lub przy użyciu kombinacji czasowej

aproxymacji macierzy niskiego rzędu i całkowitej wariancji (k -Z SLR). Różne podejścia do rekonstrukcji zostały przetestowane przy użyciu zarówno fantomu, jak i obrazowania *in vivo* uzyskanego w mózgu myszy przy 9.4 T. Wyniki tych prac zostały opublikowane w artykule **P20**.



Rycina 6. Przykład zastosowania rekonstrukcji CEST MRI przy użyciu k -Z PCA. Przykładowe obrazy anatomiczne (A, C, E) oraz otrzymane mapy CEST mózgowia myszy (B,D,E). (A,B) akwizycja z pełnym próbkowaniem, podzielona na 3 segmenty, całkowity czas pomiaru: 18 min. (C,D) akwizycja z pełnym próbkowaniem bez segmentacji, całkowity czas pomiaru: 6 min. (E,F) rekonstrukcja przyspieszonej akwizycji z niepełnym próbkowaniem (czynnik przyspieszenia $R = 3$) z wykorzystaniem k -Z PCA, całkowity czas pomiaru: 6min. Strzałki na mapie (F) pokazują obszar mapy CEST który został częściowo rozmyty na mapie (D). Na podstawie danych zawartych w publikacji **P20**.

P20. G. KWIATKOWSKI & S. KOZERKE (2020) Accelerating CEST MRI in the mouse brain at 9.4 T by exploiting sparsity in the Z-spectrum domain. *NMR In Biomed.*, 33: e4630.

6. Informacja o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzujących naukę lub sztukę.

Osiągnięcia dydaktyczne:

- Ćwiczenia i warsztaty: kursy dla studentów fizyki na Uniwersytecie w Nottingham

“First Year Physics Lab” – zajęcia miały charakter laboratoriów, studenci wykonywali pomiar i analizy danych z zakresu podstaw fizyki. Do moich obowiązków należało przygotowanie i sprawdzenie poprawności stanowiska do pracy dla studentów oraz omówienie praktyczne i teoretyczne pomiarów, które studenci mieli przeprowadzić, oraz sprawdzenie i ocena przygotowanych przez studentów sprawozdań.

“First Year Physics Course: Mechanics & Thermodynamics” – zajęcia miały charakter ćwiczeń rachunkowych na podstawie przygotowanego arkusza zadań.

Do moich obowiązków należało sprawdzenie i ocena przygotowanych przez studentów rozwiązań.

- Opiekun naukowy pracy magisterskiej w roku akademicki 2022/2023 Pani Aleksandry Kaszlikowskiej pt. „Obrazowanie płuc metodą magnetycznego rezonansu jądrowego w mysim modelu endotoksemii”. Promotorem pracy był dr Tadeusz Pałasz z Wydziału Fizyki, Astronomii i Informatyki Stosowanej.
- Opiekun naukowy pracy magisterskiej w roku akademickim 2021/2022 lic. Jowity Obrzud pt. „Obrazowanie metodą rezonansu magnetycznego w badaniach funkcji serca w mysim modelu niewydolności serca”. Promotorami pracy byli dr Tadeusz Pałasz z Wydziału Fizyki, Astronomii i Informatyki Stosowanej oraz Prof. Stefan Chłopicki z Jagiellońskiego Centrum Rozwoju Leków. Praca została wykonana w ramach mojego grantu NCN Sonata 16 (z powodów formalnych promotorem pracy magisterskiej dla studentów realizujących prace poza wydziałem macierzystym może być tylko pracownik ze stopniem doktora habilitowanego. Pani Jowita Obrzud była studentką biofizyki, specjalność fizyka medyczna na Wydziale Fizyki, Astronomii i Informatyki Stosowanej).

Osiągnięcia organizatorskie:

- Recenzje w indeskowanych czasopismach naukowych:
 - NMR in Biomedicine (1 artykuł)
 - Quantitative Imaging in Medicine and Surgery (1 artykuł)
- Recenzje abstraktów w międzynarodowych konferencjach poświęconych tematyce obrazowania MR:
 - International Society of Magnetic Resonance in Medicine, 2018, 54 abstrakty w kategorii “Molecular imaging”
 - European Society For Magnetic Resonance in Medicine and Biology 2019, 6 abstraktów
 - International Society of Magnetic Resonance in Medicine, 2020, 36 abstraktów w kategorii “Preclinical/Animal Studies”
 - International Society of Magnetic Resonance in Medicine, 2022, 42 abstrakty
 - European Molecular Imaging Meeting (EMIM) 2023, 11 abstraktów
 - European Molecular Imaging Meeting (EMIM) 2024, 18 abstraktów
- 2021/2022 – członek Międzywydziałowej Komisji Odwoławczej UJ ds. okresowej ocen nauczycieli akademickich Uniwersytetu Jagiellońskiego

Osiągnięcia popularyzatorskie

- Wykład pt. „Obrazowanie MRI układu sercowo-naczyniowego w badaniach przed-klinicznych u małych zwierząt” na zaproszenie Kierownika Katedry Fizyki Medycznej i Biofizyki, Wydziału Fizyki i Informatyki Stosowanej Akademii Górniczo-Hutniczej w Krakowie dla studentów i pracowników. Wykład odbył się 21.06.2022.
- Wykład pt. “Functional *in vivo* imaging of coronary and pulmonary microcirculation” w ramach inicjatywy “Paths to frontier research: what is just Starting at the Jagiellonian University?” na zaproszenie organizatorów pod kierownictwem Prof. ALICJI JÓZKOWICZ z Wydziału Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii UJ. Adresatami wydarzenia byli studenci nauk przyrodniczych, doktoranci i naukowcy zainteresowani nowymi narzędziami i modelami badawczymi opracowywanymi na UJ, w tym koledzy z uniwersytetów Una Europa i współpracujących uniwersytetów ukraińskich. Wydarzenie odbyło się w dniach 26–27.06.2023.

7. Oprócz kwestii wymienionych w pkt. 1-6, wnioskodawca może podać inne informacje, ważne z jego punktu widzenia, dotyczące jego kariery zawodowej.

- **Prace badawcze po uzyskanie stopnia doktora w trakcie zatrudnienia w Jagiellońskim Centrum Rozwoju Leków (JCET)**

Wykorzystanie obrazowania MR do oceny funkcji serca w mysich modelach chorób serca

W trakcie zatrudnienia w Jagiellońskim Centrum Rozwoju Leków (JCET) pracowałem nad rozwinięciem metod oceny mikrokrażenia serca i płuc. Równoległe z tymi badaniami byłem zaangażowany w prace z innymi członkami zespołu JCET, jak również partnerami zewnętrznymi. Do moich obowiązków należało zaplanowanie, przeprowadzenie i zanalizowanie danych obrazowych tomografii MR funkcji serca w różnych mysich modelach chorób sercowo-naczyniowych. Wyniki tych prac zostały opublikowane w 7 artykułach oryginalnych (**P21–P27**):

P21. B. PRONIEWSKI, A. BAR, A. KIERONSKA-RUDEK, J. SURAJ-PRAŻMOWSKA, E. BUCZEK, K. CZAMARA, Z. MAJKA, I. CZYZYNSKA-CICHON, G. KWIATKOWSKI, K. MATYJASZCZYK-GWARDA & S. CHLOPICKI (2021) Systemic Administration of Insulin Receptor Antagonist Results in Endothelial and Perivascular Adipose Tissue Dysfunction in Mice. *Cells*, 10: 1448–1465.

P22. Z. C. COSGUN, M. STERNAK, B. FELS, A. BAR, G. KWIATKOWSKI, M. Z. PACIA, L. HERRNBÖCK, M. LINDEMANN, J. STEGBAUER, S. HÖGES, S. CHLOPICKI & K. KUSCHE-VIHRIG (2022) Rapid shear stress-dependent ENaC membrane

insertion is mediated by the endothelial glycocalyx and the mineralocorticoid receptor. *Cell. Mol. Life Sci.* 79:235.

P23. M. SMEDA, A. JASZTAL, A. BAR, M. STERNAK, G. KWIATKOWSKI, J. SURAJ-PRAŻMOWSKA, B. PRONIEWSKI, A. KIEROŃSKA-RUDEK, K. WOJNAR-LASOŃ, KL. SKRZYPEK, M. MAJKA, K. CHRABĄSZCZ, K. MAŁEK & S. CHŁOPICKI (2022) Endothelial-mesenchymal transition induced by metastatic 4T1 breast cancer cells in pulmonary endothelium in aged mice. *Front. Mol. Biosci.* 9:1050112.

P24. P. BERKOWICZ, J. TOTOŃ-ŻURAŃSKA, G. KWIATKOWSKI, A. JASZTAL, T. CSÍPÓ, K. KUS, U. TYRANKIEWICZ, A. ORZYŁOWSKA, P. WOŁKOW, A. TÓTH & S. CHŁOPICKI (2023) Accelerated ageing and coronary microvascular dysfunction in chronic heart failure in Tgαq* 44 mice. *GeroScience* 1(24) 1:30

P25. F. ROLSKI, K. TKACZ, K. WĘGLARCZYK, G. KWIATKOWSKI, P. PELCZAR, A. JAŻWA-KUSIOR, A. BAR, G. M KUSTER, S. CHŁOPICKI, M. SIEDLAR, G. KANIA & P. BŁYSZCZUK (2023) TNF- protects from exacerbated myocarditis and cardiac death by suppressing expansion of activated heart-reactive CD4 T cells. *Cardvascular Research* 1:12,

P26. J. A. ZOLADZ, M. GRANDYS, M. SMEDA, A. KIJ, G. KWIATKOWSKI, J. KARASINSKI, U. HENDGEN-COTTA, S. CHŁOPICKI & J. MAJERCZAK (2024) Myoglobin deficiency impairs maximal oxygen uptake and exercise performance - a lesson from the Mb-/- mice. *The Journal of Physiology*, 602.5 (2024) pp 855–873

P27. K. WOJNAR-LASON, U. TYRANKIEWICZ, A. KIJ, A. KURPINSKA, P. KACZARA, G. KWIATKOWSKI, N. WILKOSZ, M. GIERGIEL, M. STOJAK, M. GROSICKI, T. MOHAISSEN, A. JASZTAL, Z. KURYŁOWICZ, M. SZYMONSKI, I. CZYZYŃSKA-CICHON & S. CHŁOPICKI (2024) Chronic heart failure induces early defenestration of Liver Sinusoidal Endothelial Cells (LSECs) in mice. *Acta Physiologica*, 00:e14114

Zastosowanie obrazowania fal tętna metodą Doppler do oceny prędkości przepływu krwi w tętnicy wieńcowej i rezerwy wieńcowej

Równolegle do prac związanych z obrazowaniem MR układu sercowo-naczyniowego, zaangażowałem się w prace związane z zastosowaniem Dopplerowskiego obrazowania fal tętna od oceny rezerwy wieńcowej u myszy. Metody obrazowania ultrasonograficznego są powszechnie stosowane w medycynie. Na wyposażeniu JCET znajduje się system do oceny fal tętna firmy Indus Instruments. Jest to uproszczona wersja aparatu ultrasonograficznego wyposażona w jeden transduktor (w normalnym aparacie USG sonda wyposażona jest w serie transduktorów). W takiej konfiguracji nie jest możliwe stworzenie obrazów anatomicznych struktur wewnątrz ciała, natomiast możliwe jest obrazowanie fal tętna (prędkości przepływu krwi w naczyniu w funkcji czasu). Do potwierdzenia, że sonda znajduje się w prawidłowej pozycji

względem naczynia, obrazy fal tętna porównywane są do jednocześnie rejestrowanego sygnału EKG. Obrazowanie Dopplera może być wykorzystane do oceny prędkości przepływu krwi w lewej wstępującej tętnicy wieńcowej (ang. left ascending coronary artery, LAD), w stanie spoczynku jak i po wazodylatacji wlewem adenozyliny lub acetylocholiny. Stosunek prędkości przepływu krwi po wazodylatacji do wartości w spoczynku jest użyty do oceny rezerwy wieńcowej. W tym wypadku metoda obrazowania Dopplera daje lepsze wyniki, jest prostsza i bardziej powtarzalna niż obrazowanie MR. Całość obrazowania może być przeprowadzona w mniej niż 10 min, co pozwala na eliminację niekorzystnych efektów długotrwałej anestezji (izofluran który jest najczęściej używany do anestezji myszy i szczurów ma właściwości silnie wazodylatacyjne). Obrazowanie MRI i Doppler stanowią podstawowe narzędzia badawcze wykorzystywane w badaniach patofizjologii układu krążenia wieńcowego. Obecne prace badawcze rozwijane w JCET ośrodkami zewnętrznymi w których biorę udział skupiają się na zastosowanie ww. metod do badania roli mikrokrążenia wieńcowego w rozwoju niewydolności serca z zachowaną frakcją wyrzutową (współpraca z Dr Urszulą Tryankiewicz, JCET, wyniki prac zostały opublikowane w pracy **P28**), kardiotoksyczności leków stosowanych w leczeniu onkologicznym (współpraca z grupą Prof. Ioanna Andreadou, Uniwersytet Narodowy im. Kapodistriasa w Atenach, Grecja, wyniki tych prac zostały opublikowane w **P29**) oraz zmian zachodzących w krążeniu płuc w trakcie rozwoju sklerodermy systemowej (współpraca z grupą Prof. Grażyny Kwapiszewskiej, Instytut Badań nad Naczyniami Płucnymi Ludwiga Boltzmann, Graz, Austria).

P28. U. TYRANKIEWICZ, G. KWIATKOWSKI, & S. CHŁOPICKI (2021) Preservation of left ventricle peak and mean pulse flow blood velocity despite progressive deterioration of cardiac function in a chronic heart failure murine model J Physiol Pharmacol. 72(4), 595-603

P29. EFENTAKIS, A. CHOUSTOULAKI, G. KWIATKOWSKI, A. VARELA, I. V KOSTOPOULOS, G. TSEKENIS, I. NTANASIS-STATHOPOULOS, A. GEORGOULIS, C. E VORGAS, H. GAKIOPOULOU, A. BRIASOULIS, C. H DAVOS, N.KOSTOMITSOPOULOS, O. TSITSILONIS, M. ATHANASIOS DIMOPOULOS, E. TERPOS, S. CHŁOPICKI, M. GAVRIATOPOULOU, I ANDREADOU (2024) Early microvascular coronary endothelial dysfunction precedes Pembrolizumab-induced cardiotoxicity. Preventive role of high dose of Atorvastatin, Basic Research in Cardiology, praca zaakceptowana 09.03.2024

- **Udział oraz kierowanie finansowanie przyznany przez zewnętrzne instytucje finansujące badania naukowe**

2021–2024: Kierownik; “Badanie upośledzenia mikrokrążenia wieńcowego w mysim modelu niewydolności serca” (Sonata 16, Narodowe Centrum Nauki, 1 462 962 PLN), realizowany w Jagiellońskim Centrum Rozwoju Leków.

2019–2021: Kierownik; “Badanie upośledzenia syntezy tlenu azotu i przepuszczalności śródbłonna w mikrokrażeniu płucnym z wykorzystaniem nieinwazyjnych metod MRI w mysim modelu niewydolności serca” (Miniatura 4, Narodowe Centrum Nauki, 49 601 PLN), zrealizowany w Jagiellońskim Centrum Rozwoju Leków (rozliczony).

2019–2021: Wykonawca; “Endothelial profiling to predict therapeutic activity of vascular toxicity of compounds in early preclinical research” (TEAM TECH CORE FACILITY 5 Fundacji na rzecz Nauki Polskiej; zrealizowany w Jagiellonian Centrum Rozwoju Leków (kierownik: Prof. STEFAN CHŁOPICKI).

2018–2019: Wykonawca; “MetaboliQs – Leveraging room temperature diamond quantum dynamics to enable safe, first-of-its-kind, multimodal cardiac imaging” (Horizon 2020, Call: H2020-FETFLAG-2018-2020); zrealizowany na Politechnice Federalnej w Zurichu (kierownik: dr SEBASTIAN KOZERKE).

▪ **Udział w międzynarodowych konferencjach naukowych**

2024: European Molecular Imaging Meeting, Porto, Portugal, “Quantitative assessment of coronary microvascular permeability, oxidant stress, and hyperaemic reserve in a murine double-hit model of HFpEF”, **wykład**

2024: European Molecular Imaging Meeting, Porto, Portugal, “Deterioration of coronary reserve in the isoproterenol-induced diastolic cardiac dysfunction in mice”, **plakat**

2023: Red Hot Fluorine 19F MRI & Small Animal MRI Symposium, Kraków, Polska. Quantitative assessment of coronary vascular permeability and oxidant stress using DCE MRI”, **wykład**

2023: XXVII Sympozjum Sekcji Kardiologii Eksperymentalnej Polskiego Towarzystwa Kardiologicznego, Żyrardów, Polska. ”Upośledzenie krążenia wieńcowego w mysim modelu HFpEF typu double-hit”, **wykład, wyróżniony II-go nagrodą za najlepszą prezentację ustną.**

2020: International Society for Magnetic Resonance in Medicine, Virtual Conference. ”Accelerating Myocardial Arterial Spin Labeling in Small Animals by Exploiting Spatiotemporal Correlations”, **plakat, wyróżniony magna cum laude**

2020: International Society for Magnetic Resonance in Medicine, Virtual Conference. ”Changes in Quantitative Magnetization Transfer MR in the Mouse Brain After Transient Cerebral Ischemia”, **plakat**

2019: International Society for Magnetic Resonance in Medicine, Montreal, Canada. ”Accelerating CEST MRI by Exploiting Sparsity in the Z-Spectrum Domain”, **plakat**

2019: International Society for Magnetic Resonance in Medicine, Montreal, Canada. "Extended Quantitative Cardiac First-Pass Perfusion Imaging in Mice Using Accelerated Data Acquisition and Spatially Distributed, Two-Compartment Exchange Modelling", **plakat**

2019: International Society for Magnetic Resonance in Medicine, Montreal, Canada. "Quantitative High-Resolution Myocardial First-Pass Perfusion Imaging of CO₂-Induced Vasodilation in Rat", **plakat**

2018: International Conference on Nuclear Hyperpolarization, Southampton, UK. "Exploiting endogenous paramagnetic surface defects for the direct dynamic nuclear polarization of micro/nanocrystals of silicon and diamonds", **plakat**

2018: International Society for Magnetic Resonance in Medicine, Paris, France. "*In vivo* Imaging of Hyperpolarized Silicon-29 Nanoparticles", **wykład**

2018: 13th European Molecular Imaging Meeting, San Sebastian, Spain. "Development of Hyperpolarized Silicon-29 Nanoparticles for *in vivo* MR Imaging", **wykład**

2017: 9th Kraków Workshop on Novel Applications of Imaging and Spectroscopy in Medicine, Biology and Material Sciences, Krakow, Poland. "Dissolution Dynamic Nuclear Polarization of ¹³C as a tool to study cardiac metabolism in small animals", **wykład**

2017: 10th Conference on Fast Field-Cycling NMR Relaxometry, Mikolajki, Poland. "Joining Forces – Prospects for the Application of FFC Relaxometry in Hyperpolarized NMR", **wykład**

2017: International Society for Magnetic Resonance in Medicine, Honolulu, HI, USA. "Development of nanometer size silicon nanoparticles for hyperpolarized MRI", **plakat**

2017: International Society for Magnetic Resonance in Medicine, Honolulu, HI, USA. "Direct hyperpolarization of micro- and nanodiamonds for bioimaging applications – considerations on particle size, functionalization and polarization loss", **plakat**

2016: EUROMAR, Aarhus, Denmark. "Dynamic nuclear polarization of silicon-29 micro- and nanopowders", **plakat**

2014: EUROMAR, Zurich, Switzerland. "Gaining insight into the magic angle spinning dynamic nuclear polarization mechanisms using spin dynamics simulations with spin-space truncation", **plakat**

2014: COST Satellite Meeting on Spin Hyperpolarization in NMR and MRI, Zurich, Switzerland. "Enhancing nuclear polarization of a nitrogen atom trapped inside a fullerene cage with ENDOR spectroscopy comparison between experimental data and quantum-mechanical simulations", **plakat**

2014: 55th Experimental NMR conference (ENC), Boston, MA, USA. "Polarization and relaxation of 2H core nuclei observed with Fourier Transform EPR detected NMR experiment", **plakat**

2013: 4th DNP Symposium, Copenhagen, Denmark. "Detection of the core nuclei with the hole-burning Fourier transform EPR detected NMR experiment", **wykład**

2013: 54th Experimental NMR conference (ENC), Asilomar, CA, USA. "Large spin ensemble DNP calculations reveal optimal pathways for hyperpolarization of 13C solid state sample", **plakat**

2012: EUROMAR, Dublin, Ireland. "Quantum mechanical simulations of Cross-Effect DNP with Krylov-Bogolyubov time averaging and state space restriction", **plakat**

2012: COST Satellite Meeting on Spin Hyperpolarization in NMR and MRI, Dublin, Ireland. "Quantum mechanical simulations of large spin ensemble", **wykład**

2011: 13th JCF-Fruhjahrssymposium, Erlangen, Germany. "Dynamic nuclear polarization with TEMPO radicals ", **plakat**

2010: 43rd Polish Seminar on NMR and its Applications, Krakow, Poland. "Dynamic nuclear polarization with TEMPO radical at 1.5K", **wykład**

.....

(podpis wnioskodawcy)

Literatura

1. Fiordelisi, M. F., Cavaliere, C., Auletta, L., Basso, L. & Salvatore, M. Magnetic resonance imaging for translational research in oncology. *Journal of Clinical Medicine* vol. 8 Preprint at <https://doi.org/10.3390/jcm8111883> (2019).
2. Haris, M. *et al.* Molecular magnetic resonance imaging in cancer. *Journal of Translational Medicine* vol. 13 Preprint at <https://doi.org/10.1186/s12967-015-0659-x> (2015).
3. Markicevic, M., Savvateev, I., Grimm, C. & Zerbi, V. Emerging imaging methods to study whole-brain function in rodent models. *Translational Psychiatry* vol. 11 Preprint at <https://doi.org/10.1038/s41398-021-01575-5> (2021).
4. Van der Linden, A. & Hoehn, M. Monitoring Neuronal Network Disturbances of Brain Diseases: A Preclinical MRI Approach in the Rodent Brain. *Frontiers in Cellular Neuroscience* vol. 15 Preprint at <https://doi.org/10.3389/fncel.2021.815552> (2022).
5. Jullienne, A., Trinh, M. V. & Obenaus, A. Neuroimaging of Mouse Models of Alzheimer's Disease. *Biomedicines* vol. 10 Preprint at <https://doi.org/10.3390/biomedicines10020305> (2022).
6. Hampton, D. G., Goldman-Yassen, A. E., Sun, P. Z. & Hu, R. Metabolic Magnetic Resonance Imaging in Neuroimaging: Magnetic Resonance Spectroscopy, Sodium Magnetic Resonance Imaging and Chemical Exchange Saturation Transfer. *Seminars in Ultrasound, CT and MRI* **42**, 452–462 (2021).
7. Brindle, K. M. Imaging cancer metabolism using magnetic resonance. *npj Imaging* **2**, (2024).
8. James, M. L. & Gambhir, S. S. A molecular imaging primer: Modalities, imaging agents, and applications. *Physiological Reviews* vol. 92 897–965 Preprint at <https://doi.org/10.1152/physrev.00049.2010> (2012).
9. Winter, P. M., Caruthers, S. D., Wickline, S. A. & Lanza, G. M. Molecular Imaging by MRI. (2006).
10. Albanese, C. *et al.* Preclinical magnetic resonance imaging and systems biology in cancer research: Current applications and challenges. *American Journal of Pathology* vol. 182 312–318 Preprint at <https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2012.09.024> (2013).
11. Kober, F., Jao, T., Troalen, T. & Nayak, K. S. Myocardial arterial spin labeling. *Journal of Cardiovascular Magnetic Resonance* **18**, (2016).
12. Kober, F., Iltis, I., Cozzone, P. J. & Bernard, M. Myocardial blood flow mapping in mice using high-resolution spin labeling magnetic resonance imaging: Influence of ketamine/xylazine and isoflurane anesthesia. *Magn Reson Med* **53**, 601–606 (2005).
13. Troalen, T., Capron, T., Cozzone, P. J., Bernard, M. & Kober, F. Cine-ASL: A steady-pulsed arterial spin labeling method for myocardial perfusion mapping in mice. Part I. Experimental study. *Magn Reson Med* **70**, 1389–1398 (2013).

14. Makowski, M. *et al.* First-pass contrast-enhanced myocardial perfusion MRI in mice on a 3-T clinical MR scanner. *Magn Reson Med* **64**, 1592–1598 (2010).
15. Van Nierop, B. J. *et al.* Quantitative first-pass perfusion MRI of the mouse myocardium. *Magn Reson Med* **69**, 1735–1744 (2013).
16. Van Nierop, B. J. *et al.* Myocardial perfusion MRI shows impaired perfusion of the mouse hypertrophic left ventricle. *International Journal of Cardiovascular Imaging* **30**, 619–628 (2014).
17. Kim, D. & Axel, L. Multislice, dual-imaging sequence for increasing the dynamic range of the contrast-enhanced blood signal and CNR of myocardial enhancement at 3T. *Journal of Magnetic Resonance Imaging* **23**, 81–86 (2006).
18. Pruessmann, K. P., Weiger, M., Scheidegger, M. B. & Boesiger, P. SENSE: Sensitivity encoding for fast MRI. *Magn Reson Med* **42**, 952–962 (1999).
19. Ye, J. C. Compressed sensing MRI: a review from signal processing perspective. *BMC Biomed Eng* **1**, (2019).
20. Tsao, J., Boesiger, P. & Pruessmann, K. P. k-t BLAST and k-t SENSE: Dynamic MRI With High Frame Rate Exploiting Spatiotemporal Correlations. *Magn Reson Med* **50**, 1031–1042 (2003).
21. Pedersen, H., Kozerke, S., Ringgaard, S., Nehrke, K. & Won, Y. K. K-t PCA: Temporally constrained k-t BLAST reconstruction using principal component analysis. *Magn Reson Med* **62**, 706–716 (2009).
22. Cui, S. X. & Epstein, F. H. MRI assessment of coronary microvascular endothelial nitric oxide synthase function using myocardial T1 mapping. *Magn Reson Med* **79**, 2246–2253 (2018).
23. Naresh, N. K. *et al.* Accelerated dual-contrast first-pass perfusion MRI of the mouse heart: Development and application to diet-induced obese mice. *Magn Reson Med* **73**, 1237–1245 (2015).
24. Jerosch-Herold, M. Quantification of myocardial perfusion by cardiovascular magnetic resonance. *Journal of Cardiovascular Magnetic Resonance* **12**, (2010).
25. Yang, H. J. *et al.* Arterial CO₂ as a potent coronary vasodilator: A preclinical PET/MR validation study with implications for cardiac stress testing. *Journal of Nuclear Medicine* **58**, 953–960 (2017).
26. Atkins, T. M. *et al.* Synthesis of long T₁ silicon nanoparticles for hyperpolarized ²⁹Si magnetic resonance imaging. *ACS Nano* **7**, 1609–1617 (2013).
27. Atkins, T. M. *et al.* Synthesis of Silicon Nanoparticles for Hyperpolarized ²⁹Si Magnetic Resonance Imaging.
28. Dutta, P., Martinez, G. V. & Gillies, R. J. Nanodiamond as a new hyperpolarizing agent and its ¹³C MRS. *Journal of Physical Chemistry Letters* **5**, 597–600 (2014).

29. Bretschneider, C. O. *et al.* On The Potential of Dynamic Nuclear Polarization Enhanced Diamonds in Solid-State and Dissolution ¹³C NMR Spectroscopy. *ChemPhysChem* 2691–2701 (2016) doi:10.1002/cphc.201600301.
30. Rej, E., Gaebel, T., Waddington, D. E. J. & Reilly, D. J. Hyperpolarized nanodiamond surfaces. *J Am Chem Soc* **139**, 193–199 (2017).
31. Waddington, D. E. J. *et al.* Nanodiamond-enhanced MRI via in situ hyperpolarization. *Nat Commun* **8**, (2017).
32. Wu, B. *et al.* An overview of CEST MRI for non-MR physicists. *EJNMMI Physics* vol. 3 Preprint at <https://doi.org/10.1186/s40658-016-0155-2> (2016).