

Szubmilliméteres felbontású molekuláris képalkotás

Müller Illés, Mediso Kft.

Az egerek és a biológusok megkönnyebülten sóhajthatnak fel az egész világon. A betegségek eredetének vagy a kísérleti terápiák eredményességének tanulmányozásához sokkal kevesebb laboratóriumi kisállat feláldozására van szükség. Az új tomográfiai képalkotó berendezésnek, a NanoSPECT/CT-nek köszönhetően a kutatók az egerekben a molekuláris folyamatokat nanoliteres felbontással tudják vizsgálni – pontos anatómiai lokalizációval. Az egyfoton-emissziós tomográfiában (SPECT) alkalmazott új multiplikált, multi-pinhole képprojekciós módszer felhasználásával a kutatók ugyanolyan részletettséggel tanulmányozhatják a biológiai folyamatokat, mint a klinikai PET és SPECT vizsgálatok során az emberek esetében. Ez lehetővé teszi, hogy a sértetlen élő állatokban hosszabb időn keresztül nyomon lehessen követni a betegség előrehaladását, és az új terápiákat értékelve teljesebb, pontosabb képet alkothatunk arról, hogy mi és miért történik.

Mice and biologists everywhere can breathe a collective sign of relief. Far fewer small laboratory animals will need to be sacrificed and dissected to study the origins of disease, or the effectiveness of experimental therapies. Instead, thanks to a new tomographic imaging device, called NanoSPECT/CT, investigators can study living biology in mice with nanoliter precision – with exact, anatomical localization. By using a new multiplexed, multi-pinhole image projection technique for single photon emission tomography (SPECT), researchers can now investigate biology in living mice with the same exquisite detail as obtained in men with clinical PET and SPECT scans. This enables to track the development of disease and evaluate new therapies in intact living animals for extended periods of time, thus obtaining a fuller, more accurate picture of what's going on and why.

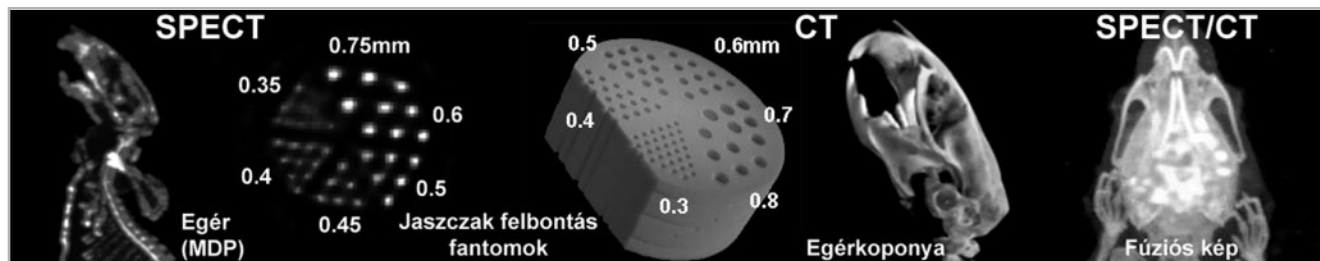
TARTALOM

Képzelve el, hogy egy élő állatban egy gyógyszer eloszlását követve egy specifikus molekuláris célpontot figyel meg, és mennyiségileg meg tudja határozni a beadott gyógyszer közvetlen hatását a célponton – mindezt percek alatt. Bár ez a lehetőség utópiának tűnhetett pár évvel ezelőtt, az új képalkotó modalitások és a molekuláris próbák gyors fejlődésének köszönhetően a közeli jövőben a kutatók rutinszerűen láthatnak hozzá a fenti feladatok elvégzéséhez (1. ábra).

A Mediso Kft. és külföldi partnerei (Bioscan, Inc., Scivis GmbH) által kifejlesztett NanoSPECT/CT™ az egyik olyan berendezés, ami megvalósíthatóvá teszi ezeket a vizsgálatokat. A NanoSPECT/CT™ a kisállatok vizsgálatára alkalmas in vivo molekuláris képalkotó rendszer, mely a funkcionális (SPECT) és anatómiai (CT) képalkotó eljárásokat egyesíti. A fejlesztés elismeréseként a Mediso Kft. elnyerte a 2006. évi Innovációs Nagydíjat.

MOLEKULÁRIS KÉPALKOTÁS

A MIT's Technology Review 2003-ban úgy jellemezte a molekuláris képalkotást, mint „a tíz fejlődő technológia egyike, ami meg fogja változtatni a világot” [1]. A fiatal, gyorsan fejlődő orvosbiológiai kutató tudományág célja, hogy a sejtekben zajló normál és patológiás folyamatok molekuláris eseményeinek in vivo megfigyelésével szolgálja a biológia és az orvostudomány fejlődését. Egyesíti a molekuláris és sejtbiológia modern eszközeit a legfejlettebb műszaki technológiákkal. A tudományág a molekuláris biológia, a kémia, az orvostudomány, a gyógyszerteran, az orvosi fizika, a biomatematika, a bioinformatika és számos képalkotó technika határterületének összeolvadásával jött létre.



1. ábra
A NanoSPECT/CT képminőséget szemléltető eredmények

A molekuláris képalkotás az élő szervezetekben zajló sejtszintű és sejtszint alatti biológiai folyamatok képi megjelenítésével, karakterizációjával és mennyiségi meghatározásával foglalkozik. A segítségével metszeti képeket állíthatunk elő az élő rendszerekről, anélkül, hogy megbontanánk az egységüket. A molekuláris képalkotás a funkcionális képalkotással közös részalmozást alkot – „molekuláris” a funkcionális képalkotás a megfelelő specifikus próba választásával válik.

A molekuláris képalkotó rendszereket a felhasználásuk alapján két csoportra oszthatjuk: humán és kisállat-vizsgáló rendszerekre. Cikkszemben a második csoporttal foglalkozom; ezt a csoportot hívják preklinikai in vivo molekuláris képalkotásnak is.

Számos humán betegség megtalálható a rágcsálókban, melyek a laboratóriumokban kontrollált körülmények között vizsgálhatók. Az egér napjainkban is a legfontosabb állatmodellek közé tartozik, melynek fő oka, hogy az egerről rendelkezésre állnak részletes genetikai ismeretek. Az egér teljes génállományának feltérképezése 2002-ben fejeződött be. Az egér állatmodellek a humán orvosi kutatások nagyon fontos eszközei, különös tekintettel a célzott génmódosítással előállított állatokra. A genomikai kutatások forradalmi fejlődése nem lett volna lehetséges a génkiütéses transzgenikus egér technológia nélkül.

Egy gyógyszerjelölt értékélésénél a következő lényegi kérdésekre kell választ kapni:

- a célszerv hasznosítja-e a vegyületet az anyagcserében,
- az egyedbe beadott vegyület eléri-e a célszervet (biohasznosulás),
- kifejti-e ott a kívánt hatást (hatékonyság),
- van-e valamilyen egyéb hatása más szervekre (mellékhatások és toxicitás).

Az erősen leegyszerűsített környezetben (sejt- és szövetkultúra) in vitro módszerekkel végzett preklinikai tesztelés során ezekre a kérdésekre csak korlátozott választ kaphatunk.

Az in vivo képalkotással a kutatási fázisban lehetőség van genetikailag módosított testállatok alkalmazására, melyek pontosan abban a betegségben szenvednek, amire a kezelési módot keresik. A kipróbálási fázisban a biohasznosulás, hatékonyság, toxicitás meghatározásához a kutatók azonos módszereket alkalmazhatnak az állatkísérleteknél, mint az ezeket követő humán klinikai kísérleti fázisban. Ezek az előnyök együttesen növelik a valószínűségét, hogy a preklinikai tesztelés eredményei pontosan fogják tükrözni a humán vizsgálatok eredményeit.

A korábbi gyakorlat szerint a vizsgálni kívánt gyógyszert az állat szervezetébe juttatják, és a hatásvizsgálathoz az állatokat feláldozzák, majd ezeket feldolgozva mikroszkópos vizsgálattal tárják fel a gyógyszer célterületeit. Ezzel szemben a molekuláris képalkotás segítségével a szükséges állatmodellek száma, mely a gyógyszer hatásvizsgálata szempontjából nélkülözhetetlen, jelentősen csökkenthető, és a korábbi módszerhez képest a vizsgálatok rövidebb idő

alatt elvégezhetőek, így a kutatás folyamata gyorsabbá és olcsóbbá válik, ugyanakkor az sem elhanyagolható, hogy nem kell az állatot sem megölnünk. Elérhetővé váltak a hosszú távú dinamikus vizsgálatok, mivel ugyanazon az egyedben a vizsgálatokat számos alkalommal el tudjuk végezni, így a változásokat, a terápiás választ hosszabb távon, teljes folyamatukban nyomon lehet követni.

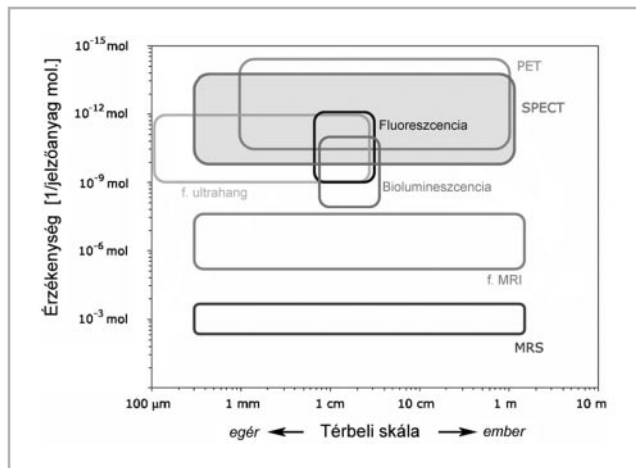
Az amerikai Élelmiszer- és Gyógyszerellenőrző Hatóság (FDA) 2004-es jelentésében („Challenge and Opportunity on the Critical Path to New Medical Products”) [2] a gyógyszerkutatás problémáit vizsgálta meg. A növekvő költségek mellett az új gyógyszerek száma csökkent – a piacra hozatali költsége 800 millió és 1,7 milliárd USA dollár közé növekedett. Becslésük alapján egy gyógyszerjelölt vegyület preklinikai tesztelése 10 évig tart, mielőtt a gyógyszer fejlesztése az 1. fázisba léphet. Átlagban a fejlesztési költségek 32%-át költik preklinikai tesztelésre. Az idő és pénz ellenére az 1. fázisba lépett gyógyszerjelöltek csak 8%-ának van esélye a piacra jutásra – a korábbi évek 14%-ával összehasonlítva. A fenti megállapítások magyarázatot adnak arra, hogy a molekuláris képalkotásban dolgozó kutatók számára a preklinikai gyógyszerkutatás felgyorsítása az egyik kulcs-terület.

TECHNOLÓGIAI KIHÍVÁSOK

A vizsgálati egyedekben, a rágcsálókban ugyanolyan skálán kell nyomon követnünk a biológiai/kémiai folyamatokat, mint az emberekben. Ha összehasonlítjuk az emberi test és egy egér térfogatát, akkor azt kapjuk, hogy mikroliteres tartományban kell megfigyelnünk az eseményeket, azaz a megkövetelt térfogati felbontás milliméter alatti.

A nagy térbeli felbontóképességű molekuláris képalkotó berendezéseket a detektálás elve alapján a következő csoportokra lehet osztani: optikai (biolumineszcencia, fluoreszcencia), mágneses (fMRI – functional Magnetic Resonance Imaging, MRS – Magnetic Resonance Spectroscopy), ultrahang (funkcionális ultrahang) és radioaktív (PET – Positron Emission Tomography és SPECT – Single Photon Emission Computed Tomography) (2. ábra). A molekuláris képalkotó mátrix [3] a SPECT pozícióját mutatja a többi noninvazív in vivo képalkotó technológiához viszonyítva. A tengelyeken a térbeli skálát és az érzékenységet tüntettük fel. Az érzékenység a megfelelő jel/zaj viszony eléréséhez szükséges jelzőanyag-mennyiséget mutatja. A térbeli skálán befogott tartományokat alulról a technológiák limitáló felbontása, felülről az áthatolási mélysége határozza meg. A SPECT a molekuláris in vivo képalkotó technológiák közül az egyik legérzékenyebb, alkalmazhatósága lefedi a teljes kívánt tartományt – elegendő a felbontása a kisállatok vizsgálatához, az áthatolási mélysége lehetővé teszi az emberekben végzett képalkotást is.

Amíg jelenleg a klinikai alkalmazásoknál a PET-képalkotást részesítik előnyben, a SPECT berendezések számos előnyt kínálnak a kisállat-vizsgálatoknál. A jelenlegi becslé-



2. ábra
Molekuláris képalkotó mátrix

sek alapján az élő állatokon végzett kísérletekben érdekelt kutatólaboratóriumok száma 2000 és 10 000 közé tehető, azonban kevés laboratóriumnak van hozzáférése ciklotronhoz, hogy a jelölendő molekuláját PET radioizotóppal lássa el. A SPECT radiofarmakonok sokkal szélesebb körben hozzáférhetőek és lényegesen olcsóbbak. Valójában a PET nyomjelző izotópok jellemző tulajdonságai ugyan nagyobb térbeli felbontást tesznek lehetővé a humán klinikai rendszerekben, viszont limitálják a felbontást a méretben jóval kisebb kisállat-vizsgáló berendezésekben.

NANOSPECT/CT

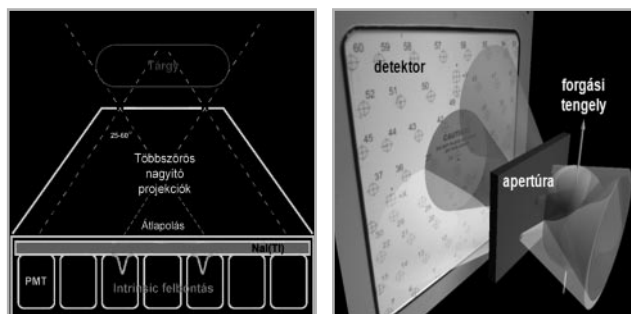
A NanoSPECT/CT kisállatok vizsgálatára alkalmas in vivo molekuláris képalkotó rendszer, mely a funkcionális



3. ábra
NanoSPECT/CT in vivo kisállat vizsgáló rendszer

(SPECT) és anatómiai (CT) képalkotó eljárásokat egyesíti. Integrált, duál-modalitású berendezés; a funkcionális és a morfológiai képalkotás időben rögtön egymást követi, ami lényegesen leegyszerűsíti a vizsgálatok végzését, a rekonstruált képek fúzióját, értékelését, és megnöveli a diagnosztikus pontosságát. A világon az első olyan funkcionális tomográfiai berendezés, amivel a radiofarmakonok eloszlása tizedmilliméteres tartományban vizsgálható (3. ábra).

A NanoSPECT/CT négy nagyfelbontású, „felbontás-javító” technológiájú gamma-detektort tartalmaz, ami a német partner által szabadalmazott multi-pinhole technológiát [4] alkalmaz (4. ábra).



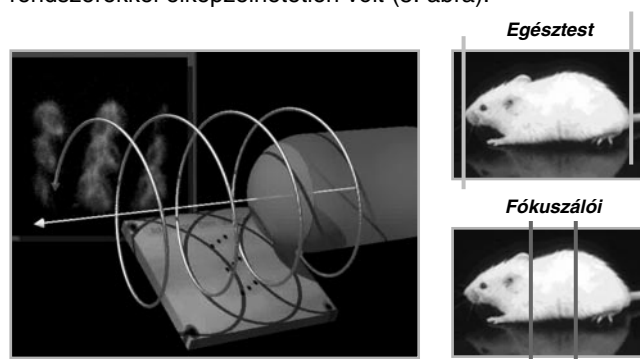
4. ábra
Multi-pinhole képalkotás

A multi-pinhole („többszörös túlyukú”, továbbiakban MMP-) SPECT [5] ún. harmadik generációs SPECT-technológia. A hagyományos párhuzamos kollimátorral végzett képalkotásnál az érzékenység megfelelő, de a térbeli felbontás 6-7 mm-nél nem jobb. Pinhole kollimátorral a felbontás javítható, de ebben az esetben az érzékenység csökken le olyan mértékben, hogy csak sokkal hosszabb gyűjtési idővel lehet megfelelő képminőséget elérni. Ezekre a problémákra kínál megoldást a multi-pinhole képalkotás, melyet úgy lehet leírni, mintha egy tárgyról egyszerre, számos kamerával készülnének nagyított képek és ezek egymással részben átfedésben lennének.

A multi-pinhole SPECT-rendszer a vizsgálat során a vetületeket kilenc-tíz lyukon keresztül egyidejűleg leképezve állítja elő, ezáltal kilenc-tízszer annyi vetületet kapunk, mint a single-pinhole rendszerek esetében. Végeredményben a multi-pinhole rendszerekben alkalmazott apertúrákkal a rendszer érzékenysége tízszeresére növekedett – „tízszer fényesebb képet állítanak elő”. Ez tizedannyi vizsgálati időt vagy tizedrésznyi aktivitású befecskendezett radiofarmakont jelent. A túlyuk átmérője határozza meg a rendszer rekonstruált felbontását, természetesen a felbontás növelésével (a túlyuk-átmérő csökkentésével) az érzékenység itt is csökken. Különböző vizsgálatokhoz különböző kialakítású apertúrákat kell használni, jelenleg hat szettből választhatnak a felhasználók. A „nagyfelbontású egér” apertúra transzaxiális látómezeje 30 mm, túlyuk-átmérője 1 mm, az elérhető maximális rekonstruált felbontás 0.7 mm, a rendszer átlagos érzékenysége 720 cps/MBq. Az „ultranagy-felbontású patkány” apertúra transzaxiális látómezeje 60 mm, túlyuk-

átmérője 1,5 mm, az elérhető maximális rekonstruált felbontás 1,1 mm, a rendszer átlagos érzékenysége 600 cps/MBq. Speciális, de kisebb látómezejű apertúrával el tudunk érni 0,4 mm rekonstruált felbontást is.

A NanoSPECT/CT a világon az első olyan berendezés, ami helikális SPECT-gyűjtést végez. A CT-berendezéseknél már ismert módon, a detektorok forgásával egyidőben egy nagy pontosságú, finom léptetésű motor a vizsgálati ágyat, így az állatot a forgási tengely irányában „lépteti”. A helikális adatgyűjtés kiküszöböli az axiális irányú műtermékeket, és megnöveli a forgási tengely irányú látómezőt 27 cm-re, így lehetővé teszi akár a patkány egésztest vizsgálatokat is. Olyan részletes információt kaphatunk a szervek kis kiterjedésű elváltozásairól, ami a korábbi kisállat PET, SPECT rendszerekkel elképzelhetetlen volt (5. ábra).



5. ábra
Helikális adatgyűjtés, az egésztestet és a fókuszált vizsgálat szemléltetése

A humán klinikumban használt SPECT-berendezésektől eltérően a helikális mozgású adatgyűjtésnek és többszörös túlyukú technológiának köszönhetően a SPECT-felvételek kvantitatívan kiértékelhetők. Pár százalékos pontossággal, abszolút értékben meg lehet határozni, hogy a vizsgált egyed célszervében mennyi az aktivitás, a teljes beadott mennyiség hány százaléka halmozódott fel.

A funkcionális képalkotás során kapott információ általában korlátozott anatómiai-morfológiai információkat nyújt. A nagy felbontású (akár 100 μm rekonstruált felbontású) röntgen CT ugyanazon a gantry-n helyezkedik el, mint a SPECT rész, ami lehetővé teszi az automatikus képfúziót. A funkcionális és anatómiai információ együttes megjelenítése a humán diagnosztikában már megismert előnyöket nyújtja. Az integrált kialakításnak köszönhetően a berendezés könnyen használható és kis helyfoglalású.

ALKALMAZÁSI TERÜLETEK

A NanoSPECT/CT-vel a kutatók a humán klinikai vizsgálatoknál már megismert gyűjtési módok széles választékát

érhetik el: kapuzott, dinamikus, duál- és multiizotópos adatgyűjtés. A teljes képfeldolgozó rendszer (adatgyűjtés, adatbázis, kiértékelés) DICOM 3.0 kompatibilis.

Az apertúrák és az ágyak cserélhetőek, így a rendszer egy perc alatt átalakítható a feladatnak megfelelően: egér vagy patkány, egésztest vagy fókuszált vizsgálat.

A SPECT-rendszernek és volfrám apertúráknak köszönhetően a felhasználható radioaktív nyomjelző izotópok energiája 25 és 250 keV között változhat (pl. 125I (28 keV), 201Tl, 99mTc, 123I, 177Lu, 111In (245 keV)), így a tracerek széles körből választhatóak (6. ábra).

választható tracerek

IMAGING FOR LIFE

I-125 28keV In-111 245keV

125I, 11201, Tc99m, 1123, Lu177, In111, ...

- 0.1mCi I-125
- 7 perces gyűjtés, 1óra p.i.
- 4x9 pinhole, $\phi=1.4\text{mm}$
- vizsgálati hossz 90mm

- 0.9mCi In111-Octreoscan
- 16 perces gyűjtés, 3óra p.i.
- 4x9 pinhole, $\phi=2.5\text{mm}$
- vizsgálati hossz 100mm

30g egér 390g patkány

S. Mather University of London, M. de Jong, ErasmusMC Rotterdam, Netherlands
II. Képkalkotó Diagnosztikai Konferencia, Budapest 2007.05.23

6. ábra
Széles körből választható tracerek

Az első NanoSPECT/CT-rendszer telepítése 2006 januárjában történt az Erasmus MC University Medical Centerben, Hollandiában és az elmúlt másfél évben közel 20 rendszer került kihelyezésre. Felsorolásként álljon itt pár alkalmazási terület [6], ahol a felhasználók már kutatásokat végeztek:

- Onkológia: 123I-benzamide, 99mTc-MDP, 99mTc-Histidine-Folate, 99mTc-GSA+ 125I-GSA, 177Lu-DOTATATE, 111In-Dotatate, 111In-DTPA-Folate
- Neurológia: 99mTc-HMPAO, 125I-Iomazenil, 123I-IBZM
- Kardiológia: 99mTc-MIBI
- Egyéb: dinamikus vese (99mTc-MAG3), tüdő (99mTc-MAA)

A molekuláris képalkotás tagadatlanul fontos szerepet fog játszani a gyógyszer- és élettani kutatások területén, reméljük, hogy a NanoSPECT/CT-rendszerekkel kapott eredmények ehhez a sikerhez jelentősen hozzájárulnak majd.

IRODALOMJEGYZÉK

- [1] Technology Review, Published by MIT: 10 Emerging Technologies That Will Change the World (<http://www.technologyreview.com/Infotech/13060/page7/>)
- [2] FDA: Challenge and Opportunity on the Critical Path to New Medical Products (<http://www.fda.gov/oc/initiatives/criticalpath/whitepaper.html>)
- [3] Meikle et al., Small animal SPECT and its place in the matrix of molecular imaging technologies Phys. Med. Biol. 50 (2005) R45-R61
- [4] Patent on Multi-Pinhole SPECT, August 2001 PCT EPD208604, EP 027975671, US 10487700
- [5] N. Schramm et al., High-Resolution SPECT Using Multi-Pinhole Collimation, IEEE Transactions on Nuclear Science, 50, 315-320, 2003.
- [6] <http://www.spect-ct.com/site/>

A SZERZŐ BEMUTATÁSA



Müller Illés 2002-ben végzett mérnök-fizikusként a BME Természettudományi Karon nukleáris technika szakirányon, 2002-ben orvosbiológiai mérnök diplomát szerzett. Végzés után a Mediso Kft.-nél helyezkedett el mint tudományos kutató. A következő fontosabb fej-

lesztésekben vett részt az elmúlt öt évben: kisállat PET-rendszer fejlesztés (rendszertervezés), dedikált kétdetektoros kardiológiai SPECT-rendszer (klinikai bevezetés, program-koordinátor), NanoSPECT/CT in vivo kisállatvizsgáló rendszer (programvezető), PET/CT-fejlesztés (programvezető, konzorciumvezető-helyettes).

Digitális Szöveti Laboratórium

A 3DHISTECH Kft. fő terméke, a Digitális Szöveti Laboratórium, egy több komponensből álló technológiai fejlesztés, melynek célja, hogy a szövettani minták kiértékelését:

- pontosabbá, hatékonyabbá, gyorsabbá,
- kvantitatívá és háromdimenzióssá,
- és távmunkában elvégezhetővé tegye.

Ezen kívül a technológia sikeresen alkalmazható az oktatásban, a gyógyszerkutatásban, biotechnológiai fejlesztésekben. Részei vonalkódolt speciális tárgylemezek, tárgylemeztartó dobozok, automatikus tárgylemez digitalizáló rendszer, digitális tárgylemez szerver komputer, digitális orvosi munkaállomás. Programcsomagok, melyek a digitalizált tárgylemez virtuális mikroszkópos kiértékelését támogatja: így maga a virtuális mikroszkóp, internet virtuális mikroszkóp, 3D virtuális mikroszkóp, automatikus kvantifikáció, oktató virtuális mikroszkóp.

A digitális hisztológiai laboratórium szervesen illeszkedik a hagyományos szövettani labor munkájához, kiegészítve és növelve annak hatékonyságát. A digitális szövettani labor segítségével az orvos a szövettani kiértékelést akár távolról, internet segítségével intézheti. A kiértékelés nincs a minta fizikai jelenlétéhez kötve. A 3DHISTECH Kft. ezen fejlesztésért 2004-ben Magyar Innovációs Nagydíjat kapott. A 3DHISTECH jelenleg a világ egyik vezető fejlesztő és gyártó cége ezen a területen, termékeit Magyarországon kívül exkluzív a Carl Zeiss GmbH terjeszti. A cég által fejlesztett és gyártott műszereket, szoftvereket a világ vezető akadémiai és ipari szövettani laboratóriumai használják (pl. Harvard, Yale, USA, Charite Berlin, Karolinska, Stockholm, Novartis). Miután a korábbi egyetemi dolgozók, diplomamunkaírók, PhD-hallgatók ma már a cég alkalmazottai, a Kft. fizikailag különvált az egyetemről. A további fejlesztések, a technológiai vezető szerep fenntartása érdekében a 3DHISTECH Kft. aktív résztvevője a magyar tudományos életnek. Tudományos-ipari kooperációban áll a Semmelweis Egyetemen, a Szentágotai Regionális Tudásközponttal, a KOKI-val.