

Molekuláris képkeltés

Funkcionális képkeltő eljárások,
multimodális módszerek



Máthé Domokos PhD

Nanobiotechnology and In Vivo Imaging Center

Szerkezet

- Molekuláris képkeltés – miért ez a neve?
- Mi mindent alkalmazhatunk molekuláris képkeltésre? (jelentősebb módszerek példákkal)
- A molekuláris képkeltés módszerei (áttekintés)
- A molekuláris képkeltés alkalmazási lehetőségei a klinikumban (szűrés, diagnosztika, személyre szabott kezelés, nyomon követés)
- A legjelentősebb molekuláris képkeltési módszerek a klinikumban ma, kitekintés a holnapra
PET, SPECT, MRI, Planáris fluoreszcencia, Optikai tomográfiák)
Onkológia, idegtudomány, kardiovaszkuláris medicina, reumatológia, endokrinológia, sebészet
- Multimodális képkeltési módszerek lehetőségei (multimodális és multiplex rendszerek)
- Funkcionális és morfológiai információ korrelációja
- Kép-szegmentáció és regisztráció klinikai haszna



Nanobiotechnology and In Vivo Imaging Center

Molekuláris képkeltés-molecular imaging

- "A képkeltés az időben és térben meghatározott információ kinyerésének tudománya minden fizikai szerveződési szinten "

(Dr. Elias Zerhouni, a NIH volt igazgatója)

- "A molekuláris képkeltés a biológiai folyamatok molekuláris és sejtszintű láthatóvá tétele, jellemzése és mérése az élő rendszerekben"

(Society for Nuclear Medicine and Molecular Imaging-Amerikai Nukleáris Medicina Társaság)

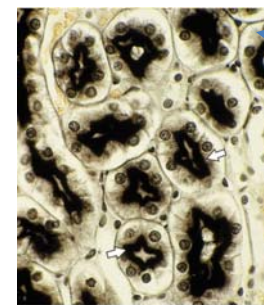
(Molekuláris biológia → Molekuláris képkeltés)



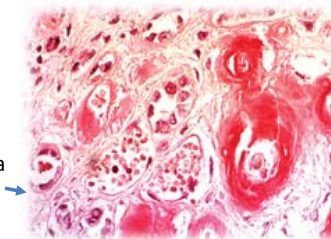
Nanobiotechnology and In Vivo Imaging Center

Mi mindent alkalmazhatunk molekuláris képkeltésre?

1. A kezdetek (és a velünk élő klasszikus): hisztokémiai reakciók



Gömöri-festés a vese tubulussejtek alkalikus foszfatáz enzimtartalmának kimutatására



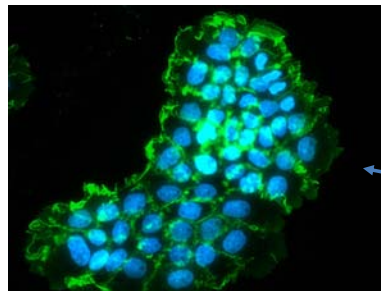
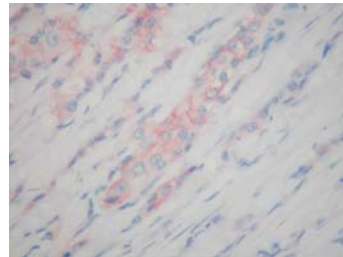
Kongóvörös festés amiloid plakkok kimutatására



Nanobiotechnology and In Vivo Imaging Center

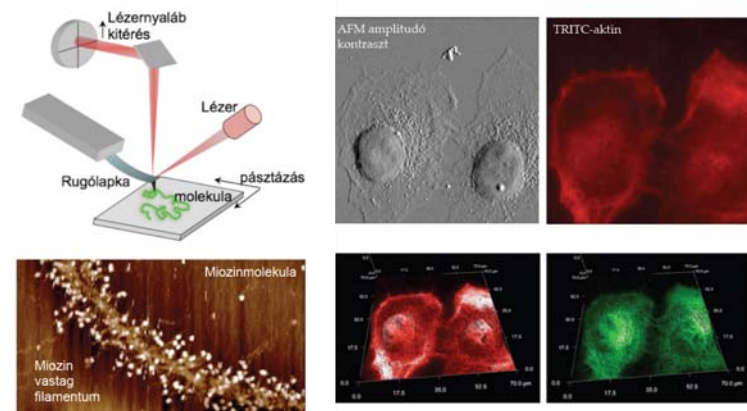
2. Immunhisztokémia és –fluoreszcencia: mikroszkópia

Immunhisztokémia: szomatosztatin 2a receptor elleni antitest reakció insulinoma máj-áttétben (300x, H&E háttérfestés)



A431 sejtvonalból (epithelialis cc.) származó tumorsejtek, a magok Hoechst-festéssel kékre, a sejtmembrán foszforilált EGF-receptorai az **antitesthez kötött**, 488 nm-en emittáló DyLight festéssel **zöldre** festődnek

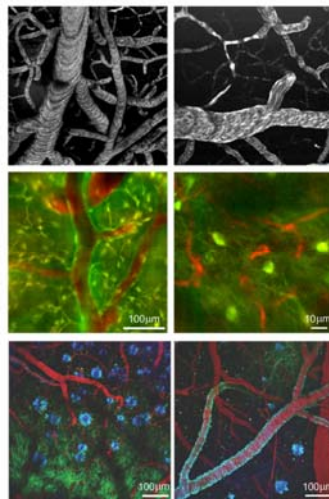
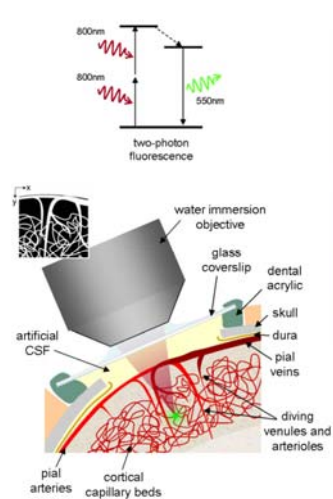
Nagyfelbontású módszerek - élő sejteken is: AFM/TIRF



Kellermayer et al. Biophys J. 2006

Nagyfelbontású módszerek élő szervezetben: in vivo kétfoton-mikroszkópia

jó jel/zaj arány
felbontási határ nő

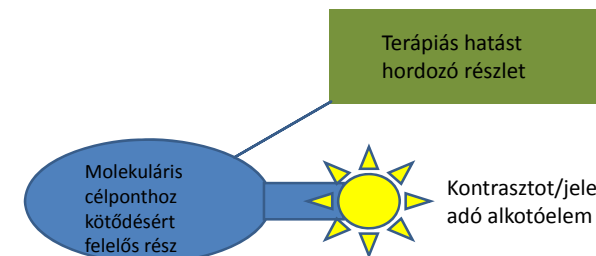


Vvs áramlás mintázata

Vérédenyek és neuronok (dextran Texas Red és GFP-TG egér)

Amiloid plakkok (kék), vérerek (piros) és neuronok (zöld)

Molekuláris képkalkotó "szondák" vagy "kontrasztanyagok" általános szerkezete



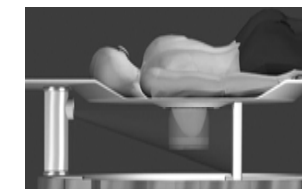
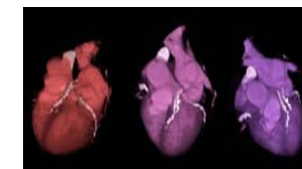
Kis molekulák
Peptidek
Fehérjék
Antitestek vagy részeik

Kémiai jeladók:
PET/SPECT: radioaktív izotópok
Optikai/Akusztikus: fluoreszcens festékek
MRI: Gd, Fe, Eu, Ln
CT: jód, bárium-szulfát
Nano/mikrorészecskék:
Optikai: quantum dot, szén nanocsövek, arany részecskék
MRI: vas-oxid, mangán-oxid részecskék
CT: arany részecskék

Modalitás	Előnyei	Hátrányai	Fontos kontrasztanyag/jel	Klinikai alkalmazás példái
CT	Bármilyen mélységű kép Jó térbeli felbontás Egésztest-képkalkotás Perces kép-idők Közepesen drága Anatómiai módszer	Sugárterhelés Rossz lágy szöveti kontraszt Jelenleg csak anatómiai és funkcionális képek.	Ba, I, Kr, Xe	Tumor perfúzió,
PET	Bármilyen mélységű kép Egésztest-képkalkotás Kvantitatív mérések Kombinálható CT/MRI-vel	Sugárterhelés Drága Milliméteres felbontás Hosszabb képidő (perc-óra)	C-11, F-18, Ga-68, Cu-64, Zr-89	FDG-PET tumor staging, különböző betegségek diagnosztikája
SPECT	Bármilyen mélységű kép Egésztest-képkalkotás Kvantitatív mérések Multiplex Teragnosztika Kombinálható CT-vel	Sugárterhelés Szubmilliméteres-milliméteres felbontás Hosszabb képidők	Tc-99m, I-123, In-111, Lu-177	Molekuláris diagnosztika Radioterápia (NHL, NET, pm. cc.)
MRI	Bármilyen mélységű kép Egésztest-képkalkotás Nincs ionizáló sugárzás Kitűnő lágy szöveti kontraszt	Drága Hosszú képidők Korlátozott érzékenység	Gd ³⁺ , vas-oxid részecskék (SPIO, USPIO)	Prostata daganat nycs. met. Fokális májéziók Szív perfúzió
MRS	Nincs ionizáló sugárzás Egésztest-képkalkotás	Drága Hosszú képidők Kis érzékenység	Kolin, laktát, kreatin, lipidek, N-acetil-aszpartát	Agytumorok anyagcsereje Alzheimer-kór követése
UH	Nincs ionizáló sugárzás Rövid/valós idejű képkalkotás Nagy térbeli felbontás Olcsóság Nagy érzékenység	Egésztest-képkalkotás nincs Kontrasztanyagok csak az érrendszerre Operátor-függő	Mikro-buborékok	Fokális májéziók, echokardiográfia, Tumor perfúzió
Optikai módszerek	Nincs ionizáló sugárzás Rövid/valós idejű képkalkotás Nagy térbeli felbontás Olcsóság Nagy érzékenység, kvantitatív Multiplex	Korlátozott áthatolóképesség (1 cm) Nincs egésztest-képkalkotás	Fluoreszcens molekulák és festékek, fény-elnyelő nanorészecskék	OCT-érelmeszesedés, retinopathiák, koleszteróplátok

Nanobiotechnológiai és In Vivo Képkalkotó Központ

CT	Röntgensugár elnyelési kép 3D
Előnyei	Bármilyen mélységű kép Jó térbeli felbontás Egésztest-képkalkotás Perces kép-idők Közepesen drága Anatómiai módszer
Hátrányai	Sugárterhelés Rossz lágy szöveti kontraszt Jelenleg csak anatómiai és funkcionális képkalkotás
Kontrasztanyag	Ba, I, Kr, Xe, Au - „belső”: Ca
Klinikai alkalmazás	Anatómiai referencia, perfúzió, ventiláció, kardiológia (Ca-score), mammográfia
Voxel méretek	<1x1x1 mm (<1 μL)
Sejt szám/voxel	10 ⁶



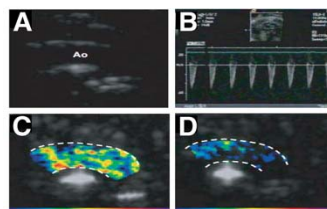
O'Connell A et al.
AJR 2010;195:496-509
O'Connell AM, Kawakita O'Connor D.
J Clin Imaging Sci 2012;2:7

Nanobiotechnology and In Vivo Imaging Center

Nanobiotechnológiai és In Vivo Képkalkotó Központ

UH	Hanghullám visszaverődési/terjedési különbségek 3D
Előnyei	Nincs ionizáló sugárzás Gyors/Valós idejű kép Nagy érzékenység Nagy felbontás Olcsóság (...)
Hátrányai	Nincs egésztest-képkalkotás Nem kvantitatív, operátor-függő Csak érrendszeri kontrasztanyagok
Kontrasztanyag	Céltolt mikro-buborékok
Klinikai alkalmazás	Ritka, prostata-rák vérkeringés Fázis III-ban (BR55, VEGFR2-kötő)
Voxel méretek	<1x1x1 mm (<1 μL)
Sejt szám/voxel	10 ⁶

ApoE/K.O. egér aorta képei
B-mód-a) Doppler-b)
VCAM-1-c) Kontroll-d)



e) - h):
Tumor angiogenesis egérben
céltolt buborékokkal vizsgálva

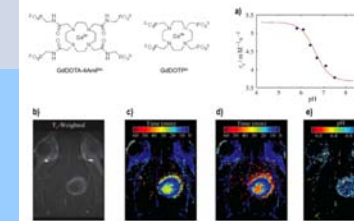
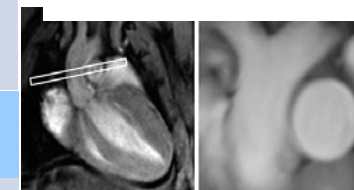


Nanobiotechnology and In Vivo Imaging Center

Nanobiotechnológiai és In Vivo Képkalkotó Központ

MRI	Proton spin 2D/3D
Előnyei	Nincs ionizáló sugárzás Egésztest-képkalkotás Kitűnő lágy szöveti kontraszt Nagy felbontás
Hátrányai	Drága Nem érzékeny Esetenként hosszú képkalkotási idők
Kontrasztanyag	-Szöveti protonok relaxációs idejét változtatják meg: Gd-alapú, CEST -Saját mágneses tulajdonságaikon alapuló: Fe, Mn-tartalmú
Klinikai alkalmazás	Májéziók, nyirokcsomó-áttétek, perfúzió, myocard. infarct.
Voxel méretek	<1x1x1 mm (<1 μL)
Sejt szám/voxel	10 ¹³ (pl. 10 ⁷ Gd-atom/sejt)

ApoE/K.O. egér aorta metszeti képei
9.4T, Bright-Blood IntraGate FLASH
szekvenciával



Patkány glioma képei CEST alapú in vivo pH-mérő kontrasztanyaggal

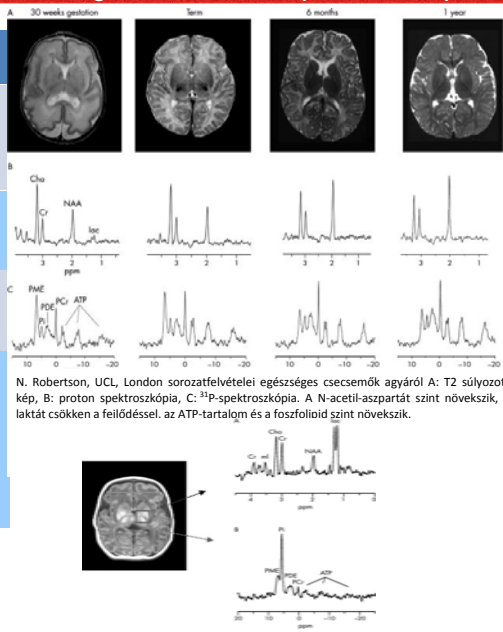


Custodis F et al.
J Vasc Res 2012;49:432
De Leon Rodriguez et al.
Acc Chem Res 2009;49:948

Nanobiotechnology and In Vivo Imaging Center

Nanobiotechnológiai és In Vivo Képkalkító Központ

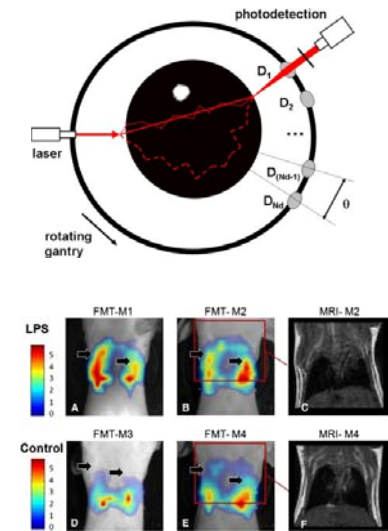
MRS	Spektroszkópia
Előnyei	Nincs ionizáló sugárzás In situ „kémiai aláírás” a szövetben Nagy felbontás
Hátrányai	Drága Nem érzékeny Hosszú képkalkítási idő
Kontrasztanyag	Intrinsic
Klinikai alkalmazás	Stroke, tumor jellemzés/predikció
Voxel méretek	n.a.
Sejt szám/voxel	



Nanobiotechnology and In Vivo Imaging Center

Nanobiotechnológiai és In Vivo Képkalkító Központ

Optikai	Látható ill. NIR fény kibocsátás/szóródás/áterhelés/visszaverődés 2D, 3D
Előnyei	Nincs ionizáló sugárzás Rövid/valósidejű képkalkítás Olcsóság Nagy érzékenység Multiplex
Hátrányai	Korlátozott áthatoló képesség Nincs egésztest-képkalkítás
Kontrasztanyag	Változatos színű fluoreszcens festékek, nano-rendszerek
Klinikai alkalmazás	Sentinel nycs. keresés, retinopathiák (OCT), endoscopy, emlőszűrés (LumaGem)
Voxel méretek	2D: 0.01 mm ² 3D: 0.8x0.8x0.8 cm
Sejt szám/voxel	10 ¹³ (2D), 10 ¹³ (3D): egyaránt sejtenként kb. 10 ⁴⁻⁵ festékmolekula

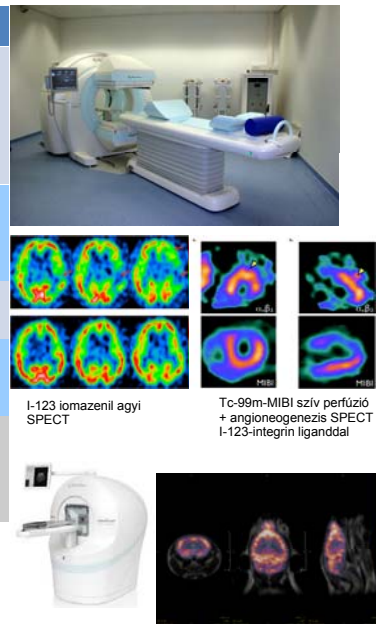


Ntziachristos V. Proc Am Thorac Soc. 2009; 6, 416

Nanobiotechnology and In Vivo Imaging Center

Nanobiotechnológiai és In Vivo Képkalkító Központ

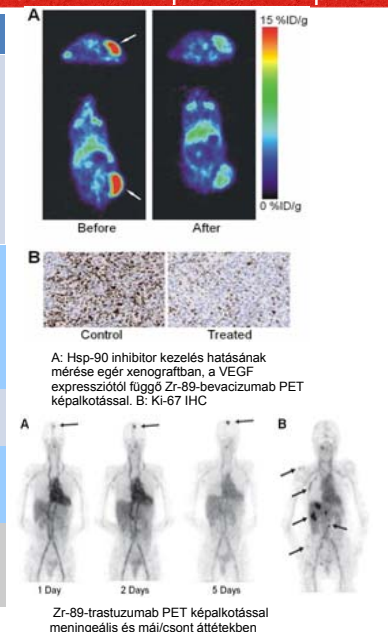
SPECT	Gamma-sugárzás 3D
Előnyei	Nincs fizikai felbontási határ Elterjedt, olcsó Érzékeny Transzlációs képkalkításra ideális Terápiás képkalkítás
Hátrányai	Korlátozott klinikai standardizálhatóság Korlátozott dinamikus képkalkítás (műszer-probléma) Jel/zaj arány
Kontrasztanyag	Tc-99m, I-123, I-125, In-111, Ho-166, Lu-177, Tl-201
Klinikai alkalmazás	Nukleáris kardiológia, agyi perfúzió, onkológia (antitestek/peptidek), receptor terápia
Voxel méretek	Klinikum: 0.8x0.8x0.8 cm
Sejt szám/voxel	Kisállat: 0.3x0.3x0.3 mm 2x10 ⁹ (0.2 pM per voxel) sejtenként kb. 10 ³ izotóp atom



Nanobiotechnology and In Vivo Imaging Center

Nanobiotechnológiai és In Vivo Képkalkító Központ

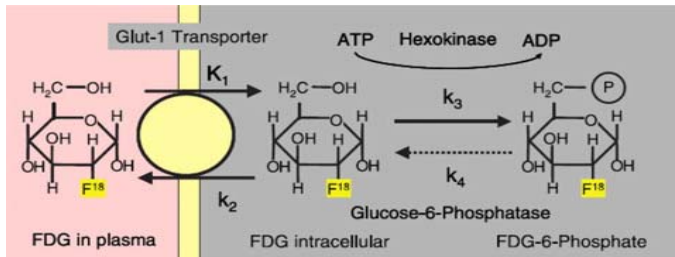
PET	511 keV Gamma-sugárzás 3D
Előnyei	Nagyon érzékeny Egésztest-képkalkítás Biokémiai, kvantitatív képkalkítás Klinikumban „jó” felbontás Fiziológiai izotóp-jelölések Radioterápiás (proton) képkalkítás, dózisztervezés
Hátrányai	Nagyon drága (radiofarmakonok is) Fizikai felbontási határ (positron range) Sugárterhelés
Kontrasztanyag	C-11, F-18, Ga-68, Cu-64, Zr-89
Klinikai alkalmazás	Onkológia (staging), KIR receptorrendszerek,
Voxel méretek	Klinikum: 0.5x0.5x0.5 cm
Sejt szám/voxel	Kisállat: 0.8x0.8x0.8 mm 5x10 ⁸ (0.02 pM per voxel) sejtenként kb. 10 ² izotóp atom



Zhang Y et al. Curr Radiopharm 2011; 4, 131

Nanobiotechnology and In Vivo Imaging Center

FDG-PET/CT (MRI)	511 keV Gamma-sugárzás 3D	A	PET hamis negatív interpretáció, lép aktivitásnak értelmezve a PET/CT-n egyértelmű malignitást, melyet a műtét szövetten megerősített
Előnyei	Egésztest-képkeltés Biokémiai, kvantitatív képkeltés Klinikumban „jó” felbontás Fiziológiai folyamat	B	
Hátrányai	Fizikai felbontási határ (positron range) Sugárterhelés Specifititás Bizonyos szervek esetén szenzitivitás is.	C	D
Kontrasztanyag	F-18-fluoro-deoxi-glükóz		
Klinikai alkalmazás	Onkológia (staging), gyulladás, FUO, KIR		

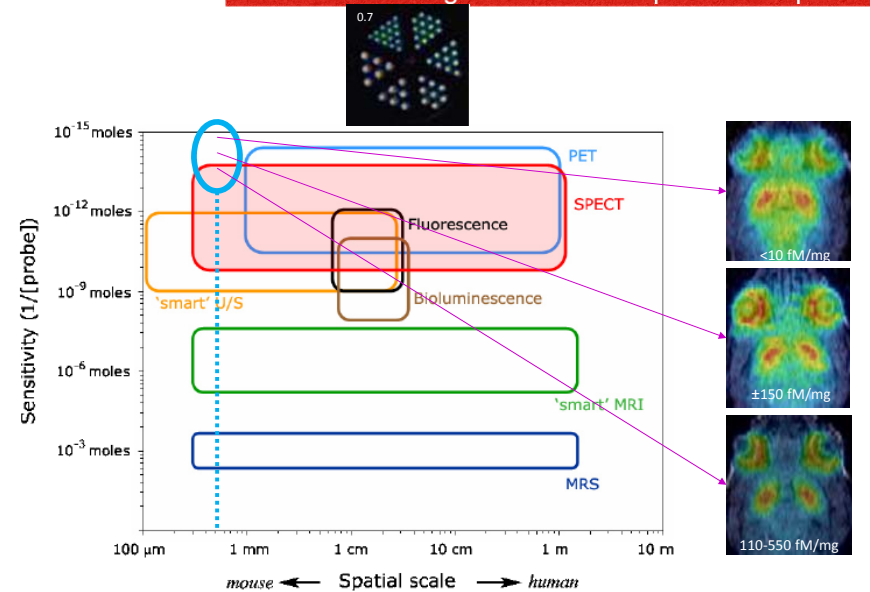


0,1% érzékenység, 100 beütés, 5 perc scan, 0,1 attenuáció, max. spec. radioaktivitás esetén



Zhang Y et al. Curr Radiopharm 2011; 4: 131

Zr-89-trasztuzumab PET képkeltéssel meningeális és májcsont áttétekben

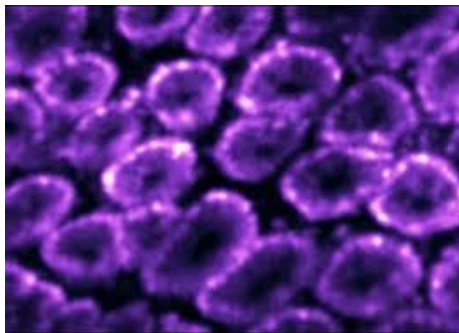


Université Paris Descartes

Szűrés-konfokális endo-mikroszkópia



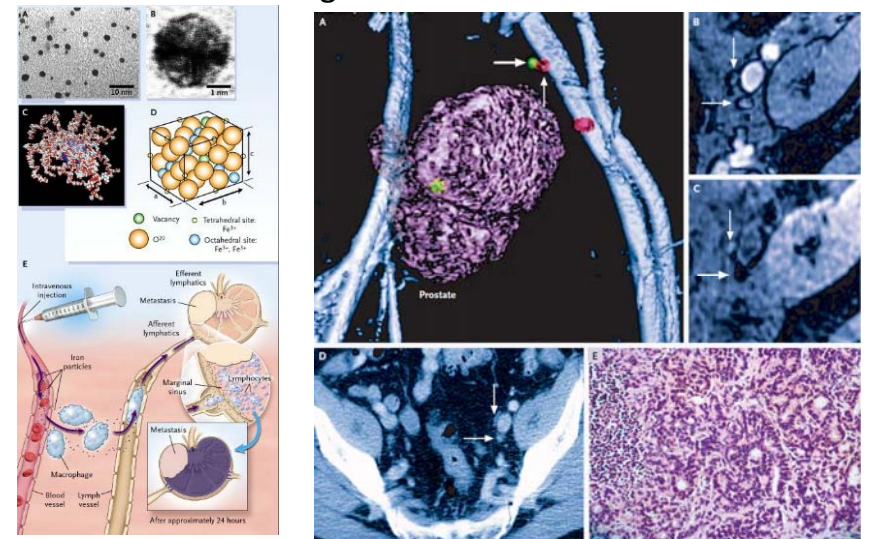
Nyelőcső, gyomor, epeutak, vastagbél, tüdő, húgyhólyag hámszöveteinek autofluoreszcencián alapuló száloptikás mikroszkópos vizsgálata



Emberi vastagbél kelyhek in vivo, valós idejű mikroszkópos képe

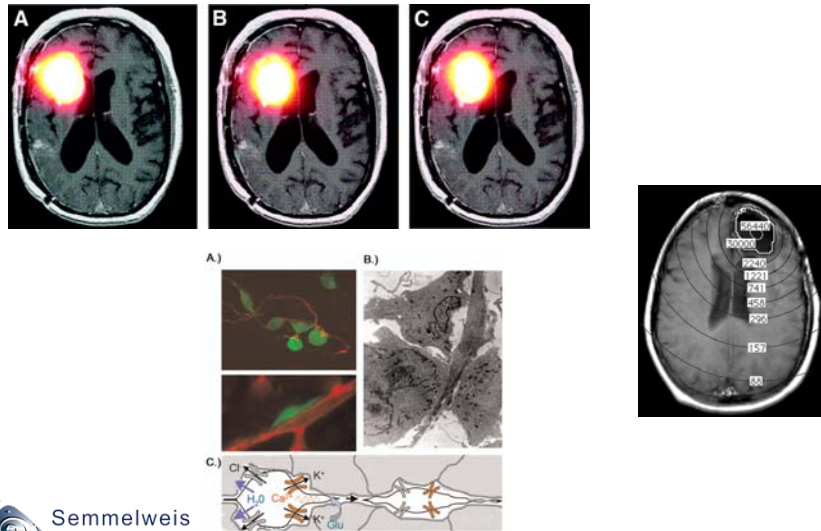


Diagnosztika-USPIO MRI



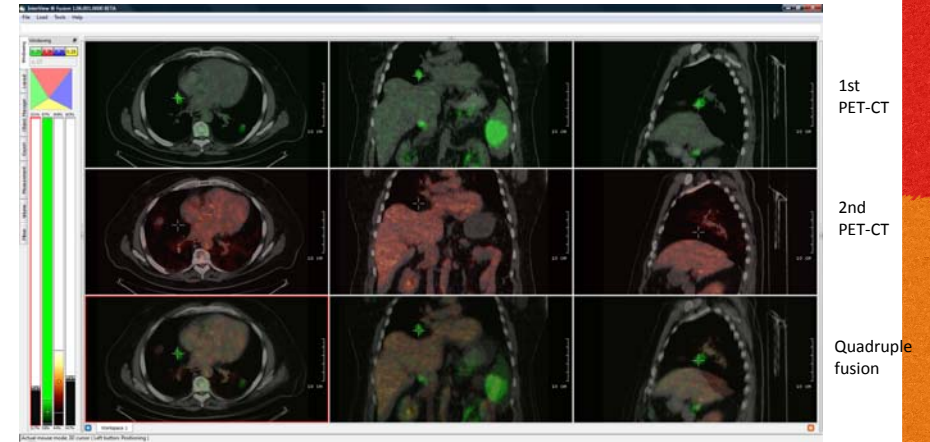
Harishngani M et al N.Engl. J:Med. 2003

Nanobiotechnológiai és In Vivo Képkalkotó Központ
 Személyre szabott kezelés: SPECT/MRI/RNT
 I-131 jelölt skorpió toxin TM-160



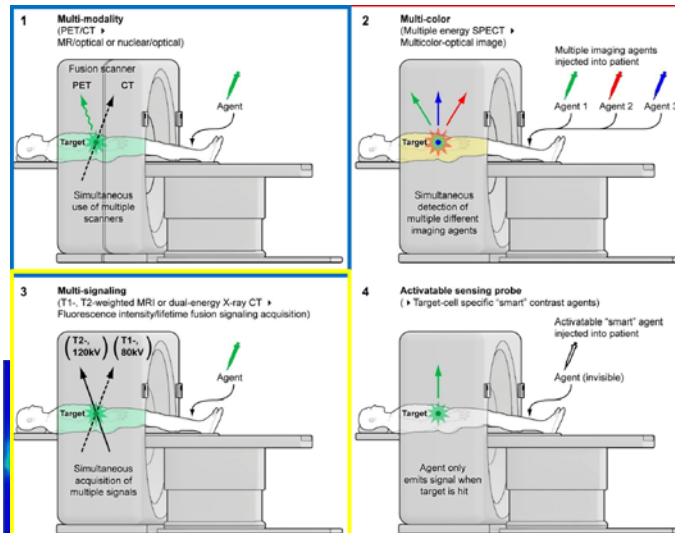
Nanobiotechnology and In Vivo Imaging Center

Nanobiotechnológiai és In Vivo Képkalkotó Központ
 Nyomon követés: FDG-PET



Nanobiotechnology and In Vivo Imaging Center

Nanobiotechnológiai és In Vivo Képkalkotó Központ
 Multimodális rendszerek lehetőségei



Nanobiotechnology and In Vivo Imaging Center

Nanobiotechnológiai és In Vivo Képkalkotó Központ
 Biolumineszcens Képkalkotás
 GM sejtek/állatok segítségével

Cooled (-90C) camera with large CCD chip area for high sensitivity

Resolves multiple bioluminescent reporters
 Even detects single cells *in vivo*

Low f-number and large diameter lens
 Gives high sensitivity and uniform light collection

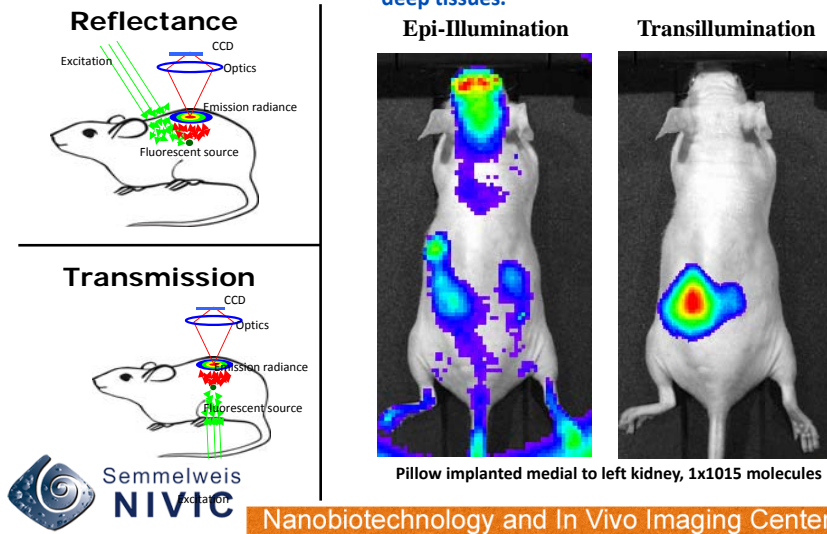
Rabinovich *et al.* (2008)
 PNAS 105(38): 14342-6

In vivo imaging of s.c. implanted T cells transduced with optimized firefly luciferase (left) and a 'single' 4T1 breast cancer cell (right)

Nanobiotechnology and In Vivo Imaging Center

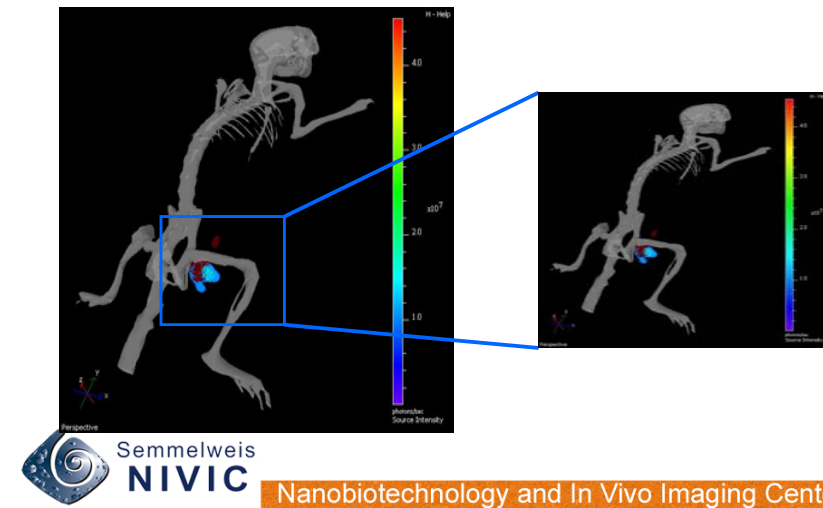
Nanobiotechnológiai és In Vivo Képalkotó Központ
Fluoreszcencia Képalkotás

Cooled (-90C) camera with large CCD chip area for high sensitivity and a choice of imaging modes for maximal flexibility, e.g., transmission for deep tissues.

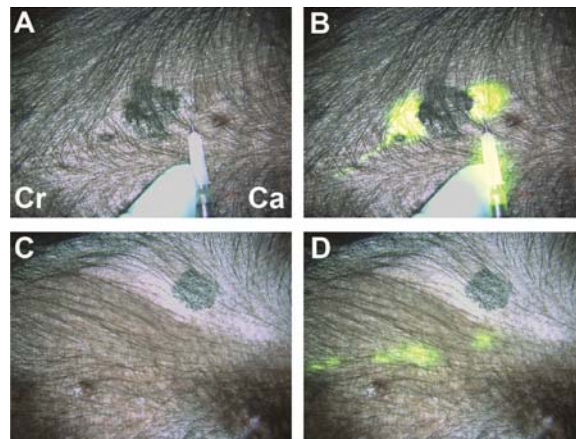


Nanobiotechnológiai és In Vivo Képalkotó Központ
3D Tomography (DLIT/FLIT)

Tumor Biolumineszcencia és Tumor-célzó molekula
Fluoreszcencia Tomográfiás képalkotása CT-vel mint
anatómiai referenciával



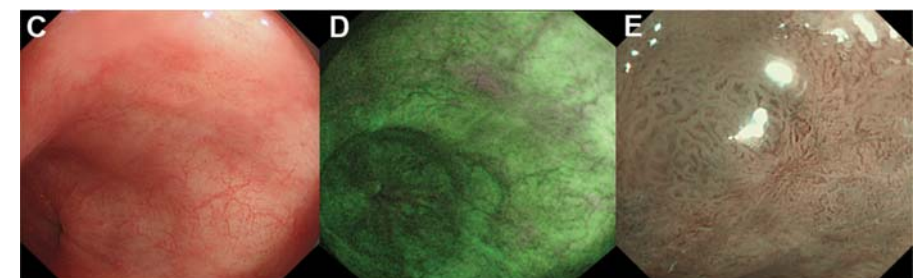
Nanobiotechnológiai és In Vivo Képalkotó Központ
Planáris fluoreszcencia



Fluoreszcens
sentinel
nyirokcsomó
keresés
melanomában a
bal testfélen

Nanobiotechnológiai és In Vivo Képalkotó Központ

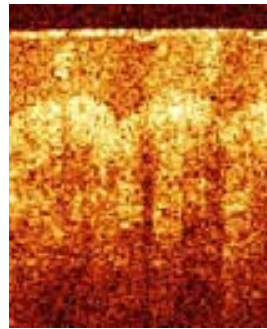
Planáris autofluoreszcencia-endoszkópia



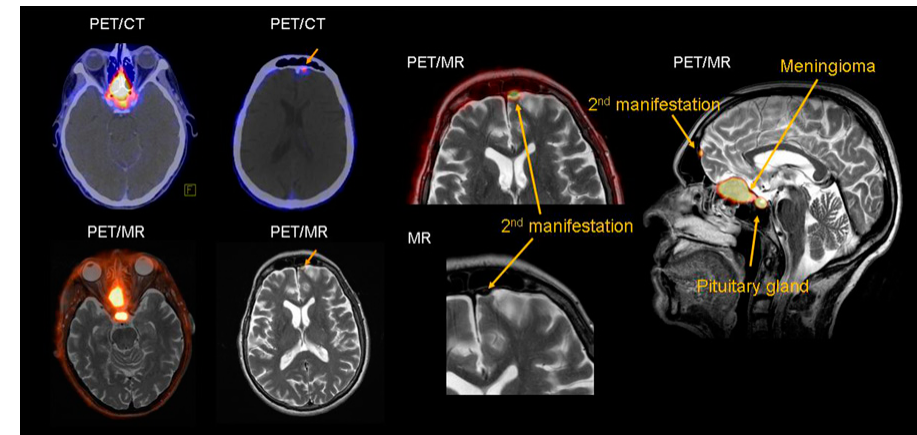
C: Barrett-oesophagus endoszkópia, D: autofluoreszcencia (lila) E: nagyfelbontású
endoszkópia-irreguláris mintázat. A biopszia adenoccc.-t igazolt.

OCT (optical coherence tomography)

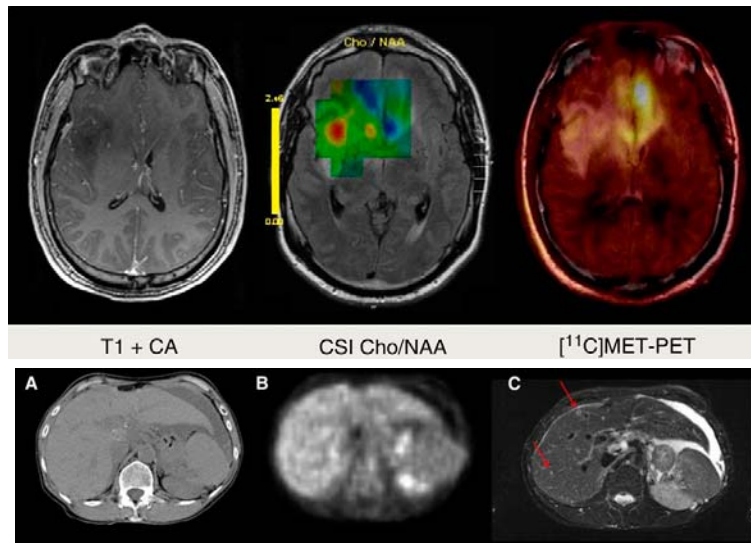
- Retina:
- Mucosák
- Porc
- Agyi vérkeringés
- Pár mm-es áthatolóképesség
- Mikronos felbontás
- Valós idejű képkeltés



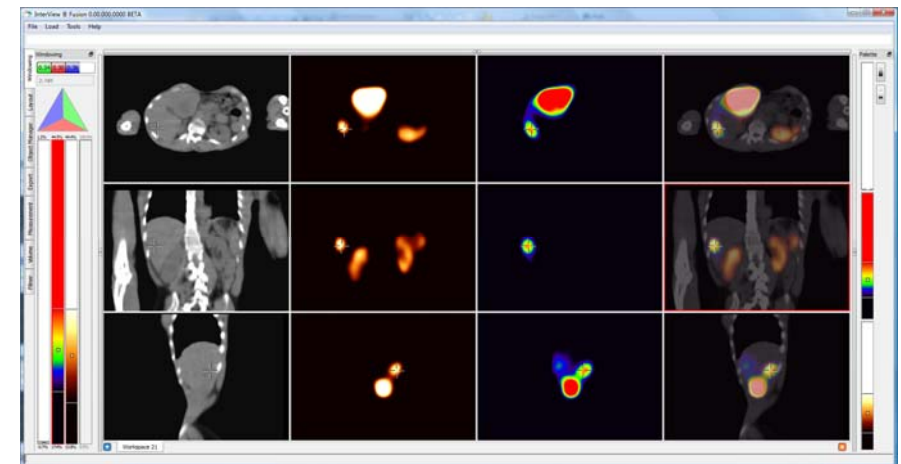
PET/MRI



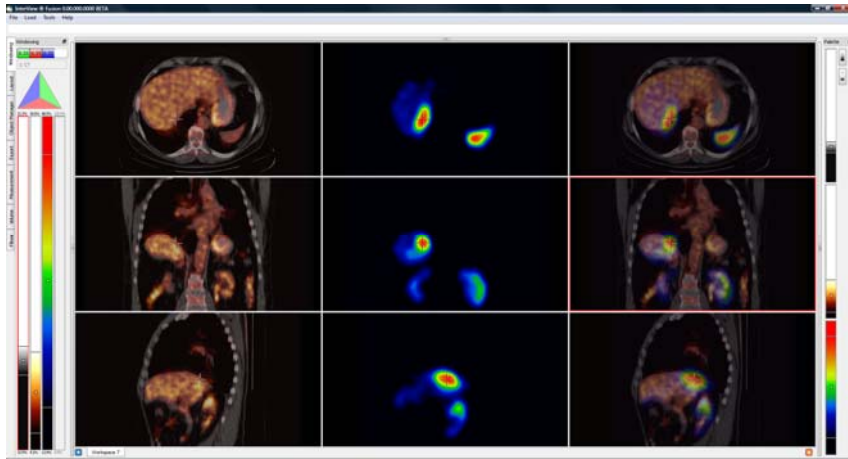
PET/MRI



SPECT/CT a terápiás döntésekben-neuroendokrin tumor receptor státusz és anyagcsere

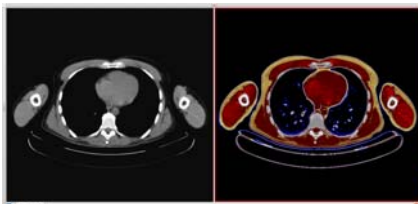
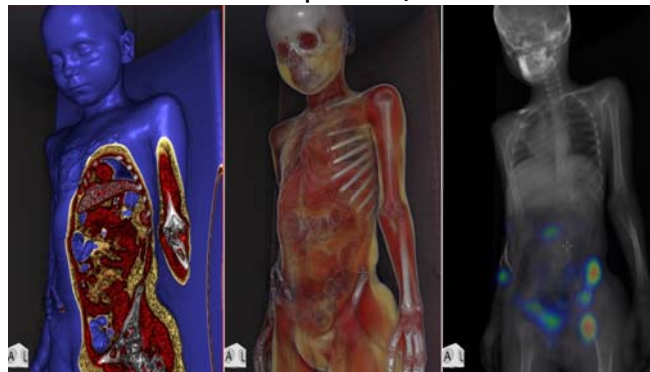


PET/SPECT/CT – Funkcionális és morfológiai információ együtt



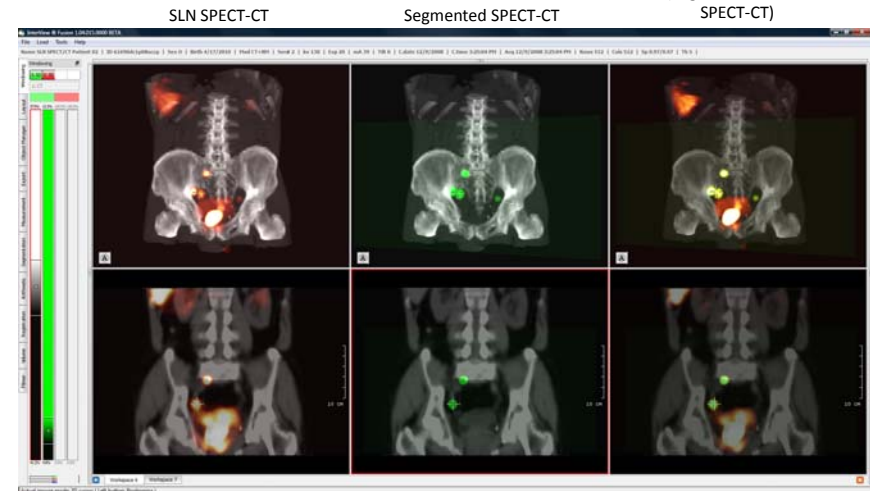
Funkcionális és morfológiai információ korrelációja

SPECT-CT look-up table/ablakolás

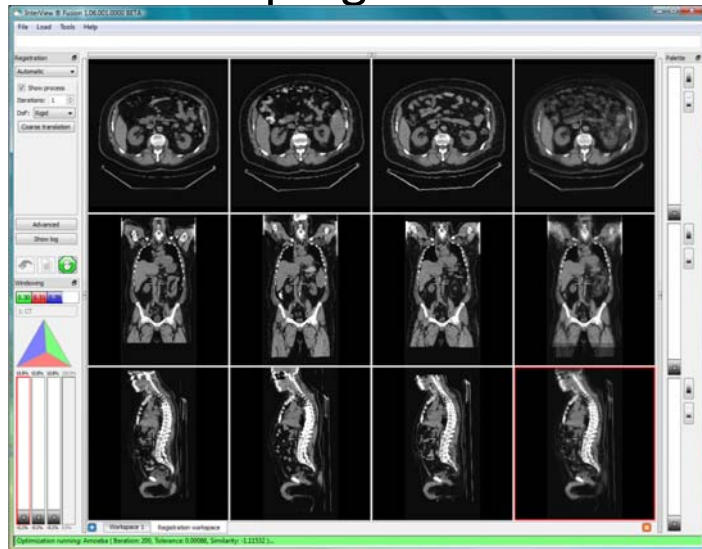


Képszegmentáció

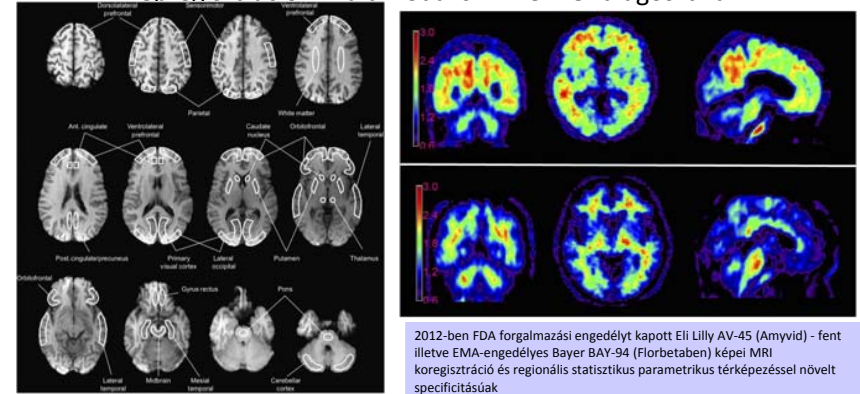
Triple fusion
(Segmented SPECT-
SPECT-CT)



Képregisztráció



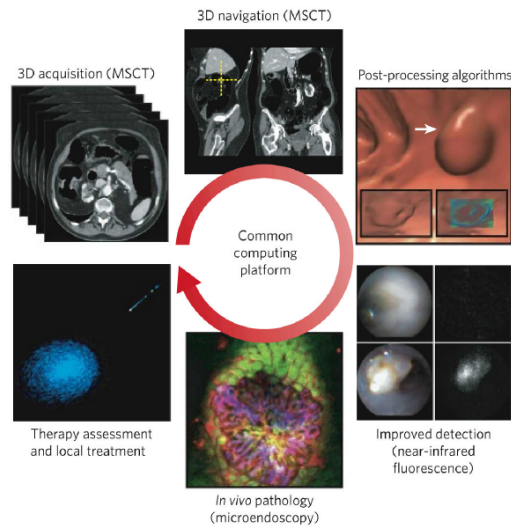
Képregisztráció - Multimodális Alzheimer diagnosztika



2012-ben FDA forgalmazási engedélyt kapott Eli Lilly AV-45 (Amyvid) - fent illetve EMA-engedélyes Bayer BAY-94 (Florbetaben) képei MRI koregisztráció és regionális statisztikus parametrikus térképezéssel növelt specificitásúak



Képkeltés klinikai rendszerben (MGH)



Köszönöm a figyelmet!

- domokos.mathe@cromedresearch.com

