

U n i v e r z i t a P a l a c k é h o v O l o m o u c i

Přírodovědecká fakulta

Katedra fyzikální chemie

**Zobrazování myšího modelu glioblastoma multiforme
pomocí PET/CT systému**

Bakalářská práce

Autor:

Hana Adámková

Školitel:

Mgr. Zbyněk Nový

Studijní program:

B 1407 Chemie

Studijní obor:

Management v chemii

Forma studia:

Prezenční

Olomouc 2014

Prohlášení

Prohlašuji, že bakalářskou práci jsem vypracovala samostatně pod vedením Mgr. Zbyňka Nového. Veškeré literární zdroje a informace, které jsem v práci použila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury. Souhlasím s tím, že práce je prezenčně zpřístupněna v knihovně Katedry fyzikální chemie Přírodovědecké fakulty Univerzity Palackého v Olomouci.

V Olomouci dne:

Podpis:

Poděkování

Děkuji Mgr. Zbyňku Novému za odborné vedení a konzultace. Taktéž děkuji Mgr. Jarmile Drymlové z Kliniky nukleární medicíny FN Olomouc za laskavé poskytnutí použitých radiofarmak, Mgr. Janě Vrbkové Ph.D. za pomoc se statistickým zpracováním dat a Jiřímu Večerkovi za péči o laboratorní zvířata.

Bibliografické údaje

Jméno a příjmení autora:	Hana Adámková
Název práce:	Zobrazování myšního modelu glioblastoma multiforme pomocí PET/CT systému
Typ práce:	bakalářská
Pracoviště:	Ústav molekulární a translační medicíny Lékařské fakulty Univerzity Palackého v Olomouci
Vedoucí práce:	Mgr. Zbyněk Nový
Rok obhajoby práce:	2014

Abstrakt:

Tématem bakalářské práce je neinvazivní zobrazování myšního modelu multiformního glioblastomu pomocí přístroje mikroPET/CT. Multiformní glioblastom je primární nádor mozku se špatnou prognózou. Vizualizace nádorů se prováděla za využití látek rutinně podávaných v humánní medicíně – ^{18}F -fluorodeoxyglukóza (FDG), ^{18}F -fluorotymidin (FLT) a ^{18}F -fluorocholin (FCH). Práce srovnává zobrazovací potenciál radiofarmak na studovaném myším modelu. Jako negativní kontrola sloužily zdravé (nenádorové) myši. Závěrem byl zhodnocen přínos jednotlivých radiofarmak k zobrazení studovaného nádoru a určena nejvhodnější látka pro toto vyšetření.

Klíčová slova:	PET, CT, zobrazování, glioblastoma multiforme, FDG, FLT, FCH
Počet stran:	73
Jazyk:	Česky

Bibliographical identifications:

Author's first name and surname: Hana Adámková

Title: Imaging of glioblastoma multiforme in a mouse model using PET/CT system

Type of thesis: bachelor

Department: Institute of Molecular and Translational Medicine of the Faculty of Medicine and Dentistry of Palacky University in Olomouc

Supervisor: Mgr. Zbyněk Nový

The year of presentation: 2014

Abstract:

The topic of bachelor thesis is non-invasive imaging of glioblastoma multiforme in a mouse model using micro PET/CT system. Glioblastoma multiforme is a primary brain tumor with poor prognosis. Visualization of tumors was performed by using radiopharmaceuticals administered routinely in human medicine - 18F-fluorodeoxyglucose (FDG), 18F-fluorothymidine (FLT) and 18F-fluorocholine (FCH). The thesis compares the imaging potential of these radiopharmaceuticals in a mouse model. A healthy non-tumourous mice were used as a negative control. In conclusion, the benefits of used radiopharmaceuticals for imaging the studied tumor were evaluated and the most appropriate radiopharmaceutical for this examination was determined.

Keywords: PET, CT, imaging, glioblastoma multiforme, FDG, FLT, FCH

Number of pages: 73

Language: Czech

OBSAH:	
1 ÚVOD	9
2 TEORETICKÁ ČÁST	10
2.1 Multiformní glioblastom	10
2.1.1 Epidemiologie	10
2.1.2 Diagnostika	11
2.1.3 Léčba	11
2.1.4 Buněčná linie U-87 MG a zvířecí modely multiformního glioblastomu	12
2.2 Zobrazovací metody v diagnostice glioblastomů	14
2.2.1 Pozitronová emisní tomografie (PET)	14
2.2.1.1 Princip PET	15
2.2.1.2 Detektory pro PET	15
2.2.1.3 Standardizovaná hodnota vychytávání	17
2.2.1.4 Využití PET	17
2.2.1.5 Výhody a nevýhody PET	18
2.2.1.6 Sekční metoda studia biodistribuce radiofarmak	18
2.2.2 Výpočetní tomografie (CT)	19
2.2.2.1 Princip CT	19
2.2.3 PET/CT	20
2.3 Radiofarmaka pro zobrazení nádorů pomocí PET	22
2.3.1 (¹⁸ F)-fluorodeoxyglukóza (FDG)	25
2.3.2 (¹⁸ F)-fluorotymidin (FLT)	28
2.3.3 (¹⁸ F)-fluorocholin (FCH)	31
3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	36
3.1 Cíl práce	36
3.2 Použité chemikálie	36
3.3 Použité přístroje	36
3.4 Laboratorní zvířata	37
3.5 Příprava myšního modelu multiformního glioblastomu	38
3.6 Zobrazovací metody	39
3.6.1 Příprava pro PET/CT vyšetření	39
3.6.2 Nastavení PET/CT	40
3.7 Statistické zpracování dat	41
4 VÝSLEDKY	42
4.1 Biodistribuce ¹⁸F-FDG	42
4.2 Biodistribuce ¹⁸F-FLT	47
4.3 Biodistribuce ¹⁸F-FCH	52
5 DISKUZE	57
6 ZÁVĚR	64
7 SUMMARY	65
8 POUŽITÁ LITERATURA	66
9 SEZNAM OBRÁZKŮ	71
10 SEZNAM TABULEK	72
11 SEZNAM GRAFŮ	73

Seznam použitých zkratek

%id/g	procento podané dávky na gram tkáně
¹¹ C-CHO	¹¹ C-cholin
¹¹ C-MET	Metyl- ¹¹ C-L-methionin
¹⁸ F- NaF	¹⁸ F-fluorid sodný
¹⁸ F-FDG	¹⁸ F-fluorodeoxyglukóza
¹⁸ F-FDOPA	¹⁸ F-L-Fluorodopa
¹⁸ F-FET	¹⁸ F-fluoroethyltyrosin
¹⁸ F-FCH	¹⁸ F-fluorocholin
¹⁸ F-FLT	¹⁸ F-fluorotymidin
¹⁸ F-FMISO	¹⁸ F-fluoro misonidazol
ATP	adenosintrifosfát
CK	cholinkináza
CT	výpočetní tomografie, <i>angl.</i> computed tomography
DBA	světlá, hnědá, jednobarevná; <i>angl.</i> dilute, brown, non-agouti
DNA	deoxyribonukleová kyselina
e ⁺	pozitron
EEG	elektroencefalografie
FDA	Úřad pro kontrolu potravin a léčiv; <i>angl.</i> Food and Drug Administration
FMD PUO	Lékařská fakulta Univerzity Palackého v Olomouci; <i>angl.</i> Faculty of Medicine and Dentistry Palacky University Olomouc
FN OL	Fakultní nemocnice Olomouc
GBM	multiformní glioblastom, <i>angl.</i> glioblastoma multiforme
GLUT 1 – GLUT 4	glukózový přenašeč
HU	Hounsfieldova jednotka
ChT1	cholinový transportér
J	játra
L	ledviny
LF UPOL	Lékařská fakulta Univerzity Palackého v Olomouci

LOR	přímka odezvy, <i>angl.</i> line of response
M	mozek
Mč	močový měchýř
micro-CT	micro výpočetní tomografie
micro-MRI	micro magnetická rezonance
micro-PET	micro pozitronová emisní tomografie
micro-SPECT	micro jednofotonová emisní výpočetní tomografie
MRI	magnetická rezonance, <i>angl.</i> magnetic resonance
n^0	neutron
PET	pozitronová emisní tomografie, <i>angl.</i> positron emission tomography
PET/CT	hybridní modalita pozitronové emisní tomografie a výpočetní tomografie
PET/MRI	hybridní modalita pozitronové emisní tomografie a magnetické rezonance
RF	radiofarmaka
S	srdce
SCID	těžká kombinovaná imunodeficience; <i>angl.</i> severe combined immunodeficiency
SUV	standardizovaná hodnota vychytávání, <i>angl.</i> standardized uptake value
Š	štítná žláza
TK-1	tymidin kináza
TMP	tymidin monofosfát
TP	tymidin fosfát
U-87 MG	lidský glioblastom a astrocytom, epitelální buněčná linie
ν_e	neutrino
VOI	oblast zájmu, <i>angl.</i> volume of interest
WHO	Světová zdravotnická organizace; <i>angl.</i> World Health Organization

1 Úvod

Glioblastom je primární mozkový nádor s velmi špatnou prognózou. Medián přežití nepřekračuje dobu pěti let, a to i přes agresivní léčbu. Kvůli infiltrativnosti glioblastomu je znemožněna jeho úplná chirurgická resekce. Kritériem úspěšnosti léčby pacienta s rakovinou je přesné vymezení rozsahu onemocnění. Řada diagnostických postupů je ovšem invazivní a nese sebou rizika a mortalitu. K zobrazování glioblastomů se využívá hybridní kombinace PET/CT (pozitronová emisní tomografie/výpočetní tomografie), která je v posledních letech nejvíce se vyvíjející zobrazovací metodou v lékařství. Tato metoda umožňuje funkční zobrazení, studium biodistribuce radiofarmak v těle a zároveň poskytuje informace o anatomické stavbě těla. K vývoji PET velmi pomohla syntéza radiofarmaka ^{18}F -fluorodeoxyglukózy, která zapříčinila rozšíření PET a vývoj hybridní přístrojů jako je PET/CT. PET/CT je nenahraditelná metoda v klinické diagnostice nádorů. V důsledku toho, že růst nádoru se zpočátku projevu jen na buněčné úrovni, pacient se o své nemoci dozví, až když je tumor v pokročilém stádiu. Při léčbě mozkových nádorů se můžeme setkat s mnohými nesnázeami například obtížné rozlišování recidivy nádorů od radiační nekrózy po léčbě. Z těchto důvodů je důležitý vývoj specifických radiofarmak, která zobrazují nádor a v okolní tkáni se nevychyťávají. Toto je také důležité pro předoperační vyšetření k zjištění přesné lokalizace nádorů.

Díky micro-PET/CT můžeme studovat chování jednotlivých nádorů a jejich radiodiagnostik na myším modelu s využitím menšího počtu laboratorních zvířat oproti klasické sekční metodě studia biodistribuce. Jedinou nevýhodou zůstává finanční nákladnost PET/CT přístroje a radiofarmak.

Tato práce se zabývá srovnáním tří radiofarmak využívaných při diagnostice multiformního glioblastomu. První z nich je ^{18}F -fluorodeoxyglukóza, která je nejrozšířenějším radiofarmakem v onkologii, dalším z nich je ^{18}F -fluorotymidin a posledním ^{18}F -fluorocholin. Výsledky této práce budou využity při dalším výzkumu glioblastomů v rámci Ústavu molekulární a translační medicíny LF UPOH.

2 Teoretická část

2.1 Multifonní glioblastom

Multifonní glioblastom (*angl.* glioblastoma multiforme, GBM) je nej malignější a nejčastější primární nádor mozku s velmi špatnou prognózou, složený z málo diferenciovaných nádorových astrocytů. Patří do IV. třídy mozkových nádorů podle Světové zdravotnické organizace (WHO). Buňky glioblastomu se vyznačují vysokou mitotickou aktivitou, proliferací a jsou geneticky stabilní [1, 2].

Glioblastom roste v mozkové tkáni s epicentrem v bílé hmotě mozkových hemisfér, přičemž v temporálním laloku má největší zastoupení (31 %). Dále se vyskytuje v parietálním (24 %), frontálním (23 %) a okcipitálním laloku (16 %).

Glioblastom se rozlišuje na primární a sekundární, podle toho jak vzniká. Primární glioblastom se vyvíjí velmi rychle *de novo* a není přesně známo, z čeho vzniká. Sekundární glioblastom vzniká z nižších stupňů gliomu (difúzního astrocytomu nebo anaplastického astrocytu).

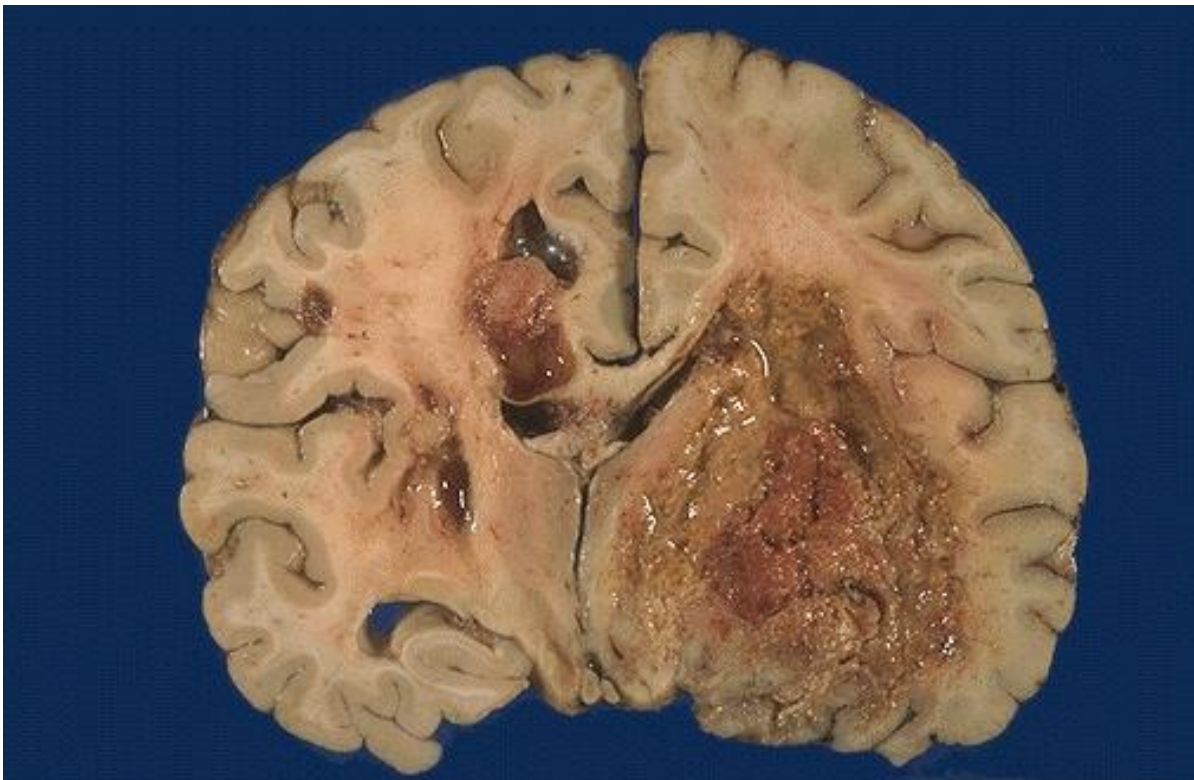
Klinickým příznakem nádoru je většinou epileptický záchvat, syndrom nitrolebeční hypertenze a organický psychosyndrom. Jelikož nádorové buňky se v mozku šíří difúzně do jednotlivých částí mozku, dochází tak k útlaku životně důležitých řídicích center (například pro dýchací aparát, metabolismus vody), který je poté příčinou smrti, a to i přes agresivní léčbu [3].

2.1.1 Epidemiologie

Již v roce 1978 byla publikovaná studie, kde se uvádí medián přežití pacientů s gliomy kratší než 5 let [4]. Jak bylo řečeno, glioblastom je nejčastější primární nádor představující 12-15% všech intrakraniálních nádorů a až 60% všech astrocytárních nádorů. Doba přežití pacienta s primárním glioblastomem je průměrně 15-19 měsíců, tato špatná prognóza je důsledkem invazivního růstu nádoru. Tento typ nádoru se vyskytuje nejčastěji u dospělých osob mezi 45. a 70. rokem života. Zajímavostí je, že se vyskytuje více u mužů v poměru 1,5:1. Původ onemocnění není znám, zřejmě je multifaktoriální; vliv tedy mají genetické i zevní faktory. Mezi zevní faktory patří působení virů, toxinů, chemických látek a radioaktivního záření. Sekundární glioblastom má dobu přežití závislou na rychlosti progresu z méně maligních typů gliomů na malignější. Průměrná doba přežití se udává až 5 let a většinou postihuje mladší pacienty (věk pod 45 let a děti) [2, 3, 5].

2.1.2 Diagnostika

Zobrazování nádorů je nezbytnou součástí stanovení diagnózy multiformního glioblastomu. Přesné stanovení rozsahu nádorů ovšem není možné ani po diagnostice. Při diagnostice se využívá počítačová tomografie (CT), magnetická rezonance (MRI), pozitronová emisní tomografie (PET). Méně využívané metody jsou elektroencefalografie (EEG), odebrání mozkomíšní tekutiny lumbální punkcí a její následná analýza. Tyto méně využívané metody ovšem neurčí rozsah nádoru a nedá se s nimi určit jeho poloha, kterou chirurg potřebuje znát před operací, a také neposkytují informace o úspěšnosti léčby. Při diagnostice GBM je dosud zlatým standardem biopsie tkáně [5].



Obr. 1: Multiformní glioblastom nacházející se v pravé hemisféře mozku člověka [6].

2.1.3 Léčba

Standardní léčbou GBM je chirurgická resekce spojená s ionizujícím zářením, od roku 2005 se současně používá alkylační chemoterapeutikum temozolomid. Medián přežití primárního glioblastomu se zvýšil z 12,1 měsíců na 14,6 měsíců, a proto je nutné dále výrazně zlepšit léčebné procesy. Léčebné procesy by mohly být úspěšnější, pokud by se zvýšila tumoricidní dávka záření a byl by tak zpomalen opětovný růst nádoru. Do značné míry je léčba tohoto infiltrativního onemocnění limitována i hematoencefalickou bariérou. Hematoencefalická

bariéra omezuje přestup makromolekul z krevního oběhu do mozku. Tudíž mnoho klinických studií potencionálních léků pro gliomy selhává částečně kvůli nepropustnosti hematoencefalické bariéry [1, 2, 7-10].

2.1.4 Buněčná linie U-87 MG a zvířecí modely multifornního glioblastomu

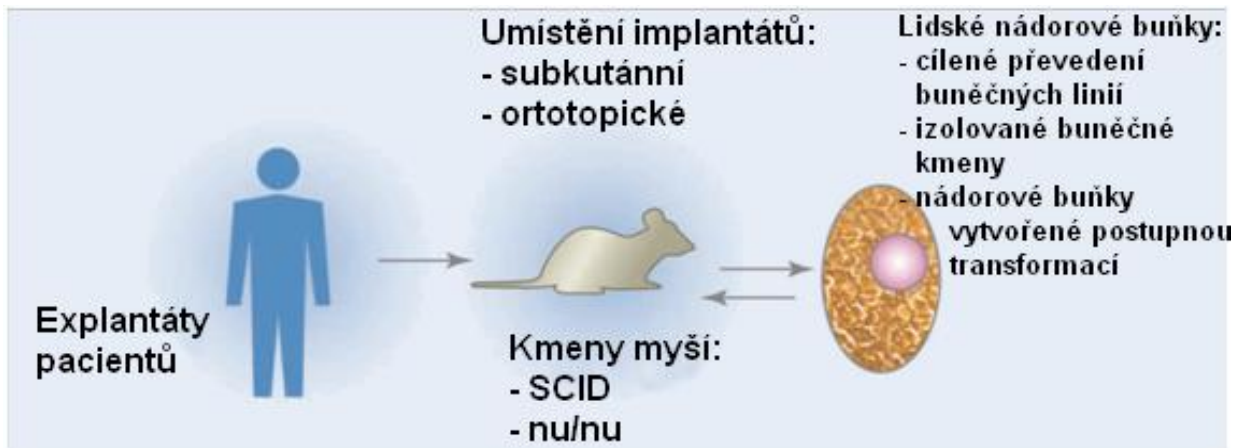
Lidská buněčná linie U-87 MG (lidský glioblastom a astrocytom, epiteliální buněčná linie; *angl.* human malignant glioma) je vhodná ke zkoumání IV. třídy mozkových nádorů dle WHO [11] a je vysoce expanzivní. Tato buněčná linie je požívána už více než 40 let. Buňky U-87 MG mají velký počet chromozomálních abnormalit v genomu, které jsou typické pro buněčné linie primárních nádorů. V roce 2010 byl publikován článek, který dekodoval tuto složitou genomickou sekvenci [12]. Za vznik této buněčné linie vděčíme J. Ponténovi, který ji v roce 1966 izoloval z nádoru čtyřicetiletého pacienta - bělocha [11]. Tuto buněčnou linii můžeme klasifikovat jako astrocytický nádor s nekrozami, což dle klasifikace WHO odpovídá multifornnímu glioblastomu. Tato buněčná linie je široce biologicky popsána s mnoha aplikacemi [13]. Její nevýhodou je, že nedokáže dokonale napodobit nekrotická ložiska lidských nádorů. Používá se buď jako subkutánní¹ nebo ortotopický² implantát, obě formy jsou hojně využívány u hlodavců k testování nových terapií, účinků léků a k pochopení fungování nádorů [8, 12, 14].

Zvířecí modely GBM se i geneticky upravují tak, aby lépe zachycovaly onemocnění. Preklinických modelů napodobujících lidský glioblastom je ale málo a to je jednou z překážek ve vývoji léčiv. Vývoj geneticky upravených myší – imunodeficientních a athymických nahých myší (nu/nu) umožnil další rozvoj terapeutických přístupů a zvýšila se tak spolehlivost transplantace [10, 14, 15].

Reprodukovatelnost lidských nádorů na zvířecím modelu není identická, což může být způsobeno heterogenitou lidských nemocí. V posledních letech dochází k lepšímu pochopení gliomů, což vede i k přesnějším zvířecím modelům [15].

¹ subkutánní implantáty jsou buňky, které se transplantují pod kůži [16]

² ortotopické implantáty jsou buňky, které jsou transplantovány do původní anatomické polohy nádoru [17]



Obr. 2: Obrázek demonstrující princip zavedení myšního modelu lidských nádorů.
 Explantáty z pacientů jsou cíleně umístěny subkutánně či ortotopicky do myších kmenů SCID nebo athymických nahých myší (nu/nu), dále je možný přenos nádorových buněk z myší do buněčných kultur [18].

2.2 Zobrazovací metody v diagnostice glioblastomů

Zobrazovací metody v diagnostice multiformního glioblastomu představují skupinu postupů, které umožňují neinvazivní pohled do těla pacienta. Počátkem 90. let byly na základě již zavedených metod pro humánní medicínu postupně vyvinuty přístroje micro-pozitronová emisní tomografie (micro-PET, *angl.* micro-positron emission tomography), micro-magnetická rezonance (micro-MRI, *angl.* micro-magnetic resonance imaging), micro-výpočetní tomografie (micro-CT, *angl.* micro-computed tomography) a micro-jednofotonová emisní výpočetní tomografie (micro-SPECT, *angl.* micro-single-photon emission computed tomography)³ pro zobrazování laboratorních zvířat. Tyto metody lze rozdělit na anatomické, které poskytují obraz anatomické a morfologické stavby těla (MRI, CT), a na metody nukleární medicíny, které poskytují funkční zobrazení (PET a SPECT). Principiální nevýhodou PET a SPECT je nemožnost přesné anatomické lokalizace zobrazené struktury. Nevýhodou CT a MRI je nedostatečná citlivost a specifčnost pro časnou diagnózu mnoha onemocnění. Hybridní modalitty, tedy sloučení anatomické a funkční metody do jednoho zařízení (např. PET/CT, PET/MRI), poskytují mnohem bohatší diagnostickou informaci. Dostupnost celotělového anatomického a funkčního zobrazení má výrazný vliv na kvalitu diagnostiky, identifikaci a lokalizaci onemocnění [19-21].

2.2.1 Pozitronová emisní tomografie (PET)

Pozitronové zobrazování má začátky v 50. letech 20. století, kdy ho Gordon Brownell a kol. vyvinuli [22]. PET je zobrazovací metoda nukleární medicíny, která poskytuje informace o biochemických procesech v těle. Nutnou součástí vyšetření pomocí PET je podání biologicky aktivní látky, značené pozitronovým zářičem, která se úměrně akumuluje v místech se zvýšenou metabolickou potřebou této látky. Je tedy zřejmé, že použitý radionuklid se vyznačuje β^+ přeměnou. Biologicky aktivní látkou je například ¹⁸F-fluorodeoxyglukóza (FDG), která po intravenózním podání putuje krevním řečištěm do jednotlivých orgánů; sleduje se její akumulace v tkáních se zvýšeným glukózovým metabolismem [21, 23]. „*Neinvazivní zobrazování molekulárně biologických procesů v živých subjektech pozitronovou emisní tomografií (PET) poskytuje zajímavé možnosti pro sledování metabolismu a detekci onemocnění u lidí a na zvířecím modelu.*“ [24].

³ Micro-přístroje jsou zmenšené zobrazovací systémy určené pro laboratorní zvířata, které jsou principiálně totožné s přístroji pro lidské pacienty.

2.2.1.1 Princip PET

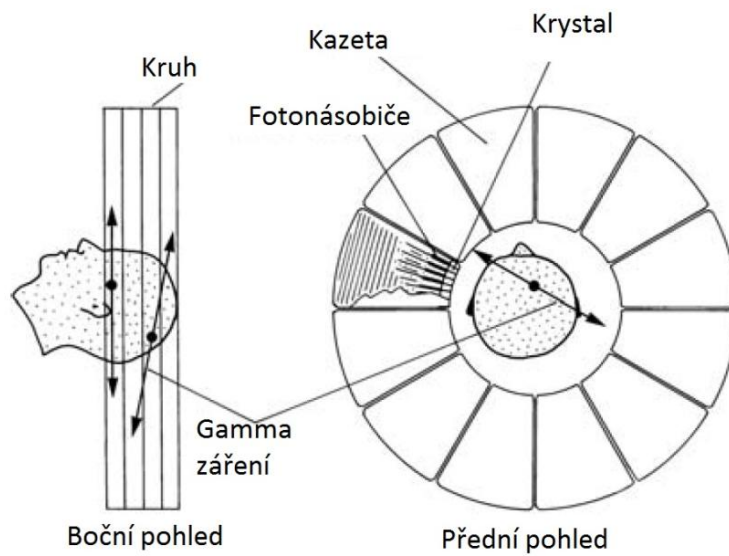
Před samotným měřením je nutné do těla podat adekvátní biologicky aktivní látku označenou pozitronovým zářičem - radiofarmakum. Pozitronový zářič je izotop, jehož jádra jsou neutronově deficitní a protonově bohaté. Aby proton dosáhl stability, změní se v jádře na neutron (n^0), pozitron (e^+) a neutrino (ν_e). Pozitrony jsou kladně nabitě elektrony emitované z jádra atomu. Pozitron interaguje s okolními tkáněmi, ztrácí svou energii a následně dochází ke střetnutí pozitronu s elektronem atomových obalů, jejich zániku a vyzáření dvou fotonů v protilehlých směrech, tzv. **anihilaci**. Oba vzniklé fotony mají energii 511 keV a jsou emitovány v úhlu 180° . Tento úhel se může lišit $\pm 6^\circ$ v závislosti na zbylé energii pozitronu před anihilací. Detekce pozitronu v tkáni tedy závisí na energii emitovaného pozitronu a ta zase na konkrétním izotopu. Tyto dva faktory způsobují, že přesnost detekce v tkáni se při PET zobrazování může lišit o 1,5 mm až 3 mm (pro ^{18}F činí 2,4 mm) [19, 23].

2.2.1.2 Detektory pro PET

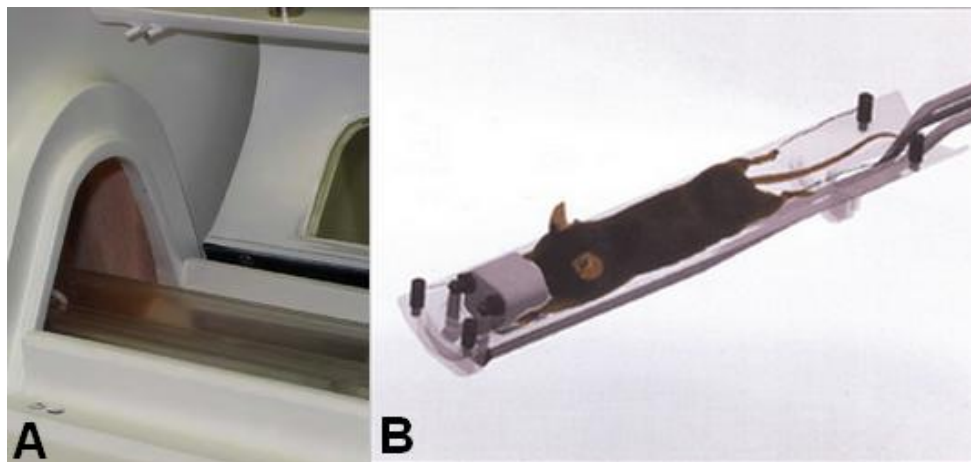
Scintilační detektory jsou pro PET v prstencové formaci obklopující zobrazovaný objekt. Detekují fotony vzniklé anihilací a jsou uspořádány v tzv. koincidenčním zapojení. Koincidenčním obvodem jsou zaznamenány takové dva fotony, které jsou emitované při anihilaci v protilehlých směrech v případě, že dopadnou na protilehlé detektory ve stejný čas (tzv. koincidenční časové okno). Koincidenční obvod poté poskytne impuls. Tento impuls spojuje dva detektory, kam dopadly fotony. Přímka protnutí těchto dvou detektorů se nazývá **přímka odezvy** (*angl.* line of response, LOR). Na této přímce je místo, kde došlo k anihilaci. Pokud nastane anihilace mimo tuto přímku, impuls se nezaznamená. Pomocí průsečíků těchto přímek lze rekonstruovat aktivitu radiofarmaka v jednotlivých řezech zobrazovaného objektu. Rekonstrukce obrazů se provádí z jednotlivých sinogramů⁴. Páry emitovaných fotonů jsou detekovány do sinogramů složených z jednotlivých projekcí v různých úhlech. Pomocí matematického algoritmu se převádí sinogramy na tomografické řezy tělem. PET poskytuje řádově stovky tomografických řezů celého těla [19, 22, 25].

Celý soubor detektorů je uspořádán prstencově kolem lůžka a skládá se z jednotlivých kazet (Obr. 3). Kazety jsou složeny z krystalů zachycujících emitované záření a z fotonásobičů, které zlepšují prostorové rozlišení. Použitý počet detekčních prstenců se liší podle typu použitého přístroje [22].

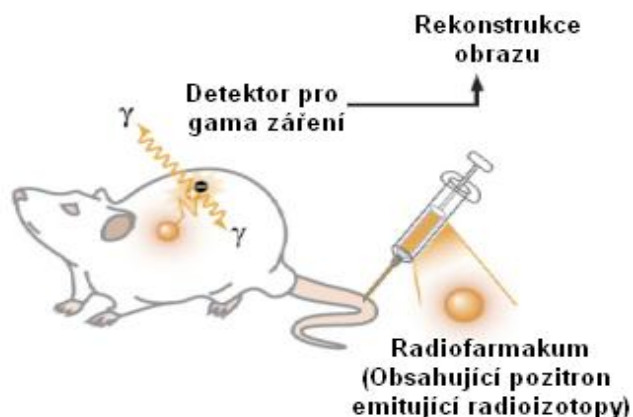
⁴ Sinogram – hrubá data všech získaných projekcí převedena do 2D zobrazení [22].



Obr. 3: Uspořádání detektoru pro PET. Přední pohled znázorňuje detekční prstenec složený z jednotlivých kazet s fotonásobičem a krystalem. Uprostřed pacient, ze kterého vylétají dva fotony při anihilaci a detekují se v detektoru [22].



Obr. 4: A-obrázek umístění posuvného lůžka v přístroji Albira micro-PET/CT/SPECT; B- lůžko s vyšetřovanou myší [26].



Obr. 5: Princip PET zobrazování. Myši aplikujeme radiofarmakum obsahující pozitron emitující radioizotopy, v jejím těle dojde k anihilaci a vyzáření dvou fotonů o stejné energii v úhlu 180°. Tyto fotony registruje detektor a následně se rekonstruuje obraz [27].

2.2.1.3 Standardizovaná hodnota vychytávání

Standardizovaná hodnota vychytávání (*angl.* standardized uptake value, SUV) je jednoduchý kvantifikační doplněk k vizuální interpretaci při PET zobrazování [28].

$$SUV = \frac{\text{průměrná koncentrace radioaktivity}}{\text{podaná dávka radioaktivity/tělesná hmotnost}} \quad (1)$$

Ve vzorci je průměrná koncentrace radioaktivity v MBq/ml, podaná dávka radioaktivity v MBq a tělesná hmotnost v kg. Průměrná koncentrace radioaktivity se získává z oblasti zájmu (*angl.* volume of interest, VOI). Jednotkou SUV je kg/ml.

Hodnota SUV je reprodukovatelným měřítkem akumulace radioaktivity, které nezávisí na typu tkáně. Její hodnotu nejvíce ovlivňuje tvar VOI, který je výsledkem vizuálního úsudku hodnotitele, aktivitou okolo VOI a šumem obrazu. Na ovlivnění se dále podílí rozlišení detektorů, doba vyhodnocování SUV a techniky využití při rekonstrukci získaných dat [28].

2.2.1.4 Využití PET

Pozitronová emisní tomografie je velmi citlivá na biologické procesy v těle a je tedy možné identifikovat, diagnostikovat, měřit a sledovat průběh nemoci. Největší využití PET je v onkologii, dále v neurologii a kardiologii. Mezi významné aplikace PET patří včasné určení nemoci, diagnostika malignity, rozlišení maligního onemocnění od benigního, detekce primárního nádoru, detekce recidivy, určení terapeutické účinnosti, zkoumání všech orgánů pro metastázy, odlišení Alzheimerovy nemoci od demence důsledkem stáří a např. určení kardiovaskulárních onemocnění, Huntingtonovy choroby a epileptických ložisek [19, 20].

2.2.1.5 Výhody a nevýhody PET

Metabolické informace zobrazené pomocí PET poskytují diagnostické výhody oproti anatomické informaci z CT či MRI. PETem lze odlišit benigní lézi od maligní, CT a MRI mají v tomto pouze omezenou přesnost. Lze identifikovat biologické změny a sledovat průběh nemoci dříve, než dojde k anatomické změně. Pomocí specifických radiofarmak můžeme rychle posuzovat odpověď na léčbu. Další výhodou této metody je diagnostická přesnost. Výhodou PET je také použití radiofarmak, jejichž analogy se přirozeně vyskytují v těle.

Nevýhodou PET je konstrukční náročnost přístroje a prvotní náklady spojené s jeho pořízením. Další nevýhodou je, že při samotném PET snímání nelze přesně lokalizovat místo léze, což se eliminuje při zavedení hybridních přístrojů PET/CT a PET/MRI [20, 23, 29].

Alternativou k PET je jednofotonová emisní výpočetní tomografie (SPECT). U SPECT zobrazování se používají čisté gama zářiče, zatímco u PET se používají pozitronové zářiče s kratším tj. vhodnějším poločasem rozpadu. PET využívá koincidenční zapojení obvodů poskytující snímky s vyšším rozlišením, a to umožňuje lepší korekci výsledného obrazu. Další výhodou PET oproti SPECT je využívání biomolekul, které se fyziologicky vyskytují v těle. Citlivost stanovení při PET zobrazování je 30-krát vyšší než u SPECT [29].

2.2.1.6 Sekční metoda studia biodistribuce radiofarmak

Alternativou k PET v oblasti výzkumu biodistribuce radiofarmak je sekční metoda studia biodistribuce. Při užití této metody se vzorky tkání a orgánů musí vypreparovat z usmrcených laboratorních zvířat a následně se uloží jednotlivě do scintilačních lahvíček. Gama záření emitované z radionuklidu v jednotlivých orgánech se měří pomocí **automatického gama počítače**. V jednom zvířeti takto pochopitelně nelze měřit biodistribuci radiofarmaka ve více časových bodech, z toho vyplývá značná náročnost na spotřebu laboratorních zvířat. Vychytávání radiofarmaka v jednotlivých orgánech je vyjádřeno jako procento podané dávky na gram tkáně (%id/g). Výhodou je automatizovaná analýza velkého počtu vzorků na gama počítači a jeho vysoká citlivost, díky níž je možné pro analýzu použít menší dávku radiofarmaka než při PET zobrazení [22, 30]. V porovnání s PET a SPECT se jedná o invazivní metodu, která se nedá aplikovat v klinické diagnostice.

2.2.2 Výpočetní tomografie (CT)

Základy výpočetní tomografie položil v roce 1963 Allan Mac Leod Cormack svou teorií snímování jednotlivých vrstev lidského těla a jejich následné rekonstrukce. Na základě této teorie v roce 1972 Godfrey Newbold Hounsfield zkonstruoval klinicky použitelný výpočetní tomograf. Zásadní vývoj výpočetních tomografů nastal v roce 1989, kdy byl vyvinut helikální výpočetní tomograf umožňující rekonstrukci obrazu ve třídídimenzionální rovině. Vývoj výpočetních tomografů se nezastavil ani v dnešní době. Výpočetní tomograf je nezastupitelný přístroj v klinické praxi. Je to neinvazivní zobrazovací technika, zobrazující anatomickou a morfológickou stavbu těla. Pokročilejší variantou anatomického zobrazování než CT je MRI [20, 31].

2.2.2.1 Princip CT

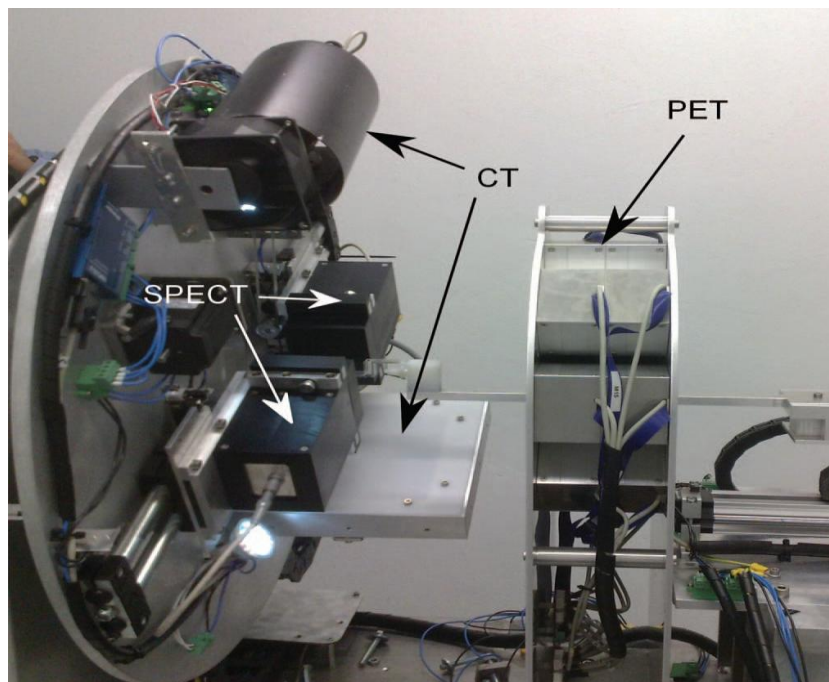
CT je složeno z gantry⁵, rentgenky, detektoru, posuvného lůžka a na některých přístrojích také z chladicího systému. Kolem lůžka po kruhové dráze obíhá rentgenka a soustava detektorů, která detekuje záření prošlé zkoumaným subjektem. Prošlé záření má nižší intenzitu než vysílané záření. Detektory změní prošlé záření na elektrický signál, který je transformován na číselné informace. Tato hrubá data se zpracovávají v počítači až na výsledné projekce. Tomografické řezy jsou rekonstruovány matematickým algoritmem z jednotlivých projekcí. Rekonstrukce celkového obrazu vychází z řady projekcí získaných z různých úhlů snímání. Každý objem určité tkáně – voxel, vykazuje specifickou míru absorpce záření. Z jednotlivých projekcí vzniknou data, která se v počítači složitými operacemi zpracovávají tak, aby vznikly jednotlivé obrazy. Je tedy zřejmé, že počet projekcí ovlivňuje rozlišovací schopnost přístroje. Míra absorpce záření (tj. denzita) v jednotlivých tkáních se vyjadřuje Hounsfieldovými jednotkami (HU), které jsou na CT obrazech reprezentovány v odstínech šedi [32, 33].

Důvodem, proč samotné CT není ideální při diagnostice glioblastomu, je jeho nedostatečná citlivost a při počátečním šíření glioblastomu nemusí glioblastom zobrazit. Mnohem citlivější metodou je magnetická rezonance (MRI), která má navíc nulovou radiační zátěž pro pacienta, avšak MRI má též výrazně vyšší pořizovací cenu než CT [34].

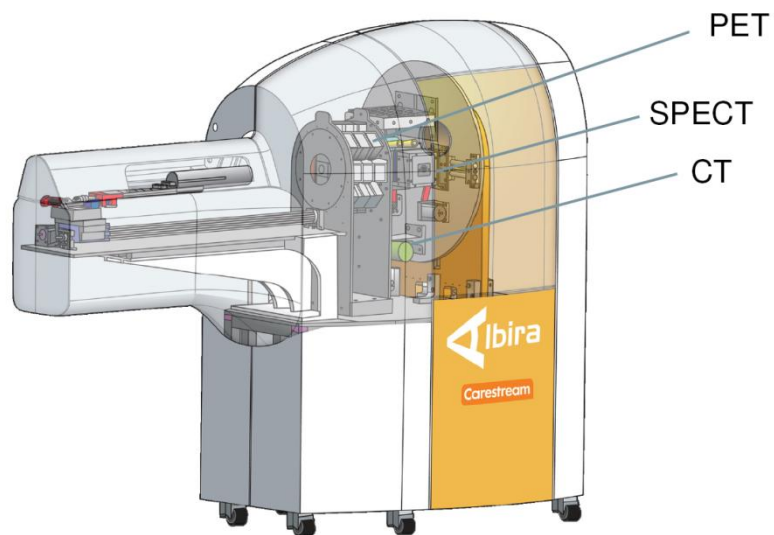
⁵ Gantra je vyšetřovací tunel, kterým projíždí lůžko s pacientem.

2.2.3 PET/CT

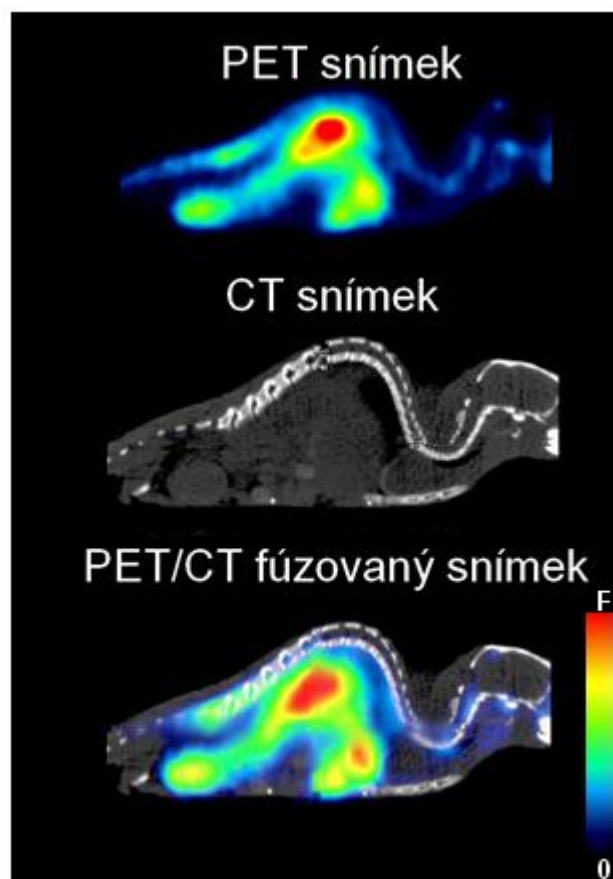
Hybridní PET/CT je jednou z nejrychleji se vyvíjejících oblastí lékařského zobrazování. Přínosem této metody bylo sloučení anatomické a funkční informace do jednoho přístroje, který může poskytnout trojrozměrný obraz anatomických i biologických informací v jednom snímku [19]. Kombinovaný režim nám zpřesňuje výběr oblasti zájmu (*angl.* volume of interest, VOI) a eliminuje některé druhy šumu jako například pohyb subjektu (protože není nutné přesouvat pacienta mezi přístroji). Záření radiofarmaka v těle subjektu nemá vliv na výsledný snímek CT. Výhodou tohoto hybridního přístroje je jeho sensitivita a specifická, nevýhodou je jeho technická náročnost a náklady spojené s jeho pořízením [20, 21]. Sanchéz a kol. vyvinuli přístroj složený ze tří komponent – micro-PET/SPECT/CT uzpůsobený pro hlodavce, komerčně je dostupný pod názvem Albira PET/SPECT/CT systém [31]. Technické uspořádání tohoto přístroje je na obr. 6 a na obr. 7.



Obr. 6: Technické uspořádání micro-PET/CT/SPECT systému. Z pravé strany vidíme posuvné lůžko, které prochází nejprve PET systémem, poté do CT a SPECT systému [31].



Obr. 7: Přístroj Albira PET/SPECT/CT [27].



Obr. 8: Demonstrační snímky z pozitronové emisní tomografie, výpočetní tomografie a fúzovaný snímek PET/CT při použití ^{18}F -fluorocholinu. Snímky pocházejí z nenádorových myší, PET snímek je 90 min po podání radiofarmaka a fúzovaný snímek je 120 min po podání radiofarmaka.

2.3 Radiofarmaka pro zobrazení nádorů pomocí PET

Definice radiofarmaka

Radiofarmaka jsou chemické sloučeniny složené z radionuklidu a tzv. nosiče, obsahujícího chemicky nebo biologicky aktivní látky. Radionuklid je zde zdrojem ionizujícího záření, které je následně detekováno. Radiofarmaka „poskytují informace o kinetice, orgánové distribuci, metabolismu a vylučování aplikovaných sloučenin.“ [35]. Nosič je látka, která zajišťuje žádané farmakologické chování radiofarmaka v těle pacienta. Vlivem radioaktivní přeměny se s časem množství radionuklidu exponenciálně snižuje.

Radiofarmaka mohou obsahovat nuklidy s krátkým poločasem rozpadu (minuty/hodiny), anebo s dlouhým poločasem rozpadu (dny/týdny). Pro diagnostickou nukleární medicínu jsou však vhodnější radiofarmaka s krátkým poločasem rozpadu.

Radiofarmaka se připravují pro diagnostické i terapeutické účely. V případě terapeutických radiofarmak využíváme ionizující záření (α , β^-), které ničí cílové tkáně. V případě diagnostických radiofarmak jde o zobrazení patofyziologických změn v těle pacienta či např. *in vivo* testy fyziologických funkcí u laboratorních zvířat.

Požadavky na diagnostická radiofarmaka dle Českého lékopisu 2009:

- Emise čistého gama záření v rozsahu 100-511 keV
- Dostatečně krátký poločas rozpadu
- Radioaktivní přeměnou musí vzniknout stabilní nuklid nebo nuklid s dlouhým poločasem rozpadu, který se chová prakticky jako nuklid stabilní
- Dostatečná radiochemická čistota⁶ radiofarmaka (zpravidla nad 95%)

Příprava radionuklidů pro výrobu radiofarmak

Radionuklidy, které se používají v nukleární medicíně, se připravují uměle v cyklotronech, jaderných reaktorech nebo v generátorech radionuklidů. Radiofarmaka se obvykle na odděleních nukleární medicíny připravují pomocí kitů. Kit obsahuje všechny neradioaktivní látky, aby po přidavku radionuklidu vzniklo požadované radiofarmakum. Výhodou kitů je rychlá a standardizovaná příprava radiofarmaka před aplikací [35].

⁶ Radiochemická čistota je podíl radioaktivity požadované chemické formy radionuklidu k celkové radioaktivitě přípravku [35].

Radiofarmaka pro PET vyšetření se obvykle na pracovištích nukleární medicíny nepřipravují, ale jsou dovážena přímo od specializovaných výrobců.

¹⁸F pozitronový zářič

V posledních dvaceti letech se staly velmi populární pozitronové zářiče. Kromě nejužívanějšího ¹⁸F řadíme mezi pozitronové zářiče i ¹¹C, ¹³N, ¹⁵O, ⁶⁴Cu, ⁶⁸Ga, ⁸⁶Y. ¹⁸F je vhodným radionuklidem díky nízké pozitronové energii (0,64MeV) a krátkému dosahu pozitronů v tkáni (2,4 mm). Je možné jej vyrábět v cyklotronech s vysokou specifickou aktivitou. Velkou výhodou je také dostatečně krátký poločas rozpadu ($T_{1/2}$ = 109 min), který ale zároveň umožňuje přepravu do PET center cílových nemocnic. ¹⁸F je perspektivní zářič kvůli vysoké elektronegativitě fluoru, která zajišťuje velkou ochotu vázat se s mnoha organickými a anorganickými sloučeninami [20].

Tabulka 1: Pozitronové zářiče využitelné při zobrazování mozku [20, 36].

Nuklid	Dceřiný produkt	Poločas rozpadu (min)	Max. dosah e ⁺ ve vodě (mm)
¹¹ C	¹¹ B	20,48	4,1
¹⁸ F	¹⁸ O	109,0	2,4
⁶⁴ Cu	⁶⁴ Ni	762	2,9
⁶⁸ Ga	⁶⁸ Zn	68,1	8,2

Výroba ¹⁸F

Existují dvě formy ¹⁸F a to nukleofilní fluoridové ionty (¹⁸F⁻) a elektrofilní molekulární fluor (¹⁸F-F₂). Nejběžnější výroba fluoridových iontů je protonovým bombardováním ¹⁸O atomů v cyklotronu. Tato metoda se také používá pro syntézu PET radiofarmak. K výrobě ¹⁸F-F₂ se využívá jaderné reakce deuteronového bombardování ²⁰Ne atomů v cyklotronu. Radioaktivní přeměnou ¹⁸F vzniká stabilní izotop ¹⁸O [20].

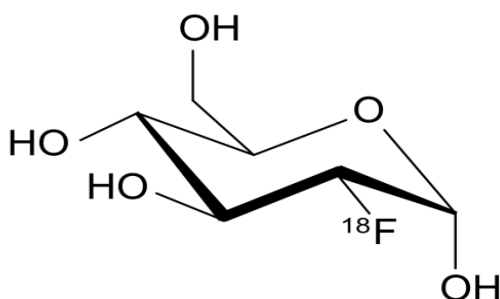
V tabulce 2 je uveden přehled vybraných radiofarmak využitelných při PET zobrazování nádorů. Podrobný popis těchto látek by byl nad rámec bakalářské práce. V naší studii se pracuje se třemi radiofarmaky a to s FDG, FLT a FCH, které jsou podrobně popsány níže. Tyto tři látky byly vybrány na základě vhodných farmakologických vlastností a též na základně jejich lokální dostupnosti ve FN Olomouc.

Tabulka 2: Přehled vybraných klinicky užívaných PET radiofarmak k zobrazování nádorů.

Zkratka	Název radiofarmaka	Mechanismus akumulace	Indikace	Rok schválení FDA	Citace
¹⁸F-FDG	¹⁸ F-fluorodeoxygluóza	Substrát pro hexokinázu v metabolismu glukózy	Rakovina prsu Rakovina jícnu Karcinom hlavy a krku Rakovina plic Rakovina štítné žlázy Rakovina ledvin Rakovina slinivky	2000 glukózový metabolismus v nádoru	[20] [29] [39]
¹⁸F-FLT	¹⁸ F-fluorotymidin	Substrát pro tymidin kinázu v syntéze DNA, odráží proliferční aktivitu	Rakovina plic Nádory mozku (gliomy) Lymfomy Rakovina prsu Rakovina tlustého střeva Rakovina hlavy a krku	Klinická studie fáze 2	[20] [25] [37] [39] [41]
¹¹C-MET	Metyl- ¹¹ C-L-methionin	Metabolismus esenciálních mastných kyselin a syntéza proteinů	Nádory mozku (gliomy)	Klinická studie fáze 0	[38] [39] [42]
¹⁸F-FCH	¹⁸ F-fluorocholin	Substrát pro cholin kinázu v metabolismu cholinu. Biosyntéza membrán	Rakovina prostaty Rakovina ledvin Nádory mozku (gliomy)	Klinická studie fáze 0	[20] [37] [40] [43]
¹¹C-CHO	¹¹ C-cholin	Substrát pro cholin kinázu v metabolismu cholinu. Biosyntéza membrán	Nádory mozku (gliomy) Rakovina prostaty	2012 rakovina prostaty	[20] [40] [44]
¹⁸F-FET	¹⁸ F-fluoroethyltyrosin	Transport aminokyselin a syntéza proteinů	Nádory mozku (gliomy)	Klinická studie fáze 2	[40] [48]
¹⁸F-NaF	¹⁸ F-fluorid sodný	Začlenění do hydroxyapatitých krystalů v kostech	Kostní nádory	2011 skenování skeletu	[20] [25] [46]
¹⁸F-FMISO	¹⁸ F-fluoro misonidazol	Indikátor pro stanovení nádorů hypoxií	Nádory mozku (vysokostupňové gliomy) Plicní nádory Nádory hlavy a krku	Klinická studie fáze 2	[20] [45] [47]
¹⁸F-FDOPA	¹⁸ F-L-Fluorodopa	Prekurzor syntézy dopaminu v mozku a v nervové soustavě	Melanom Rakoviny štítné žlázy Nádory mozku (gliom, meningiom) Nádory hlavy a krku	Klinická studie fáze 2	[20] [37] [40] [49]

2.3.1 (¹⁸F)-fluorodeoxyglukóza (FDG)

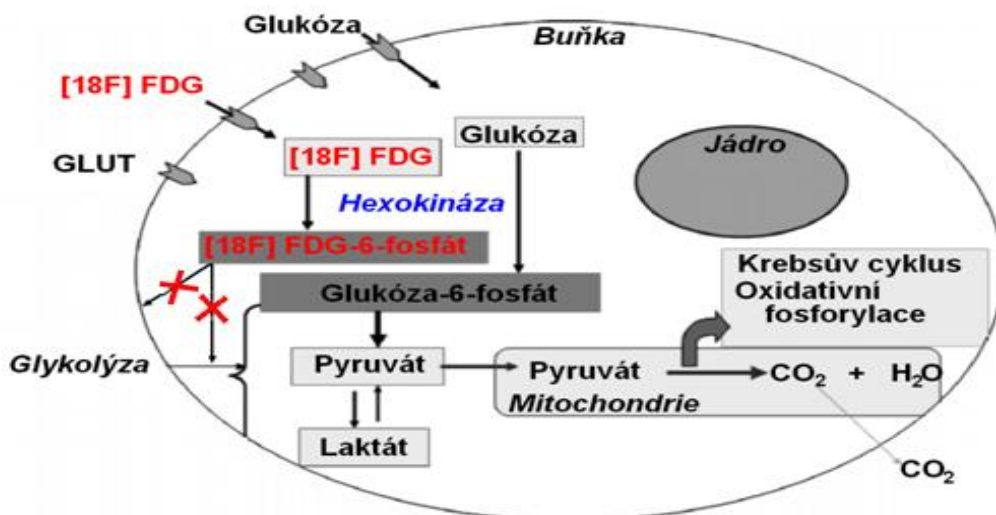
Celým názvem 2-deoxy-2-fluoro-D-glukóza. V roce 1968 byla popsána syntéza 2-Deoxy-2-fluoro-D-glukózy, tedy FDG neoznačené radioaktivním fluorem, na akademické půdě Univerzity Karlovy [50]. Až v roce 1978 byla popsána syntéza ¹⁸F-FDG [51], která ovšem byla velmi složitá, a tak v roce 1982 byla zavedena jednodušší syntéza [52]. FDG se přezdívá „molekula století“, jelikož je nejpoužívanějším radiofarmakem v klinickém PET vyšetření. FDG přispěla k rychlému vývoji PET technologie. FDG je analog glukózy, který má na pozici 2 nahrazenou hydroxylovou skupinu (OH⁻) pozitronovým zářičem ¹⁸F. Enzym hexokináza FDG fosforyluje stejně, jako by fosforylovala glukózu. Fosforylovaná FDG není dále metabolizována a akumuluje se v buňce. Pomocí FDG tedy sledujeme metabolismus a utilizaci glukózy v organismu [20, 53].



Obr. 9: Strukturní vzorec FDG [20].

Glukóza je zdrojem energie pro všechny buňky lidského těla, pro mozek je dokonce jediným zdrojem. Do buněk vstupuje po koncentračním spádu (usnadněná difúze) pomocí přenašeče (GLUT-1 až GLUT-4). Dalším krokem je fosforylace glukózy na glukóza-6-fosfát enzymem hexokináza, a dále je metabolizována glykolytickou cestou [20].

Po intracelulárním podání, FDG putuje krví do jednotlivých buněk, kde je fosforylována hexokinázou na [¹⁸F]FDG-6-fosfát. [¹⁸F]FDG-6-fosfát není substrátem pro další glykolytické dráhy, tedy neúčastní se glykolýzy a je zachycen v buňce, kde dochází k jeho velmi pomalé defosforylaci glukóza-6-fosfátázou, což je příčinou její akumulace v buňce. Po radioaktivním rozpadu ¹⁸F vzniká 2- [¹⁸O]-deoxyglukóza, která je následně protonována a metabolizována klasickou glykolýzou na vodu a oxid uhličitý [20, 54]. Graficky znázorněno na obr. 10.



Obr. 10: Transport FDG z extracelulárního prostoru do buňky a její metabolismus. ^{18}F -FDG a glukóza vstupují do buňky přes glukózoové přenašeče a jsou fosforylovány hexokinázou na FDG-6-fosfát/glukóza-6-fosfát. FDG-6-fosfát není dále metabolizován a kumuluje se v buňce, přičemž glukóza se účastní dalších metabolických procesů (Krebsův cyklus, oxidativní fosforylace) [20].

Nevýhody FDG: Míra akumulace FDG v zánětlivé tkáni může být totožná či větší než akumulace FDG v nádoru. Tím nám může znemožňovat zobrazování účinků léčby nádorů a může docházet k mylné diagnostice. Další možný problém je identifikace nádorů v mozku. Mozek v ideálním případě získává energii pouze z glukózy. Z toho vyplývá, že ^{18}F -fluorodeoxyglukóza má volný přestup přes hematoencefalickou bariéru a hromadí se v mozku [20, 55].

K zobrazování multiformního glioblastomu jsme zvolili FDG, protože je nejrozšířenějším radiofarmakem pro PET v onkologii a také proto, že se používá pro zobrazování multiformního glioblastomu [56]. Avšak kvůli vysokému metabolismu glukózy v mozku, dochází k vysoké akumulaci FDG v této tkáni, což je nežádoucí. Chtěli bychom prozkoumat specifickou FDG pro zobrazování myšího modelu multiformního glioblastomu a porovnat ji s ostatními radiofarmaky. DeGrado a kol. publikovali článek zabývající se zobrazováním astrocytomů u lidí, kde FDG neurčil spolehlivě přesné hranice nádorů [57]. Chen a kol. tento výsledek také potvrdili – FDG není přesné, při zobrazování ortotopických gliomů a jeho viditelnost na snímcích ve srovnání s FLT je nízká [56] a ve srovnání s FCH je také nízká [57]. Avšak náš nádorový model je subkutánní čili je možné FDG použít jako srovnávací látku.

Primární akumulace FDG je v srdci a v mozku, menší vychytávání je v ledvinách a v játrech (Tabulka 3 a 4). Tabulka 4 ukazuje téměř stejnou hodnotu akumulace FDG v mozku a v nádoru, což je pro účely zobrazování nádorů v mozku nevýhodné.

Tabulka 3: Biodistribuce FDG ve zdravých myších 30 a 60 minut po aplikaci [52].

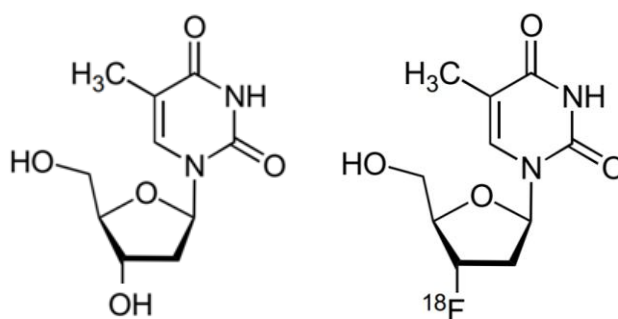
Orgán	30 min id/g (%)	60 min id/g (%)
Ledviny	1,51±0,51	0,64±0,10
Játra	1,36±0,52	0,88±0,16
Močový měchýř	14,41±12,55	9,17±8,33
Srdce	22,27±7,30	18,08±7,03
Mozek	6,15±1,94	4,84±1,06
Krev	1,14±0,48	0,31±0,31
Slezina	1,52 ±0,37	1,37 ±0,21
Kostí	1,41 ±0,64	1,40 ±0,49
Plíce	2,45 ±0,60	2,08 ±0,18

Tabulka 4: Biodistribuce FDG v jednotlivých orgánech u potkana s nádorem (buněčná linie 9L, gliosarcom) 60 minut po aplikaci [30].

Orgán	60 min id/g (%)
Ledviny	1,29±0,44
Játra	0,42±0,09
Mozek	2,75±0,13
Nádor	2,86±0,36
Zánět	1,23±0,52
Krev	0,24±0,04
Plíce	1,02±0,19
Slezina	1,81±0,51
Žaludek	0,25±0,08
Stehenní kost	0,61±0,18
Slinivka	0,22±0,08

2.3.2 (¹⁸F)-fluorotymidin (FLT)

Celým názvem 3-deoxy-3-(¹⁸F)-fluorotymidin. Grierson a Shields syntetizovali poprvé molekulu FLT v roce 2000 [58]. FLT je analog tymidinu, který je základní stavební jednotkou nukleových kyselin. Obdobně jako FDG, má FLT na poloze 3' zaměněnou hydroxylovou skupinu za pozitronový zářič ¹⁸F. Umožňuje nám tak sledovat míru syntézy DNA v tkáních a tím proliferaci buněk, jelikož tymidin se specificky začleňuje do DNA a je spojen s S-fází buněčného cyklu. Za alternativu FLT lze dá považovat [¹¹C]-tymidin, nevýhodou je však jeho složitá radiosyntéza, krátký poločas rozpadu ¹¹C (20 minut) a jeho rychlý katabolismus. Výhodou FLT je odolnost vůči katabolismu, jednodušší radiosyntéza a delší poločas rozpadu ¹⁸F [58, 59].

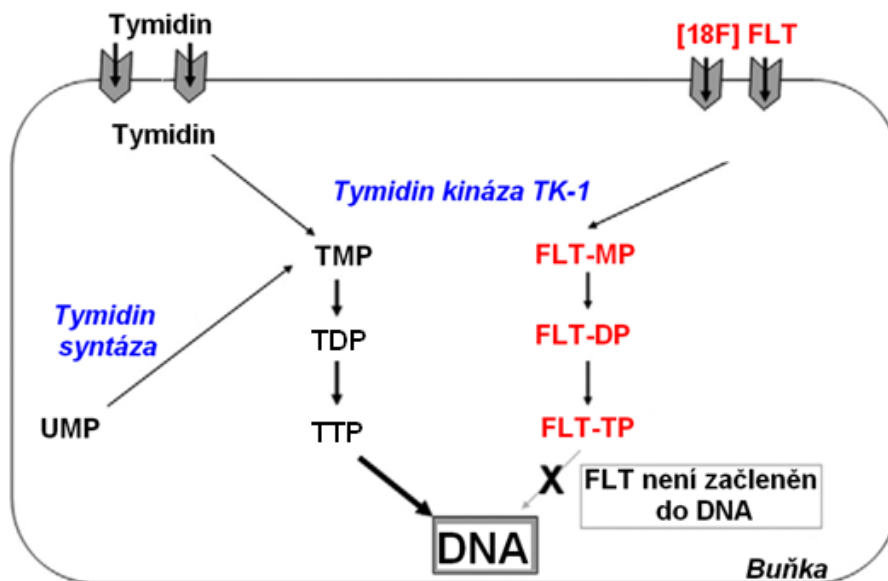


Obr. 11: Strukturní vzorec tymidinu a FLT [20].

Nádorová tkáň má ve srovnání s normální tkání vyšší poptávku nukleotidů (cytosin, guanin, adenin a tymidin) pro syntézu DNA. V RNA se tymidin nevyskytuje.

Tymidin i FLT jsou v cytoplazmě fosforylovány tymidinkinázou 1 (TK-1)⁷ na tymidinmonofošfát (TMP) za přítomnosti ATP. TMP je dále fosforylován až na tymidintrifosfát, který je zabudován do DNA. Pouze malá část FLT-trifosfátu se zabudovává do DNA, zbytek ¹⁸F-FLT je ve formě monofošfátu akumulován v buňce kvůli nepropustnosti buněčné membrány [20, 59]. Graficky znázorněno na obr. 12. Důsledkem toho můžeme pozorovat korelaci mezi zvýšeným vychytáváním FLT a zvýšenou aktivitou TK-1. Je tedy zřejmé, že koncentrace FLT v nádoru je závislá na jeho růstu.

⁷ tymidinkináza – exprimována v průběhu syntézy DNA (S-fáze buněčného cyklu) [58].



Obr. 12: Metabolismus a transport ^{18}F -FLT z plazmy do buňky. Tymidin i ^{18}F -FLT jsou transportovány do buňky přes nukleosidové transportéry. Dále dochází k jejich fosforylaci tymidinkináзой (TK-1) až na tymidintrifosfát/FLT-trifosfát. FLT-trifosfát se dále nezačleňuje do DNA na rozdíl od tymidintrifosfátu. Alternativní cestou tymidinu je syntéza tymidintrifosfátu z uridinmono fosfátu [20].

Ukázalo se, že gliomy ve vysokých stupních rozvoje mají zvýšený stupeň proliferace a narušují hematoencefalickou bariéru. FLT vstupuje do mozku touto porušenou hematoencefalickou bariérou [56]. Lee a kol. a Waarde a kol. uvádějí, že podáním tymidinofosforylázy⁸ (intravenózní infuzí) se akumulace FLT zvýší, přičemž zvýšená akumulace FLT je mnohem markantnější v nádoru, než v intaktní mozkové tkáni [30, 55]. Předností FLT je možnost měření reakce nádoru na antiproliferační léčbu a absence akumulace v zánětlivé tkáni, což snižuje množství falešně pozitivních výsledků [55, 56]. Nevýhodou FLT je snížený přestup přes hematoencefalickou bariéru při použití nízké dávky FLT a nižší citlivost než FDG [36]. Corroyer – Dulmont a kol. uvádějí, že FLT bylo prediktivní pro antiproliferativní léčebný proces a dále uvádí, že i FDG bylo prediktivní, pouze však při použití buněčných linií U-87 MG, kdežto u modelu U-251 nikoliv [8].

Výběr FLT pro tuto práci byl podmíněn jeho farmakologickými vlastnostmi, pro které se běžně využívá při zobrazování multiformního glioblastomu [56]. Tymidin je součástí DNA

⁸ tymidinofosforyláza snižuje hladinu endogenního tymidinu v těle [55].

a umožňuje sledování proliferace buněk a právě zvýšená proliferace buněk a replikace jejich DNA je charakteristická pro maligní onemocnění. Posouzení buněčné proliferace je užitečné vodítko pro terapii rakoviny a i časné hodnocení odpovědi na léčbu, protože snížení proliferace s sebou nese i morfologické změny [37]. Studie ukázaly, že FLT je výborným radiofarmakem pro zobrazování gliomů [8, 30, 55, 56].

Akumulace FLT je relativně nízká v porovnání s jinými radiofarmaky. Několiknásobně se dá zvýšit podáním tymidinfosforylázy myši před skenováním (Tabulky 5 a 6). Je důležité připomenout, že hladina tymidinfosforylázy u lidí je velmi nízká ve srovnání s myši. Tabulky 5 a 6 ukazují, že nejvyšší akumulace FLT je ve slezině, v ledvinách, následně ve střevě a v nádoru, a ukazuje, že akumulace v mozku je velmi nízká a v nádoru podstatně vyšší; což umožňuje využití FLT při zobrazování nádorů v mozku [30, 55]. Biodistribuce u lidí je téměř totožná, ale orgánem s převládající akumulací jsou játra, což se připisuje mezidruhovým rozdílům [60]. Data o biodistribuci FLT ve zdravých myších nejsou dostupná.

Tabulka 5: Akumulace FLT u potkana s nádorem (buněčná linie 9L, gliosarkom) s premedikací a bez premedikace tymidinfosforyláзой (TP) 60 min po aplikaci FLT [30].

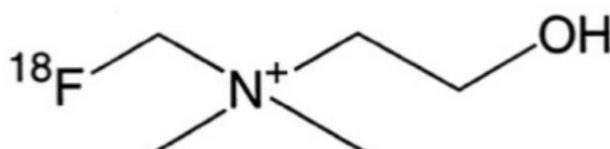
Orgán	60 min id/g (%) bez TP	60 min id/g (%) s TP
Ledviny	0,40±0,06	0,76±0,23
Játra	0,15±0,02	0,39±0,10
Mozek	0,03±0,01	0,06±0,01
Nádor	0,20±0,02	0,52±0,10
Slezina	0,40±0,10	0,95±0,48
Střevo	0,23±0,02	0,57±0,02
Zánět	0,27±0,16	0,07±0,02
Plíce	0,38±0,10	0,15±0,02
Žaludek	0,27±0,08	0,13±0,07
Stehenní kost	1,10±0,25	0,16±0,02
Slinivka	0,10±0,06	0,08±0,01

Tabulka 6: Akumulace FLT u potkana s nádorem (buněčná linie C6, potkaní gliomové buňky) s premedikací a bez premedikace tymidinfosforylázou (TP) 120 minut po aplikaci FLT [55].

Orgán	120 min id/g (%)	120 min id/g (%) s TP
Ledviny	2,28±0,69	1,19±0,49
Játra	0,61±0,28	0,39±0,20
Močový měchýř	0,74±0,49	1,57±0,68
Srdce	0,46±0,20	0,26±0,15
Mozek	0,06±0,01	0,04±0,02
Kosti	0,19±0,03	1,18±0,67
Nádor	0,55±0,06	1,14±0,62
Slezina	0,56±0,20	1,16±0,63
Střevo	1,08±0,45	1,28±0,58
Plíce	0,46±0,16	0,34±0,19

2.3.3 (¹⁸F)-fluorocholin (FCH)

Celým názvem N,N-dimethyl-N-¹⁸F-fluoromethyl-2-hydroxyethylamin. Molekula FCH má počátky v roce 2000, kdy ji syntetizovali DeGrado a kol. [57]. Cholin označený ¹¹C (trimethyl-2-hydroxyethylamin) se již dříve ukázal jako slibné PET radiofarmakum při zobrazování mozkových nádorů, jeho nevýhodou je však velmi krátký poločas rozpadu uhlíku-11 (20 min) [61, 62]. FCH je analog cholinu značený ¹⁸F, který je zabudován do molekuly cholinu přes methylovou skupinu odebráním jednoho jejího vodíku. Cholin je buňkami využíván jako prekurzor pro biosyntézu fosfolipidů. Fosfolipidy jsou základní prvky pro tvorbu buněčné membrány. FCH měří proliferační nebo mitotickou aktivitu tkáně [62, 63].



Obr. 13: Strukturální vzorec FCH [20].

Jelikož nádorová tkáň vykazuje zvýšenou rychlost metabolismu, vychytávání cholinu je v nádorové tkáni vyšší než ve zdravé tkáni. To je způsobeno markantnější proliferací buněk v nádorové tkáni, a tudíž intenzivnější poptávkou po fosfolipidech na stavbu buněčných membrán [36].

Intravenózně podaný FCH z krevního řečiště vstupuje do buňky pomocí cholinových transportérů (ChT1). Cholin je buď acetylován na acetylcholin acetylcholináázou nebo oxidován na betainaldehyd cholindehydrogenázou a pomocí betainaldehyddehydrogenázy až na betain. Také může být fosforylován cholinkinázou (CK) na fosforylcholin za spotřeby ATP⁹. Fosforylcholin je metabolizován na cytidindifosfátcholin, který je poté zabudován do fosfatidylcholinu (=lecitin), což je hlavní složka buněčných membrán [20].

Při zobrazování odezvy léčby maligních nádorů je velmi obtížné rozlišit zánětlivou tkáň od nádorové, což může vést k mylné diagnóze. Jelikož akumulace cholinu v mozku je velmi nízká, FCH je velmi dobré PET radiofarmakum pro zobrazování mozkových nádorů [57]. Vychytávání FCH v mozku je ovlivněno hematoencefalickou bariérou [36]. Fosforylace cholinu a jeho začlenění do fosfolipidů cholinkinázou (CK) je důležitou metabolickou dráhou. Zvýšená fosforylace cholinu a aktivita cholinkinázy mohou být markery nádoru. Kwee a kol. zjistili, že gliomy ve vysokých stupních rozvoje, mozkové metastázy a benigní léze mohou být rozlišeny rozdílnou absorpcí FCH, přičemž metastázy měly vyšší akumulaci než gliomy ve vysokých stupních rozvoje a benigní léze měly pouze minimální akumulaci [62, 64].

Při výběru FCH jsme vycházeli z jeho vlastností, které naznačují potenciál pro zobrazování různých nádorů, včetně nádorů v mozku, respektive gliomů [57, 64, 65]. V důsledku toho, že cholin je prekurzor fosfolipidů v buněčných membránách, poskytuje informace o proliferační aktivitě tkáně. Zvýšený metabolismus cholinu a tím zvýšená exprese cholinkinázy je charakteristickým znakem maligního onemocnění [66]. Výhodou je také jeho minimálního vychytávání v mozku. DeGrado a kol. zkoušeli FCH využít pro zobrazování mozkového nádoru u pacientů s astrocytem. Jejich výsledky ukázaly dostatečné rozlišení nádoru od normální tkáně, celá práce ukázala, že FCH napodobuje příjem a ukládání cholinu v rakovinových buňkách [57]. Bansal a kol. zkoušeli v roce 2008 FCH pro zobrazování gliomů (9L buněčné linie – gliosarkom) u potkanů a dospěli k závěru, že FCH může sloužit k zobrazování gliomů [66]. FCH věrně napodobuje zrychlený metabolismus cholinu [67]. Na druhé straně Ebenhan a kol. studovali čtyři fluorovaná radiofarmaka (¹⁸F-

⁹ adenosintrifosfát

FDG, ^{18}F -FLT, ^{18}F -FCH a ^{18}F -FET) na několika druzích nádorů (gliom – U87-MG, melanom, fibrosarkom, karcinom prsu, plicní nádor, nádor tlustého střeva), jejich výsledky jasně ukázaly, že FCH měl velmi nízký až nedetekovatelný příjem v nádorech (obr. 14 a 15) [24].

Hlavní orgány fyziologické akumulace FCH jsou ledviny a játra. Akumulace FCH v ostatních orgánech je časově konstantní, pouze u ledvin se hodnota výrazně snižuje, což naznačuje rychlou metabolickou eliminaci radionuklidu. Tyto poznatky ilustrují tabulky 7 a 8 [66]. Nebyl nalezen rozdíl mezi akumulací FCH mezi dvěma typy nádorů (rakovina prsu a rakovina prostaty) [65].

Následující tabulka 7 ukazuje akumulaci FCH v jednotlivých orgánech u zdravých myši. Biodistribuce u lidí a u myši je velmi podobná s výjimkou vychytávání v plicích a srdci u lidí. Nejvyšší akumulace byla opět v ledvinách a v játrech.

Tabulka 7: Akumulace FCH v jednotlivých orgánech u zdravých myši v časech 60 minut a 10 hodin po aplikaci [65].

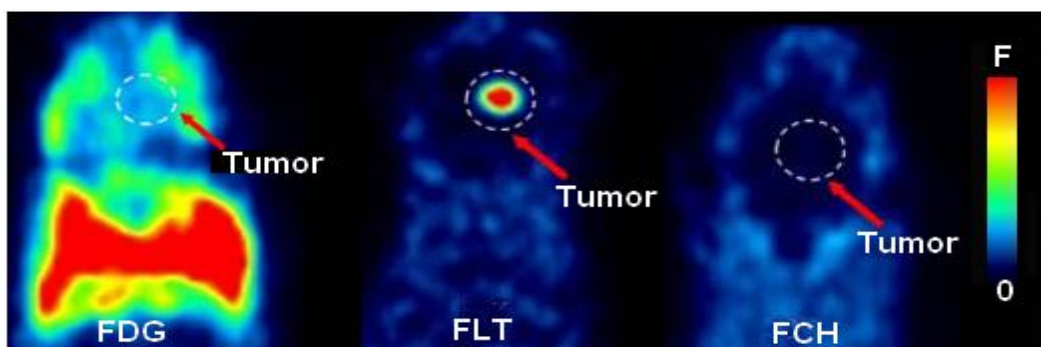
Orgán	60 min id/ g (%)	10 hod id/g (%)
Ledviny	75,6±25,7	90,6±17,5
Játra	24,5±13,4	26,6±9,8
Plíce	30,2±10,9	28,6±5,8
Srdce	18,0±8,0	23,5±5,1
Mozek	1,4±0,6	1,7±0,4
Krev	1,1±0,3	1,5±0,4

Tabulka 8: Akumulace FCH v jednotlivých orgánech u potkanů s nádorem (buněčná linie 9L, gliosarkom) 5 minut a 10 minut po aplikaci [66].

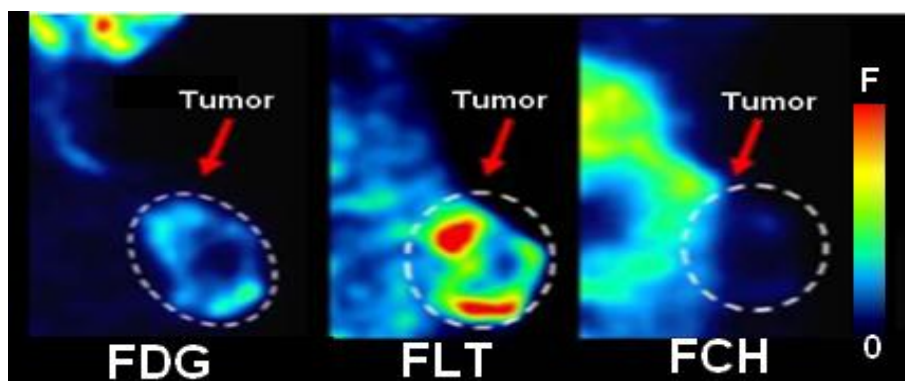
Orgán	5 min id/g (%)	10 min id/g (%)
Ledviny	15,57±6,52	7,27±2,15
Játra	2,61±0,84	3,16±0,68
Krev	0,27±0,08	0,25±0,09
Srdce	0,45±0,16	0,47±0,15
Mozek	0,05±0,02	0,04±0,01
Nádor	0,69±0,41	0,22±0,10
Kosti	0,17±0,1	0,14±0,04
Plíce	1,65±0,92	1,1±0,35
Prostata	1,11±0,62	1,34±0,89

Tabulka 9: Akumulace FCH v jednotlivých orgánech u myši s nádorem (PC-3 – karcinom prostaty a MCF7 – karcinom prsu) v časech 10 minut, 30 minut a 60 minut po aplikaci [65].

Tkáň	10 min id/ g (%)	30 min id/ g (%)	60 min id/g (%)
Ledviny	127,7±27,6	116±17,0	94,3±31,0
Játra	50,7±15,3	56,7±13,2	58,4±40,6
Plíce	18,0±5,3	17,1±1,4	21±4,4
Srdce	15,5±5,9	13,2±2,6	12,7±3,2
Mozek	0,8±0,3	1,0±0,2	0,8±0,1
Nádor	3,6±0,6	7,1±2,1	7,9±5,0



Obr. 14: Srovnání akumulace FDG, FLT a FCH plicního nádoru (H-460), který roste intrakraniálně. PET skenování bylo zahájeno 15 min po aplikaci pro FCH a 30 min po aplikaci pro FDG a FLT [24].



Obr. 15: Srovnání akumulace FDG, FLT a FCH ve zhoubném subkutánním fibrosarkomu (RIF-1). PET skenování bylo zahájeno 15 min po aplikaci pro FCH a 30 min po aplikaci pro FDG a FLT [24].

3 Experimentální část

3.1 Cíl práce

Cílem práce je srovnání zobrazovacího potenciálu tří radiofarmak - ^{18}F -fluorodeoxyglukózy (FDG), ^{18}F -fluorotymidinu (FLT) a ^{18}F -fluorocholinu (FCH), zhodnocení jednotlivých radiofarmak a jejich vhodnosti pro zobrazení myšího modelu multiformního glioblastomu.

3.2 Použité chemikálie

Byla použita tři různá hromadně vyráběná radiofarmaka a to ^{18}F -fluorocholin (Iason, Rakousko), ^{18}F -fluorotymidin (RadioMedic, Řez) a ^{18}F -fluoroglukóza (ÚJV, Řez). Isofluran ve formě přípravku Forane (Abbott, USA) byl použit jako inhalační anestetikum, pro inhalaci byl užit medicínální kyslík Respirox (SIAD, ČR) a k zabránění vysychání očí u zvířat během anestézie byl použit Ophthalmo-Azulen (Zentiva, ČR). Jako vehikulum pro buňky U-87 MG v průběhu implantace byl použit Matrigel Matrix (Corning, USA) ve směsi (1:1) s kultivačním mediem (EMEM+10% FBS, Sigma-Aldrich, ČR).

Kontrola radiochemické čistoty použitých radiofarmak nebyla prováděna. Za jejich dostatečnou kvalitu ručí dle platné legislativy výrobce a vzhledem k tomu, že byly použity vždy přípravky z šarže sloužící primárně pro klinické vyšetření pacientů ve FN Olomouc, považujeme kontrolu jejich čistoty na našem pracovišti za bezpředmětnou. Veškeré práce byly prováděny v souladu s platnými předpisy o zacházení s otevřenými radioaktivními zářiči tak, aby docházelo k minimalizaci rizik spojených s účinky ionizujícího záření.

3.3 Použité přístroje

Laboratorní myši byly zobrazovány přístrojem Albira micro-PET/CT/SPECT (Carestream, USA), anestetikum bylo podáváno systémem pro inhalační anestezii pro malá zvířata (Summit Anesthesia Support, USA), radioaktivita radiofarmak byla měřena měřičem aktivity (Veenstra Instruments, Nizozemí).

3.4 Laboratorní zvířata

K experimentům bylo použito myšího kmenu DBA (Charles River, USA) a kmenu SCID (Harlan, USA). Váha jednotlivých myší činila 20-25 g. Laboratorní myši byly chovány ve sterilním zvěřinci v klecích s dostatkem napájecí vody a krmiva. Pro pokusy byly použity výhradně samice. Vzhledem k časové náročnosti vyšetření a s přihlédnutím k dodávce radiofarmak bylo využito dvou myší pro nenádorové zobrazení pro každou látku a pro nádorové zobrazení byly použity tři myši na jedno radiofarmakum. Myši kmene DBA byly 11 měsíců staré, u SCID bylo stáří v době experimentu 11 až 12 týdnů.

Stručná charakteristika použitých myších kmenů:

- **Kmen DBA** (světlá, hnědá, jednobarevná; *angl.* dilute, brown, non-agouti) byl vyšlechtěn již v roce 1909 C. C. Littlem v USA. DBA myš byla vyšlechtěna inbredním křížením, které se opakovalo ve více než dvaceti generacích. Kmen myší DBA je hojně využíván jako modelový laboratorní organizmus k testům toxicity, biodistribučním studiím a k syngenním transplantacím (transplantace mezi geneticky identickými jedinci) [68].
- **Kmen SCID** (těžká kombinovaná imunodeficience; *angl.* severe combined immunodeficiency) byl vyšlechtěn v roce 1983 G. C. Bosmem v USA [69]. Imunodeficientní myši mají narušenou rekombinaci určitých genů, a tím je způsobena nedostatečná produkce B a T-lymfocytů. Některé SCID myši ve věku 10 až 14 měsíců, produkují malé množství funkčních B a T-lymfocytů. Kmen SCID je vhodný k transplantaci tkání nebo orgánů mezi dvěma kmeny zvířete (alogení transplantace) a také k transplantaci například nádorů z člověka na myš [70].

Eutanázie zvířat

U zdravých nenádorových myší byla eutanázie provedena ihned po dokončení experimentu, kdy byly ještě myši v celkové anestezii, přerušením krční páteře. U nádorových myší byla eutanázie provedena až po skončení všech pokusů. Utracené laboratorní myši byly poté umístěny do skladu radioaktivního odpadu na dobu nezbytnou pro pokles úrovně radioaktivity pod stanovenou mez.

Práce se prováděla v souladu se všemi právními normami pro práci s laboratorními zvířaty (Zákon na ochranu zvířat proti týrání č. 246/1992 Sb.) platnými v České republice a s vnitřními předpisy Lékařské fakulty Univerzity Palackého v Olomouci.

3.5 Příprava myšního modelu multiformního glioblastomu

U SCID myši bylo aplikováno 1×10^6 (50 μ l) buněk U-87 MG či 1×10^6 (100 μ l) radiorezistentních buněk U-87 MG ve směsi se 100 μ l Matrigel Matrixu. Implantace nádorových buněk proběhla 16 týdnů před zobrazováním. Implantace se prováděla subkutánně do pravého a levého boku hrudníku. Radiorezistentní kmen buněk byl použit z důvodu dalšího zkoumání vytvořených nádorů mimo rámec PET zobrazení. Pro účely zobrazování multiformního glioblastomu chápeme původní a od něj odvozený radiorezistentní kmen buněk jako rovnocenné. Subkutánní aplikace nádorové linie byla zvolena jako předstupeň pro budoucí studie ortotopického modelu glioblastomu a též pro možnost zobrazovat tumory mimo mozek, který by u ortotopického modelu tvořil nežádoucí pozadí. Přípravu buněčné linie U-87 MG prováděla Mgr. Magdalena Megová a implantaci buněk do myši prováděl MVDr. Dalibor Doležal. Velikosti nádorů v době zobrazování jsou shrnuty v tabulce 10.

Tabulka 10: Velikosti nádorů v době zobrazování u SCID myši. Nádorové linie aplikovány na obě strany hrudníku. 1×10^6 nádorových buněk U-87 MG, přičemž 10.2. 2014 a 14.2. 2014 byly zobrazovány myši s radiorezistentními buňkami U-87 MG.

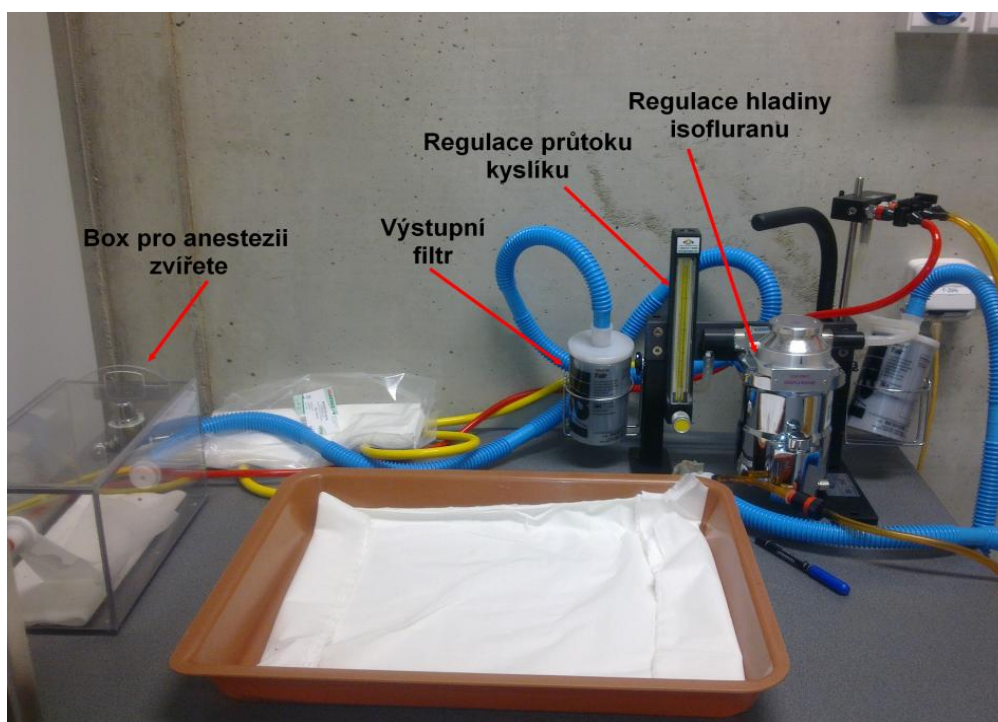
Datum zobrazování		3.2. 2014	10.2. 2014	14.2. 2014	
Myš 1	Váha myši (g)		21,1	25,1	24,8
	Levý nádor	Délka	-	4,14	5,41
		šířka	-	3,54	4,52
	Pravý nádor	délka	10,5	10,91	11,58
		šířka	8,33	6,91	9,13
Myš 2	Váha myši (g)		22,5	22,1	22,2
	Levý nádor	délka	12,86	9,23	11,08
		šířka	10,43	6,76	7,81
	Pravý nádor	délka	7,67	10,46	11,34
		šířka	5,96	7,54	9,49
Myš 3	Váha myši (g)		23,1	23,3	23,5
	Levý nádor	délka	11,03	3,64	4,14
		šířka	8,67	2,9	3,44
	Pravý nádor	délka	10,25	3,92	4,57
		šířka	8,64	3,5	4,02

3.6 Zobrazovací metody

3.6.1 Příprava pro PET/CT vyšetření

Radiofarmakum bylo vyzvednuto z Kliniky nukleární medicíny FNOL vždy těsně před zahájením experimentu. Byl vypočten příslušný objem, který se poté aplikoval myši. Injekční stříkačka obsahující radiofarmakum byla však nejprve změřena měřičem radioaktivity. Po aplikaci byla injekční stříkačka znovu změřena a tyto hodnoty byly od sebe odečteny, a tak byla získána přesná hodnota radioaktivity, která byla aplikována myši. Při aplikaci radiofarmaka byla myš v celkové anestezii. Po nastoupení anestezie bylo retroorbitálně¹⁰ aplikováno radiofarmakum [71] a proti vysychání rohovky byla aplikována mast Ophtalmo-Azulen. Poté byla myš umístěna a upevněna do lůžka v microPET/SPECT/CT a přístroj byl spuštěn.

Po celou dobu anestezie byl průtok kyslíku pro inhalaci udržován mezi 1,5 a 2 l/min. Hladina isofluranu – pro úvod do anestezie bylo použito 4 % isofluranu po dobu 5 minut, po dobu samotného měření pak 2% isofluranu.



Obr 16: Schéma zařízení pro inhalační anestezii. Skládá se z boxu, kde dochází k úvodní anestezii zvířete, pracovní plochy pro aplikaci látek, regulace průtoku kyslíku a z výstupních filtrů pohlcujících nespoteřebovaný isofluran.

¹⁰ Retroorbitální aplikace je rovnocenná alternativa k intravenóznímu podání do ocasní žíly. Aplikace je prováděna do retroorbitálního sinu lokalizovaného za okem.

Myším byla retroorbitálně aplikována radiofarmaka vždy v objemu 100-150 μ l o aktivitě pohybující se okolo 10 MBq/zvíře. Vzhledem k poločas rozpadu ^{18}F a schématu měření byla v některých případech použita aktivita nižší.

3.6.2 Nastavení PET/CT

Při skenování zvířat byly využity dva typy nastavení PET/CT. Laboratorní myš byla podrobena nejprve samotnému PET skenování – tzv. „dynamický“ **PET po dobu 90 minut** tj. 18 na sebe plynule navazujících pětiminutových PET scanů. A poté následoval „jednoduchý“ **PET v délce 5 minut** s plynule navazujícím **CT snímáním** (proud 400 μ A, napětí 45 kV, 600 projekcí), který sloužil k získání dat pro budoucí fúzi PET a CT obrazů. Celkové skenování jedné myši v tomto schématu trvalo cca 120 minut. Před zahájením skenování se nastavil příslušný offset, tj. odsazení lůžka. Při každém PET skenování byl použit offset 20 mm. Offset CT činil vždy 40 mm.

Program **Albira Acquirer** obsluhoval samotné skenování zvířat. Po dokončení skenování byl spuštěn program **Albira Reconstructor**, který z naměřených dat zrekonstruoval výsledný obraz. Poté se mohly v programu **PMOD** (PMOD Technologies, Švýcarsko) začít zpracovávat kinetické modely tj. označovat jednotlivé VOI a vyhodnocovat data. Program **VolView** (Kitware, USA) umožnil vytvořit 3D snímky a animace.

Data vyhodnocená programem PMOD byla vyjádřena v procentech podané dávky na gram tkáně (% id/g). Tato hodnota vychází z níže uvedeného vzorce, který zahrnuje objemovou aktivitu C [mCi/cm^3]¹¹ daného VOI, objem VOI jako V [cm^3] a hmotnost W [g] tkáně vybraného VOI. Podaná dávka radioaktivity je označena D_{Inj} [mCi].

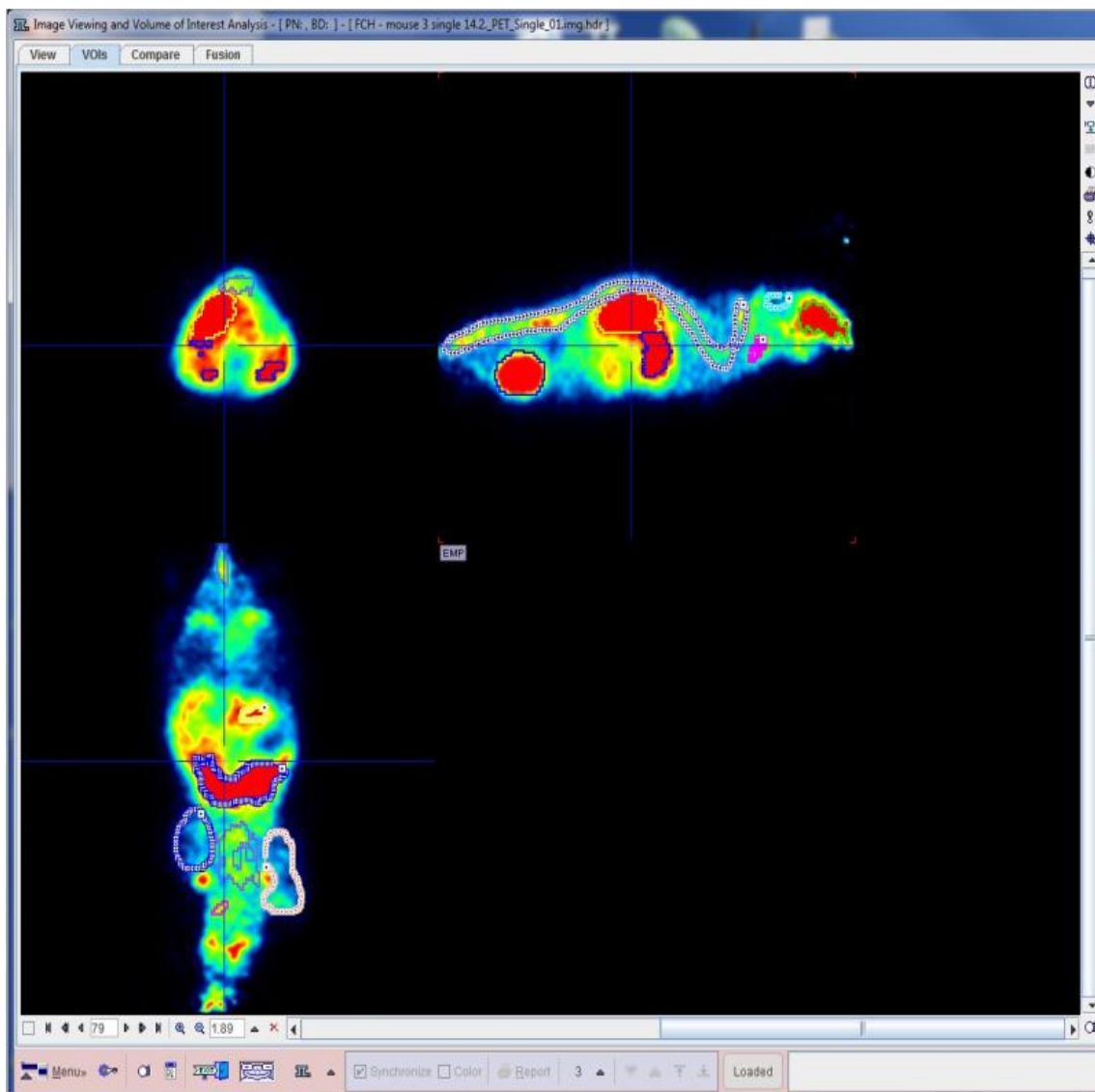
$$\%id/g = C \cdot \frac{V}{W} \cdot \frac{1}{D_{\text{Inj}}} \cdot 100\% \quad (2)$$

Přepočet mezi standardizovanou hodnotou vychytávání (SUV) a % id/g je následující:

$$SUV = \frac{\%id/g \cdot W}{100} \quad (3)$$

Kde W je tělesná hmotnost [g]. Jednotkou SUV je kg/ml [72].

¹¹ 1 mCi = 37 MBq



Obr. 17: Označování oblastí zájmu (VOI) v programu PMOD. Tři roviny – sagitální, transverzální a frontální, ve kterých lze označovat VOI. Obrázek zachycuje akumulaci FCH v nádorové myši 45 min od aplikace radiofarmaka.

3.7 Statistické zpracování dat

Naměřená data byla statisticky vyhodnocena v programu Statistica 64 (StatSoft, USA). Hladina významnosti p byla stanovena na 0,05. Maximální akumulace radiofarmak v nádorech a maximální poměry akumulace nádor/mozek byly vyhodnocovány pomocí jednofaktorového ANOVA testu následovaného Tukeyho *post hoc* testem. Časový průběh akumulace radiofarmak v ostatních orgánech byl vyhodnocován pomocí RM-ANOVA testu a *post hoc* Tukeyho testu.

4 Výsledky

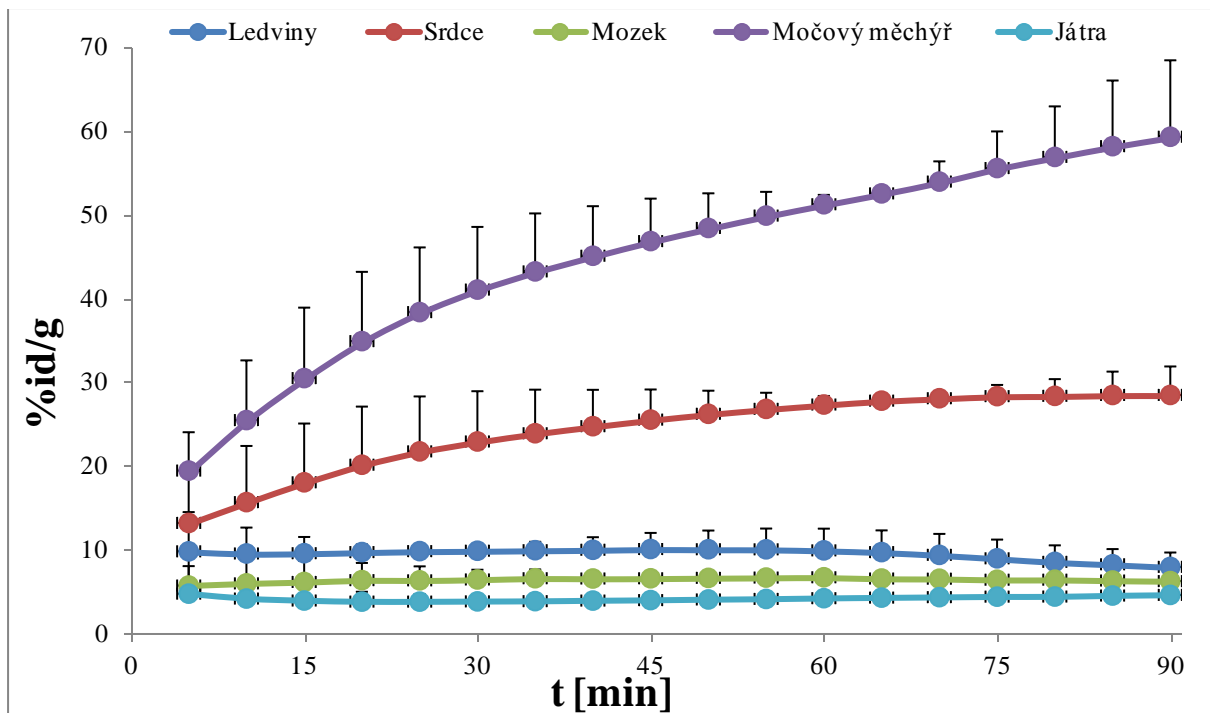
4.1 Biodistribuce ^{18}F -FDG

Tabulka 11: Biodistribuce FDG u nenádorových myší (n=2). Data jsou ve tvaru aritmetického průměru akumulace \pm směrodatná odchylka. Uvedené časy se vztahují k okamžiku aplikace radiofarmaka.

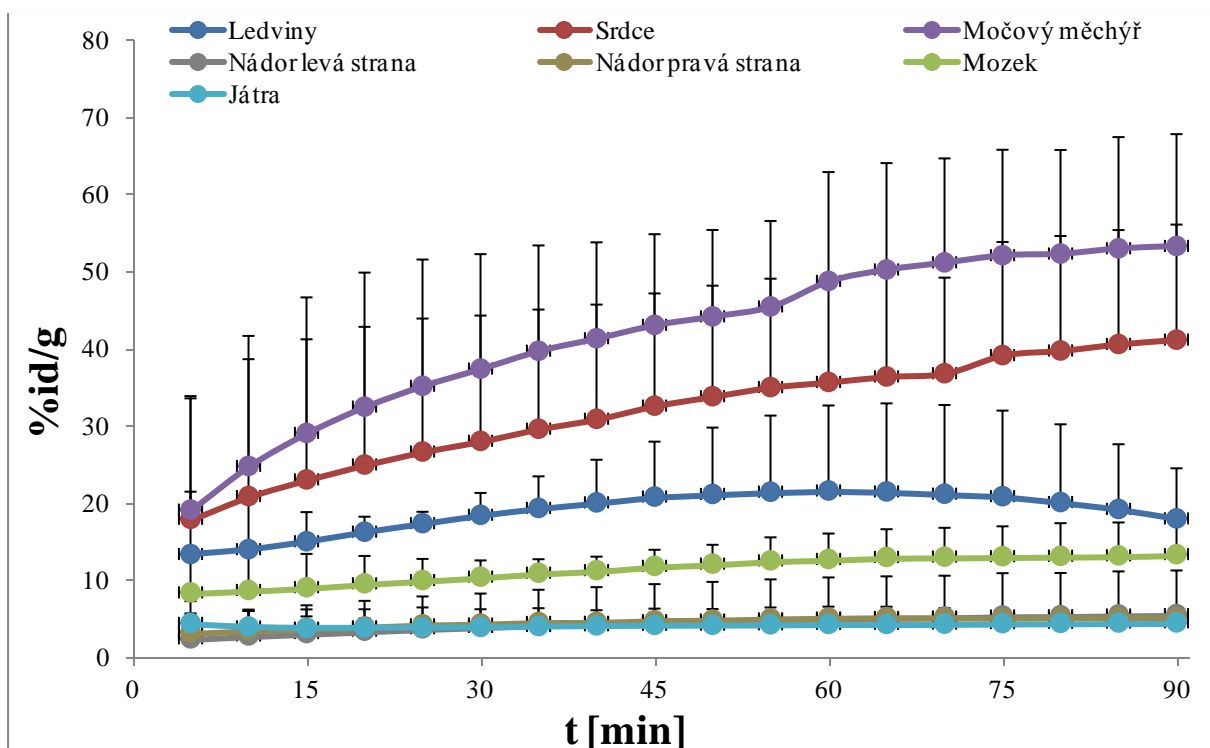
Orgán	5 min [%id/g]	15 min [%id/g]	30 min [%id/g]	60 min [%id/g]	90 min [%id/g]	120 min [%id/g]
Ledviny	9,75 \pm 4,69	9,53 \pm 1,94	9,82 \pm 0,54	9,86 \pm 2,60	7,89 \pm 1,72	10,33 \pm 1,09
Srdce	13,14 \pm 6,42	18,00 \pm 7,03	22,88 \pm 6,01	27,30 \pm 1,02	28,44 \pm 3,40	29,28 \pm 3,07
Mozek	5,66 \pm 3,30	6,09 \pm 2,53	6,39 \pm 1,16	6,65 \pm 0,45	6,19 \pm 0,99	6,69 \pm 0,15
Močový měchýř	19,40 \pm 4,58	30,46 \pm 8,42	41,03 \pm 7,49	51,23 \pm 1,12	59,30 \pm 9,14	49,80 \pm 8,65
Játra	4,69 \pm 3,29	3,87 \pm 1,66	3,77 \pm 0,72	4,15 \pm 0,06	4,54 \pm 0,08	4,19 \pm 1,23

Tabulka 12: Biodistribuce FDG u nádorových myší (n=3). Data jsou ve tvaru aritmetického průměru akumulace \pm směrodatná odchylka. Uvedené časy se vztahují k okamžiku aplikace radiofarmaka.

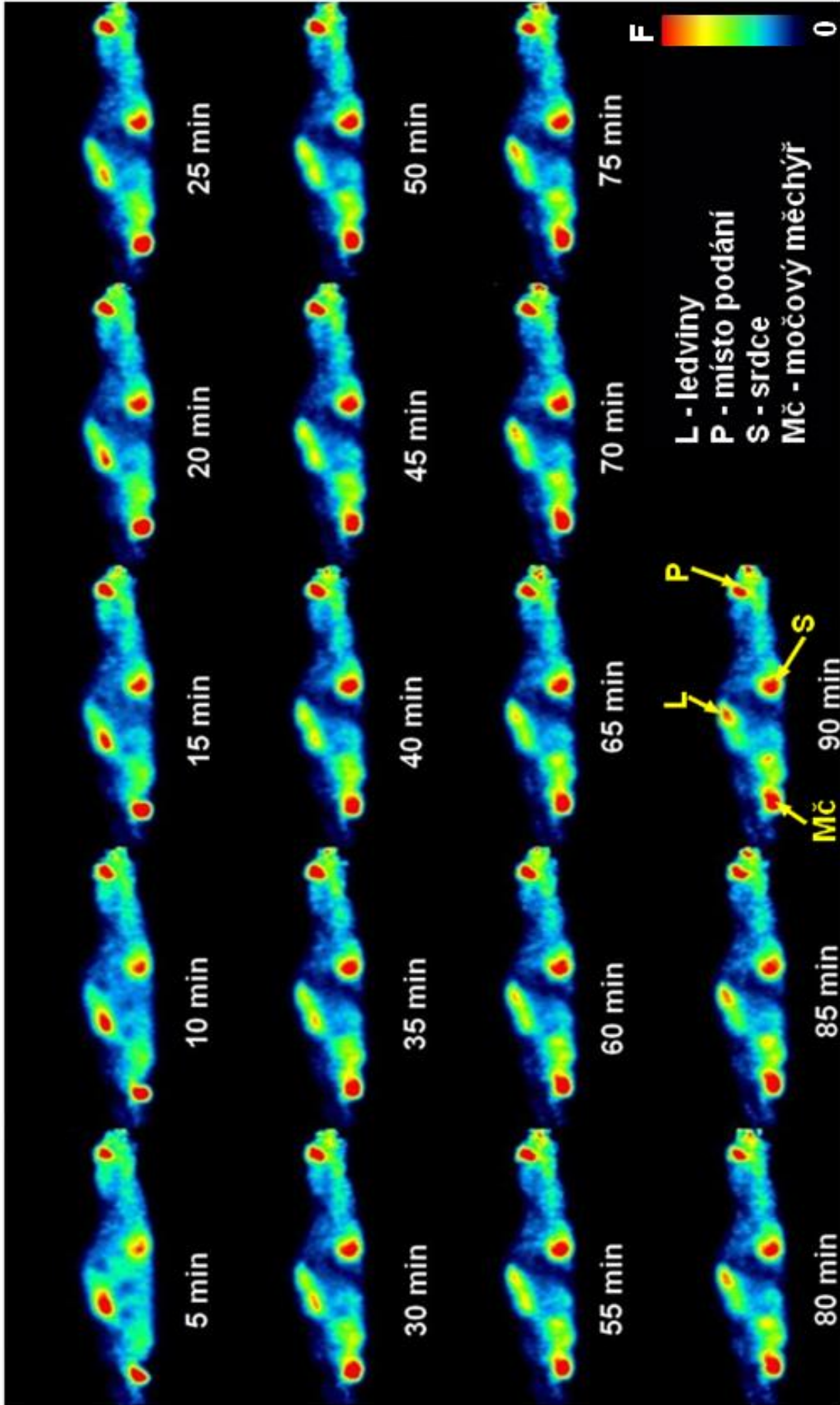
Orgán	5 min [%id/g]	15 min [%id/g]	30 min [%id/g]	60 min [%id/g]	90 min [%id/g]	120 min [%id/g]
Ledviny	13,30 \pm 8,08	14,96 \pm 3,78	18,39 \pm 2,83	21,54 \pm 11,02	17,92 \pm 6,49	18,67 \pm 3,36
Srdce	17,87 \pm 15,91	22,98 \pm 18,17	27,98 \pm 16,25	35,62 \pm 13,39	41,11 \pm 14,91	42,73 \pm 17,74
Mozek	8,34 \pm 5,90	9,00 \pm 4,32	10,37 \pm 2,10	12,66 \pm 3,30	13,29 \pm 4,47	13,30 \pm 5,53
Močový měchýř	19,06 \pm 14,43	29,01 \pm 17,57	37,35 \pm 14,84	48,71 \pm 14,12	53,25 \pm 14,50	56,15 \pm 18,52
Játra	4,37 \pm 2,81	3,73 \pm 1,48	3,86 \pm 0,73	4,24 \pm 0,47	4,44 \pm 0,61	4,49 \pm 1,02
Nádor pravá strana	3,16 \pm 2,44	3,72 \pm 2,39	4,28 \pm 1,86	5,01 \pm 1,47	5,12 \pm 1,13	5,44 \pm 1,51
Nádor levá strana	2,37 \pm 2,99	3,05 \pm 3,60	3,92 \pm 4,26	5,06 \pm 5,21	5,51 \pm 5,65	5,82 \pm 5,77



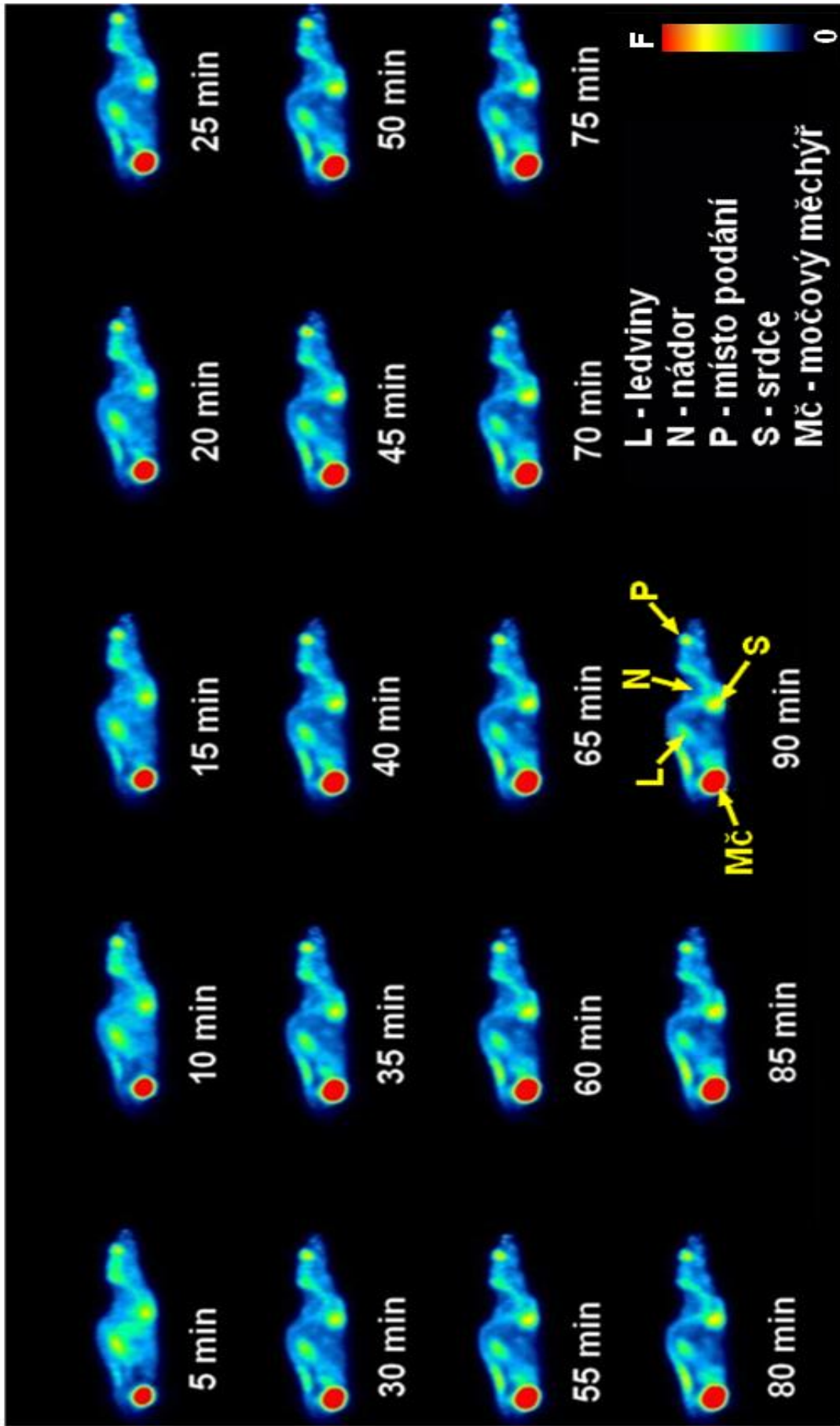
Graf 1: Biodistribuce FDG u nenádorových myší (n=2). Vynesená data jsou aritmetické průměry s kladnou směrodatnou odchylkou. Čas se vztahuje k okamžiku aplikace radiofarmaka.



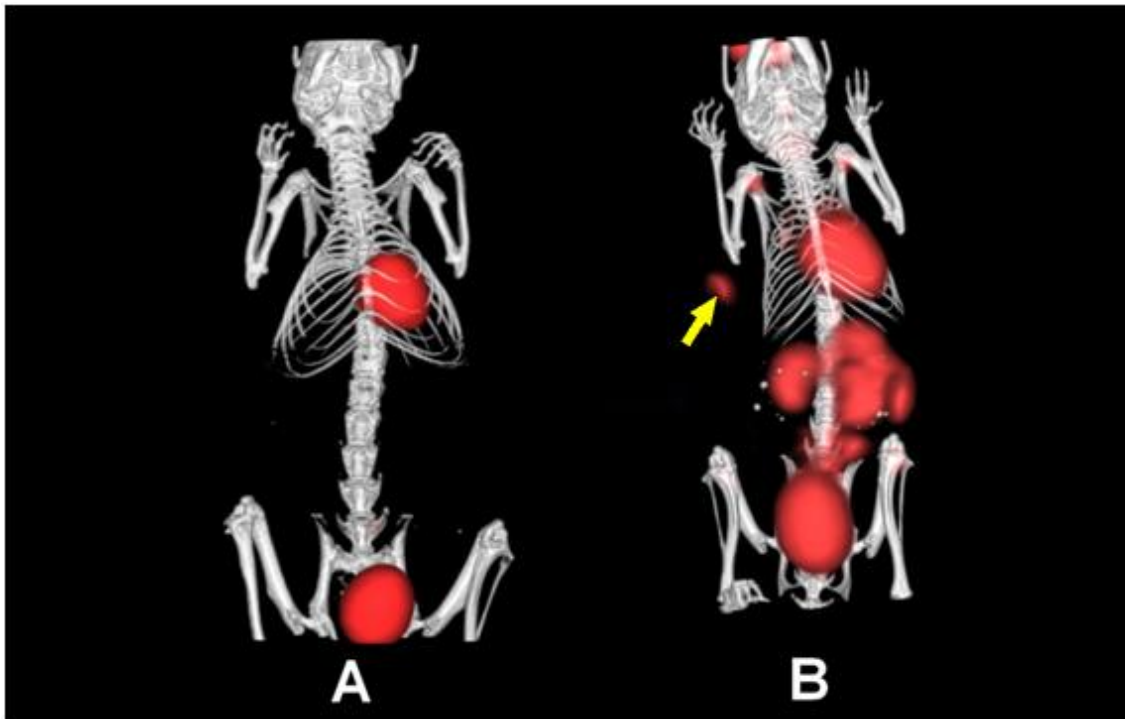
Graf 2: Biodistribuce FDG u nádorových myší (n=3). Vynesená data jsou aritmetické průměry s kladnou směrodatnou odchylkou. Čas se vztahuje k okamžiku aplikace radiofarmaka.



Obr. 18 : Biodistribuce ^{18}F -FDG ve zdravé myši v programu PMOD, sagitální řez. Radiofarmakum bylo podáno retroorbitálně o aktivitě 3,6 MBq. Uvedený čas vychází od aplikace radiofarmaka myši.



Obr. 19: Biodistribuce ^{18}F -FDG v nádorové myši v programu PMOD, sagitální řez. Radiofarmakum bylo podáno retroorbitálně o aktivitě 15,3 MBq. Uvedený čas vychází od aplikace radiofarmaka myši.



Obr. 20: 3D vizualizace biodistribuce ^{18}F -FDG v A – zdravé myši a B – nádorové myši v programu VolView. Obraz je zaznamenán 120 minut po aplikaci radiofarmaka. Šipka označuje nádor.

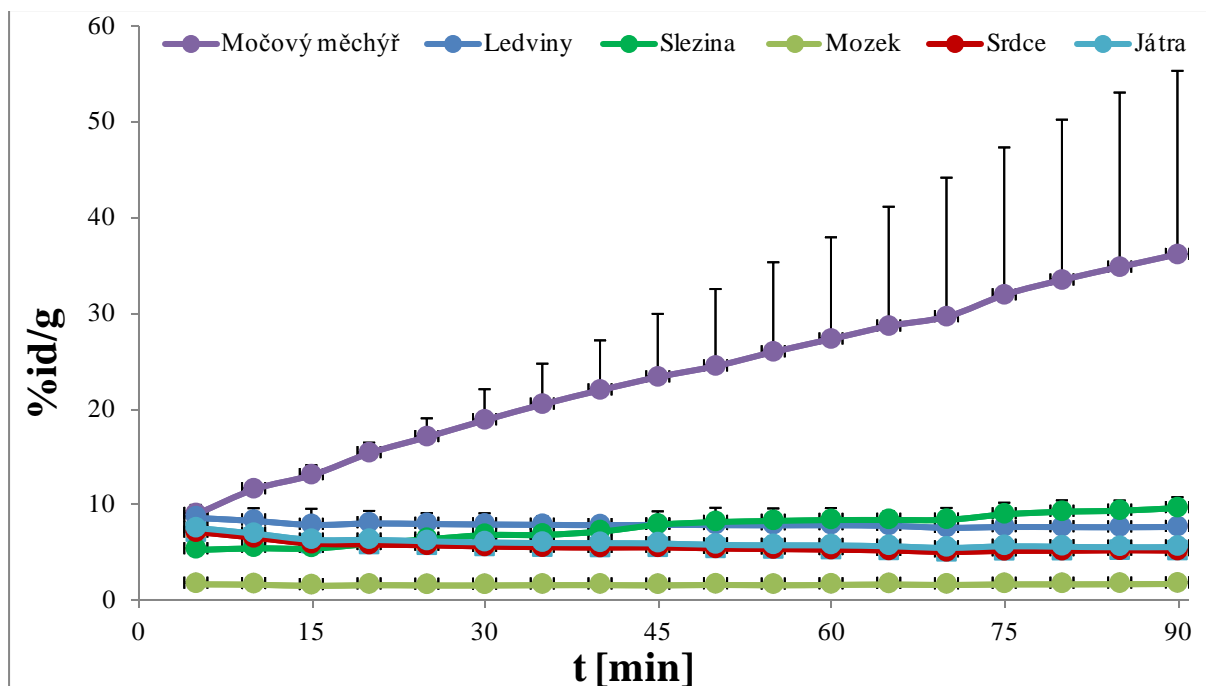
4.2 Biodistribuce ¹⁸F-FLT

Tabulka 13: Biodistribuce FLT u nenádorových myší (n=2). Data jsou ve tvaru aritmetického průměru akumulace ± směrodatná odchylka. Uvedené časy se vztahují k okamžiku aplikace radiofarmaka.

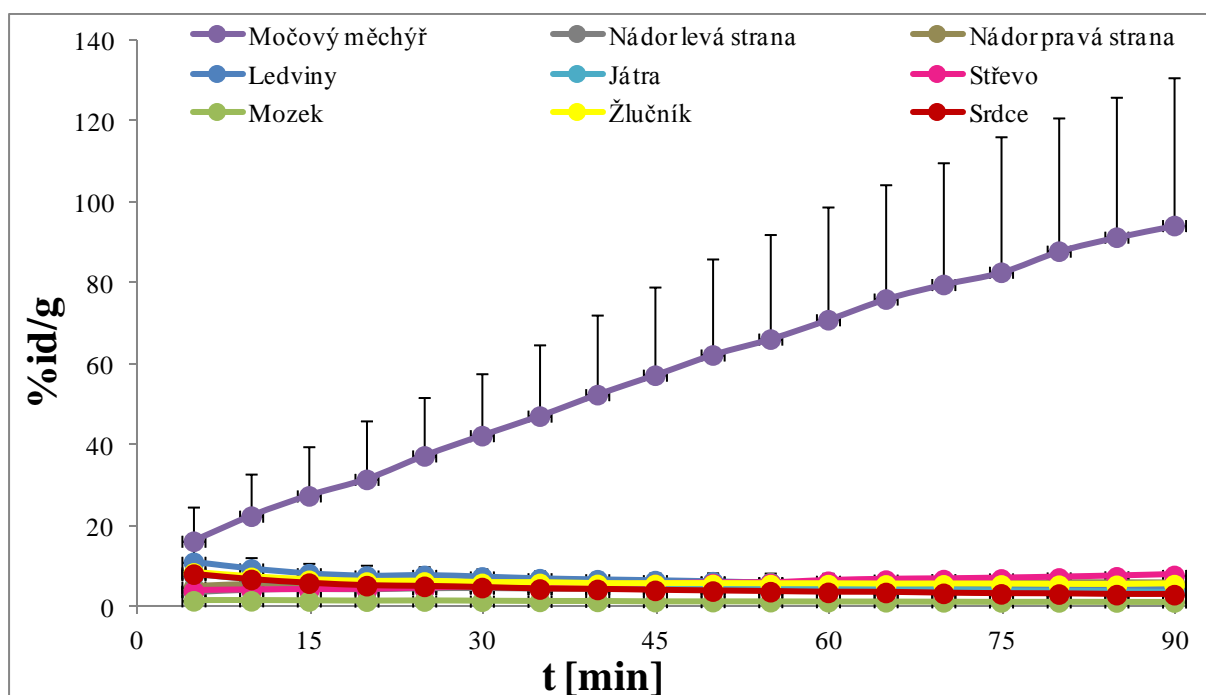
Orgán	5 min [%id/g]	15 min [%id/g]	30 min [%id/g]	60 min [%id/g]	90 min [%id/g]	120 min [%id/g]
Ledviny	8,71±1,18	7,91±1,57	7,96±1,05	7,88±0,24	7,69±1,59	8,72±1,59
Srdce	7,10±0,99	5,89±1,06	5,60±0,43	5,27±0,21	5,17±0,14	5,04±0,18
Mozek	1,76±0,08	1,61±0,08	1,65±0,01	1,70±0,01	1,79±0,02	1,86±0,01
Močový měchýř	9,05±0,52	13,11±0,93	18,84±3,14	27,28±10,57	36,11±19,14	38,01±14,56
Játra	7,56±0,77	6,36±0,93	6,11±0,40	5,81±0,18	5,65±0,11	5,59±0,08
Slezina	5,36±0,68	5,51±0,70	6,88±0,92	8,43±1,13	9,66±1,04	9,85±1,44

Tabulka 14: Biodistribuce FLT u nádorových myší (n=2). Data jsou ve tvaru aritmetického průměru akumulace ± směrodatná odchylka. Uvedené časy se vztahují k okamžiku aplikace radiofarmaka.

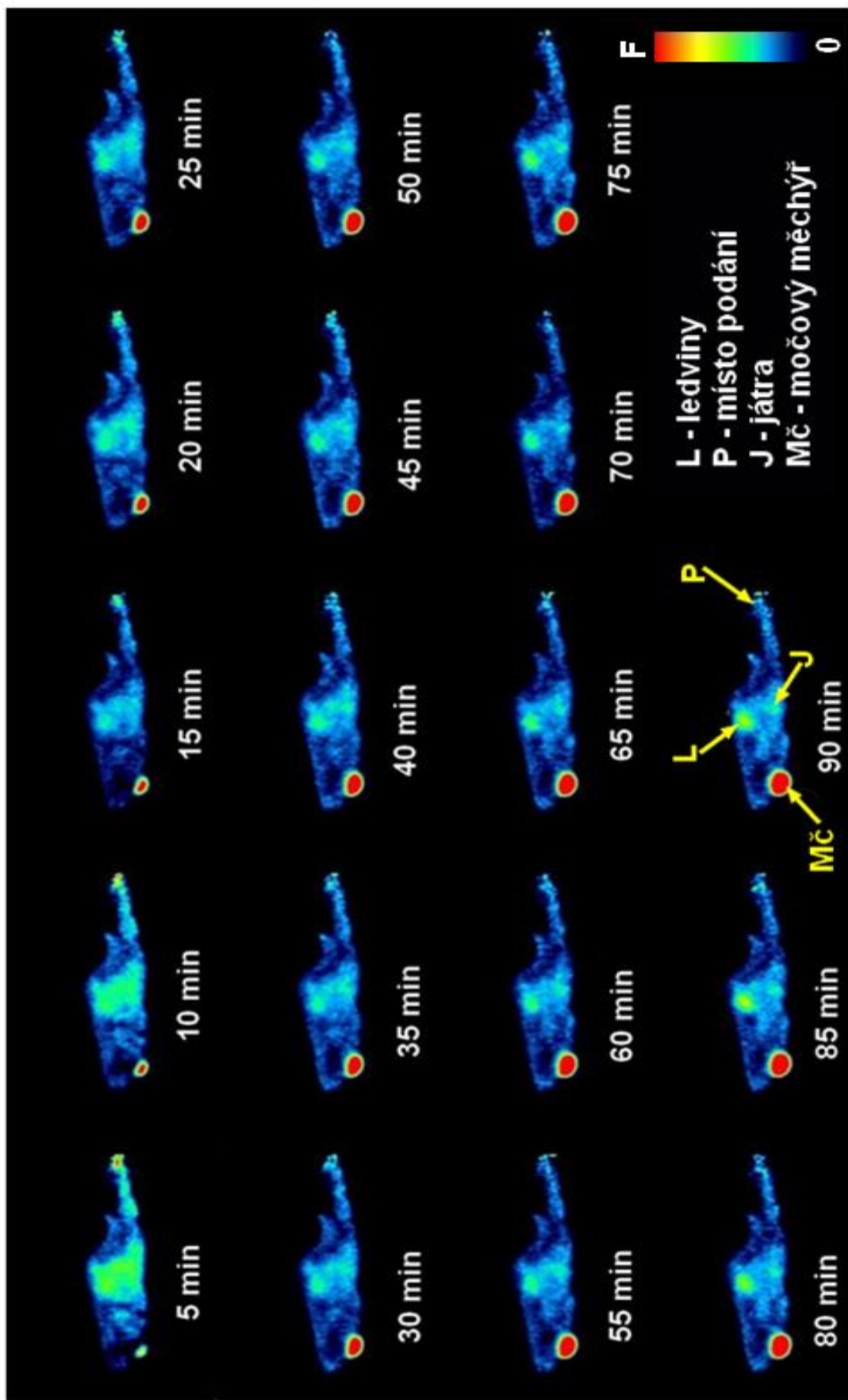
	5 min [%id/g]	15 min [%id/g]	30 min [%id/g]	60 min [%id/g]	90 min [%id/g]	120 min [%id/g]
Ledviny	11,06±3,46	8,24±2,55	7,45±1,99	5,57±1,41	4,62±1,17	3,60±0,32
Srdce	8,14±2,98	5,91±1,87	4,82±1,48	3,63±1,04	3,07±0,88	2,33±0,07
Mozek	1,55±0,54	1,51±0,49	1,46±0,42	1,33±0,45	1,26±0,43	1,04±0,01
Močový měchýř	16,26±8,44	27,46±12,15	42,33±15,30	70,96±27,84	94,22±36,49	61,71±8,54
Játra	7,95±0,38	6,02±0,45	5,35±0,99	4,56±1,49	3,79±1,37	2,70±0,02
Nádor pravá strana	4,87±2,79	5,78±2,77	6,09±2,51	6,08±2,28	6,02±2,08	4,45±0,44
Nádor levá strana	3,82±0,75	4,46±0,87	4,67±0,43	4,29±0,23	4,02±0,04	3,48±0,80
Střeva	3,95±1,60	4,19±1,12	4,88±0,58	6,37±0,72	7,81±0,54	6,76±1,98
Žlučník	8,44±4,23	6,61±2,94	5,85±2,48	5,54±2,53	5,54±2,73	4,49±0,69



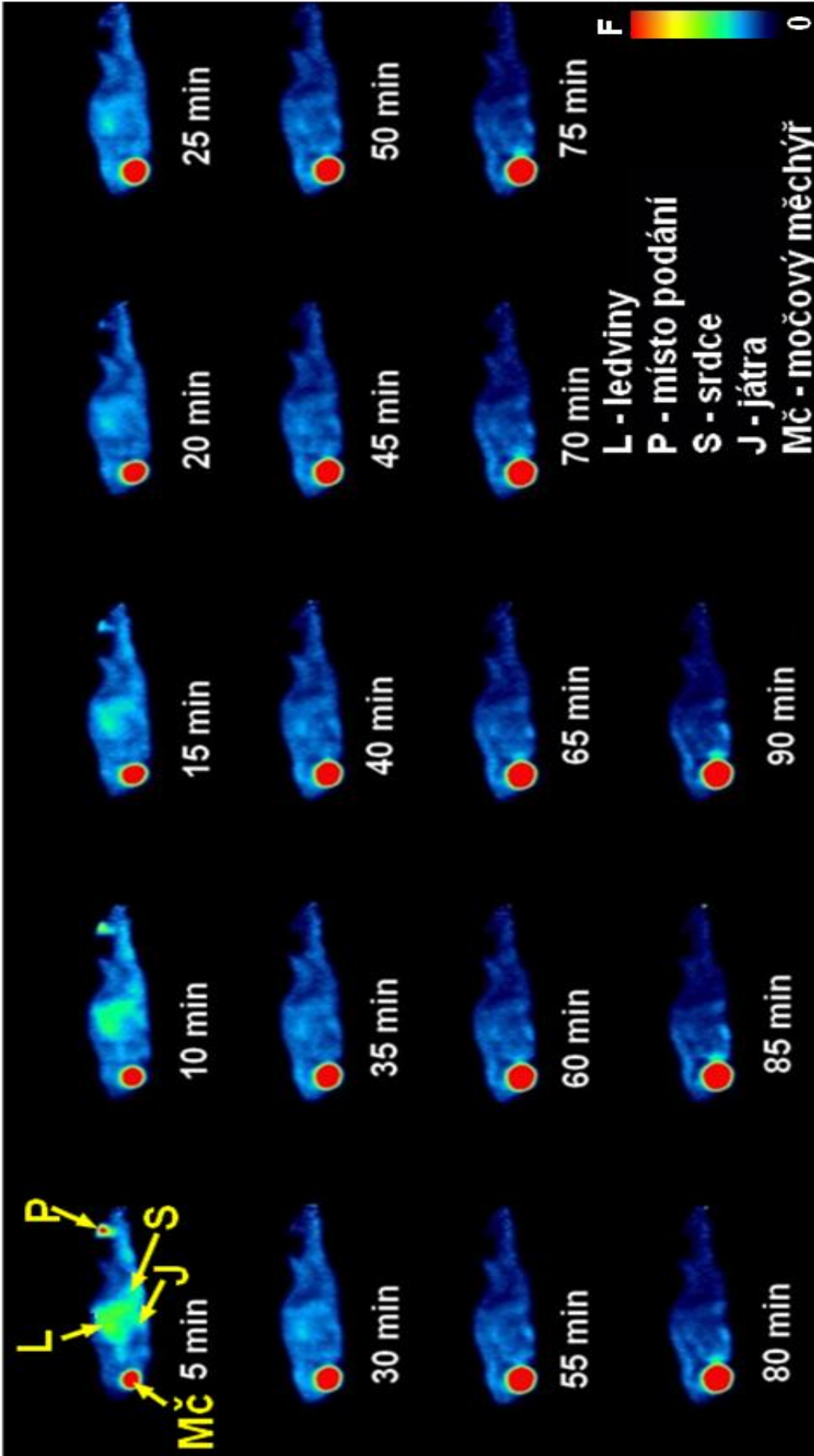
Graf 3: Biodistribuce FLT u nenádorových myší (n=2). Vynesená data jsou aritmetické průměry s kladnou směrodatnou odchylkou. Čas se vztahuje k okamžiku aplikace radiofarmaka.



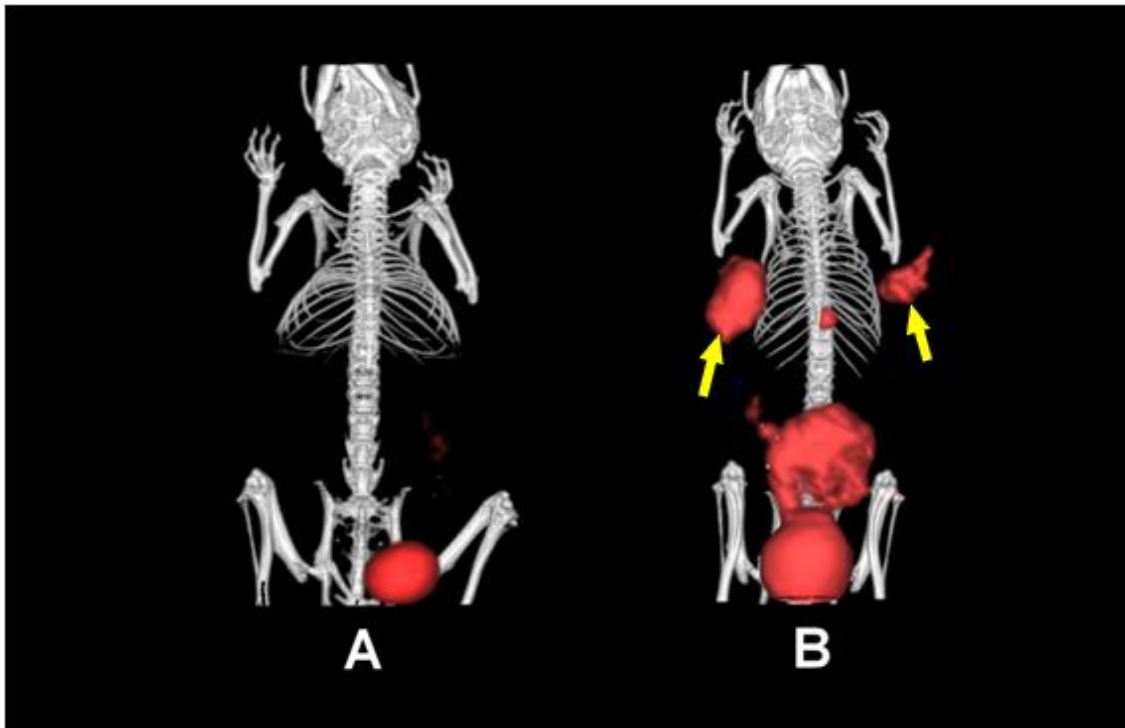
Graf 4: Biodistribuce FLT u nádorových myší (n=2). Vynesená data jsou aritmetické průměry s kladnou směrodatnou odchylkou. Čas se vztahuje k okamžiku aplikace radiofarmaka.



Obr. 21: Biodistribuce ^{18}F -FLT ve zdravé myši v programu PMOD, sagitální řez. Radiofarmakum bylo podáno retroorbitálně o aktivitě 7.24 MBq. Uvedený čas vychází od aplikace radiofarmaka myši.



Obr. 22: Biodistribuce ^{18}F -FLT v nádorové myši v programu PMOD, sagitální řez. Radiofarmakum bylo podáno retroorbitálně o aktivitě 14,74 MBq. Uvedený čas vychází od aplikace radiofarmaka myši.



Obr. 23: 3D vizualizace biodistribuce ^{18}F -FLT v A – zdravé myši a B – nádorové myši v programu VolView. Obraz je zaznamenán 120 minut po aplikaci radiofarmaka. Šipky označují nádory.

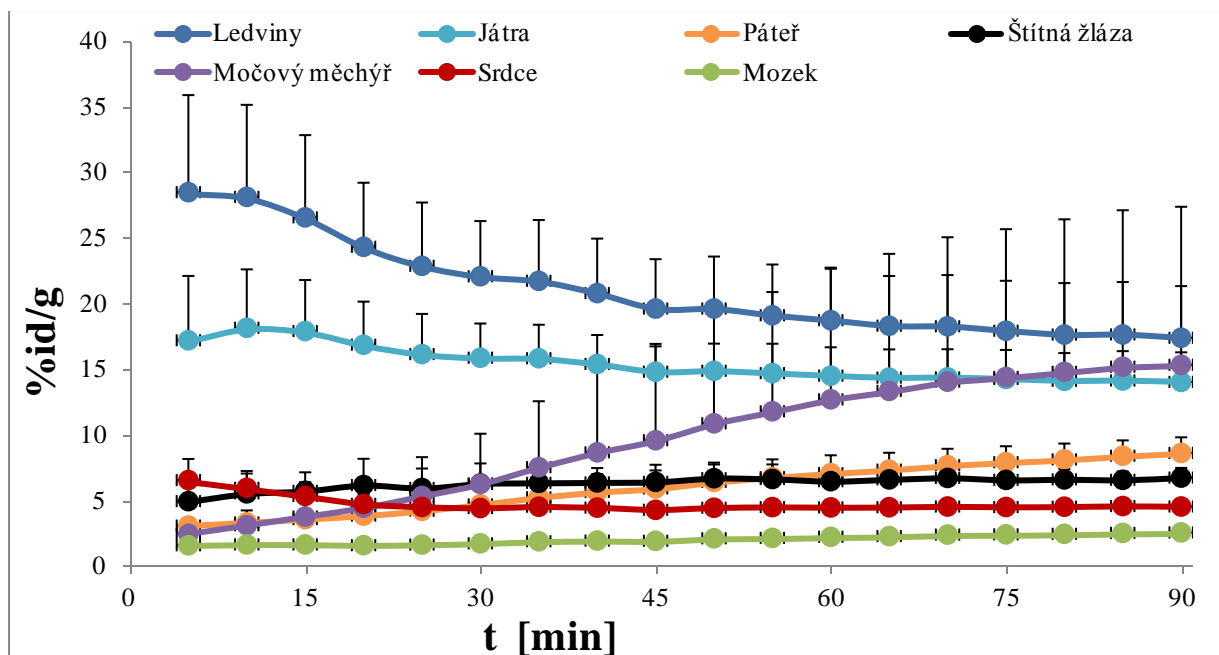
4.3 Biodistribuce ^{18}F -FCH

Tabulka 15: Biodistribuce FCH u nenádorových myší (n=5). Data jsou ve tvaru aritmetického průměru akumulace \pm směrodatná odchylka. Data jsou ve tvaru aritmetického průměru akumulace \pm směrodatná odchylka. Uvedené časy se vztahují k okamžiku aplikace radiofarmaka.

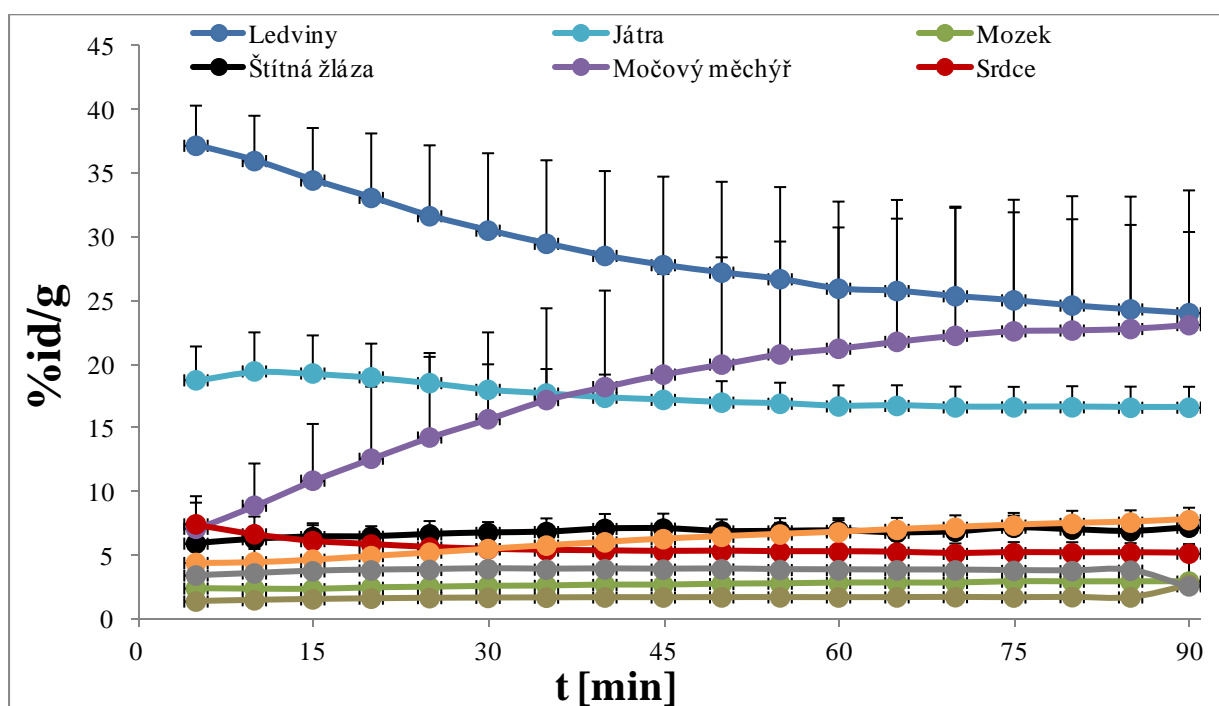
Orgán	5 min [%id/g]	15 min [%id/g]	30 min [%id/g]	60 min [%id/g]	90 min [%id/g]	120 min [%id/g]
Ledviny	28,47 \pm 7,39	26,55 \pm 6,26	22,06 \pm 4,20	18,71 \pm 4,01	17,37 \pm 3,93	17,89 \pm 3,39
Srdce	6,53 \pm 1,61	5,32 \pm 1,05	4,40 \pm 0,66	4,45 \pm 0,45	4,52 \pm 0,52	4,46 \pm 0,46
Mozek	1,56 \pm 0,10	1,63 \pm 0,06	1,71 \pm 0,12	2,21 \pm 0,14	2,54 \pm 0,21	2,77 \pm 0,13
Močový měchýř	2,43 \pm 1,03	3,75 \pm 1,45	6,24 \pm 3,82	12,68 \pm 9,95	15,31 \pm 12,04	16,71 \pm 12,40
Játra	17,18 \pm 4,90	17,88 \pm 3,89	15,85 \pm 2,60	14,49 \pm 2,16	14,01 \pm 2,25	14,41 \pm 2,02
Štítná žláza	4,93 \pm 1,33	5,71 \pm 1,41	6,27 \pm 1,53	6,45 \pm 0,70	6,72 \pm 0,74	7,46 \pm 1,39
Páteř	3,06 \pm 0,44	3,56 \pm 0,65	4,68 \pm 1,23	7,06 \pm 1,36	8,60 \pm 1,19	8,77 \pm 1,15

Tabulka 16: Biodistribuce FCH u nádorových myší (n=3). Data jsou ve tvaru aritmetického průměru akumulace \pm směrodatná odchylka. Uvedené časy se vztahují k okamžiku aplikace radiofarmaka.

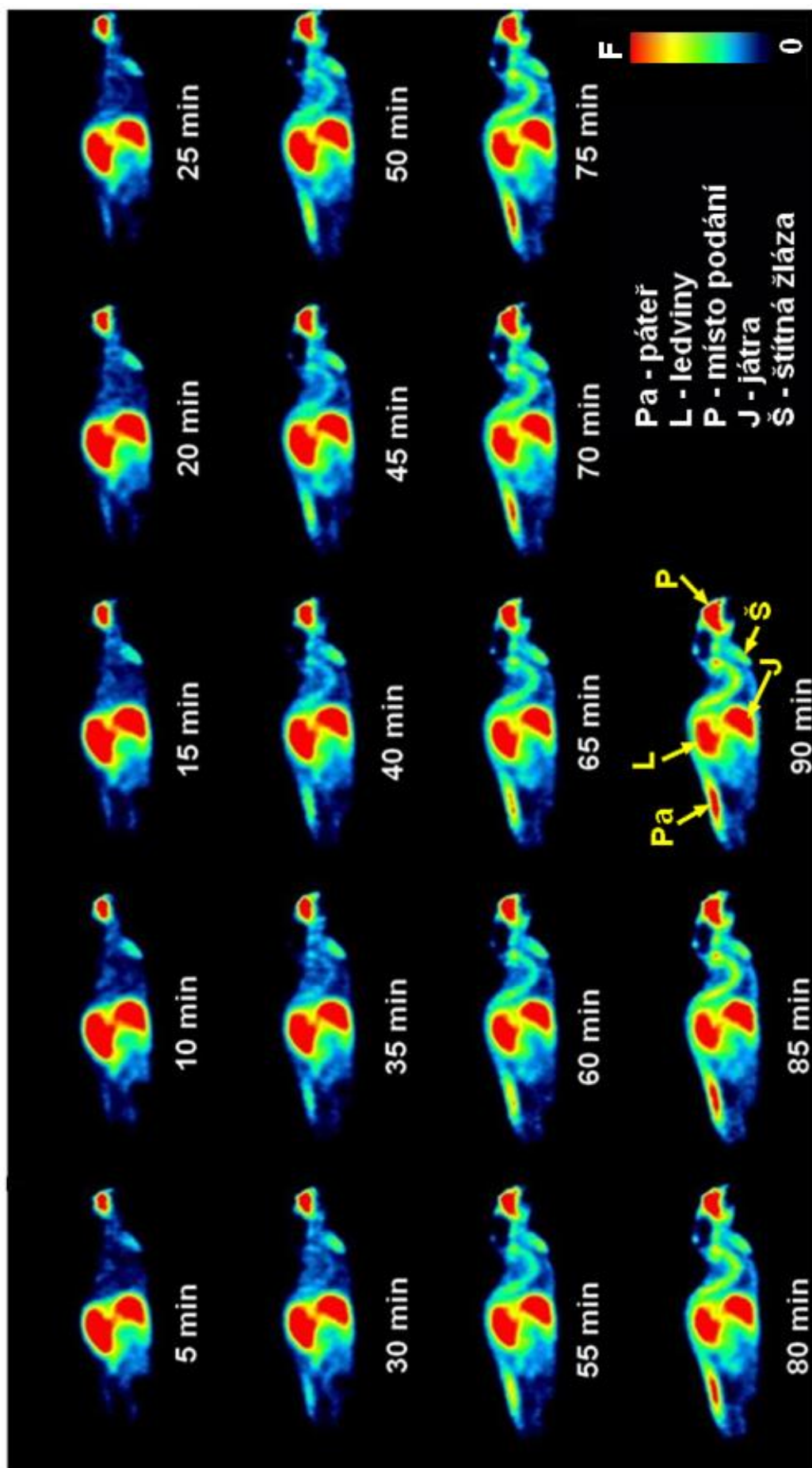
Orgán	5 min [%id/g]	15 min [%id/g]	30 min [%id/g]	60 min [%id/g]	90 min [%id/g]	120 min [%id/g]
Ledviny	37,16 \pm 3,15	34,43 \pm 4,12	30,49 \pm 6,08	25,93 \pm 6,84	24,01 \pm 6,38	24,06 \pm 5,14
Srdce	7,43 \pm 1,70	6,11 \pm 1,26	5,46 \pm 1,12	5,25 \pm 1,06	5,13 \pm 0,75	5,54 \pm 0,47
Mozek	2,39 \pm 0,18	2,34 \pm 0,18	2,57 \pm 0,16	2,83 \pm 0,13	2,94 \pm 0,19	2,97 \pm 0,41
Močový měchýř	7,08 \pm 2,56	10,86 \pm 4,46	15,69 \pm 6,82	21,22 \pm 9,53	23,07 \pm 10,58	20,42 \pm 9,86
Játra	18,74 \pm 2,66	19,28 \pm 2,99	17,99 \pm 2,01	16,69 \pm 1,65	16,59 \pm 1,64	16,63 \pm 1,15
Nádor pravá strana	1,37 \pm 0,67	1,54 \pm 0,76	1,66 \pm 0,76	1,69 \pm 0,74	2,69 \pm 2,37	2,69 \pm 0,70
Nádor levá strana	3,41 \pm 1,92	3,74 \pm 1,99	3,91 \pm 1,96	3,83 \pm 1,72	2,56 \pm 0,58	3,41 \pm 1,08
Štítná žláza	5,91 \pm 0,77	6,44 \pm 1,08	6,876 \pm 0,85	6,92 \pm 0,99	7,17 \pm 0,76	7,29 \pm 0,72
Páteř	4,40 \pm 0,33	4,66 \pm 0,38	5,49 \pm 0,63	6,80 \pm 0,97	7,76 \pm 0,98	7,44 \pm 0,83



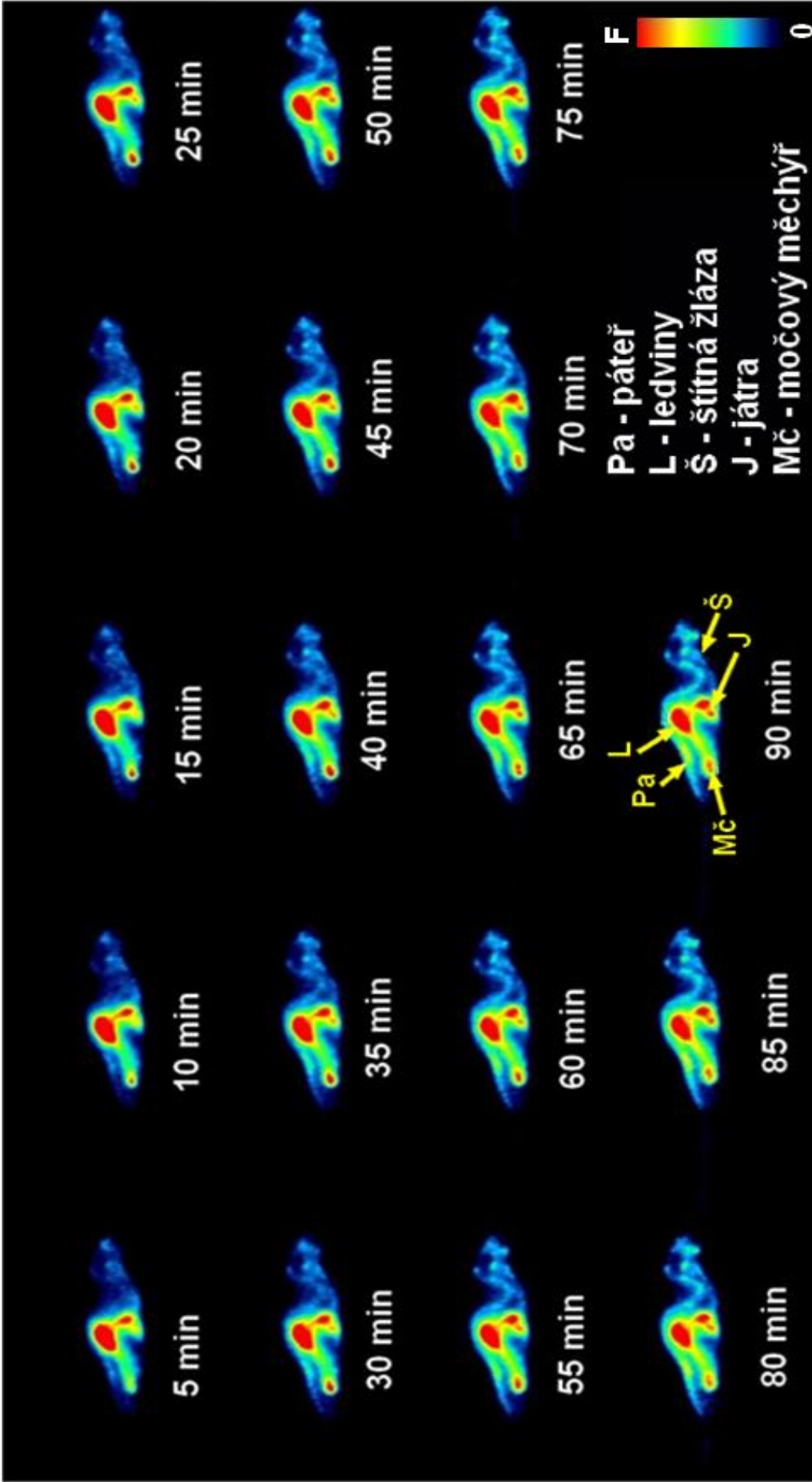
Graf 5: Biodistribuce FCH u nenádorových myší (n=5). Vynesená data jsou aritmetické průměry s kladnou směrodatnou odchylkou. Čas se vztahuje k okamžiku aplikace radiofarmaka.



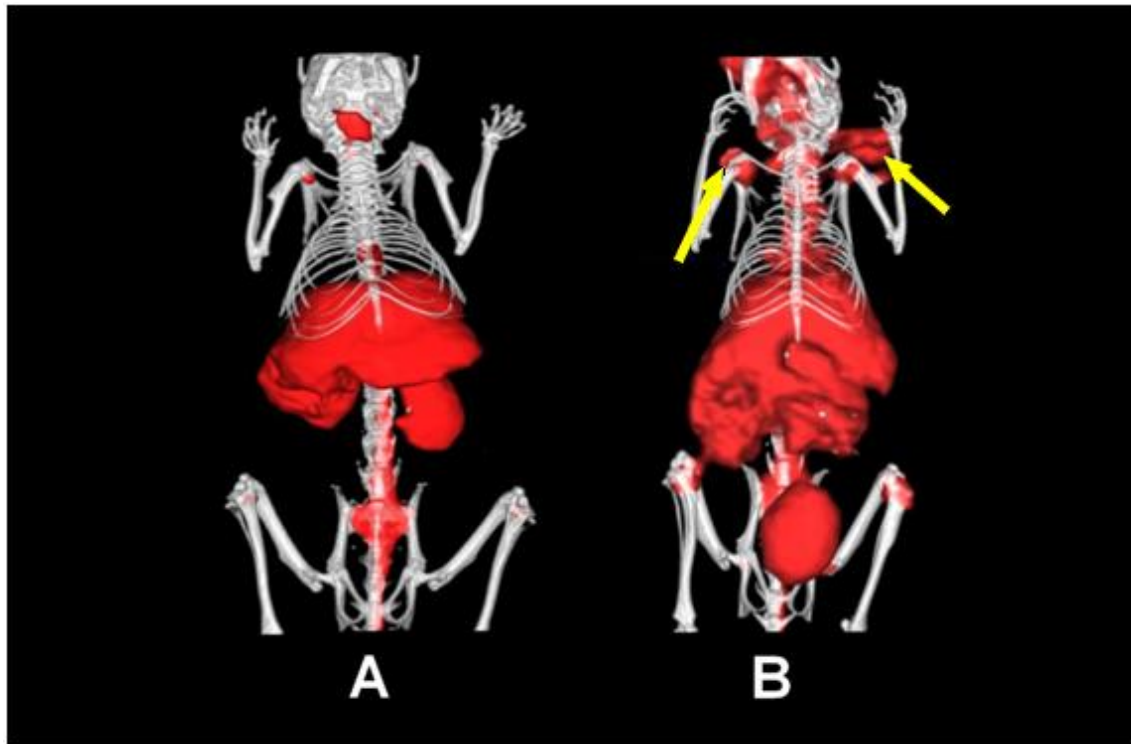
Graf 6: Biodistribuce FCH u nádorových myší (n=3). Vynesená data jsou aritmetické průměry s kladnou směrodatnou odchylkou. Čas se vztahuje k okamžiku aplikace radiofarmaka.



Obr. 24: Biodistribuce ^{18}F -FCH ve zdravé myši v programu PMOD, sagitální řez. Radiofarmakum bylo podáno retroorbitálně o aktivitě 10,6 MBq. Uvedený čas vychází od aplikace radiofarmaka myši.



Obr. 25: Biodistribuce ^{18}F -FCH v nádorové myši v programu PMOD, sagitální řez. Radiofarmakum bylo podáno retroorbitálně o aktivitě 10,6 MBq. Uvedený čas vychází od aplikace radiofarmaka myši



Obr. 26: 3D vizualizace biodistribuce ^{18}F -FCH v A – zdravé myši a B – nádorové myši v programu VolView. Obraz je zaznamenán 120 minut po aplikaci radiofarmaka. Šipky označují nádory.

5 Diskuze

V rámci experimentální části bakalářské práce byla studována biodistribuce radiofarmak ^{18}F -FDG (^{18}F -fluorodeoxyglukózy), ^{18}F -FLT (^{18}F -fluorotymidinu) a ^{18}F -FCH (^{18}F -fluorocholinu) a jejich možnosti zobrazování mozkového nádoru multiformního glioblastomu lokalizovaného subkutánně. V práci byly použity dva kmeny myši, a to kmen myši DBA a SCID. Pro srovnání fyziologické distribuce se situací u nádorových zvířat byly použity zdravé nenádorové myši kmene DBA a nádorové SCID. Můžeme konstatovat, že výsledky biodistribuce radiofarmak mezi nádorovými a nenádorovými se lišily. Eliminace použitých ^{18}F -radiofarmak probíhá prostřednictvím ledvin, a proto močový měchýř vykazuje vysokou akumulaci jednotlivých radiofarmak.

Biodistribuce FDG

Výsledky biodistribuce u zdravých a nádorových myši jsou shrnuty v tabulkách 11 a 12. FDG ukázala nejvyšší akumulaci v močovém měchýři (46,34 % id/g \pm 10,79), srdci (41,11 % id/g \pm 14,91), ledvinách (21,54 % id/g \pm 11,02) a v mozku (13,29 % id/g \pm 4,47). Akumulace v mozku byla poměrně vysoká, což se očekávalo. Nejvyšší akumulace v nádorech (pravý nádor: 5,11% id/g \pm 1,13; levý nádor: 5,51 % id/g \pm 5,65) bylo dosaženo po 90 minutách od aplikace. Nádory byly zobrazovány poměrně slabě a kontrast mezi okolní tkání a nádorem nebyl velký (obr. 28). Po páté minutě skenování lze zřetelně rozeznat jednotlivé orgány a obraz se již mění minimálně (Obr. 18 a 19). Naše výsledky jsou ve shodě s ostatními studii [30, 52].

Biodistribuce FLT

Výsledky biodistribuce u zdravých a nádorových myši jsou shrnuty v tabulkách 13 a 14. FLT se v našich experimentech vyznačovala nejvyšší akumulací v močovém měchýři (36,49 % id/g \pm 38,74), ledvinách (11,06 % id/g \pm 3,46), srdci (8,14 % id/g \pm 2,98) a v játrech (7,95 % id/g \pm 0,37). Akumulace v mozku byla nízká (1,55 % id/g \pm 0,53). Nejvyšší akumulace v nádorech (pravý nádor: 6,16 % id/g \pm 2,15; levý nádor: 4,87 % id/g \pm 2,79) bylo dosaženo po 60 resp. 90 minutách od aplikace. Nádory zobrazené pomocí FLT byly dobře viditelné a rozeznatelné od okolní tkáně (obr. 27). Zhruba od dvacáté minuty skenování dochází k dostatečnému kontrastu mezi orgány a okolní tkání (obr. 21 a 22). Výsledky našeho experimentu jsou ve shodě s dalšími studii [30, 55]. FLT se u myši kmene SCID akumuloval i ve žlučníku (4,49 % id/g \pm 4,23) a v oblasti střev (7,81 % id/g \pm 0,54), přičemž u zdravých nenádorových myši se zde neakumuloval. U kmene DBA se naopak akumuloval

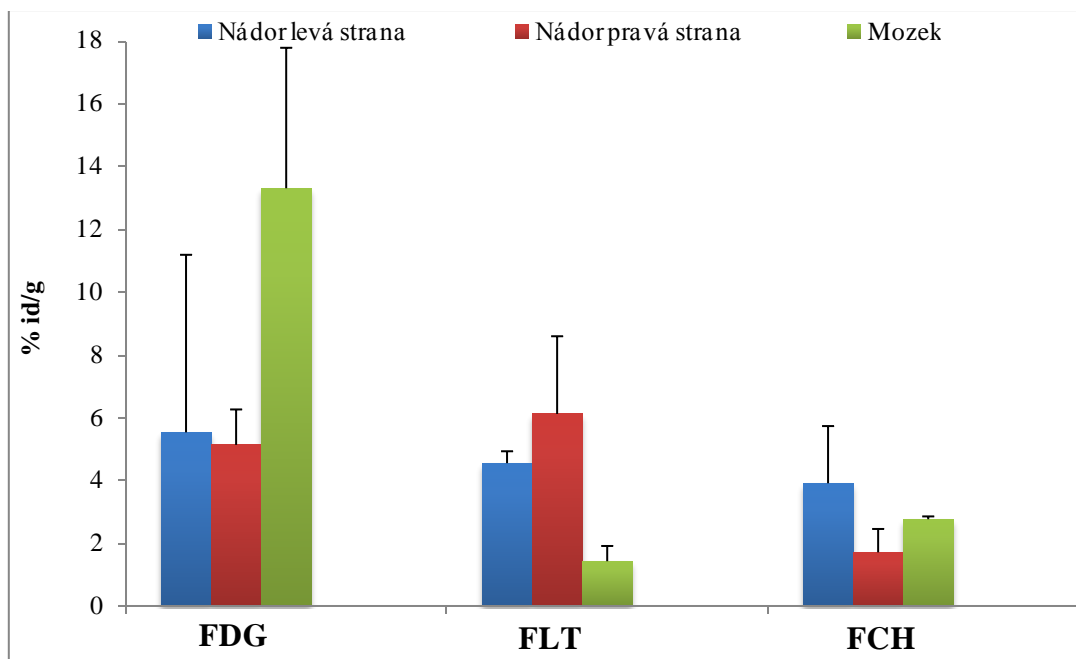
ve slezině (9,66 % id/g ± 1,04). Nebyla nalezena žádná studie, která by to popisovala, mohlo by to být vysvětleno odlišností ve fyziologii mezi kmeny DBA a SCID, popřípadě ovlivněním distribuce FLT onkologickým onemocněním.

Biodistribuce FCH

Výsledky biodistribuce u zdravých a nádorových myší jsou shrnuty v tabulkách 15 a 16. Akumulace FCH byla nejvyšší v ledvinách (37,16 % id/g ± 3,15), močovém měchýři (23,07 % id/g ± 10,58), játrech (19,44 % id/g ± 3,07), páteři (7,76 % id/g ± 0,98) a v srdci (7,43 % id/g ± 1,70). Akumulace v mozku (2,97 % id/g ± 0,41) byla nízká. Nevyšší akumulace v nádorech (pravý nádor: 2,69 % id/g ± 2,37; levý nádor: 3,79 % id/g ± 1,68) bylo dosaženo po 90 minutách od aplikace, ale jejich vizuální hodnocení nebylo dobré (obr. 28). FCH se také akumuloval ve štítné žláze (7,17 % id/g ± 0,76), tuto akumulaci ovšem nepopisuje žádná publikace. Eliminace FCH z oběhu je velmi rychlá a po 5 minutách od aplikace se biodistribuce v orgánech mění již minimálně (obr. 24 a 25). Tyto výsledky jsou ve shodě s ostatními studiemi [65, 66] s výjimkou toho, že předchozí studie ukázaly větší akumulaci v nádoru než v mozku, přičemž naše výsledky jsou sporné, což může být způsobeno částečnou nekrózou nádorů či jejich nepřesným označením (VOI) v programu PMOD.

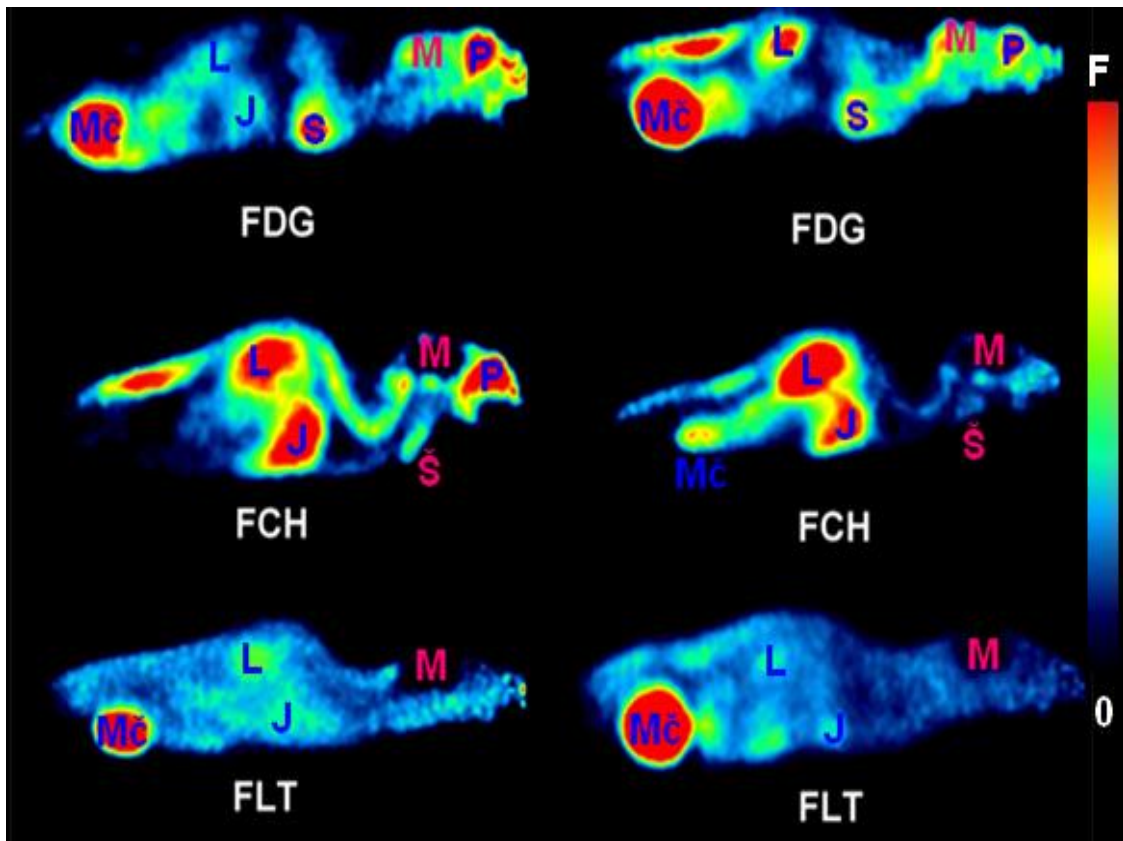
Graf 7 porovnává maximální akumulaci radiofarmaka v nádorech a v mozku. Hodnoty jasně ukazují vyšší akumulaci FDG v mozku než v nádorech. U FLT je situace opačná, akumulace je vyšší v nádorech než v mozku. Zobrazovací kvalita FCH je v tomto případě diskutabilní, protože v levém nádoru je vyšší akumulace než v mozku, ale v pravém nádoru je tomu naopak, což by mohlo být způsobeno částečnými nekrózami v nádorech.

Nejvyšší akumulaci v nádoru vykazuje FLT (pravý nádor: 6,16 % id/g ± 2,15; levý nádor: 4,87 % id/g ± 2,79), střední akumulace v nádoru je u FDG (pravý nádor: 5,11 % id/g ± 1,13; levý nádor: 5,51 % id/g ± 5,65) a nejnižší akumulace v nádoru vykazuje FCH (pravý nádor: 2,69 % id/g ± 2,37; levý nádor: 3,79 % id/g ± 1,68). Nicméně statisticky nejsou rozdíly mezi třemi zkoumanými látkami signifikantní.



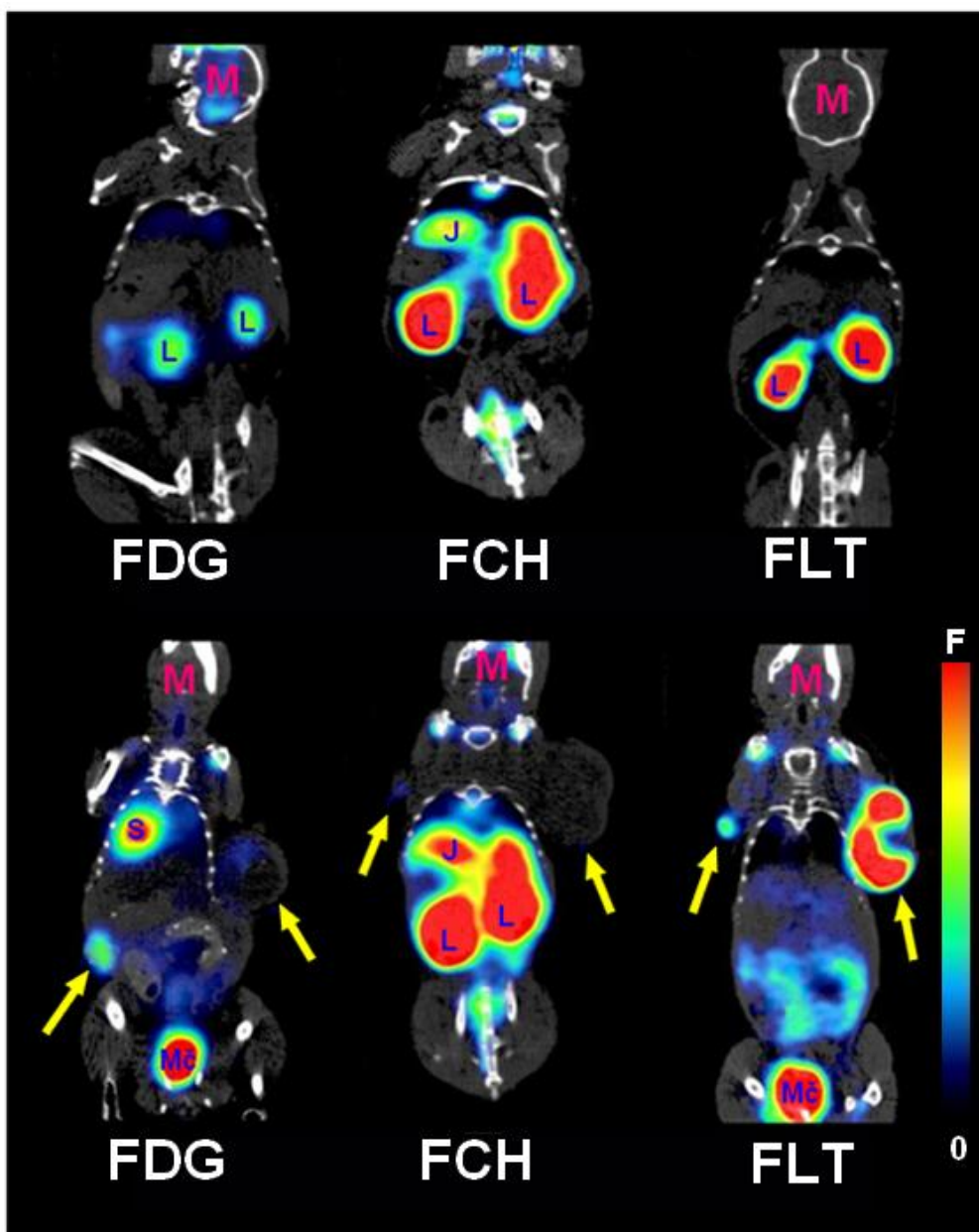
Graf 7: Srovnání maximální akumulace FDG (n=3), FLT (n=2) a FCH (n=3) v nádorech a v mozku u nádorových i nenádorových myší. Graf je vytvořen z průměrů časů nejvyšší retence látky v nádoru tj. pro FDG – 90 min; pro FLT – 40 min; pro FCH – 50 min. Vynesená data jsou aritmetické průměry s kladnou směrodatnou odchylkou.

Na obr. 27 jsou sagitální snímky myší se všemi třemi radiofarmaky. Vidíme, že akumulace FDG v mozku je ve srovnání s ostatními látkami velká, což je pro zobrazování mozkových nádorů nevhodné. Zatímco retence FLT a FCH v mozku je velmi malá. Proto obě dvě tyto látky vykazují potenciál pro využití při zobrazování mozkových nádorů.



Obr. 27: Srovnání biodistribuce radiofarmak (PET obraz) ve zdravých a nádorových myších v programu PMOD. Levá strana znázorňuje zdravé myši a pravá strana nádorové myši. Sagitální snímek biodistribuce je zaznamenán 45 minut po aplikaci radiofarmaka. Vysvětlivky: L – ledviny, J – játra, S – srdce, M – mozek, Mč – močový měchýř, Š – štítná žláza, P – místo aplikace.

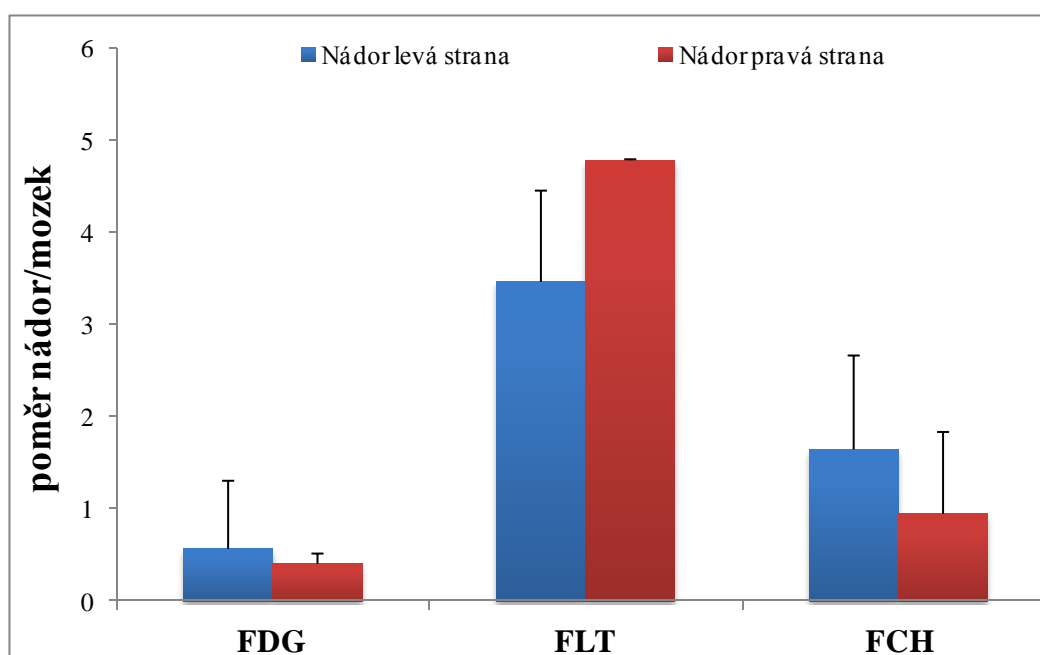
Kombinované zobrazování multiformního glioblastomu znázorňující fúzované řezy (PET+CT) je na obr. 28, kde jsou uvedeny frontální snímky za použití všech tří radiofarmak. Při zobrazování FDG nádor vykazoval poměrně malý kontrast od okolní tkáně a stejně tak i u FCH. Ačkoliv je nutné podotknout, že v nádorech byly přítomny nekrózy, které tyto výsledky mírně zkreslují. I přesto u snímku s FLT jsou nádory dobře zobrazeny, i když ne v celém svém objemu.



Obr. 28: Srovnání biodistribuce radiofarmak ve fúzovaném PET/CT obrazu u zdravých a nádorových myších v programu PMOD. Horní část obrazu znázorňuje zdravé myši a dolní část nádorové myši. Frontální snímek biodistribuce je zaznamenán 120 minut po aplikaci radiofarmaka. Žluté šipky ukazují nádory. Vysvětlivky: L – ledviny, J – játra, S – srdce, M – mozek, Mč – močový měchýř.

Akumulace radiodiagnostika ve zdravé mozkové tkáni je u orthotopických nádorů mozku nežádoucí, poněvadž tvoří rušivé pozadí k nádoru. Proto u zkoumaných látek srovnáváme především poměry akumulace nádor/mozek. Srovnání poměrů akumulace nádor/mozek je ukázáno v grafu 8. Z výsledků je patrné, že FLT vykazuje signifikantně vyšší poměr nádor/mozek než FDG a FCH a tedy i vyšší kontrast v nádorech oproti mozku (levý

nádor: $3,47 \pm 0,99$; pravý nádor: $4,79 \pm 0,01$). U FDG je tento poměr méně než 1 (levý nádor: $0,57 \pm 0,74$; pravý nádor: $0,41 \pm 0,11$) tj. nevhodný pro zobrazení nádorů v mozku. Příjem FDG v mozkové tkáni je vyšší než v samotném nádoru a v případě diagnózy by mohlo dojít k falešně negativním či pozitivním nálezům. Poměr příjmu FCH v nádoru a mozku je značně variabilní (levý nádor: $1,65 \pm 1,02$; pravý nádor: $0,95 \pm 0,89$), protože levý nádor vykazuje vyšší příjem FCH než pravý nádor a příjem v mozku má hodnotu mezi těmito dvěma. Z toho soudíme, že FCH pravděpodobně není vhodný pro zobrazování multiformního glioblastomu. Ovšem bylo by zapotřebí to potvrdit dalším zkoumáním.



Graf 8: Srovnání poměru akumulace v nádoru ku akumulaci v mozku u zkoumaných radiofarmak. Uvedené poměry akumulací jsou vybrány vždy právě ty nejvyšší z měřeného časového úseku pro danou látku tj. pro FDG – 90 min, n = 3; pro FLT – levý nádor 50 min, pravý nádor 90 min, n = 2; pro FCH – levý nádor 15 min, pravý nádor 90 min, n = 3. Data jsou ve tvaru aritmetického průměru akumulace \pm směrodatná odchylka.

Další faktor, ke kterému je nutné v hodnocení zkoumaných látek přihlídnout je radiační zátěž ostatních orgánů. V případě FDG a FLT docházelo k rychlému odstranění radiofarmaka z těla, což naznačuje vysoká akumulace v močovém měchýři během měření. Oproti tomu u FCH byla akumulace v močovém měchýři nižší a v ledvinách vyšší, což ukazuje na pomalejší exkreci radiofarmaka z těla renální cestou a vyšší radiační zátěž ledvin a ostatních orgánů. Nicméně ledviny a játra jsou „zasaženy“ všemi třemi radiofarmaky, u

ostatních orgánů se situace podstatně liší. U FDG jsou typickými orgány akumulace srdce a mozek, u FLT to jsou střeva, slezina, žlučník a u FCH kosti, játra a štítná žláza.

Dle výsledků našeho experimentu, považujeme jako nejlepší volbu pro zobrazování multiformního glioblastomu radiofarmakum FLT. Jako méně vhodnou variantu považujeme FDG, kde akumulace v mozku přesahuje akumulaci v nádoru (graf 7, graf 8), což FDG v případě orthotopického modelu značně znevýhodňuje. Zobrazování pomocí FCH, také není příliš vhodné, protože vizuální zhodnocení je obtížné a v nádorech se FCH příliš neakumuluje. Ebenham a kol. srovnávali čtyři fluorovaná radiodiagnostika na různých nádorech (gliomy – U-87 MG, melanom, fibrosarkom, karcinom prsu, plicní nádor, nádor tlustého střeva), mezi nimi byla i všechna námi použitá radiofarmaka a taktéž dospěli k závěru, že FLT je vhodné zobrazovací radiofarmakum, zatímco FCH není vhodné z důvodu jeho velmi slabé vizualizace [24]. Oproti tomu jiné studie naznačují, že FCH je slibným radiofarmakem na zobrazování mozkových nádorů [57, 66]. Ve studiích byly zkoumány podobné typy vysokostupňových mozkových nádorů. V případě první studie byl zkoumán anaplastický astrocytom u lidí, z uvedeného obrázku ve studii lze vidět, že FCH nekopíruje věrně hranice nádoru a zdravé tkáně [57]. Což naznačuje, že FCH pravděpodobně nemůže hrát velkou roli při předoperační diagnostice a v kontrole průběhu léčby. V druhé studii byl zkoumán subkutánní gliosarkom na potkanech, bohužel neuvádí žádný snímek ilustrující zobrazování gliosarkomu [66].

6 Závěr

Tato práce se zabývá zobrazováním subkutánních nádorů multiformního glioblastomu na myším modelu pomocí tří ^{18}F -fluorovaných radiofarmak (FDG, FLT, FCH) a též porovnává jejich zobrazovací potenciál. Zobrazování bylo prováděno multimodální metodou PET/CT, která spojuje zobrazování jak funkční tak i strukturní. Metoda byla nejprve ověřena na skupině zdravých nenádorových myší a po té následovalo zobrazování myší se subkutánně rostoucími nádory. Práce se zabývá i biodistribucí zkoumaných radiofarmak v ostatních orgánech.

Při diagnóze určitých maligních nádorů a jejich léčbě je velmi důležitá jejich vizualizace pomocí pozitronové emisní tomografie, což vyžaduje vhodná specifická radiofarmaka. Zobrazení nádorů je nutné, ke zjištění polohy nádoru před jeho chirurgickým odstraněním nebo například pro sledování průběhu léčby. A proto je důležitý vývoj a charakterizace nových radiofarmak.

Při našem hodnocení radiodiagnostik pro model multiformního glioblastomu jsme dospěli k závěru, že FLT je nejvhodnějším radiofarmakem pro zobrazování tumorů tvořených buňkami U-87 MG a to kvůli výrazné akumulaci FLT v nádoru, velmi nízké akumulaci tohoto radiofarmaka v mozku, vynikajícímu poměru akumulace nádor/mozek, a také kvůli nízké radiační zátěži ostatních orgánů. Akumulace FLT v těchto orgánech byla výrazně nižší než při užití FDG či FCH. I přes klinické využití FDG při zobrazování nádorů mozku shledáváme v případě multiformního glioblastomu (U-87 MG) FDG jako méně vhodné než FLT. Poměr akumulace nádor/mozek pro FDG je příliš nízký, aby mohlo docházet ke snadnému odlišení nádoru od zdravé mozkové tkáně. Ani FCH nevykazoval jednoznačné dobré výsledky. I přes relativně nízkou akumulaci FCH v mozku, musíme konstatovat, že akumulace FCH v tomto orgánu byla vyšší než v některých nádorech. Tudíž by bylo potřeba provést další zkoumání pro přesnější závěr ohledně potenciálu této látky zobrazovat glioblastom. Při zvážení radiační zátěže ostatních orgánů a vizuálního hodnocení snímků považujeme na základě naměřených dat FCH za radiodiagnostikum nevhodné pro zobrazování multiformního glioblastomu. Avšak bylo by vhodné podrobit FCH dalšímu zkoumání.

Výsledky této práce budou využity při dalším výzkumu na modelech glioblastomů v rámci Ústavu molekulární a translační medicíny LF UPOL např. při studiu rekurentních ortotopických gliomů u myší.

7 Summary

This work deals with imaging of subcutaneous tumor of glioblastoma multiforme in a mouse model using three ^{18}F -fluorinated radiopharmaceuticals (FDG, FLT, FCH) and comparison of their imaging potential. Imaging was performed using a multimodal PET/CT technique, which combines both the functional and structural imaging. The method was first validated in the group of healthy non-tumorous mice and then followed by imaging mice with subcutaneously growing glioblastoma tumors. This work study also the biodistribution of selected radiopharmaceuticals in other organs.

For the diagnosis of certain malignant diseases and their treatment is visualization using positron emission tomography essential and so it requires appropriate specific radiopharmaceuticals. Tumor imaging is necessary for localisation of malignancy before surgical intervention and also e.g. for monitoring of tumor treatment. Therefore the development and characterization of novel radiopharmaceuticals is important.

In our study, we concluded that FLT is most suitable for imaging of brain tumors derived from U-87 MG cells in mouse model, due to high tumor uptake, very low accumulation in the brain, excellent tumor/brain accumulation ratio, and also because of the low radiation exposure of other organs. The accumulation of FLT in other organs was significantly lower than in case of FDG and FCH. Despite the clinical utility of FDG imaging of brain tumors, we found FDG less suitable glioma imaging agent than FLT in mouse model. FDG tumor/brain accumulation ratio was too small to enable clear differentiation of tumor from surrounding healthy tissue. Neither FCH revealed uniformly satisfactory results. Despite relatively low FCH accumulation in the brain, we must note that FCH accumulation in this organ was higher than in some tumors. Thus, it would require further investigation for more accurate conclusion on FCH imaging potential. Having considered the ballast radiation and visual assessment of the FCH we regard this radiodiagnostics as inappropriate for imaging glioblastoma multiforme. However FCH could be an object of further studies.

Results of this thesis will be employed in further research on glioblastoma models within the Institute of Molecular and Translational Medicine, FMD PUO e.g. in study of recurrent orthotopic gliomas in mice.

8 Použitá literatura

1. RAMIREZ Y., WEATHERBEE J., WHEELHOUSE R., kol. Glioblastoma Multiforme Therapy and Mechanisms of Resistance. *Pharmaceuticals*. 2013, vol. 6, issue 12, s. 1475-1506.
2. AGARWAL S., MANCHANDA P., VOGELBAUM M. A., kol. Function of the Blood-Brain Barrier and Restriction of Drug Delivery to Invasive Glioma Cells: Findings in an Orthotopic Rat Xenograft Model of Glioma. *Drug Metabolism and Disposition*. 2012, vol. 41, issue 1, s. 33-39.
3. KOZLER, P., BENEŠ V., CHYTKA T., kol. Intrakraniální nádory. Praha: Karolinum. 2007, s. 47-51.
4. BRADLEY N. J., BLOOM H. J. G., DAVIES J. S. Growth of human gliomas in immunodeficient mice; a possible model for pre-clinical therapy studies. *British Journal of Cancer*. 1978, vol. 38, s. 263-272.
5. BRUCE J. N., HOUSEPIAN E. M. Glioblastoma Multiforme. Medscape [Online]. [Citace: 10. 1. 2014.] <http://emedicine.medscape.com/article/283252-overview#showall>.
6. CNS Pathology Index: Neoplasms. In: *The Internet Pathology Laboratory for Medical Education* [online]. [cit. 2014-04-15]. Dostupné z: <http://library.med.utah.edu/WebPath/CNSHTML/CNS136.html>
7. JOHNSON D. R., O'NEILL B. P., VOGELBAUM M. A. OHLFEST J. R., kol. Glioblastoma survival in the United States before and during the temozolomide era: Findings in an Orthotopic Rat Xenograft Model of Glioma. *Journal of Neuro-Oncology*. 2012, vol. 107, issue 2, s. 359-364.
8. CORROYER-DULMONT A., PERES E. A., PETIT E., kol. Detection of glioblastoma response to temozolomide combined with bevacizumab based on MRI and PET imaging reveals [18F]-fluoro-L-thymidine as an early and robust predictive marker for treatment efficacy: Findings in an Orthotopic Rat Xenograft Model of Glioma. *Journal of Neuro-Oncology*. 2013, vol. 15, issue 1, s. 41-56.
9. LEE D. Y., CHUNTA J. N., PARK S. S., kol. Pulsed Versus Conventional Radiation Therapy in Combination With Temozolomide in a Murine Orthotopic Model of Glioblastoma Multiforme: Findings in an Orthotopic Rat Xenograft Model of Glioma. *International Journal of Radiation Oncology*Biography*Physics*. 2013, vol. 86, issue 5, s. 41-56.
10. XIE Q., THOMPSON R., HARDY K., kol. A highly invasive human glioblastoma pre-clinical model for testing therapeutics: Findings in an Orthotopic Rat Xenograft Model of Glioma. *Journal of Translational Medicine*. 2008, vol. 6, issue 1, s. 978-985.
11. PONTEN J., MACINTYRE E. H. Long-term culture of normal and neoplastic human glia. *Acta pathologica, microbiologica, et immunologica Scandinavica*. 1968, vol. 74, s. 465-486.
12. CLARK M. J., HOMER N., O'CONNOR B.D., kol. U87MG Decoded: The Genomic Sequence of a Cytogenetically Aberrant Human Cancer Cell Line. *PLoS Genetics*. 2010, vol. 6, issue 1.
13. AABERG-JESSEN CH., NØRREGAARD A., CHRISTENSEN K., kol. Invasion of primary glioma- and cell line-derived spheroids implanted into corticostriatal slice cultures. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*. 2013, vol. 6, issue 4, s. 546-560].
14. CANDOLFI M., CURTIN J. F., NICHOLS W. S., kol. Intracranial glioblastoma models in preclinical neuro-oncology: neuropathological characterization and tumor progression. *Journal of Neuro-Oncology*. 2007, vol. 85, issue 2, s. 133-148.

15. HUSZTHY P. C., DAPHU I., NICLOU S. P., kol. In vivo models of primary brain tumors: pitfalls and perspectives. *Neuro-Oncology*. 2012, vol. 14, issue 8, s. 979-993.
16. MediLexikon [online]. [cit. 2014-03-10]. Dostupné z: <http://www.medilexikon.com/medicaldictionary.php?t=43852>
17. MediLexikon [online]. [cit. 2014-03-10]. Dostupné z: <http://www.medilexikon.com/medicaldictionary.php?t=38219>
18. SAUSVILLE, E. A., BURGER A. M., BECHER O. J., kol. Contributions of Human Tumor Xenografts to Anticancer Drug Development. *Cancer Research*. 2006, vol. 66, issue 7, s. 3351-3354.
19. PHELPS M. E.. Positron emission tomography provides molecular. *Journal of Nuclear Medicine*. 2000, vol. 41, issue 4, s. 661-681.
20. VALLABHAJOSULA S. 18F-Labeled Positron Emission Tomographic Radiopharmaceuticals in Oncology: An Overview of Radiochemistry and Mechanisms of Tumor Localization. In: Seminars in nuclear medicine. WB Saunders, 2007, s. 400-419.
21. BEYER T., TOWNSEND D. W., BRUN T., kol. A combined PET/CT scanner for clinical oncology. *Journal of Nuclear Medicine*. 2000, vol. 4, issue 8, s. 1369-1379.
22. SHARP P. F., GEMMELL H. G., MURRAY A. D. Practical Nuclear Medicine. Third edition. London : Springer. 2005. s. 35-50, 103-104.
23. TOWNSEND D.W. Physical principles and technology of clinical PET imaging. *Ann Acad Med Singapore*. 2004, vol. 33, s. 133-45.
24. EBENHAN T., HONER M., AMETAMEY S.M., kol. Comparison of [18F]-Tracers in Various Experimental Tumor Models by PET Imaging and Identification of an Early Response Biomarker for the Novel Microtubule Stabilizer Patupilone. *Molecular Imaging and Biology*. 2009, vol. 11, issue 5.
25. SAHA G. B. Fundamentals of Nuclear Pharmacy. Sixth Edition. New York: Springer. 2010. s. 14, 145-149.
26. Carestream product information. Albira PET/SPECT/CT. User guide. 2012
27. Carestream product information. Albira: Hardware and Applications Overview November 2012.
28. BOELLAARD R., MOLINER L., CORRECHER C., kol. Standards for PET Image Acquisition and Quantitative Data Analysis: Performance evaluation. *Journal of Nuclear Medicine*. 2009, vol. 50.
29. KOWALSKY R., FALEN J., STEVEN W. Radiopharmaceuticals in nuclear pharmacy and nuclear medicine. Second edition. Washington, D.C : APhA, American Pharmacists Association. 2004. s. 337-344.
30. LEE T. S., AHN S. H., MOON B. S., kol. Comparison of 18F-FDG, 18F-FET and 18F-FLT for differentiation between tumor and inflammation in rats: Performance evaluation. *Nuclear Medicine and Biology*. 2009, vol. 36, issue 6, s. 681-686.
31. SÁNCHEZ F., ORERO A., SORIANO A., kol. ALBIRA: A small animal PET/SPECT/CT imaging system. *Medical Physics*. 2013, vol. 40, issue 5, s. 051906-.
32. ZUNA I. a POUŠEK L. Úvod do zobrazovacích metod v lékařské diagnostice. Praha: ČVUT. 2000, s. 13-34.
33. SHREVE P., TOWNSEND D. W. Clinical PET-CT in Radiology: Integrated Imaging in Oncology. New York: Springer, 2011. s. 1-6.

34. LOBERA A. Imaging in Glioblastoma Multiforme. Lobera. [On line] 27. 8. 2013. [Citace: 1. 25. 2014.] <http://emedicine.medscape.com/article/340870-overview#showall>.
35. LAZNÍČEK M., KOMÁREK P. Základy radiofarmacie. Praha: Karolinum, 1998. s. 27-64.
36. GULYÁS B., HALLDIN C. New PET radiopharmaceuticals beyond FDG for brain tumor imaging. The quarterly journal of nuclear medicine and molecular imaging: official publication of the Italian Association of Nuclear Medicine (AIMN)[and] the International Association of Radiopharmacology (IAR),[and] Section of the Society of. 2012, vol. 56, issue 2, s. 173-190.
37. la Fougère, C., Suchorska, B., Bartenstein, P., Kreth. Molecular imaging of gliomas with PET: opportunities and limitations. *Neuro-oncology*, 2011, vol. 13, issue8, s.806-819.
38. VALLABHAJOSULA, Shankar, Lilja SOLNES a Brigitte VALLABHAJOSULA. A Broad Overview of Positron Emission Tomography Radiopharmaceuticals and Clinical Applications: What Is New?. *Seminars in Nuclear Medicine*. 2011, vol. 41, issue 4, s. 246-264.
39. HERHOLZ, Karl, Karl-Josef LANGEN, Christiaan SCHIEPERS a James M. MOUNTZ. Brain Tumors. *Seminars in Nuclear Medicine*. 2012, vol. 42, i. 6.
40. CAROLLI P., NANNI C., RUBELLO D., kol. Non-FDG PET in the practice of oncology. *Indian Journal of Cancer*. 2010, vol. 47, s. 120-5
41. A Study to Demonstrate the Safety and Preliminary Efficacy of 18F-FLT in Patients With Solid Tumours or Lymphoma. In: *ClinicalTrials.gov: A service of the U.S. National Institutes of Health* [online]. 2008, 2012 [cit. 2014-04-06]. Dostupné z: <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01065805?term=FLT&rank=5>
42. MET-PET for Newly Diagnosed Glioblastoma. In: *ClinicalTrials.gov: A service of the U.S. National Institutes of Health* [online]. 2013 [cit. 2014-04-06]. Dostupné z: <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01867593?term=MET+AND+c-11+met&rank=2>
43. 18F-FCH (Fluorocholine)-PET/MR in Staging of High-Risk Prostate Cancer. In: *ClinicalTrials.gov: A service of the U.S. National Institutes of Health* [online]. 2013, 2014 [cit. 2014-04-06]. Dostupné z: <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01993160?term=FCH&rank=1>
44. FDA approves 11C-choline for PET in prostate cancer. *J Nucl Med*. 2012, vol.53, issue 12.
45. FMISO-PET in Brain Tumors and SCS Effect (FMISOPETSCS). In: *ClinicalTrials.gov: A service of the U.S. National Institutes of Health* [online]. 2010, 2014 [cit. 2014-04-06]. Dostupné z: <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01868906?term=FMISO&rank=1>
<http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01756352?term=FET&rank=1>
46. [18F]-NaF. In: *Society of Nuclear Medicine and Molecular Imaging* [online]. 2012 [cit. 2014-04-06]. Dostupné z: http://interactive.snm.org/docs/PET_PROS/Sodium_fluoride.pdf
47. FMISO-PET in Brain Tumors and SCS Effect (FMISOPETSCS). In: *ClinicalTrials.gov: A service of the U.S. National Institutes of Health* [online]. 2010, 2014 [cit. 2014-04-06]. Dostupné z: <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01868906?term=FMISO&rank=1>
48. FET-PET for Evaluation of Response of Recurrent GBM to Avastin. . In: *ClinicalTrials.gov: A service of the U.S. National Institutes of Health* [online]. 2012, 2013 [cit. 2014-04-06]. Dostupné z: <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01756352?term=FET&rank=1>

49. Positron Emission Tomography (PET) With 3,4-dihydroxy-6-18F-fluoro-L-enylalanine (18F-FDOPA) Study. In: *ClinicalTrials.gov: A service of the U.S. National Institutes of Health* [online]. 2010, 2013 [cit. 2014-04-06]. Dostupné z: <http://clinicaltrials.gov/ct2http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01248754?term=FDOPA&rank=2>
50. PACÁK J., TOČÍK Z., ČERNÝ M.. Synthesis of 2-deoxy-2-fluoro-D-glucose. *Journal of the Chemical Society D: Chemical Communications*. 1969, vol. 2, s. 77-77.
51. IDO T., WAN C.N., CASELLA V., kol. Labeled 2-deoxy-D-glucose analogs: 18F-labeled 2-deoxy-2-fluoro-D-glucose, 2-deoxy-2-fluoro-D-mannose and 14C-2-deoxy-2-fluoro-D-glucose. *Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals*. 1978, vol. 24, s. 174–183
52. LEVY S., ELMALEH D., LIVNI E. A new method using anhydrous [18F] fluoride to radiolabel 2-[18F] fluoro-2-deoxy-D-glucose. *Journal of Nuclear Medicine*. 1982, vol. 23, s. 918-22.
53. PACAK J., CERNY M. Deoxyfluoroglukosa, mezník ve vývoji pozitronové emisní tomografie (historie jednoho výzkumu). *Chemické listy*. 2002, vol. 96, issue 8, s. 704-707.
54. KONTÁROVÁ K. 2-[18F]fluoro-2-deoxy-D-glukóza. *Radiomedic*. [Online] 14. 8. 2013. [Citace: 15. 11. 2013.] <http://www.radiomedic.cz/cz/odborne-info/2-18f-fdg/>
55. VAN WAARDE A., COBBEN D. C. P., SUURMEIJER A. J. H., kol. Selectivity of 18F-FLT and 18F-FDG for differentiating tumor from inflammation in a rodent model. *Journal of Nuclear Medicine*. 2004, vol. 45, issue 4, s. 695-700.
56. CHEN W., CLOUGHESY T., KAMDAR N., kol. Imaging proliferation in brain tumors with 18F-FLT PET: comparison with 18F-FDG. *Journal of Nuclear Medicine*. 2005, vol. 46, issue 6, s. 945-952.
57. DEGRADO T.R., BALDWIN S.W., WANG S., kol. Synthesis and evaluation of ¹⁸F-labeled choline analogs as oncologic PET tracers. *Journal of Nuclear Medicine*. 2001, vol. 42, s. 1805–1814.
58. GRIERSON J. R.; SHIELDS A. F. Radiosynthesis of 3'-deoxy-3'-[18F] fluorothymidine:[18F] FLT for imaging of cellular proliferation in vivo. *Nuclear medicine and biology*. 2000, vol. 27, issue 2: s. 143-156.
59. SHIELDS A. F., GRIERSON J. R., DOHMEN B. M., kol. Imaging proliferation in vivo with [F-18] FLT and positron emission tomography. *Nature medicine*. 1998, vol. 4, issue 11, s. 1334-1336.
60. BARTHEL H., CLEIJ M. C., COLLINGRIDGE D. R., kol. 3'-deoxy-3'-[18F] fluorothymidine as a new marker for monitoring tumor response to antiproliferative therapy in vivo with positron emission tomography. *Cancer research*. 2003, vol. 63, issue 13, s. 3791-3798.
61. HARA T., KOSAKA N., SHINOURA N., kol. PET imaging of brain tumor with [methyl-11C]choline. *Journal of Nuclear Medicine*. 1997, vol. 38, s. 842–847.
62. KWEE S. A., DEGRADO T. R., TALBOT J. N., kol. Cancer imaging with fluorine-18-labeled choline derivatives. *Seminars in Nuclear Medicine*. 2007, vol. 37, issue 6, s. 420-428.
63. MERTENS K., SLAETS D., LAMBERT B., kol. Cancer Imaging With Fluorine-18-Labeled Choline Derivatives: a review of the literature. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*. 2010, vol. 37, issue 11, s. 2188-2193.
64. KWEE S. A., KO J. P., JIANG C. S., kol. Solitary Brain Lesions Enhancing at MR Imaging: Evaluation with Fluorine 18-Fluorocholine PET. *Radiology*. 2007, vol. 24, issue 2, s. 557-565.

65. DEGRADO T. R., REIMAN R. E., PRICE D. T., kol. Pharmacokinetics and radiation dosimetry of 18F-fluorocholine. *Journal of Nuclear Medicine*. 2002, vol. 43, issue1, s. 92-96.
66. BANSAL A., SHUYAN W., HARA T., kol. Biodisposition and metabolism of [18F] fluorocholine in 9L glioma cells and 9L glioma-bearing fisher rats. *European journal of nuclear medicine and molecular imaging*. 2008, vol. 35, issue 6, s. 1192-1203.
67. VANPOUILLE C., LE JEUNE N., KRYZA D., kol. Influence of multidrug resistance on 18F-FCH cellular uptake in a glioblastoma model. *European journal of nuclear medicine and molecular imaging*. 2009, vol. 36, issue 8, s. 1256-1264.
68. MURRAY W. S. The breeding behavior of the dilute brown stock of mice (Little dba). *The American Journal of Cancer*. 1934, vol. 20, issue 3, s. 573-593.
69. BOSMA G. C., CUSTER R. P., BOSMA M. J. A severe combined immunodeficiency mutation in the mouse. *Nature*. 1983, vol. 301, issue 5900.
70. BOSMA M. J., CARROLL A. M. The SCID mouse mutant: definition, characterization, and potential uses. *Annual review of immunology*. 1991, vol. 9, issue 1, s. 323-350.
71. YARDENI T., ECKHAUS M., MORRIS H. D., kol. Retro-orbital injections in mice. *Lab Animal*. 2011, vol. 40, issue 5, s. 155-160.
72. PHELPS M. E. *PET: molecular imaging and its biological applications*. Springer. 2004, s. 130-131.

9 Seznam obrázků

- Obr. 1:** Multifonní glioblastom nacházející se v pravé hemisféře mozku člověka [6].
- Obr. 2:** Obrázek demonstrující princip zavedení myšního modelu lidských nádorů [18].
- Obr. 3:** Uspořádání detektoru pro PET [22].
- Obr. 4:** A-obrázek umístění posuvného lůžka v přístroji Albira micro-PET/CT/SPECT; B- lůžko s vyšetřovanou myší [26].
- Obr. 5:** Princip PET zobrazování [27].
- Obr. 6:** Technické uspořádání micro-PET/CT/SPECT systému [31].
- Obr. 7:** Přístroj Albira PET/SPECT/CT [27].
- Obr. 8:** Demonstrační snímky z pozitronové emisní tomografie, výpočetní tomografie a fúzovaný snímek PET/CT při použití ^{18}F -fluorocholinu.
- Obr. 9:** Strukturní v zorec FDG [20].
- Obr. 10:** Transport FDG z extracelulárního prostoru do buňky a její metabolismus [20].
- Obr. 11:** Strukturní v zorec tymidinu a FLT [20].
- Obr. 12:** Metabolismus a transport ^{18}F -FLT z plazmy do buňky [20].
- Obr. 13:** Strukturní v zorec FCH [20].
- Obr. 14:** Srovnání akumulace FDG, FLT a FCH plicního nádoru (H-460), který roste intrakraniálně [24].
- Obr. 15:** Srovnání akumulace FDG, FLT a FCH ve zhoubném subkutánním fibrosarkomu (RIF-1) [24].
- Obr. 16:** Schéma zařízení pro inhalační anestezii.
- Obr. 17:** Označování oblastí zájmu (VOI) v programu PMOD.
- Obr. 18:** Biodistribuce ^{18}F -FDG ve zdravé myši v programu PMOD, sagitální řez.
- Obr. 19:** Biodistribuce ^{18}F -FDG v nádorové myši v programu PMOD, sagitální řez.
- Obr. 20:** 3D vizualizace biodistribuce ^{18}F -FDG v A – zdravé myši a B – nádorové myši v programu VolView.
- Obr. 21:** Biodistribuce ^{18}F -FLT ve zdravé myši v programu PMOD, sagitální řez.
- Obr. 22:** Biodistribuce ^{18}F -FLT v nádorové myši v programu PMOD, sagitální řez.
- Obr. 23:** 3D vizualizace biodistribuce ^{18}F -FLT v A – zdravé myši a B – nádorové myši v programu VolView.
- Obr. 24:** Biodistribuce ^{18}F -FCH ve zdravé myši v programu PMOD, sagitální řez.
- Obr. 25:** Biodistribuce ^{18}F -FCH v nádorové myši v programu PMOD, sagitální řez.
- Obr. 26:** 3D vizualizace biodistribuce ^{18}F -FCH v A – zdravé myši a B – nádorové myši v programu VolView.
- Obr. 27:** Srovnání biodistribuce radiofarmak (PET obraz) ve zdravých a nádorových myších v programu PMOD.
- Obr. 28:** Srovnání biodistribuce radiofarmak ve fúzovaném PET/CT obrazu u zdravých a nádorových myších v programu PMOD.

10 Seznam tabulek

Tabulka 1: Pozitronové zářiče využitelné při zobrazování mozku [20], [36].

Tabulka 2: Přehled vybraných klinicky užívaných PET radiofarmak k zobrazování nádorů.

Tabulka 3: Biodistribuce FDG ve zdravých myších 30 a 60 minut po aplikaci [52].

Tabulka 4: Biodistribuce FDG v jednotlivých orgánech u potkana s nádorem (buněčná linie 9L, gliosarcom) 60 minut po aplikaci [30].

Tabulka 5: Akumulace FLT u potkana s nádorem (buněčná linie 9L, gliosarkom) s léčbou a bez léčby tymidinofosforylázou (TP) 60 min po aplikaci [30].

Tabulka 6: Akumulace FLT u potkana s nádorem (buněčná linie C6, krysí gliomové buňky) s léčbou a bez léčby tymidinofosforylázou (TP) 120 minut po aplikaci [55].

Tabulka 7: Akumulace FCH v jednotlivých orgánech u zdravých myší v časech 60 minut a 10 hodin po aplikaci [65].

Tabulka 8: Akumulace FCH v jednotlivých orgánech u potkanů s nádorem (buněčná linie 9L, gliosarkom) 5 minut a 10 minut po aplikaci [66].

Tabulka 9: Akumulace FCH v jednotlivých orgánech u myší s nádorem (PC-3 – karcinom prostaty a MCF7 – karcinom prsu) v časech 10 minut, 30 minut a 60 minut po aplikaci [65].

Tabulka 10: Velikosti nádorů v době zobrazování u SCID myší.

Tabulka 11: Biodistribuce FDG u nenádorových myší (n=2).

Tabulka 12: Biodistribuce FDG u nádorových myší (n=3).

Tabulka 13: Biodistribuce FLT u nenádorových myší (n=2).

Tabulka 14: Biodistribuce FLT u nádorových myší (n=2).

Tabulka 15: Biodistribuce FCH u nenádorových myší (n=5).

Tabulka 16: Biodistribuce FCH u nádorových myší (n=3).

11 Seznam grafů

Graf 1: Biodistribuce FDG u nenádorových myší (n=2).

Graf 2: Biodistribuce FDG u nádorových myší (n=3)

Graf 3: Biodistribuce FLT u nenádorových myší (n=2).

Graf 4: Biodistribuce FLT u nádorových myší (n=2).

Graf 5: Biodistribuce FCH u nenádorových myší (n=5).

Graf 6: Biodistribuce FCH u nádorových myší (n=3).

Graf 7: Srovnání akumulace FDG (n=3), FLT (n=2) a FCH (n=3) v nádorech a v mozku u nádorových i nenádorových myší.

Graf 8: Srovnání poměru akumulace v nádoru ku akumulaci v mozku u zkoumaných radiofarmak.