

Tècniques d'imatge *in vivo* aplicades a la recerca biomèdica

Immaculada Rafecas Jorba

Unitat Tècnica de Protecció Radiològica, Universitat de Barcelona (UTPR-UB), CCiTUB

Correspondència: Immaculada Rafecas Jorba. Unitat Tècnica de Protecció Radiològica, Universitat de Barcelona (UTPR-UB), CCiTUB. Carrer d'Adolf Florensa, 8. 08028 Barcelona. Adreça electrònica: imma.rafecas@ub.edu.

DOI: 10.2436/20.1501.02.159
ISSN (ed. impresa): 0212-3037
ISSN (ed. digital): 2013-9802
<http://revistes.iec.cat/index.php/TSCB>
Rebut: 03/11/2014
Acceptat: 20/02/2015

Resum

La possibilitat de visualitzar l'estructura i els processos que tenen lloc a l'interior dels organismes en condicions fisiològiques *in vivo* ha revolucionat la recerca biomèdica amb aproximacions que fins fa uns anys només es podien dur a terme *in vitro*. Actualment hi ha un ampli ventall de tècniques d'imatge molecular a l'abast de la recerca biomèdica que permeten el seguiment de paràmetres fisiològics, metabòlics i patològics en models d'experimentació animal. Aquestes tècniques són molt variades i inclouen la imatge mitjançant fluorescència (FLI), per ressonància magnètica (MRI) o per emissió de positrons (PET), entre d'altres. El seu caràcter no invasiu facilita la traducció directa dels estudis de laboratori a les aplicacions en humans i permet avançar en el coneixement en camps tan diversos i complexos com l'oncologia, les neurociències, la cardiologia o el desenvolupament de nous fàrmacs.

Paraules clau: imatge molecular, imatge preclínica, recerca biomèdica, imatge multimodal.

Introducció

L'estudi dels processos metabòlics o patològics que es donen en els éssers vius pot ser abordat des de diferents nivells, però la seva complexitat en els organismes superiors (humans), així com la interrelació entre diferents vies metabòliques i la seva regulació multifactorial, fan que sovint els estudis es duguin a terme en sistemes simplificats, en condicions controlades al laboratori, el que anomenem estudis *in vitro*. Aquest estudis *in vitro* poden ser duts a terme sobre cèl·lules en cultiu o més recentment sobre bioxips (Huh *et al.*, 2011), però en molts casos es basen en l'extracció d'una mostra biològica de l'organisme (sang, teixits o cèl·lules) i, en qualsevol cas, en la quantificació posterior de metabòlits mitjançant diferents tècniques analítiques, la visualització per diferents tècniques de microscòpia o la combinació d'ambdues. En canvi, les tècniques d'imatge *in vivo* permeten la quantificació o visualització dels processos *in situ* a temps real, directament sobre els animals vius, de manera no invasiva, i amb l'animal el més intacte possible; aquestes característiques ens permeten una aproximació molt més representativa de les condicions fisiològiques reals en les quals es produeixen els fenòmens i processos bioquímics objecte d'estudi.

Els subjectes emprats en recerca biomèdica són habitualment models animals, entre els quals destaquen els animals de laboratori de mida més petita: rata i ratolí. Estan disponibles en una gran varietat de soques específiques per a diferents estudis, àmpliament caracterit-

In vivo imaging techniques for biomedical research

Summary

The possibility of visualising the structures and processes that take place inside organisms under *in vivo* physiological conditions has revolutionised biomedical research studies with approaches that until recently were only possible *in vitro*. At present a wide range of molecular imaging techniques are available for biomedical research allowing the monitoring of physiological, metabolic and pathologic parameters in animal research models. These techniques are varied and include imaging by means of fluorescence (FLI), by magnetic resonance (MRI) or positron emission (PET), among others. Its non-invasive nature facilitates the direct translation from lab studies to applications in humans, and allows advances to be made in knowledge in areas as diverse and complex as oncology, neuroscience, cardiology or new drug development.

Keywords: molecular imaging, preclinical imaging, biomedical research, multimodality imaging.

zades i estandarditzades, moltes productes de l'enginyeria genètica (Vandamme, 2014). Per tant, les tècniques d'imatge que tractarem a continuació s'apliquen fonamentalment en aquests models animals.

Tot el que acabem de comentar implica la necessitat de visualitzar d'una manera o altra l'interior dels organismes vius, i per aquest motiu parlem de tècniques d'imatge. En aquest context, l'obtenció d'una imatge implica la detecció des de l'exterior de l'organisme, de manera directa o indirecta, de fotons de diferents longituds d'ona de l'espectre electromagnètic, aprofitant diferents fenòmens físics que es comentaran. Un avenç significatiu de les tècniques d'imatge està representat per la possibilitat d'obtenir imatges tridimensionals (imatges en 3D o tomografia), que s'acosten més a la realitat dels fenòmens i estructures que les tradicionals imatges bidimensionals (radiografia).

En recerca biomèdica, igual que en el diagnòstic clínic, és important disposar d'informació sobre les característiques o canvis que produeixen variacions en la morfologia d'òrgans o teixits (hipertrofia, masses tumorals), i per tant són molt útils aquelles tècniques que proporcionen imatges purament anatòmiques. Si bé però, atès que en els processos patològics habitualment es produeixen alteracions bioquímiques i metabòliques prèvies a la manifestació morfològica, les tècniques d'imatge *in vivo* que ens aporten informació funcional constitueixen eines amb un potencial més gran en recerca i diagnòstic; tècniques que en conjunt coneixem com a imatge molecular.

En aquest article, doncs, farem un breu repàs per tot un ventall de tècniques d'imatge en recerca biomèdica que s'apliquen a models animals *in vivo*, normalment de cos sencer, i que no són invasives, de manera que permeten la realització d'estudis longitudinals en un mateix subjecte; característiques que faciliten la translació de la recerca a aplicacions en humans (imatge preclínica), allò que alguns en diuen *bench to bed* (Koba *et al.*, 2011).

TC: tomografia computada

La TC prové del desenvolupament de la radiografia i, igual que aquesta, ens permet l'obtenció d'imatges anatòmiques de l'interior de l'organisme mitjançant l'atenuació diferencial d'un feix de raigs X en incidir en les diferents estructures del cos (ossos-teixits tous, greix-teixit magre, aire). En TC es fa un escàner o tomografia tridimensional, que mesura el grau d'atenuació dels diferents teixits en les denominades unitats de Hounsfield (HU) per vòxel (unitat d'imatge volumètrica). A diferència també de la radiografia, en TC el feix de raigs X és estret i en forma de ventall, i va escanejant l'organisme mentre aquest es desplaça longitudinalment per l'eix de l'equip (*gantry*), de manera que el tub de raig X i els detectors estan en posició diametralment oposada i giren solidàriament al voltant del *gantry*. Els detectors actuals són conjunts lineals de detectors que consten de cristalls centellejadors i fotodiodes, que transformen els raigs X incidents en senyal elèctric que, mitjançant el programari de tractament d'imatge, serà visualitzat i permetrà la reconstrucció d'imatges en 3D.

Aquesta tècnica s'aplica tant en diagnòstic en humans com en recerca en animals, en què es coneix com a microTC o mTC, en referència explícita a la mida més petita de l'equipament específicament dissenyat per emprar en models d'animals petits. Aquest escalat constitueix un repte tecnològic important, ja que els equips per a humans no tenen prou sensibilitat o resolució per poder ser emprats en aquests models animals.

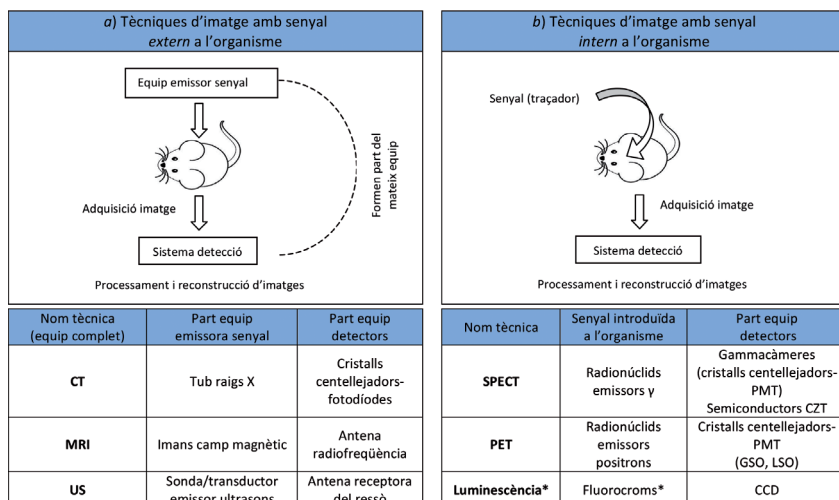
La TC té aplicacions en estudis cardíacs, en oncologia per a la detecció de petites masses tumorals i, en general, en qualsevol estudi en què se cerqui una mínima diferència morfològica. És, per tant, una tècnica eminentment anatòmica amb una molt alta resolució, però amb pràcticament nul·les aplicacions en imatge molecular per si sola, si bé quan es combina amb altres tècniques —en les anomenades *tècniques d'imatge multimodal*— aporta el marc anatòmic que manca a les tècniques d'imatge funcional (Fine *et al.*, 2014). Per augmentar-ne la baixa capacitat de diferenciació entre teixits tous, s'administren agents de contrast iodats.

Els darrers avenços tecnològics en aquesta tècnica inclouen el TC multitall, els helicoidals, de feix cònic (*cone beam*, CBCT) o el DECT (*dual energy CT*), que milloren encara més la qualitat de la imatge (resolució) i en potencien la capacitat de diferenciar els teixits tous (contrast).

MRI: imatge per ressonància magnètica

Basat en l'aplicació d'un camp magnètic intens (5-15 tesles), es considera un equipament complex i de cost relativament elevat.

El camp magnètic i els polsos de radiofreqüència a una determinada freqüència de ressonància alteren l'espín dels nuclis dels àtoms (bàsicament de l'hidrogen de l'aigua dels teixits), de manera que les petites diferències energètiques degudes a les variacions d'espín són emeses com



† Figura 1. Visió general de les tècniques d'imatge *in vivo*, agrupades en funció de l'origen del senyal a detectar: a) extern i b) intern a l'animal. (Malgrat que els fluorocroms són administrats com a traçador —senyal intern—, requereixen ser activats externament amb llum làser, vegeu la figura 3 i el text.)

a senyal de radiofreqüència captada per una antena de l'equip, que seran transformades en posicions espacials precises.

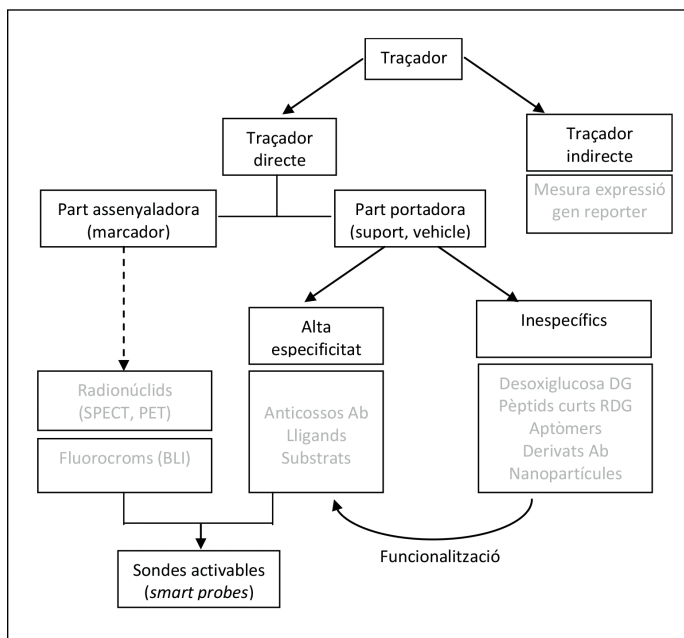
Com a principal característica cal destacar que es tracta d'una tècnica fonamentalment anatòmica, ideal per visualitzar teixits tous com ara el cervell (Herrmann *et al.*, 2012), però la seva relativa manca de sensibilitat fa que els temps d'adquisició d'imatge siguin llargs. Per altra banda, la manca de contrast a vegades es compensa amb l'ús d'agents de contrast, si bé aquests, en quantitats elevades, podrien ser tòxics o alterar l'homeòstasi de l'animal. Un exemple són les partícules paramagnètiques, que poden contenir galodini (Gd) o òxid de ferro (SPIO: *superparamagnetic iron oxide*).

El desenvolupament d'aquesta tècnica ha portat a modalitats com la imatge funcional per RM (fMRI), que permet visualitzar les àrees que incrementen l'activitat cerebral en resposta a un estímul específic, i detecta els canvis produïts en la relació hemoglobina oxigenada/desoxigenada, mecanisme conegut també per BOLD (*blood oxygen level-dependent mechanism*). Una altra modalitat en expansió és l'espectroscòpia per RM (MRS), que permetria l'obtenció de l'espectre d'un sol vòxel d'imatge per tal d'identificar-ne la composició bioquímica.

US: ultrasons

L'aplicació dels ultrasons per a l'obtenció d'imatges anatòmiques de l'interior de l'organisme ens és del tot familiar, sobretot gràcies a les ecografies gestacionals. Requereix una sonda externa que cal mantenir en contacte amb la superfície del cos mitjançant un gel. Aquesta sonda o transductor emet ones de so no detectables per l'oïda humana (entorn de 20 MHz) i que es transmeten a través dels teixits tous en funció de la seva impedància acústica, que és proporcional a la densitat dels teixits, de manera que les diferències d'impedància acústica entre teixits propers provoquen la reflexió de les ones de so (ressò), que és recollit i analitzat pel transductor mateix.

Aquesta tècnica està evolucionant amb l'ús, com a agent de contrast, de bombolles de gas recobertes que no escapen del sistema vascular, i per tant tenen aplicacions en estudis intravasculars (Unnikrishnan *et al.*, 2012). Aquestes microbombolles es poden recobrir amb molècules



↑ Figura 2. Diferents tipus de sondes o traçadors aplicats en tècniques d'imatge *in vivo*.

d'adhesió per a estudis d'inflamació i per a seguiment de biomarcadors de l'endoteli vascular; o amb anticossos monoclonals per a estudis d'angiogènesi (neovascularització de masses tumorals), o l'estudi de zones danyades per episodis d'isquèmia-reperfusió i trombus.

Una variant és la imatge fotoacústica, en la qual s'ha substituït la font emissora d'ones de so per un làser polsat, que en interaccionar amb els teixits biològics genera una expansió termoelàstica transitòria i aquesta els ultrasons, que seran detectats.

Tècniques òptiques

Sota aquesta denominació s'inclouen diferents tècniques que tenen en comú l'obtenció d'imatges a partir de la captació d'un senyal lluminós, és a dir, fotons de llum de diferents longituds d'ona fins al VIS/UV, però no ionitzants, sobretot en la banda de l'infraroig proper (NIR). Això permet que el sistema de detecció sigui relativament simple: una càmera CCD (*charge-coupled device*), el mateix sistema que incorporen la majoria de càmeres fotogràfiques digitals domèstiques, fet que confereix a aquestes tècniques l'atractiu que l'equipament necessari té un cost relativament baix.

La principal limitació de les tècniques òptiques està determinada per la baixa capacitat de penetració en la matèria d'aquests fotons, a causa de la dispersió i absorció de la llum en els teixits, que limita la profunditat d'observació dels fenòmens a uns pocs centímetres. Per tant, solen ser útils per estudiar lesions superficials o aplicables a animals molt petits, generalment animals transgènics tipus *nude* (rata/rotolí atímics desproveïts de pèl).

Dins les tècniques òptiques podem distingir diferents modalitats, com per exemple les basades en la bioluminescència, la fluorescència i el Cerenkov; però si no es requereix una informació de tot l'organisme, sinó una imatge funcional més localitzada i a escala subcel·lular, hi podem incloure la IVM (*intravital microscopy*) i altres tècniques emer-

gents com la SERS (*surface enhanced Raman scattering*), que queden fora de l'abast d'aquest document.

BLI: bioluminescència

La bioluminescència (vegeu la figura 3a) es basa a incorporar el gen que codifica un enzim que activa l'emissió de llum d'una proteïna fluorescent (per exemple, el gen de la luciferasa, com la de les cuques de llum) sota el mateix control transcripcional que el gen/proteïna d'interès, i actua de gen reporter. De manera que l'expressió del gen d'interès serà proporcional a l'expressió del gen de la luciferasa, que visualitzem *in vivo* captant la intensitat de llum produïda i la seva distribució en l'organisme. Per tal d'incorporar un d'aquests gens cal obtenir cèl·lules o ratolins transgènics, i posteriorment administrar-los el substrat (luciferina).

Aquesta tècnica presenta una alta sensibilitat en la detecció de tumors en no haver-hi senyal de fons en els teixits que no expressen el gen. També s'ha aplicat aquesta tècnica en l'estudi de malalties infeccioses, i en teràpia cel·lular per al seguiment de la distribució i capacitat d'implantació de les cèl·lules subministrades (Paley *et al.*, 2014).

FLI: fluorescència

En les tècniques amb marcadors fluorescents, en canvi (vegeu la figura 3b), introduïm o bé molècules marcades amb molècules fluorescents (fluorocroms com el pèptid Cy5.5), proteïnes fluorescents o bé *quantum dots* (nanopartícules de materials semiconductors amb propietats fluorescents), que un cop es distribueixen en l'organisme s'activen mitjançant un làser extern, i emeten fotons fluorescents que seran detectats externament.

Actualment els fluorocroms es combinen amb altres molècules, com per exemple anticossos o els seus derivats *nanobodies* (Chakravarty *et al.*, 2014) per conferir-los especificitat. També poden formar part de les anomenades *smart probes*, en què el fluoròfor es troba unit a un agent blocador mitjançant un pèptid, de manera que en les cèl·lules que no expressen la proteasa específica d'aquest pèptid d'unió no hi ha emissió de fluorescència, mentre que en presència de la proteasa s'indueix l'emissió fluorescent. Algunes d'aquestes sondes activables estan disponibles comercialment, com per exemple sondes específiques per quantificar l'activitat de l'enzim caspasa-1, directament relacionada amb l'apoptosi de cèl·lules tumorals; llavors aquestes sondes poden presentar múltiples fluoròfors units a un esquelet d'aminoàcid mitjançant un pèptid que pot ser tallat per l'enzim caspasa-1 (Hellebust *et al.*, 2012).

CLI: Cerenkov

La radiació Vavilov-Cerenkov és un tipus de radiació (llum) que emeten les partícules subatòmiques carregades en travessar un medi amb una velocitat més gran que la velocitat de la llum en aquell medi. Aquest fenomen es produeix, per exemple, amb les partícules carregades emeses per radionúclids com el ^{32}P , el ^{124}I i altres radionúclids emissors de positrons, dels quals parlarem més endavant (vegeu l'apartat sobre el PET). Per tant, de fet, aquesta tècnica d'imatge es basa en la captació externa de la llum provocada per marcadors radioactius introduïts a l'organisme, però no de la detecció directa de les seves emissions radioactives.

Malgrat que la radiació Cerenkov va ser descrita per aquest físic el 1934, l'aplicació en tècniques d'imatge molecular és recent, i es tracta, doncs, d'una tècnica emergent, en fase de desenvolupament (James *et al.*, 2012). El principal avantatge d'aquesta tècnica estaria en la simplici-

tat i menor cost econòmic dels seus sistemes de detecció (CCD), aprofitant radiotracjadors existents.

SPECT: *single photon emission computed tomography*

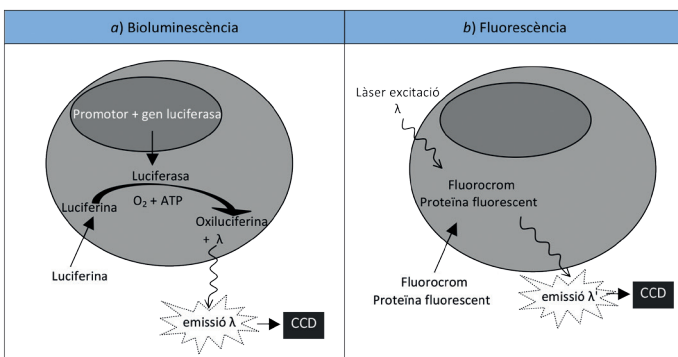
La tècnica SPECT, juntament amb la PET, són tècniques que permeten obtenir imatges funcionals basant-se en la detecció de les radiacions ionitzants emeses per molècules marcades amb isòtops radioactius (radiotracjadors o radiofàrmacs). El principal avantatge respecte de les tècniques òptiques es troba en el fet que les radiacions ionitzants són més penetrants en la matèria i per tant no tenen les limitacions quant a la profunditat dels òrgans o teixits a interrogar, i és habitual usar-les en estudis de cos complet.

Així doncs, aquestes tècniques permeten estudis ràpids, *in vivo*, a temps real i de cos sencer, de manera no destructiva (permet estudis longitudinals en un mateix animal) i no invasiva (en condicions fisiològiques); i a més de manera quantitativa, en què mesura la concentració i el desplaçament del radiotracjador. La denominació d'ambdues tècniques porta el mot *tomografia*, que és sinònim d'imatges en 3D, i són homònimes de les que s'utilitzen en la pràctica clínica en humans en medicina nuclear. En tractar-se, doncs, de tècniques clàssiques en el diagnòstic per a la imatge en humans, se'n veu facilitada la traducció dels estudis en models animals a l'home, és a dir, fan de pont i permeten fer el salt dels models animals a l'aplicació clínica o preclínica en humans (Koba *et al.*, 2013).

En concret l'SPECT es basa en l'ús de radioisòtops emissors de fotons γ que tenen un període de semidesintegració curt ($T_{1/2}$), de l'ordre d'hores, és a dir, que l'activitat radioactiva desapareix per decaïment radioactiu de manera relativament ràpida, cosa que limita els nivells de dosi de radiació rebuda pel subjecte estudiat. El radionúclid més usat en SPECT és el ^{99m}Tc , que té com a principals característiques un $T_{1/2}$ de 6 h i l'emissió de fotons d'una energia de 140 keV.

Adicionalment el ^{99m}Tc té la particularitat que es pot obtenir en els anomenats *generadors de $^{99}\text{Mo}/^{99m}\text{Tc}$* . En síntesi, aquests generadors consisteixen en un contenidor autoblandat (de sobretaula) a l'interior del qual s'hi ha disposat una columna d'alúmina amb ^{99}Mo adsorbit (anomenat *radionúclid pare*, obtingut en reactors nuclears), que va decaïent en ^{99m}Tc (radionúclid fill). Aquest darrer pot ser eluït de la columna amb

.....
 + **Figura 3.** Bases de les principals tècniques òptiques: a) bioluminescència i b) fluorescència. Malgrat que tenen en comú la captació final de llum mitjançant sistemes de detecció equivalents (CCD), l'origen d'aquest senyal és diferent: a) activació enzimàtica de la luciferina (administrada) pel gen reportador luciferasa i b) activació mitjançant un làser extern dels fluorocroms administrats.



solució salina estèril en forma de pertecnetat per usar-lo en el marcatge dels radiofàrmacs; de manera que es poden fer elucions successives (per exemple, una cada dia) i garantir el subministrament continuat al laboratori de marcatge durant un cert període sense una dependència diària del subministrament directe des del centre de producció. Es disposa comercialment de força radiofàrmacs d'ús habitual en SPECT, per a aplicacions tan variades com: gammagrafia òssia, estudis d'Alzheimer, tiroide o isquèmia en miocardi. Per a estudis d'infecció/inflamació complexos es fa ús d'una tècnica consistent en l'obtenció dels leucòcits del subjecte, que es marquen amb ^{99m}Tc i es tornen a administrar a l'individu per localitzar-ne el focus d'infecció.

PET: *positron emission tomography*

Podem dir que la PET (tomografia per emissió de positrons) és actualment la tècnica d'imatge molecular per excel·lència. Els radionúclids emprats en PET es caracteritzen per tenir un $T_{1/2}$ molt curt, la majoria de l'ordre de minuts. Així actualment el radionúclid més habitual és el ^{18}F , amb un $T_{1/2}$ de 110 min; però també el ^{11}C (20 min), ^{13}N (10 min), ^{15}O (2 min), i més recentment ^{68}Ga (271 dies) i ^{89}Zr (78 h). Aquesta característica (la rapidesa del seu decaïment) té dues implicacions pràctiques importants. D'una banda la desaparició ràpida de la seva activitat radioactiva un cop administrat minimitza la dosi de radiació impartida al subjecte, però de l'altra dificulta la disponibilitat contínua del radiofàrmac amb una activitat suficientment elevada per ser administrada. De fet, aquests radionúclids normalment es produeixen en ciclotrons, equips acceleradors de partícules (protons) que transformen àtoms estables en radioactius. El pas següent (comú als radionúclids per SPECT) és la síntesi del radiotracjador, és a dir, incorporar químicament l'àtom radioactiu a la molècula d'interès. Tot això comporta que els temps d'obtenció/distribució/utilització del radiofàrmac hagin de ser curts i acuradament calculats.

Aquesta tècnica es caracteritza per una bona resolució (de l'ordre de mm), però el seu punt fort és la seva alta sensibilitat. D'altra banda, els equips més actuals fins i tot poden disposar del programari de tractament d'imatge conegut com a sistema DICOM, que és l'estàndard habitual per a imatges mèdiques.

El radiofàrmac més utilitzat és la ^{18}F -FDG (desoxiglucosa de fluor), anàleg no metabolitzable de la glucosa que és transportat dins les cèl·lules i fosforilat per l'hexocinasa, però hi queda atrapat, ja que la forma fosforilada no es transporta. Aquesta característica fa que s'acumuli en teixits amb una alta demanda metabòlica, com són la majoria de tumors malignes, fet que permet diferenciar-los dels benignes. Per contra, algunes malalties neurodegeneratives com l'Alzheimer es caracteritzen per àrees concretes del cervell amb baixa activitat glucolítica, fet que permet diagnosticar-ne la malaltia i l'evolució. En cardiologia també s'aplica en estudis de reperfusió/viabilitat postinfart, així com en l'estudi de la vulnerabilitat de les plaques d'ateroma a trencar-se i provocar trombus, ja que la ^{18}F -FDG és incorporada pels macròfags que formen part de les plaques. L'acumulació diferencial de ^{18}F -FDG també permet l'estudi de les àrees del cervell recuperables de la penombra isquèmica postictica.

Altres radiofàrmacs PET marcats amb ^{18}F són el ^{18}F -NaF per al seguiment de metastasis òssies; el ^{18}F -FLT (fluorotimidina) per al seguiment de la proliferació cel·lular tumoral, o complexos com el ^{18}F -MISO, que queda atrapat dins les cèl·lules tumorals que presenten hipòxia (fenomen observat en els tumors més resistents i agressius). I d'altres més específics, com ^{18}F -DOPA (dopamina) per a estudis de neurotrans-

missors en la malaltia de Parkinson; per exemple, ^{18}F -FHBG, un substat de la tirosina-cinasa del HSV1 i, per tant, emprat en tècniques de reportador de gen (Yaghoubi *et al.*, 2012); ^{18}F -estradiol, com a marcador de receptors estrogènics (ER) en càncers de mama; o el pèptid ^{18}F -galactosil-RGD (Arg-Gly-Asp), que té una alta especificitat per la integrina $\alpha\text{v}\beta3$, un receptor implicat en diferents processos patològics que inclouen l'angiogènesi (neovascularització) i la metastasi tumoral.

Malgrat la prevalença del ^{18}F com a principal radionúclid en PET, hi ha altres radionúclids emissors de positrons emprats en PET com el ^{11}C , que marca, per exemple, l'aminoàcid metionina o el fosfolípid colina per a estudis de tumors cerebrals (gliomes). En altres casos, però, com en l'estudi de tumors neuroendocrins, resulta útil la quantificació de la sobreexpressió dels receptors de la *somatostina*, en què s'utilitzen anàlegs marcats amb radionúclids mitjançant lligands com el denominat DOTA (agent quelant), en què el radionúclid pot ser el ^{111}In , ^{90}Y o més habitualment el ^{68}Ga . Aquest darrer presenta l'avantatge que pot ser subministrat en generadors de $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$.

Estat actual i perspectives

Aquesta miriade de tècniques d'imatge *in vivo* s'ha de veure amb una certa perspectiva, en el sentit que cadascuna presenta les seves característiques i limitacions, sobretot des del punt de vista de la seva sensibilitat i de la seva resolució, que sempre van en sentits oposats. De manera que la tendència general és que les tècniques amb més resolució espacial són bàsicament tècniques que ens proporcionen imatges anatòmiques (CT i MRI), mentre que les tècniques que ens aporten imatges realment funcionals, imatges moleculars, són tècniques amb més sensibilitat (PET o SPECT) però amb una pobra referència anatòmica. La solució a aquest dilema ha vingut de la mà de l'anomenada *multimodalitat*, és a dir, de la fusió d'ambdós tipus de tècniques en equips híbrids. Per exemple, PET/CT, PET/MRI o CT/imatge òptica. Ara ja hi ha equips trimodals (PET/SPECT/CT).

Un pas més endavant, que confereix flexibilitat a les tècniques d'imatge *in vivo*, és la *multiplexació* (*multiplexing*), és a dir, la capacitat de visualitzar simultàniament múltiples dianes relacionades amb un

determinat procés metabòlic, fisiològic o patològic. En aquest sentit actualment les tècniques PET no ho permeten, ja que tots els isòtops emissors de positrons emeten els mateixos raigs γ de 511 keV; mentre que les tècniques SPECT sí que admeten certa multiplexació, atès que diferents radionúclids emeten raigs γ de diferent energia i això, en teoria, permet distingir-los encara que es detectin simultàniament. Però les tècniques més proclius a la multiplexació són sens dubte les tècniques òptiques, que permeten l'ús simultani de diferents fluorocroms, proteïnes fluorescentes o diverses nanopartícules, que emetin a longituds d'ona diferenciables.

Ateses les dificultats, el temps i els recursos que cal invertir per tal d'obtenir i validar nous agents d'imatge específics, una altra tendència va en el sentit d'aconseguir suports d'agents d'imatge el més generalitzables possible, i que siguin fàcilment modificables *a posteriori*. És el cas del *premarcatge*, basat a administrar primer un anticòs específic (per exemple, d'un antígen tumoral que premarcarà el tumor) modificat amb un grup funcional (per exemple, TCO, transciclooctè) i posteriorment administrar un lligand marcat que reaccioni amb aquest grup funcional (per exemple, una tretrazina unida a un grup quelant i un metall radioactiu com ^{68}Cu), de manera que ambdós (anticòs i lligand marcat) s'uniran *in vivo* mitjançant una reacció bioortogonal, basada en l'anomenada *química click* (Zeglis *et al.*, 2013). Aquesta estratègia permetria disposar d'una banda d'agents d'imatge marcats que serien genèrics per a PET, per exemple, mentre que d'altra banda l'anticòs podria anar variant específicament segons l'antigen d'interès (biomarcadors específics de diferents tumors o d'altres dianes).

En conclusió, hem vist que les tècniques d'imatge *in vivo* aplicades a la recerca biomèdica en animals petits ofereixen oportunitats úniques per a l'estudi del metabolisme en models animals de malalties que afecten l'home. Moltes d'aquestes tècniques permeten la traducció en aplicacions, no solament al diagnòstic clínic dels pacients, sinó al descobriment de noves dianes terapèutiques, fan viable les tècniques amb doble finalitat de diagnòstic i teràpia (teranòstic), i obren camí cap a la medicina personalitzada del futur.

Bibliografia

- CHAKRAVARTY, R. [et al.] (2014). «Nanobody: the "magic bullet" for molecular imaging?». *Theranostics*, 4: 386-398.
- FINE, E. [et al.] (2014). «Small-animal research imaging devices». *Semin. Nucl. Med.*, 44: 57-65.
- HELLEBUST, A.; RICHARDS-KORTUM, R. (2012). «Advances in molecular imaging: targeted optical contrast agents for cancer diagnostics». *Nanomedicine (Lond.)*, 7: 429-445.
- HERRMANN, K. H. [et al.] (2012). «Possibilities and limitations for high resolution small animal MRI on a clinical whole-body 3T scanner». *Magn. Reson. Mater. Phys.*, 25: 233-244.
- HUH, D. [et al.] (2011). «From 3D cell culture to organs-on-chips». *Trends in Cell Biology*, 21: 745-754.
- JAMES, M. L.; GAMBHIR, S. S. (2012). «A molecular imaging primer: Modalities, imaging agents, and applications». *Physiol. Rev.*, 92: 897-965.
- KOBA, W. [et al.] (2011). «Imaging devices for use in small animals». *Semin. Nucl. Med.*, 41: 151-165.
- (2013). «MicroPET/SPECT/CT imaging of small animal models of disease». *Am. J. Pathol.*, 182: 319-324.
- PALEY, M. A.; PRESCHER, J. A. (2014). «Bioluminescence: a versatile technique for imaging cellular and molecular features». *Med. Chem. Commun.*, 5: 255-267.
- UNNIKRISHNAN, S.; KLIBANOV, A. L. (2012). «Microbubbles as ultrasound contrast agents for molecular imaging: Preparation and application». *Am. J. Roentgenology*, 199: 292-299.
- VANDAMME, T. F. (2014). «Use of rodents as models of human diseases». *J. Pharm. Bioall. Sci.*, 6: 2-9.
- YAGHOUBI, S. S. [et al.] (2012). «Positron emission tomography reporter genes and reporter probes: gene and cell therapy applications». *Theranostics*, 2: 374-391.
- ZEGLIS, B. M. [et al.] (2013) «A pretargeted PET imaging strategy based on bioorthogonal diels-alder click chemistry». *J. Nucl. Med.*, 54: 1389-1396.