

KAPOSVÁRI EGYETEM
ÁLLATTUDOMÁNYI KAR
Diagnosztikai és Onkoradiológiai Intézet
KAPOSVÁR

Doktori Iskola vezetője:
PROF. HORN PÉTER, MTA rendes tagja

DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

Témavezető:
DR. REPA IMRE PhD egyetemi tanár

**VÉR-AGY-GÁT MEGNYITÁSÁNAK VIZSGÁLATA,
ÚJ VASTARTALMÚ MR-KONTRASZTANYAG
ALKALMAZÁSA ÁLLATMODELL ÉS HUMÁN
KLINIKAI VIZSGÁLATOK ALAPJÁN**

Készítette:
DR. MANNINGER SÁNDOR PÉTER

KAPOSVÁR
2011

Tartalomjegyzék

1. A kutatás előzményei.....	3
2. Célkitűzések	4
3. Anyag és módszer.....	5
3.1. Állatkísérletek.....	5
3.2. Humán vizsgálatok	5
4. Eredmények és értékelésük	7
4.1. Állatkísérletek eredményei és értékelésük.....	7
4.2. A humán vizsgálatok eredményei és értékelésük	7
5. Következtetések, javaslatok	9
6. Új tudományos eredmények.....	10
7. A disszertáció témaköréből megjelent publikációk és elhangzott előadások.....	11
7.1. Publikációk.....	11
7.2. Előadások.....	12

Rövidítések

ADEM = *acut disseminált encephalomyelitis* • CT = *computer-tomographia (komputertomográfia)* • MR = *mágneses rezonancia* • MRI = *magnetic resonance imaging (mágneses rezonancia vizsgálat)* • SPIO= *Superparamagnetic Iron Oxid* • TOF = *time of flight* • USPIO = *Ultra Small Superparamagnetic Iron Oxid*

1. A KUTATÁS ELŐZMÉNYEI

A vér–agy–gát megléte több mint száz éve ismert, jelentősége mégis csak az utóbbi évtizedekben kezd egyre inkább előtérbe kerülni. A központi idegrendszer legfontosabb, s talán egyben a szervezet legérzékenyebb sejtjei is az idegsejtek, melyek működése pontosan szabályozott, funkcionális igényeket kielégítő belső környezet nélkül elképzelhetetlen. E környezet megteremtésére alakult ki a vér–agy–gát.

A központi idegrendszer számos betegsége kapcsán bebizonyosodott, hogy a vér–agy–gát működése is megváltozik a kórfolyamatok kialakulása során, de a gátsérülés szerepe a betegségek kialakulásában sok esetben pontosan nem tisztázott: ugyanúgy felmerült kóroki tényező lehetőségeként, mint betegség következményeként kialakult állapotként.

A vér–agy–gát működésének jobb megismeréséhez in vivo alkalmazható, rétegvizsgálatra alkalmas képalkotó eljárások szükségesek, melyek közül ma a komputertomográfia (CT) és a mágneses rezonancia vizsgálat (MRI) érhető el széles körben. A központi idegrendszer vizsgálatához az utóbbi modalitás az első választandó módszer. A MRI érzékenységének növelésére MR specifikus kontrasztanyagot használunk. A hagyományos gadólińiumtartalmú MR-kontrasztanyagok mellett újabban a perifériás vizsgálatokhoz kifejlesztett vastartalmú kontrasztanyagok eltérő tulajdonságai és hatásmechanizmusa miatt központi idegrendszeri használata is biztatónak tűnik. Az orvostudomány régi vágya olyan új, specifikus kontrasztanyagok megtalálása, amelyekkel mind a diagnosztika, mind a terápia hatékonyságának értékelése gyorsabbá és egzaktabbá válhat.

2. Célkitűzések

1. Ozmotikus vér–agy-gát megnyitás módszertanának sertésekhez való adaptációja.
2. A sertések agyának ozmotikus vér–agy-gát megnyitása után a nyitott állapot reverzibilitásának igazolása, és a nyitott állapot idejének meghatározása.
3. Új vastartalmú MR-kontrasztanyag (USPIO, ferumoxatran-10) központi idegrendszeri felhasználásának kipróbálása hagyományos szekvenciák alkalmazásával gyulladós komponensekkel bíró kórképek esetén.
4. Új vastartalmú MR-kontrasztanyag (USPIO, ferumoxytol) központi idegrendszeri felhasználásának kipróbálása hagyományos, angiográfiás és perfúziós MR-szekvenciák alkalmazása kapcsán.

3. ANYAG ÉS MÓDSZER

3.1. Állatkísérletek

A vizsgálati metodikához a humán diagnosztikában használatos, valamint az állattudományi kutatásokban alkalmazott eljárásokat és szekvenciákat adaptáltuk a sertésagy morfológiai és funkcionális sajátosságainak figyelembe vételével. Az ozmotikus vér–agy-gát adaptációjához tíz, a vér–agy-gát záródásának meghatározásához három, a vastartalmú kontrasztanyag kipróbálásához további két darab 25 kg élőtömegű növendék sertést (*Sus scrofa domestica*) használtunk fel. Az állatvizsgálatokat anesztéziában végeztük. A narkózis bevezetésére intramuscularis xylazin-ketamin-atropin keveréket, majd fenntartására isoflurane-O₂ keverékét alkalmaztunk. A vér–agy-gát megnyitása angiográfiás beavatkozás hagyományos katéteres technika alkalmazásával, melynek során az egyik oldali artéria pharyngea ascendens ágába 30 másodpercen át 50 ml 40%-os mannitolt fecskendeztünk. A vér–agy-gát megnyílását in vitro albuminhoz kötődő vitális festékkel (Evans-kék), in vivo CT-, MR-vizsgálattal ellenőriztük.

3.2. Humán vizsgálatok

A ferumoxtran-10 (Combidex) kontrasztanyag kipróbálása, központi idegrendszeri gyulladással járó kórfolyamatok vizsgálata kapcsán: Huszonhárom különböző központi idegrendszeri „gyulladással” kórképpel rendelkező beteg (11 nő és 12 férfi, átlagéletkor 47 év, életkor 18–77 év között), rutin koponya MR-vizsgálata történt meg hagyományos kontrasztanyaggal és a nélkül. Átlagban tíz nappal később

ferumoxtran-10-kontrasztanyaggal történt MR-vizsgálat képeit hasonlítottuk össze az előzőekkel. A vas-oxid-tartalmú kontrasztanyag dózisa 2,6 mg/kg volt, melyet a képalkotást megelőzően 24 órával lassú infúzióban kapott meg a beteg. Az MR-vizsgálatok értékelését négy vizsgáló, szubjektív szempontok szerint végezte a halmozás mintázata és intenzitása alapján, ami hasznos lehet a differenciáldiagnózis felállításában.

Új típusú, bolusban is adható, ezáltal dinamikus MR vizsgálatra is alkalmas vas tartalmú MR kontrasztanyag (ferumoxytol) kipróbálása: A vizsgálatban 12 agytumoros beteg vett részt. Mindegyik beteg először egy státuszrögzítő MR-vizsgálaton esett át gadolínium felhasználásával, majd ferumoxytol beadását követően, meghatározott protokoll szerint 72 órán belül egy sorozat MR-vizsgálaton esett át 1,5 valamint 3 Tesla MR-készülékeken. A ferumoxytol-vizsgálatok során látott halmozás időbeni változásokat az alapvizsgálat során látott gadolínium halmozásához viszonyítottuk. A két kontrasztanyaggal készült perfúziós vizsgálatok, dinamikus valamint time of flight (TOF) angiográfiás képek, valamint a T₁ súlyozott szekvenciák kerültek összehasonlításra.

4. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

4.1. Állatkísérletek eredményei és értékelésük

Sertések ozmotikus vér–agy-gát megnyílás reverzibilitásának igazolása, a nyitott állapot idejének meghatározása: Sikeresen adaptáltuk a vér–agy-gát megnyitásának módszerét a sertésekben. A kísérletek kapcsán angiográfia során korábban már tapasztalt szövődményeken kívül újabb, egyértelműen a vér–agy-gát nyitáshoz kapcsolódó szövődmény nem lépett fel, és az alkalmazott eljárás kezdeti nehézségek után sikeres volt a vér–agy-gát megnyitásának tekintetében. Sertések esetében igazoltuk a vér–agy-gát ozmotikus úton történő reverzibilis megnyithatóságát, az általunk tapasztalt 30–60 perc közötti záródási idő egyezik az irodalomban más emlősökre vonatkozó hasonló adatokkal.

Sertésekben elsőként alkalmaztunk USPIO-szerkezetű vastartalmú MR-kontrasztanyagot központi idegrendszer képalkotására. Kísérletünkkel igazoltuk, hogy ozmotikus vér–agy-gát megnyitását követően a kontrasztanyag megjelenik az agyban, azaz átjut a vér–agy-gáton.

4.2. A humán vizsgálatok eredményei és értékelésük

Ferumoxatran-10 humán központi idegrendszeri felhasználásának eredményei hagyományos szekvenciák alkalmazásával gyulladással komponensekkel bíró kórképek esetén: Öt esetben (1 ADEM, 2 stroke, 1 vénás cavernosus malformatio, 1 primer agyi lymphoma) a ferumoxatran-10 a gadolíniumhoz képest intenzívebb halmozást, nagyobb és/vagy újabb halmozó területet igazolt. A sclerosis multiplex esetek többségében

a ferumoxtran-10 halmozásának intenzitása alulmaradt a gadolíniummal szemben.

Ferumoxytol, bolusban is adható, ezáltal dinamikus MR vizsgálatra is alkalmas vas tartalmú MR kontrasztanyag kipróbálása: A tumoros elváltozások mindkét térerőn jól kimutathatóak voltak, sőt, 0,15 Teslás intraoperatív készülékkel is értékelhető képek készültek. A ferumoxytol beadását követő maximális halmozás 24–48 óra elteltével alakult ki, amit a halmozó terület kiterjedésének lassú növekedése követ, olyan T₂ magas jelintenzitású tumorosan infiltrált agyi területeken, ahol a gadolínium nem halmoz. Dinamikus vizsgálatok eredményei a gadolínium igen korai extravazációját igazolta szemben a ferumoxytollal, ami igen sokáig a véráramban marad.

5. KÖVETKEZTETÉSEK, JAVASLATOK

A sertések alkalmasak lehetnek a további vér–agy-gát kísérletek elvégzésére, a fajra jellemző rete mirabile (csodarece) ellenére viszonylag jó oldalkülönbség érhető el a vér–agy-gát megnyitása tekintetében. A sérült (ozmotikusan megnyitott) vér–agy-gáton átjutott vastartalmú MR-kontrasztanyag nanopartikulum igazolta, hogy az újfajta szer alkalmas lehet központi idegrendszeri vizsgálatra sertésekben is.

Új típusú vas tartalmú MR kontrasztanyag (ferumoxtran-10, Combidex) kipróbálása, központi idegrendszeri gyulladással járó kórfolyamatok vizsgálata kapcsán: A ferumoxtran-10 különböző halmozási mintákat mutatott a különböző központi idegrendszeri gyulladással járó kórképekben a gadolíniumhoz képest. Az MR vizsgálatok időzítésének és a terápia szerepének további vizsgálatára van szükség, hogy a ferumoxtran-10 szerepe tisztázható legyen a gadolíniummal szemben a központi idegrendszeri gyulladással járó kórképek diagnózisában és a terápia követésében.

Új típusú, bolusban is adható, ezáltal dinamikus MR vizsgálatra is alkalmas vas tartalmú MR kontrasztanyag kipróbálása: A vizsgálat során legfontosabb eredménynek az a megfigyelés tekinthető, hogy a gadolínium beadását követően igen hamar „kifolyik” a véráramból, míg a ferumoxytol a korai fázisban a véráramban marad, ami által a perfúziós vizsgálatok sokkal pontosabban végezhetők el. A ferumoxytol mint MR kontrasztanyag alkalmas a központi idegrendszeri tumorok kimutatására minden általunk vizsgált térről. A kontraszthalmozás maximuma a ferumoxytol beadást követő 24–48 órában alakul ki.

6. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

1. Sikeresen adaptáltuk az ozmotikus vér–agy-gát megnyitásának módszerét sertésekre, igazoltuk a vér–agy-gát ily módon történő megnyitásának reverzibilis voltát, a visszazáródás idejét 30–60 perc közötti időben határoztuk meg.
2. Az adaptált módszert alkalmazva a vér–agy-gát megnyitását követően sikeresen bejuttatunk a központi idegrendszerbe egy új kísérleti, vastartalmú MR-kontrasztanyagot.
3. A világon humán vonatkozásban elsők között alkalmaztunk egy új vastartalmú MR-kontrasztanyagot központi idegrendszeri gyulladással kórképek vizsgálatára. Huszonhárom beteg vizsgálata során, az általunk vizsgált központi idegrendszeri gyulladással kórképeket három nagy csoportra osztva leírtuk az új vastartalmú kontrasztanyaggal tapasztalt halmozási mintázatokat a hagyományos gadolíniumtartalmú kontrasztanyaggal összehasonlítva.
4. A világon az elsők között alkalmaztunk humán vonatkozásban központi idegrendszeri vizsgálatra új típusú vastartalmú, bolusban is adagolható, ezáltal dinamikus mágneses rezonancia vizsgálatra is alkalmas MR-kontrasztanyagot (ferumoxytol). Tizenkét központi idegrendszeri tumoros beteg vizsgálata során leírtuk az új kontrasztanyag halmozási tulajdonságait, angiográfiás és perfúziós MRI során tapasztalt eredményeket a hagyományos gadolíniumtartalmú kontrasztanyaggal összehasonlítva.

7. A DISSZERTÁCIÓ TÉMAKÖRÉBŐL MEGJELENT PUBLIKÁCIÓK ÉS ELHANGZOTT ELŐADÁSOK

7.1. Publikációk

1. **MANNINGER, S. P.** – MULDOON, L. L. – NESBIT, G. – MURILLO, T. – JACOBS, P. M. – NEUWELT, E. A.: An exploratory study of ferumoxtran-10 nanoparticles as a blood-brain barrier imaging agent targeting phagocytic cells in CNS inflammatory lesions. *AJNR Am. J. Neuroradiol.*, 2005. 26(9): 2290–2300. **(IF: 2.525)**
2. MULDOON, L. L. – **MANNINGER, S. P.** – PINKSTON, K. E. – NEUWELT, E. A.: Imaging, distribution, and toxicity of superparamagnetic iron oxide magnetic resonance nanoparticles in the rat brain and intracerebral tumor. *Neurosurgery*, 2005. 57(4): 785–796. **(IF: 2.587)**
3. MURILLO, T. P. – SANDQUIST, C. – JACOBS, P. M. – NESBIT, G. – **MANNINGER, S. P.** – NEUWELT, E. A.: Imaging brain tumors with ferumoxtran-10, a nanoparticle magnetic resonance contrast agent. *Therapy*, 2005. 2(6): 871–882.
4. MULDOON, L. L. – TRATNYEK, P. G. – JACOBS, P. M. – DOOLITTLE, N. D. – CHRISTOFORIDIS, G. A. – FRANK, J. A. – LINDAU, M. – LOCKMAN, P. R. – **MANNINGER, S. P.** – QIANG, Y. – SPENCE, A. M. – STUPP, S. I. – ZHANG, M. – NEUWELT, E. A.: Imaging and nanomedicine for diagnosis and therapy in the central nervous system: report of the eleventh annual Blood-Brain Barrier Disruption Consortium meeting. *AJNR Am. J. Neuroradiol.*, 2006. 27(3): 715–721. **(IF: 2.279)**
5. NEUWELT, E. A. – VÁRALLYAY, CS. – **MANNINGER, S. P.** – SOLYMOŠI, D. – HALUSKA, M. – HUNT, M. A. – NESBIT, G. – STEVENS, A. – JEROSCH-HEROLD, M. – JACOBS, P. M. – HOFFMAN, J. M.: Potential of ferumoxytol nanoparticle magnetic resonance imaging, perfusion, and angiography in central nervous system malignancy: a pilot study. *Neurosurgery*, 2007. 60(4): 601–612. **(IF: 3.007)**

7.2. Előadások

1. **MANNINGER, S. P.** – MULDOON, L. L. – NEUWELT, E. A.: *Rat iron imaging.* AIRC Meeting, Oregon Health & Science University. Portland/Oregon/USA, 10th February 2004.
2. **MANNINGER, S. P.** – NESBIT, G. – MURILLO, T. P. – ORBAY, P. – SOLYMOSI, D. – LACY, N. – TYSON, R. M. – HALUSKA, M. – BENNETT, L. – HEDRICK, N. – DOOLITTLE, N. D. – NEUWELT, E. A.: *Technical strategies in BBB: Intra-arterial delivery and imaging.* Annual Blood Brain Barrier Meeting. Sunriver/Oregon/USA, 17–20th March 2004.
3. **MANNINGER, S. P.** – NEUWELT, E. A. – PETERS, J. A. – MULDOON, L. L.: *MR Imaging of rat intracerebral tumor Xenograft models: potential for imaging angiolysis by N-Cadherin antagonist (Exherin).* Annual Blood Brain Barrier Meeting. Sunriver/Oregon/USA, 17–20th March 2004.
4. **MANNINGER, S. P.** – MULDOON, L. L. – NESBIT, G. – MURILLO, T. P. – LOVERA, J. – BOURDETTE, D. – JACOBS, P. M. – NEUWELT E. A.: *Ferumoxtran-10 and Gadolinium as imaging agents in PCNSL and other CNS inflammatory lesions.* American Society of Neuroradiology (ASNR) 42nd Annual Meeting. Seattle/WA/USA, 5–11th June 2004.
5. **MANNINGER, S. P.** – MULDOON, L. L. – SOLYMOSI, D. – NEUWELT, E. A.: *Pre clinical and clinical uses of superparamagnetic iron oxide particles as MR imaging agents in the CNS.* OHSU Neurosciences Grand Round Seminars. Portland/Oregon/USA, 10th March 2004.
6. **MANNINGER, S. P.** – MULDOON, L. L. – SOLYMOSI, D. – NEUWELT, E. A.: *Imaging CNS inflammation with USPIO's.* 11th Annual Meeting of the Blood-Brain Barrier Disruption Consortium. Portland/Oregon/USA, 17–19th March 2005.
7. NEUWELT, E. A. – **MANNINGER, S. P.** – SOLYMOSI, D. – NESBIT, G. – JEROSCH-HEROLD, M. – STEVENS, A. – HOFFMAN, J. M.: *Initial timing of MR imaging and assessment of MR Angiography using intravenous superparamagnetic carbohydrate-coated iron oxide particles in primary high-grade brain tumors and/or cerebral metastases.* American Society of Neuroradiology (ASNR) 43rd Annual Meeting. Toronto/Ontario Canada, 21–27th May 2005.
8. **MANNINGER, S. P.** – SOLYMOSI, D. – NESBIT, G. – JEROSCH-HEROLD, M. – STEVENS, A. – HOFFMAN, J. M. – VÁRALLYAY, CS. – NEUWELT, E. A.: *Ferumoxytol for MRA, perfusion, and delayed MR Imaging in Primary High-Grade brain tumors and/or cerebral metastases.* Hungarian Neuroradiological Meeting. Budapest, 23–24th September 2005.