

Okénka do dílny života

Prof. Dr. František Vyskočil, DrSc.
P.R. FgÚ AV ČR



Optický projekční tomograf Bioptonics OPT 3001 v oddělení biomatematiky, Fyziologický ústav AV ČR, v.v.i., areál biomedicinských ústavů Akademie věd, Praha-Krč.

17. května 2012 bude ve Fyziologickém ústavu AV ČR, v.v.i. uveden paní ředitelkou Dr. Lucíí Kubínovou do provozu unikátní vědecký přístroj. Jeho „porodní váha“ je 24 kg a délka asi jeden metr, když nepočítáme počítač a obrazovku. Na první pohled připomíná hranatý podlouhlý futrál na housle, které bychom ale v jeho útrokách hledali marně. Není tam ani žádné zařízení podobné mikroskopu, přestože hlavním úkolem tohoto přístroje je vytvářet obrázky a videa. Ale ne lecjaké, jde o trojrozměrné (3D) zobrazení především živočišných a rostlinných tkání, orgánů a menších organismů, jako jsou embrya, drobné vyvíjející se orgány, celí drobní živočichové nebo části lidských těl, listy, plody, a rostlinná pletiva.

Myšlenka optické projekční tomografie (OPT) není zdaleka nová. Každý si jistě vzpomíná na dětské pokusy s lampičkou pod peřinou nebo ve sklepě, když jsme si prosvěcovali ze všech stran prsty a mimo červenou barvu jsme viděli i stíny prstových nebo dlaňových kůstek. Intensita a různá vlnová délka červené barvy dodnes slouží pro měření množství protékající okysličené krve. Ke zdokonalení tohoto jednoduchého principu došlo poměrně nedávno v r. 2002 v Anglii, z potřeby přesného zobrazení především vyvíjejících se jemných struktur.

Nesmírnou výhodou je, že se studovaný objekt nemusí ani púlit nebo jemně řezat na plátky, které je třeba dále různě barvit jako kraslice. Při OPT se preparáty drobných rozměrů (nejlépe od 2 do 15 mm), mohou předem připravit, „obarvit“ jako celek. Lze v nich zviditelnit určité typy buněk, uvnitř i vně buněk se mohou zobrazit funkční a strukturální bílkoviny nebo DNA a RNA bez dalšího mechanického zpracování. Tím se odstraní rizika poškození materiálu a zkraslení údajů.

Biologické objekty mají ale obvykle nízkou průsvitnost, a proto se nejprve sytí zvláštním optickým projasňovačem. Tento tzv. Murrayův roztok postupně nahradí vodu obsaženou v buňkách a mezibuněčném prostoru. Má vysoký index lomu, který je blízký indexu lomu světla tkání. Výsledkem je průsvitný až průhledný biologický preparát. Ten se pak upevní na otáčející se držák a postupně se prosvěcuje světlem o požadované vlnové délce (k dispozici jsou 425 nm, 470 nm, 545 nm, 628 nm a bílé světlo) a získají se projekce pro jednotlivé úhly natočení v rozsahu celých 360 °. Jestliže jsou některé části uvnitř preparátu označeny nebo obarveny nějakou fluorescenční značkou, emituje se z těchto struktur záření s posunutou vlnovou délkou. Zvýrazněné průměty např. neuronových sítí či

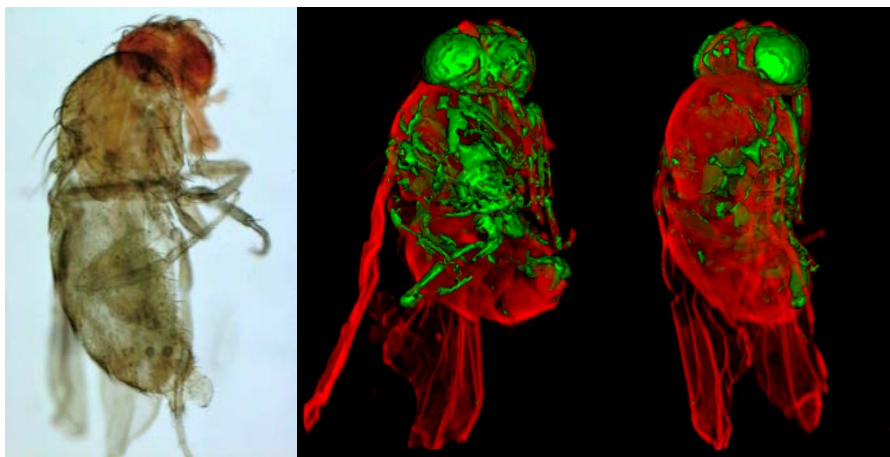
ledvinových kanálků se počítačově rekonstruuji do fluorescenčního 3D obrazu, případně videa. Postup rekonstrukce obrazu z projekcí je podobný jako při běžné počítačové (rentgenové) tomografii (CT). Když použijeme bílé světlo, získáváme celkový transmisní 3D obraz vnitřních struktur s rozlišením od asi $3,2\mu\text{m}^3/\text{voxel}$ (voxely jsou jednotky prostorového rozlišení).

Proč je 3D zobrazení užitečné nejen pro diváky v kinech nebo 3D konstruktéry karoserií, ale i pro badatele a učitele v základním biomedicinském výzkumu? Rozhodně to není jen proto, že zobrazené přírodní 3D objekty jsou krásné a lze s nimi provádět různé rotace a animace. Zobrazení 3D živých struktur je neocenitelné zvláště při studiu zárodečného vývoje nebo degenerativních stavů, během nichž tkáň podstupují řadu strukturálních změn ve vztahu k sobě navzájem. Standardní zobrazovací techniky dosud zahrnovaly úmorné řezání stovek tenkých řezů vzorkem nebo "optické řezy" tkáněmi pomocí konfokálního mikroskopu, a teprve potom následovala počítačová rekonstrukce dat do 3D modelu.

Tyto jinak užitečné metody jsou poměrně zdouhavé a mají určitá omezení. A tady přichází OPT s cílem poskytnout alternativní a přesnější způsoby vizualizace. Najednou máme schopnost produkovat ve vysokém rozlišení komplexní strukturální informace, prostorově a dokonce časově je popsat, dát do určitých vztahů a často i předpovědět další změny v čase. Např. zobrazíme rozmístění určitých genů a bílkovin, které mají tyto geny na starosti. To umožní pochopit, co se odehrává nebo záhy odehraje ve studovaném objektu. Takové mapy genové exprese těchto strukturálních změn samozřejmě umožňují lepší pochopení jejich funkce.

3D zobrazení je také prostředkem při základním biomedicinském vzdělávání a začíná velmi úspěšně sloužit jako přesnější diagnostický nástroj. Umožňuje lékařům vizualizovat, tj. přímo vidět, jak vypadá zdravá nebo naopak podezřelá či dokonce nemocná struktura a zjistit, co, kde a kdy se asi pokazilo. Tímto přístrojem se také pokrývá mezera mezi přístroji poskytující 3D data - konfokálním mikroskopem (který je v provozu ve Fyziologickém ústavu už řadu let) a neinvasivními mikro-CT a mikro-NMR.

Příkladem použití může být obrázek celé mušky octomilky (mutanta poskytl Dr. Martin Zápotocký), která je nejprve dokonale projasněna a zviditelněna při bílém světle (obr. 1).



Obr. 1

Obr. 2

Na obrázku 2 jsou vidět fluoreskující zeleně svítící 3D nervové struktury v hlavě, hrudi a zadečku mušky. Tak se dá studovat např. průběh odumírání nervových vláken po poškození nebo po mutacích, u obratlovců pak změny při demyelinizačních onemocněních typu roztroušené sklerózy a amyotrofické laterální sklerózy.

Ve Fyziologickém ústavu tyto první OPT obrázky získal pracovník oddělení biomatematiky Dr. Martin Čapek. Připojují se i další pracoviště ústavu, která studují patologické jevy spojené s kardiovaskulárními, neurálními a buněčnými nemocemi, získanými i zděděnými. A tady může OPT skener odhalit dosud nevidaný a dosud neviděný vznik a postup onemocnění, vizualizovat vliv léčby, případně odhalit její vedlejší účinky. Na řadu brzo přijdou zdravé i degenerované myši mozečky a

jejich krevní řečiště po radiačním a chemickém poškození, srdce s vrozenými převodovými vadami, letový aparát škodlivého hmyzu, umělá kůže, přetížené ledviny nebo i obyčejná žízála, která je přes svou všeobecně známou užitečnost ještě stále málo prozkoumaným půdním živočichem a zaujala i kolegy z Mikrobiologického ústavu.

Projekční tomograf OPT otevírá pro naše vědce i laickou veřejnost další zajímavá a významná okénka do fantastické dílny života.

*Tvé oči viděly i můj zárodek
a ve tvé knize byly zapsány všechny jeho části,
ve dnech, kdy byly utvářeny
a nebyla ještě žádná z nich.
Žalm 139:16*