

Molekulare Bildgebung in der Medizin

Grundlagen und technologische Herausforderungen für den klinischen Einsatz

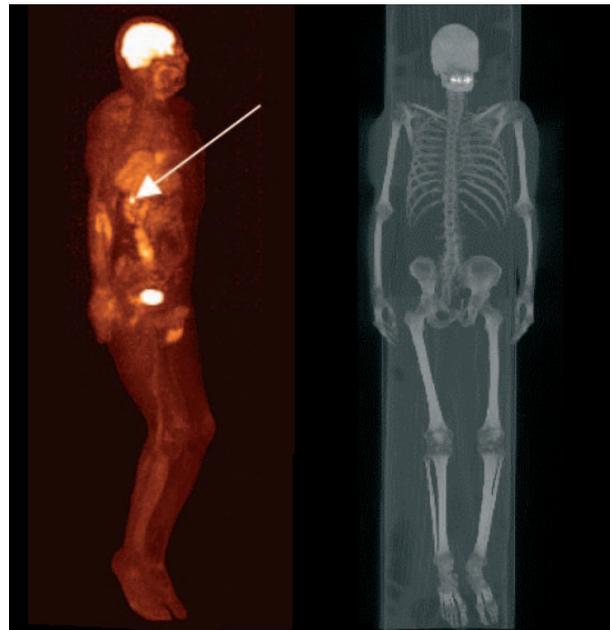
Tobias Schaeffter

Die moderne Medizin zielt mehr und mehr darauf ab, Krankheiten auf der Ebene molekularer Prozesse zu verstehen. Mit spezifischen Kontrastmitteln und entsprechenden bildgebenden Verfahren ist es mittlerweile möglich, biologische Prozesse auf zellulärer und molekularer Ebene darzustellen. Das Ziel der molekularen Bildgebung ist es, krankhafte molekulare Veränderungen zu erkennen, um Krankheiten frühzeitig diagnostizieren und Therapien besser kontrollieren zu können.

Die revolutionären Fortschritte der Genomforschung und Molekularbiologie haben zu einem verbesserten Verständnis der den Krankheiten zu Grunde liegenden molekularen Prozessen und damit zu einer Neudefinition vieler Krankheiten geführt. Viele moderne Medikamente greifen bereits gezielt in bestimmte molekulare Schlüsselprozesse ein. Neben ihrer Anwendung für die Therapie lassen sich die neuen Erkenntnisse auch nutzen, um diagnostische bildgebende Verfahren gezielt weiter zu entwickeln. Ziel einer „molekularen Bildgebung“ ist es, biologische Prozesse auf zellulärer und molekularer Ebene „in-vivo“ darzustellen [1]. Eine solche Bildgebung wird schon seit einigen Jahren eingesetzt, um molekulare Prozesse in Zellen zu erforschen, z. B. unter Verwendung von lichtmikroskopischen Verfahren. Dabei wird im Allgemeinen jedoch nicht versucht, die Molekülstrukturen räumlich abzubilden, sondern die Anwesenheit bzw. Veränderung spezifischer Moleküle nachzuweisen. Die molekulare Bildgebung in der medizinischen Diagnose steht dagegen erst am Anfang. Die heutigen bildgebenden Verfahren bilden im Wesentlichen morphologische und physiologische Veränderungen ab. Die molekulare Bildgebung basiert auf den gleichen Verfahren, hat aber zum Ziel, krankheitsspezifische molekulare Prozesse abzubilden und zu quantifizieren. Neben der frühen Diagnose soll die molekulare Bildgebung auch zeigen, ob und wie Medikamente gezielt molekulare Prozesse verändern können. Langfristig können molekulare Diagnose- und Therapieansätze sogar zu einem Paradigmenwechsel in der Medizin

KOMPAKT

- ▶ Spezifische Kontrastmittel und bildgebende Verfahren erlauben es, biologische Prozesse auf molekularer Ebene darzustellen und zu verfolgen.
- ▶ Dadurch könnte es möglich werden, auch Krankheiten auf molekularer Ebene zu diagnostizieren oder den Erfolg von Therapien zu kontrollieren.
- ▶ Für den klinischen Einsatz gilt es, die dafür nötigen zielgerichteten Kontrastmittel und hochempfindlichen Messdetektoren sowie Messverfahren zu entwickeln.



Mit einem kombinierten PET/Röntgen-CT-Gerät lässt sich gleichzeitig der Glukose-Stoffwechsel (links) und die Anatomie (rechts) eines Patienten abbilden: Neben einer erhöhten Aktivität im Gehirn und in der Blase (Ausscheidung des Kontrastmittels) ist eine Metastase (Pfeil) im Stoffwechselbild sichtbar.

führen, d. h. einer Verschiebung von der Diagnose und Behandlung später Symptome hin zur Prävention und Heilung von Krankheiten. Bevor diese Vision einer präventiven molekularen Medizin Wirklichkeit werden kann, sind jedoch zahlreiche technologische Herausforderungen zu meistern. Dieser Artikel soll einen Überblick über die physikalischen Grundlagen der verschiedenen bildgebenden Verfahren, notwendige technische Weiterentwicklungen und erste Beispiele für medizinische Anwendungen geben.

Das Funktionsprinzip

Krankhaft veränderte Zellen weisen schon im Frühstadium eine Reihe pathologischer Merkmale auf: Sie zeigen eine veränderte Genaktivität oder bilden charakteristische Proteinstrukturen aus, die dann z. B. zu einem veränderten Stoffwechsel (Metabolismus) führen. Um diese Abweichungen nachzuweisen, wird ein zielgerichtetes Kontrastmittel verwendet, das mit charakteristischen Molekülen wechselwirkt und sich mit bildgebenden Verfahren nachweisen lässt

Dr. Tobias Schaeffter,
Philips Forschungslaboratorien Hamburg,
Röntgenstraße 24-26,
22335 Hamburg,
Tobias.Schaeffter@philips.com

[2]. Ein solches Kontrastmittel besteht aus einer Trägersubstanz, welche ein einzelnes oder mehrere Kontraststoffe zum Nachweis mit bildgebenden Verfahren enthält (Inset Abb. 1). Als Trägersubstanzen eignen sich Chelatkomplexe oder Dendrimere, neuerdings werden auch Nanostrukturen wie Liposome, Fullerene oder Nanoröhren getestet. Die Trägersubstanz wird über ein

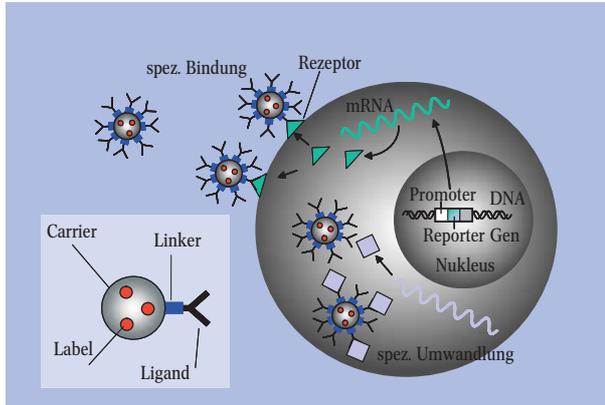


Abb. 1: Bei der molekularen Bildgebung unterscheidet man zwischen spezifischer Bindung und spezifischer Umwandlung (vgl. Text) des zielgerichteten Kontrastmittels (Inset). Dieses besteht aus einer Trägersubstanz (Carrier), die Kontraststoffe (Label) enthält und über ein Verbindungsmolekül (Linker) an einen Liganden gebunden ist. (Nach: S. Gambhir et al., PNAS 96, 2333 (1999).)

1) Z. B. das sog. Phagen-display. Bakteriophagen sind spezielle Viren, die ihre DNA in Bakterien einschleusen, welche dann die in der DNA kodierten Proteine erzeugen.

2) Unter Gen-Expression versteht man den Auswahlprozess derjenigen Gene, die zur Herstellung von Proteinen verwendet werden. Dies beruht auf der Tatsache, dass jede Zelle zwar alle Gene in der DNA enthält, dass in den verschiedenen Zellen aber nur bestimmte Gene ausgewählt und damit nur bestimmte Proteine hergestellt werden.

Verbindungsmolekül an einen Liganden gebunden, der spezifisch an ein Zielmolekül bindet. Dabei lassen sich grob zwei Klassen von Wechselwirkungen unterscheiden (Abb. 1):

► *spezifische Bindung*, d. h. das Kontrastmittel bindet an ein Zielmolekül (z. B. an einen Zellmembranrezeptor). Da nur eine endliche Anzahl von Rezeptoren zur Bindung vorhanden ist und das Kontrastmittel nur an einer Teilmenge der Rezeptoren bindet, hat dieses Verfahren im Allgemeinen eine geringere Nachweisgrenze als die folgende Wechselwirkung.

► *spezifische Umwandlung* durch einen molekularen Prozess: Das Kontrastmittel wird von der Zelle aufgenommen und reagiert dort mit Molekülen, sodass das umgewandelte Kontrastmittel in der Zelle verbleibt. Es reichert sich dann an und lässt sich besser nachweisen. Das Kontrastmittel kann aber auch von einer inaktiven in eine aktive Form umgewandelt werden (z. B. durch eine enzymatische Reaktion). Dann ist das Kontrast-

mittel erst nach der Reaktion sichtbar. Auch die Aktivierung führt zu einer besseren Nachweisbarkeit.

Grundsätzlich versucht man, Zielmoleküle bzw. Umwandlungsprozesse zu identifizieren, die charakteristisch für Krankheitsprozesse sind. Neue Entwicklungen in der Biotechnologie, wie z. B. Moleküldatenbanken, Screening-Technologien¹⁾ oder Proteinchips [3], haben diese recht schwierige Suche vereinfacht und den erforderlichen Zeitaufwand verkürzt. Diese Verfahren sind bereits fester Bestandteil in der Entwicklung von Medikamenten. Ist ein geeignetes Zielmolekül oder ein Umwandlungsprozess identifiziert, muss ein Kontrastmittel entwickelt werden, das entweder spezifisch an das Zielmolekül bindet oder durch dieses umgewandelt wird. Bildgebende Verfahren ermöglichen dann den örtlichen Nachweis des Zielmoleküls. Das Prinzip der molekularen Bildgebung kann auch zur Darstellung der Expression von Genen²⁾, z. B. zur Kontrolle von Gentherapien, verwendet werden. Dazu wird ein therapeutisches Gen mit einem sog. Reporter-Gen verbunden, welches den „Bauplan“ für ein spezifisches Reportermolekül bildet [4]. Ein zielgerichtetes Kontrastmittel ermöglicht dann den Nachweis dieses Reportermoleküls, welches nur durch Gen-Expression entsteht und damit den Ort und Aktivität der Gentherapie nachweist.

Prinzipiell lassen sich zielgerichtete Kontrastmittel für alle bildgebenden Verfahren entwickeln, von Ultraschall bis zur Positronen-Emissions-Tomographie [5]. Die verschiedenen Verfahren unterscheiden sich hinsichtlich ihrer Empfindlichkeit und ihrer räumlichen bzw. zeitlichen Auflösung (Tab. 1). Verglichen mit den klinischen Systemen lassen sich auf dedizierten Tiersystemen höhere Ortsauflösungen und/oder Messempfindlichkeiten erzielen. Beispielsweise wurden Magnetresonananz-Bilder mit 60 µm Auflösung an einer Maus gemessen [6]. Darüber hinaus zeigen Forschungsarbeiten, dass neuartige Kontrastmittel die Messempfindlichkeit der Magnetresonanztomographie um mehrere Größenordnungen erhöhen können [7]. Die Röntgen-Computertomographie ist aufgrund ihrer geringen Messempfindlichkeit weniger für die molekulare Bildgebung geeignet. Auch besitzen die unterschiedlichen Verfahren oft komplementäre Eigenschaften, sodass ihre Kombination vorteilhaft ist.

Die molekulare Bildgebung setzt eine hohe Messempfindlichkeit voraus, sodass sich geringe Konzentrationen des spezifischen Kontrastmittels messen lassen. Um beispielsweise die Bindung bzw. Umwandlung des Kontrastmittels zu bestimmen, müssen sogar Konzentrationsänderungen nachgewiesen werden. Zur quantitativen Auswertung von Kontrastmittelverteilungen werden in der Regel sog. pharmakokinetische Modelle verwendet, in die detaillierte Kenntnisse über die Physiologie und den Metabolismus des applizierten Kontrastmittels eingehen. Die klassische Pharmakokinetik unterteilt dazu die Bereiche des Organismus, in denen das Kontrastmittel zu finden ist, in verschiedene Kompartimente, in denen sich homogene Konzentrationen einstellen. Der Austausch zwischen den Kompartimenten wird durch Raten beschrieben. In aller Regel nimmt man dabei einen „Prozess 1. Ordnung“ an, d. h. die Konzentrationsänderung in einem Kompartiment ist proportional zum Konzentrationsunterschied zwischen den Kompartimenten. Dadurch ergibt sich ein System linearer Differentialgleichungen, die sich mit numerischen Methoden unter Verwendung der gemessenen Bilddaten lösen lassen. Diese Modelle spielen auch eine wichtige Rolle bei der Entwicklung von Medikamenten.

Tabelle 1: Bildgebende Verfahren

Verfahren	Messempfindlichkeit (min. Stoffmenge)	Räumliche Auflösung	Aufnahmedauer
Positronen-Emissions-Tomographie PET	10 ⁻¹² Mol	3 – 10 mm	Minuten
Single Photon Emission Computed Tomography SPECT	10 ⁻¹⁰ Mol	5 – 20 mm	Minuten
Optisch (Fluoreszenz)	10 ⁻¹⁰ Mol	100 µm – 10 mm (je nach Eindringtiefe)	Sekunden
Ultraschallbildgebung	– (einzelnes Mikrobäschen)	100 µm – 1 mm (je nach Eindringtiefe)	Subsekunden
Magnetresonananz-Tomographie MRT	10 ⁻⁶ Mol	250 µm – 1 mm	Sekunden
Röntgen-Computertomographie	10 ⁻³ Mol	500 µm	Sekunden

Die Zahlenwerte beziehen sich auf klinische Systeme unter Verwendung klinisch zugelassener Kontrastmittel

Nuklearmedizinische Verfahren

Aufgrund ihrer hohen Messempfindlichkeit eignen sich nuklearmedizinische Verfahren besonders gut für die molekulare Bildgebung. Bei diesen Verfahren werden instabile Nuklide an molekulare Liganden gebunden und geringe Mengen in den Körper eingebracht. Ort und Konzentration der Radionuklide lassen sich dadurch berechnen, dass man die aus dem Körper emittierten Zerfallsquanten (Gammaquanten) nachweist.

Die *Bildgebung mit Gammaquanten* nutzt vor allem die Radionuklide ^{99m}Tc , ^{111}In , ^{125}I , die unter Emission eines einzelnen Gammaquants zerfallen (Tab. 2). Neben der physikalischen Halbwertszeit spielt auch die biologische eine Rolle, die angibt, wie schnell das Kontrastmittel aus dem Körper ausgeschieden wird. Darüber hinaus ist ein Großteil des Kontrastmittels durch ein langsames Binden oder Anreichern bereits zerfallen und deshalb nur schwer nachzuweisen. Die Single Photon Emission Tomography (SPECT) ermöglicht die Messung der dreidimensionalen Verteilung der Radionuklide im Patienten. Dabei werden mit Hilfe einer um den Patienten rotierenden Gammakamera zweidimensionale Projektionsbilder der emittierten γ -Quanten unter verschiedenen Winkel gemessen, aus denen dann Schnittbilder rekonstruiert werden können. Die eigentliche Gammakamera besteht aus einem Kollimator, einem Szintillationskristall und einem Photomultiplier. Der Kollimator aus Bleilamellen sorgt dafür, dass der Detektor nur senkrecht einfallende γ -Quanten nachweist. Die Geometrie (Länge, Breite) des Kollimators und der Abstand zur Strahlungsquelle bestimmt dabei die räumliche Auflösung, die bei klinischen Systemen in der Größenordnung von 5 – 10 mm liegt.

Das Szintillatormaterial wandelt anschließend die γ -Quanten zunächst in ein Lichtsignal um, welches in einem Photomultiplier wiederum in ein elektrisches Signal gewandelt und verstärkt wird. Als Szintillator dienen vor allem anorganische Kristalle, insbesondere Natriumjodid mit Spuren von Thallium, $\text{NaI}(\text{Th})$. Neben Szintillationsdetektoren gibt es auch Halbleiterdetektoren, in denen die γ -Quanten freie Ladungsträger erzeugen, die sich direkt als elektrische Spannung nachweisen lassen [9]. Diese Detektoren aus Li-dotiertem Si oder Ge oder aus CdZnTe sind bislang aber noch zu teuer und zu ineffizient für kommerzielle Anwendungen.

Ein Impulshöhenanalysator erlaubt die Energieverteilung der detektierten Gammaquanten zu bestimmen. Dabei können störende Anteile bei niedriger Energie auf Grund von Compton-Streuung und photoelektrischer Wechselwirkung mit dem Detektor von den eigentlichen Hauptlinien unterschieden und unterdrückt werden. Darüber hinaus lassen sich verschiedene Isotope mit unterschiedlichen Energien gleichzeitig nachweisen.

Bei der *Positronen-Emissions-Tomographie* (PET) werden vor allem Radionuklide leichter Elemente (^{11}C , ^{15}N , ^{15}O , ^{18}F) verwendet, die stabile Isotope innerhalb von Biomolekülen ersetzen können. Eines der am häufigsten eingesetzten Radionuklide ist ^{18}F -Fluorodeoxyglukose (FDG), ein Glukoseanalog,

welches zur Darstellung des Stoffwechsels z. B. in der Tumordiagnose eingesetzt wird. Die Nuklide zerfallen unter Emission von Positronen, die in unmittelbarer Nähe vom Zerfallsort mit Elektronen annihilieren. Bei diesem Prozess entstehen zwei γ -Quanten mit jeweils einer Energie von 511 keV (entsprechend den Massen von Elektron und Positron), die in entgegengesetzte Richtung auseinander fliegen und sich mit einer zeitlichen Koinzidenz von 10 ns detektieren lassen.

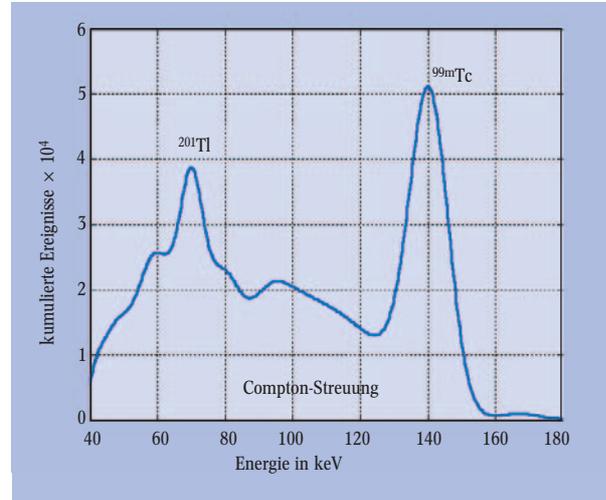


Abb. 2: Dieses Energiespektrum einer Multinuklid-Bildgebung (SPECT) zeigt, dass Technetium bei 140 keV Photonen emittiert und Thallium bei 68, 71 und 80 keV. Compton-Streuung erzeugt eine Energieverteilung unterhalb der Hauptlinien.

Gegenüber dem SPECT-Verfahren wächst die Empfindlichkeit etwa um einen Faktor 1000; auch die Ortsauflösung ist höher und liegt bei klinischen PET-Systemen in der Größenordnung von 5 mm. Die physikalische Grenze liegt bei ca. 0,5 mm und ist im Wesentlichen durch die Energie der Positronen (Tab. 2) bestimmt, aus der sich die mittlere freie Weglänge der Positronen bis zur Anihilation ergibt, sowie dem Durchmesser des Detektorrings, der möglichst gering sein muss. Daher werden zur Zeit Systeme speziell für Kopf und Kleintiere entwickelt. Bei PET wird als Szintillationskristall vor allem Wismutgermanat (BGO) sowie Gadolinium- und Lutetiumoxyorthosilikat (GSO/LSO) eingesetzt. Diese Materialien erlauben im Gegensatz zu Natriumjodid eine empfindlichere Detektion

der hochenergetischen Strahlung. Darüber hinaus ist die Suche und Entwicklung empfindlicherer Szintillationsmaterialien ein ständiger Forschungsschwerpunkt, z. B. werden zur Zeit Detektormaterialien aus der Hochenergiephysik für ihren Einsatz in der medizinischen Bildgebung getestet [10].

Sowohl PET als auch SPECT werden bereits heute in der Klinik zur Darstellung von molekularen Prozessen eingesetzt. Insbesondere ist eine Vielzahl zielgerichteter Kontrastmittel mit Einzelphotonenemittern für den klinischen Einsatz zugelassen. Abbildung 3 zeigt Ergebnisse einer Studie, in der neben einem Kontrastmittel

Tabelle 2: In der molekularen Bildgebung eingesetzte Radionuklide

Radionuklid	Physikal. Halbwertszeit	Energie der Strahlung in keV
^{99m}Tc	6,02 h	140
^{111}In	2,8 d	171, 245
^{125}I	13 h	27, 159
^{201}Tl	3 d	68, 71, 80, 167
		E_{max} (Positronen) in keV
^{18}F	110 min	635
^{11}C	20 min	960
^{15}N	10 min	1190
^{15}O	2 min	1720
^{68}Ga	68 min	1900

^{99m}Tc ist ein metastabiler Zustand, der durch β -Zerfall aus ^{99}Mo entsteht und weiter zerfällt in ^{99}Tc .

zur Bestimmung der Herzmuskeldurchblutung gleichzeitig ein zielgerichtetes Kontrastmittel (99mTc-Annxin-V) verwendet wurde, welches Aussagen über den Zelltod (Apoptose) im Infarktgebiet ermöglicht. Bereiche mit Apoptose lassen sich im Gegensatz zu abgestorbenen Gewebe (Nekrosis) durch geeignete Therapien retten.

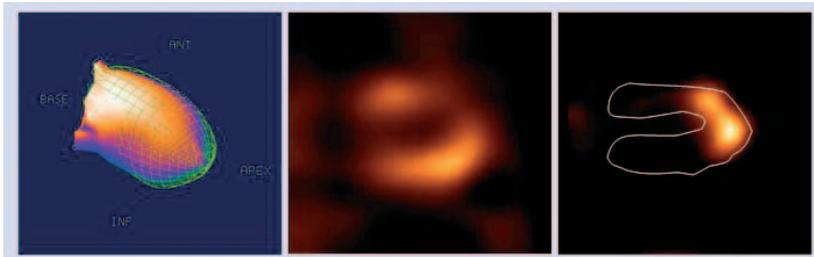


Abb. 3: Mehrere gleichzeitig verwendete Radio-pharmazeutika (Multiparameter SPECT) machen die Herzfunktion (links), die Durchblutung des Herzmuskels (Perfusion, Mitte) sowie Gewebereiche mit auftretendem Zelltod (Apoptose, rechts) sichtbar.

Auch für PET sind eine Reihe spezifischer Kontrastmittel in der Entwicklung. Dabei werden zunehmend auch dynamische Aufnahmen verwendet, um mit Hilfe von pharmakokinetischen Modellen die spezifische Aufnahme des Kontrastmittels zu charakterisieren. So wurde in einer Studie 18F-Fluoromisonidazole (F-MISO) verwendet, welches sich selektiv in Regionen mit starker Sauerstoffunterversorgung (Hypoxia) anreichert (Abb. 4). Anhand der Sauerstoffversorgung lassen sich Aussagen über die Malignität eines Tumors bzw. die Reaktion des Tumors auf eine Therapie machen. Da sowohl bei SPECT als auch bei PET zusätzlich zu Ort und Konzentration des Kontrastmittels auch die anatomischen Informationen notwendig sind, kombiniert man im klinischen Einsatzen PET und Röntgen-CT (Abb. auf S. 29) oder SPECT und Röntgen-CT in einem Gerät.

Magnetresonanztomographie

Auch die Magnetresonanztomographie (MRT) erlaubt es, „krankheitsbedingte Moleküle“ und molekulare Prozesse mit Hilfe zielgerichteter Kontrastmittel nachzuweisen. Die Hauptvorteile: Die MRT zeigt gerade bei Weichteilen einen hervorragenden Kontrast und kommt ohne ionisierende Strahlung aus. Ein MR-System besteht im Wesentlichen aus drei Komponenten:

- ▶ i) einem starken Hauptfeldmagneten (z. B. ^1H , ^{31}P , ^{19}F , ^{13}C), der die Kernspins entlang der Feldrichtung ausrichtet,
- ▶ ii) Hochfrequenzspulen, um die Kernspinresonanz anzuregen und das Signal zu empfangen, sowie
- ▶ iii) Gradientenfeldspulen, um eine räumliche Auflösung zu gewährleisten.

Die Stärke des Hauptfeldmagneten bestimmt die Frequenz der Kernresonanz, welche für klinische Systeme im Radiofrequenzbereich (100 MHz) liegt, sowie die Messempfindlichkeit. Allerdings ist die Feldstärke für den klinischen Einsatz begrenzt, denn mit zunehmendem Feld verschiebt sich auch die Kernspinresonanz zu höheren Frequenzen. Das elektromagnetische Feld dringt jedoch mit zunehmender Frequenz schlechter in den Körper des Patienten ein und erwärmt diesen zudem noch. Die räumliche Auflösung wird im Prinzip durch die Stärke der verwendeten Gradienten bestimmt, de facto allerdings meist durch das Signal-

zu-Rauschverhältnis. Dieses lässt sich entweder durch empfindlichere Hochfrequenzempfangsspulen oder stärkere Hauptfeldmagneten (bei klinischen Systemen bis zu 3 Tesla) verbessern. Grundsätzlich bestimmen die Spindichte (d. h. die Konzentration etwa der Wasserstoffatome) sowie die Relaxationszeiten⁵⁾ den Bildkontrast der MRT. Die Relaxationszeiten geben an, wie schnell die durch die Kernresonanz angeregte Magnetisierung wieder in den Gleichgewichtszustand zurückkehrt. In Entwicklung sind derzeit deshalb zielgerichtete Kontrastmittel aus Lanthaniden oder Eisenoxidpartikeln, welche diese Zeiten verändern. Darüber hinaus werden Eisenoxidpartikel auch zur Markierung von Zellen verwendet. Dies ist insbesondere interessant, um implantierte Stammzellen mittels MR-Bildgebung zu verfolgen.

Im Gegensatz zu nuklearmedizinischen Verfahren, bei denen die Konzentration des Kontrastmittels mehr oder weniger direkt gemessen wird, lässt sich bei der MRT die Konzentration nur indirekt über die Änderung der Relaxationszeiten messen, d. h. es sind zwei Messungen vor und nach Kontrastmittelgabe notwendig. Dies hängt damit zusammen, dass jedes Gewebe eine intrinsische Relaxationszeit besitzt, welche die messbare Konzentration des Kontrastmittels beeinflusst. Üblicherweise wird der Einfluss des Kontrastmittels durch sog. gewichtete Bilder gemessen, dabei hängt der Grauwert der Bildpunkte stark von einer Relaxationszeit ab.

Abbildung 5 zeigt die Verwendung eines spezifischen Kontrastmittels zur Detektion von Blutgerinnseln (Thrombus) [11]. Dabei besteht das Kontrastmittel aus einer Nanopartikelemulsion (Perfluorcarbonemulsion) als Trägersubstanz, welches sowohl Gadolinium zur Beeinflussung der Relaxationszeit als auch Fibrin-Antikörper zur spezifischen Bindung mit einem Thrombus enthält. Die Verwendung der Trägersubstanz ermöglicht eine hohe Konzentration von Gadolinium im Kontrastmittel und damit eine signifikante Erhöhung

5) Die Relaxationszeit T_1 beruht auf der Spin-Gitter-Wechselwirkung und bestimmt, wie schnell sich die Magnetisierung nach der NMR-Anregung wieder entlang der Hauptfeldrichtung aufbaut. Demgegenüber beschreibt T_2/T_2^* den zeitlichen Abbau der messbaren Magnetisierung quer zum Hauptfeld aufgrund der Spin-Spin-Wechselwirkung (T_2) bzw. der Felddinhomogenitäten (T_2^*).

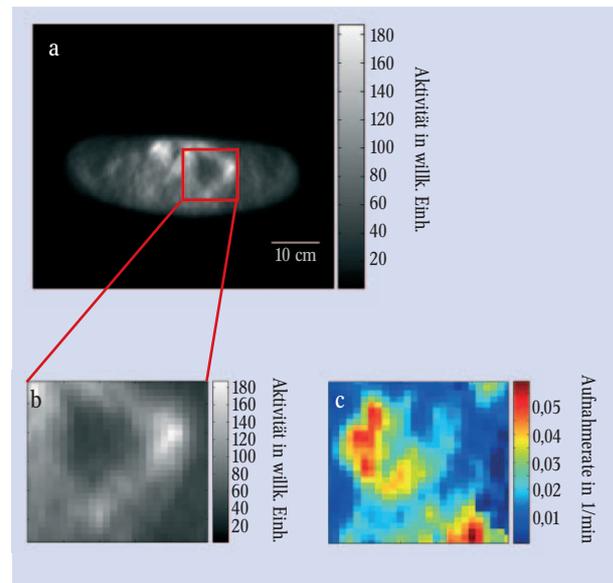


Abb. 4: Bei der dynamischen PET-Messung des Thorax eines Lungenkrebspatienten zeigt sich, dass der Tumor vier Stunden nach Injektion eine geringe Aktivität zeigt (a, b). Mit einem pharmakokinetischen Modell (Philips Research Aachen) lässt sich die Aufnahme des Tumors berechnen (c): Diese zeigt Bereiche des Tumors mit starker Sauerstoffunterversorgung. Diese Bereiche erfordern eine höhere Dosis bei einer Strahlentherapie. (Klinische Daten: S. Eschmann, Univ. Tübingen)

der Messempfindlichkeit von Fibrinmolekülen. Eine mit der Relaxationszeit T_1 gewichtete Aufnahme zeigt nach Binden des Kontrastmittels ein hohes Mess-Signal in der Nähe des Thrombus in der Halsvene im Tiermodell (Abb. 5d). Aufgrund des Mischkontrastes ist es allerdings nicht möglich, auf die Kontrastmittelkonzentration am Ort zurückzuschließen. Zur quantitativen Analyse der Kontrastmittel werden daher mit speziellen Messverfahren der zeitliche Verlauf des Signalzerfalls an jedem Ort gemessen und die damit verbundenen Relaxationszeiten dargestellt. Kontrastmittel ändern nun diese Relaxationszeiten, die umgekehrt proportional zur Kontrastmittelkonzentration sind. Auch bei der MRT kommen ähnlich wie in der Nuklearmedizin dynamische Messungen zum Einsatz, um mit Hilfe von pharmakokinetischen Modellen Zu- und Abfuhr des Kontrastmittels in verschiedenen Gewebekompartimenten zu charakterisieren. Kontrastmittelkonzentrationen lassen sich auch messen, indem man andere Kerne als ^1H für die Kernresonanz verwendet. Da die Konzentration von natürlichem ^{13}C und ^{19}F im Gewebe vernachlässigbar ist, werden diese stabilen Nuklide als Bestandteile von Biomolekülen in den Körper eingebracht. Der Vorteil dabei ist, dass die Konzentration des Kontrastmittels direkt anhand des empfangenen Signals bestimmt werden kann, das proportional zur Spindichte des Nuklids ist. Dies ermöglicht eine hintergrundfreie Darstellung der Kontrastmittelverteilung. Insbesondere ^{19}F lässt sich aufgrund des großen gyromagnetischen Verhältnisses mit einer ähnlichen Empfindlichkeit wie Wasserstoff nachweisen.

Ultraschall-Bildgebung

Bei der Ultraschall-Bildgebung werden Schallwellen mit einer Frequenz von 2 – 10 MHz in den Körper gesendet und das im Gewebe reflektierte bzw. gestreute Signal gemessen. Die räumliche Auflösung hängt von der Frequenz der Schallwelle ab und wächst mit zunehmender Frequenz. Allerdings nimmt auch die Dämpfung mit der Frequenz zu, sodass die Schallwelle nicht mehr weit genug in den Körper eindringen kann. Daher ist die Ortsauflösung für tiefer liegende Organe geringer. Neben der Darstellung von Gewebe ist Ultraschall auch in der Lage, die Flussgeschwindigkeit von Blut unter Ausnutzung des Doppler-Effektes darzustellen. Um den Blutfluss auch in kleinen, tief liegenden Gefäßen bestimmen zu können, wurden Ultraschall-Kontrastmittel entwickelt, die aus gasgefüllten Mikrobläschen bestehen. Diese Bläschen sind beispielsweise gasgefüllte Perfluorcarbon-Mikrokügelchen oder gasgefüllte polymerverstärkte Mikropartikel. Da sich die akustische Impedanz der Bläschen von derjenigen von Blut unterscheidet, werden die eintreffenden Wellen stärker reflektiert. Außerdem können die Bläschen resonant unter dem Druck der eintreffenden Schallwelle expandieren und kontrahieren. Durch nicht-lineare Effekte enthält die reflektierte Schallwelle dann nicht nur die eingestrahlte Frequenz, sondern auch deren Harmonische. Beide Effekte erhöhen die Messempfindlichkeit.

Die Harmonischen lassen sich mit der sog. Puls-Inversion-Methode messen, bei der nacheinander Schallwellenpulse mit unterschiedlichem Vorzeichen gesendet werden. Nach Addition beider Signale hebt sich die Grundfrequenz heraus und die Harmonische verbleibt. Die Resonanzfrequenz der Mikrobläschen hängt insbesondere von deren Größe und Oberflächenspannung ab. Da die Größe der Mikrobläschen durch die Größe der

Kapillargefäße begrenzt ist, haben Mikrobläschen typischerweise einen Durchmesser von etwa 1 – 10 μm . Zur Zeit werden Mikrobläschen zur quantitativen Messung der Herzmuskeldurchblutung eingesetzt. Nach der intravenösen Gabe des Kontrastmittels zerstört ein kurzer energiereicher Ultraschallpuls selektiv alle Mikrobläschen in der Bildgebungsschicht. Danach erhält man die Durchblutungsstärke, indem man die zeitliche Anreicherung der Mikrobläschen im Herzmuskel bestimmt.

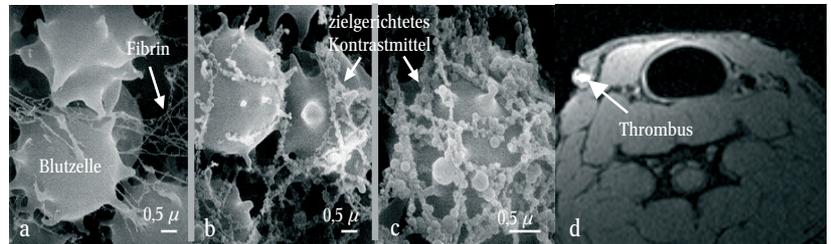


Abb. 5:

Mit zielgerichtetem MR-Kontrastmittel lässt sich Fibrin eines Blutgerinnsels (Thrombus) nachweisen: Die Elektronenmikroskopaufnahme zeigt einen Thrombus mit roten Blutkörpern vor (a) und nach

Binden (b, c) des spezifischen Kontrastmittels aus Nanopartikeln an Fibrinfäden. Auf dem MR-Bild (d) ist ein Thrombus in der Halsvene im Tiermodell zu sehen. (Quelle: S. Wickline, Washington Univ.)

Eine weitere Möglichkeit, Mikrobläschen nachzuweisen, besteht in der empfindlichen Messung des Doppler-Effekts der ausgesendeten Signale kurz nach dem Platzen der Mikrobläschen, bei dem hohe Geschwindigkeiten auftreten. Diese „stimulierte akustische Emission“ (SAE) erlaubt eine sehr empfindliche Detektion bis zum Nachweis eines einzigen Mikrobläschens [12].

Ein Nachteil der Ultraschallbildgebung ist die geringe Ortsauflösung in Schichtrichtung („Beamforming“). Dadurch können Sättigungseffekten in der SAE-Messung auftreten, falls sich zu viele Mikrobläschen in einem Bildvoxel befinden. Um dem abzuwehren, kann man die Bildgebungsschicht zwischen verschiedenen Messungen ein wenig (z. B. 10 μm) verschieben. Zu jeder einzelnen Messung tragen dann nur Mikrobläschen aus dem Verschiebungsbereich zum SAE-Signal bei [13], d. h. damit tragen nur einige Mikrobläschen aus dem kleinen Verschiebungsbereich bei, um den Dynamikbereich der SAE-Messung besser auszunutzen.

Im Zusammenhang mit der molekularen Bildgebung wird die Oberfläche der Mikrokügelchen mit einem Phospholipid beschichtet, an das Liganden binden. Damit koppelt das Mikrobläschen selektiv an ein Zielmolekül. Aufgrund der Größe der Mikrobläschen be-

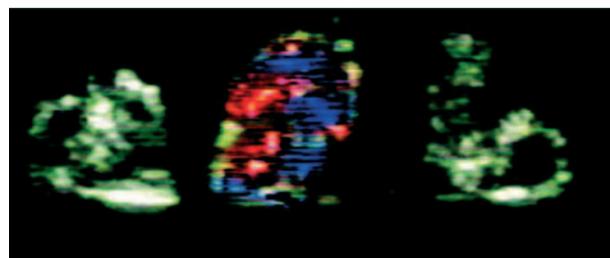


Abb. 6:

Zielgerichtete Mikrobläschen eignen sich zum empfindlichen Nachweis von L-Selektin im Tiermodell (Maus). Die Messungen mit stimulierter akustischer Emission zeigen einen signifikanten Unterschied zwischen normalen (rechts und links) und zielgerichteten Mikrobläschen (Mitte) zum Nachweis von Lymphgewebe. Die Bilder zeigen Schnittbilder von Lymphgewebe im Doppler-Modus, d. h. zielgerichtete Mikrobläschen sind als Farbpunkt sichtbar. (Quelle: P. Hauff, Schering AG, Berlin)

schränkt sich deren Anwendungsbereich auf Moleküle innerhalb des Gefäßsystems. Abbildung 6 zeigt die empfindliche Messung von zielgerichteten Mikrobläschen zum Nachweis von Lymphknoten. Das lymphatische System spielt eine wichtige Rolle bei der Metastasierung von Tumoren, daher ist eine spezifische Darstellung der Lymphknoten mittels Bildgebung von hoher Bedeutung. Dazu wurde ein monoklonaler Antikörper (MECA-79) an Mikrobläschen gebunden, welche einen Nachweis des lymphatischen Moleküls L-Selektin erlauben [14]. Die empfindliche Messung des SAE-Signal zeigt einen signifikanten Unterschied unter der Verwendung normaler und zielgerichteter Mikrobläschen.

Optische Bildgebung

Die optische Bildgebung umfasst eine Reihe von unterschiedlichen Verfahren, welche Licht vom ultravioletten bis zum infraroten Bereich verwenden. Die Techniken basieren auf der Reflexion, Transmission oder Emission von Photonen. Darüber hinaus lassen sich die unterschiedlichen Verfahren danach unterscheiden, ob Oberflächen oder Tiefeninformation des Gewebes abgebildet werden sollen. Zum Beispiel werden Mikroskope bzw. Endoskope in der Medizin eingesetzt, um Oberflächenstrukturen mit einer hohen Ortsauflösung

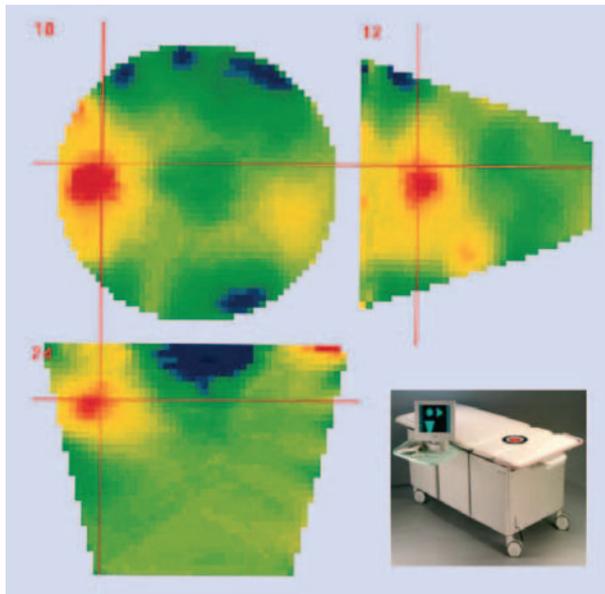


Abb. 7: Schnittbilder einer dreidimensionalen optischen Mammographie, aufgenommen mit einem optischen Tomographie-system (Philips Research Eindhoven). Die starke Absorption (rot) weist auf einen Brusttumor hin.

zu erfassen. Darüber hinaus erlaubt es die optische Kohärenz-Tomographie (OCT) bzw. die Zwei-Photonen-Mikroskopie, oberflächennahe Strukturen dreidimensional abzubilden. Ein Problem der optischen Bildgebung mit Tiefeninformation besteht darin, dass Licht nicht sehr tief in biologisches Gewebe eindringt. Daher werden für viele biologische Anwendungen spezielle Lichtquellen mit Wellenlängen im Nahinfraroten verwendet, welche mehrere Zentimeter eindringen können. Das sog. optische Fenster von biologischem Gewebe (600 – 900 nm) ist durch die Absorption von Blut unterhalb von 600 nm (insbesondere Hämoglobin) bzw. von Wasser oberhalb von 900 nm definiert.

Bei der optischen Tomographie werden Photonen von räumlich verteilten Quellen in das Gewebe gesandt und das transmittierte Signal mit einer Vielzahl von räumlich verteilten Detektoren aufgenommen. Neben der Absorption des Gewebes begrenzt auch die starke Streuung der Lichtphotonen im Gewebe die optische Bildgebung. Für die optische Tomographie ist eine mög-

lichst genaue mathematische Modellierung der Photonausbreitung zur Rekonstruktion dreidimensionaler Bilder wichtig [15], welche im Allgemeinen die Absorptions- und Streueigenschaften des Gewebes darstellen. Der Weg der Photonen in Gewebe lässt sich dabei durch einen Diffusionsprozess annähern. Abbildung 7 zeigt Ergebnisse einer optischen Mammographie. Dabei wurde die Absorption des Brustgewebes bei verschiedenen Wellenlängen im Nahinfraroten untersucht. Die starke Durchblutung eines Brusttumors (rot) führt zu einer verstärkten Absorption und kann daher vom normalen Brustgewebe im optischen Mammogramm unterschieden werden. Ein Nachteil der optischen Tomographie liegt in der niedrigen räumlichen Auflösung, die aufgrund des schlecht gestellten Rekonstruktionsproblems bei ca. 1 cm liegt. Zur Verbesserung der räumlichen Auflösung wurden in den letzten Jahren verstärkt iterative Rekonstruktionsverfahren eingesetzt. Dabei wird das zugrundeliegende Differentialgleichungssystem über ein Vorwärtsproblem gelöst: Ausgehend von einem geschätzten Bild lassen sich mit Hilfe der Differentialgleichungen Schätzwerte an den Messpunkten berechnen, die mit den tatsächlichen Messwerten verglichen werden. Eine iterative Minimierung dieser berechneten Differenz verbessert das Bild. Neben neuen Rekonstruktionsverfahren hat die optische Tomographie in den letzten Jahren von der Entwicklung neuer Laser und Detektoren profitiert. So ermöglichen etwa gepulste Laser eine bessere Ortsauflösung, da zwischen schnell und langsam ankommenden (d. h. oft und selten gestreuten) Photonen unterschieden werden kann [16]. Darüber hinaus verbessern empfindliche Detektoren, wie neue hochempfindliche CCD-Chips oder Avalanche-Photodioden, die Empfindlichkeit der optischen Bildgebung.

Für die molekulare optische Bildgebung setzt man zielgerichtete optische Kontrastmittel ein, die eine ähnliche Empfindlichkeit wie bei nuklearmedizinischen Verfahren ermöglichen. Grundsätzlich lassen sich zwei Prinzipien unterscheiden: Biolumineszenz und Fluoreszenz. Bei der Biolumineszenz basiert die Lichtemission auf einer enzymatischen Reaktion, so lässt sich etwa das Enzym Luziferase, welches in der Natur in Glühwürmchen vorkommt, als „interne Lichtquelle“ verwenden. Die Biolumineszenz wird zur Zeit noch nicht klinisch angewendet, sondern hauptsächlich in tierexperimentellen Systemen. Bei der Fluoreszenzbildgebung wird eine optische Probe durch eine externe Lichtquelle angeregt und Licht auf der Fluoreszenzwellenlänge detektiert. Indocyanin-Grün (ICG) ist ein klinisch zugelassenes Kontrastmittel, das ein Fluoreszenzsignal im Nahinfraroten emittiert. Neben ICG-Derivaten sind zur Zeit Halbleiter-Quantenpunkte in der Erprobung für die optische Fluoreszenz-Bildgebung [17]. Der Nachteil dieser Proben liegt in der noch zu hohen Toxizität, die sich gegebenenfalls durch eine geeignete „Nano-Hülle“ verringern lässt. Fluoreszenz-Kontrastmittel kommen in der klinischen Praxis bei minimal-invasiven Eingriffen, z. B. der Resektion von Tumoren mit Hilfe von Mikroskopen oder Endoskopen, zum Einsatz. In den letzten Jahren wurden verstärkt zielgerichtete Fluoreszenz-Kontrastmittel entwickelt, welche spezifisch an Rezeptoren binden oder durch Enzyme aktiviert werden. Letztere Proben emittieren Fluoreszenzsignale nur bei einer enzymatischen Aktivität und führen beispielsweise zu einem 12-fach höheren Fluoreszenzsignal in Tumoren [18]. Die Entwicklung zielgerichteter Proben erscheint besonders vorteilhaft für die optische Tomo-

graphie, um z. B. bei Krebs eine frühe Detektion oder spezifische Diagnose zu ermöglichen.

Zusammenfassung

Die molekulare Bildgebung steht in vieler Hinsicht noch am Anfang ihrer Entwicklung. Es gilt zunächst, spezifische Kontrastmittel für die unterschiedlichen Bildgebungsverfahren zu entwickeln. Aufgrund der spezifischen Eigenschaften der entwickelten Kontrastmittel müssen bestehende bildgebende Verfahren angepasst bzw. neue Messverfahren entwickelt werden. Die empfindliche Messung geringer Kontrastmittel-Konzentrationen setzt hochempfindliche Detektoren für die unterschiedlichen bildgebenden Verfahren voraus. Das alles erfordert eine breite interdisziplinäre Zusammenarbeit zwischen Medizin, Biochemie, Bioinformatik, Pharmazie, Physik und Ingenieurwissenschaften. Medizinische Studien werden in den nächsten Jahren zeigen, wie schnell die molekulare Bildgebung zur Früherkennung und Heilung von Krankheiten eingesetzt werden kann.

Danksagung

Ich bedanke mich für die Unterstützung und für wertvolle Hinweise bei H. Dahnke, T. Nielsen, T. Paulus und S. Weiss.

Literatur

- [1] R. Weissleder und U. Mahmood, *Radiology* **219**, 316 (2001)
- [2] H. Alfke et al., *Fortschr. Geb. Rontgenstr. Neuen Bildgeb. Verfahr.* **173**, 391 (2001)
- [3] P. Moore, *Nature* **426**, 725 (2003)
- [4] S. S. Gambhir et al., *Nucl. Med. Biol.* **26**, 481 (1999)

- [5] A. Webb, *Introduction to Biomedical Imaging*, John Wiley & Sons, New Jersey (2003)
- [6] P. Ghosh et al., *Neuroimage*. **1**, 345 (1994)
- [7] A. M. Morawski et al., *Magn. Reson. Med.* **50**, 411 (2003)
- [8] F. H. Dost, *Grundlagen der Pharmakokinetik*. Thieme, Stuttgart (1968)
- [9] L. Kaufman et al., *IEEE Trans. Nucl. Sci.*, **NS-27**, 3 (1980)
- [10] P. Lecoq, *Proc. Calorimetry in Particle Physics*, 262-273 (2002)
- [11] S. Flacke et al., *Circulation* **104**, 1280 (2001)
- [12] V. Uhlendorf et al., *Ultrasonics* **38**, 81 (2000)
- [13] M. Reinhardt et al., Sensitive particle acoustic quantification (SPAQ), *Invest. Radiol.* **40**, 2 (2005)
- [14] P. Hauff et al., *Radiology* **231**, 667 (2004)
- [15] S. R. Arridge, *Inverse Problems* **15**, R41 (1999)
- [16] D. Grosenick et al., *Applied-Optics* **13**, 2927 (1999)
- [17] X. Gao et al., *Nat. Biotechnol.* **22**, 969 (2004)
- [18] R. Weissleder et al., *Nat. Biotechnol.* **17**, 375 (1999)

Der Autor

Tobias Schaeffter studierte Elektrotechnik und Informatik an der TU Berlin. 1996 promovierte er in Naturwissenschaften am FB Biologie/Chemie der Uni Bremen in Kooperation mit dem Philips Forschungslabor Hamburg. Seit 1996 ist er wissenschaftlicher Mitarbeiter bei Philips und dort insbesondere für das Themengebiet „molekulare Bildgebung“ verantwortlich. Neben seiner industriellen Tätigkeit arbeitet Tobias Schaeffter als Lehrbeauftragter an der TU Hamburg-Harburg.

