

Molekulare Bildgebung zwischen Forschung und Klinik

Ein Paradigmenwechsel

Mit neuen Technologien dringt die medizinische Bildgebung auf die molekulare Ebene vor und induziert damit womöglich einen Paradigmenwechsel in Diagnostik und Therapie.

Der Begriff „Molekulare Bildgebung“ umschreibt die Diagnostik von Krankheiten auf der molekularen Ebene durch den Einsatz bildgebender Verfahren. So technisch diese Definition vordergründig klingen mag, so bedeutsam ist sie durchaus auch gesundheitspolitisch. Während noch vor wenigen Jahren in der kurativen Medizin Bildgebung als rein deskriptives, also morphologisch beschreibendes Verfahren eingesetzt wurde, entwickelt sich das Gesundheitssystem nun deutlich in Richtung „präventiv und prophylaktisch“. Bildgebung beschreibt heute eben nicht mehr nur morphologische Phänomene, sondern eröffnet vollkommen neue Einblicke in die molekularen Mechanismen der den Erkrankungen zugrunde liegenden pathophysiologischen und biochemischen Ereignisse und hat somit deutliche Auswirkungen auf bisherige Therapie- und Diagnostikverfahren.

Wo steht die molekulare Bildgebung heute in vorklinischer Forschung, in der

Klinik und im Routinelabor? Um diese Frage zu beantworten, sollten wir zuvor noch einmal das Grundprinzip betrachten. Eine Zielstruktur mit entsprechender Spezifität für die zu diagnostizierende Erkrankung (wie beispielsweise ein Oligonukleotid, Protein, Antikörperfragment oder Antikörper) wird durch Markierung zu einem diagnostischen Werkzeug, das dann optisch ausgelesen werden kann. Dafür stehen heute prinzipiell drei Verfahren zur Verfügung: Radionuklide, Markierungen für die Ultraschall-Technik und Fluoreszenzmarker.

Radiologie und Sonografie

Radioaktiv markierte Sonden lassen sich in der präklinischen Forschung und klinischen Diagnostik u.a. mittels Positronen-Emissions-Tomographie (PET) und *single photon emission computed tomography* (SPECT) nachweisen. Dabei steht der hohen Empfindlichkeit im picomolaren Bereich die (wenn auch nur geringe bis mäßige) Strahlenexposition der Patienten gegenüber. Kombiniert mit Verfahren wie der Magnetresonanztomographie – gemäß dem Motto „best of both worlds“ – sind diese Verfahren heute als multimodale Verfahren nicht nur in der

präklinischen Forschung, sondern auch am Patienten im Einsatz.

Vorteil dieser Verfahren ist zweifelsohne die Möglichkeit, den zu untersuchenden Körper vollständig zu penetrieren, was mit Licht/Fluoreszenz nicht möglich ist. Die Detektion von Fluoreszenz im Körperinneren scheitert an den physikalischen Limitationen der Eindringtiefe von Licht.

Einen Ausweg aus dem Dilemma zwischen Strahlenbelastung und Eindringtiefe könnten künftig Ultraschall-Verfahren bieten. Mittels Koppelung der Targets an z.B. luftgefüllte Nanopartikel lassen sich mit der Sonografie ähnlich gute Ergebnisse wie mit PET und SPECT bei hohen Eindringtiefen und ohne Strahlenexposition erzielen. In der Erforschung und Entwicklung neuer Ansätze leisten hier die Kollegen Prof. Ntziachristos (München) und Prof. Kiessling (Aachen) hervorragende Pionierarbeit.

Fluoreszenzmarker

Bereits heute haben auch fluoreszenzbasierte Verfahren in der dermatologischen Krebsdiagnostik, Gynäkologie (z.B. Mamma-Diagnostik), Urologie (z.B. Diagnostik Blasenkarzinom) und Neurochirurgie (z.B. Definition von Resektionsgrenzen



Nacktmaus mit einem implantierten humanen Nierenzellkarzinom. Die Zellen wurden im Labor mit einem fluoreszenzprotein-kodierenden Vektor transfiziert; eine zusätzliche Antibiotika-Kassette selektiert durch gezielte Behandlung mit dem dazu passenden Antibiotikum reine, fluoreszierende Zelllinien. Der Tumor befindet sich direkt unter der Haut auf der rechten Flanke. Seine Gefäßversorgung fluoresziert nicht, da sie von der Maus gebildet wurde. Mit diesem Modell lassen sich Tumoren, die noch nicht tastbar sind, frühzeitig erkennen. Es erlaubt auch, pharmakologische Substanzen mit Auswirkungen auf das Tumorstadium oder die Gefäßversorgung zu testen, z.B. Antiangiogenese-Medikamente, die die Bildung von Tumorgefäßen verlangsamen.



Laserbasierter Kleintierscanner. Die Maus wird in Narokose von einem Nahinfrarot-Laser durchleuchtet, das Bild aus Fluoreszenzsignalen vom Computer errechnet. Man sieht das Wachstum eines Tumors über die Zeit, links früh, rechts später – die Fläche ist größer und homogener. Die Farbskala korreliert mit der Zellzahl. Mit NIR-fluoreszierenden Antikörpern bzw. Medikamenten lassen sich z.B. molekulare Veränderungen am Tumor und/oder Therapieeffekte verfolgen.

beim Glioblastoma multiforme) Einzug gehalten. In der Rheumatologie werden laserbasierte Handgelenkscanner eingesetzt, um die autoimmunologisch bedingte Entzündung spezifisch zu detektieren, so die Diagnose schneller und einfacher zu stellen und vor allem früher eine Therapie zu ermöglichen, die irreversible Gelenkdestruktionen vermeidet.

In einer unlängst an der Göttinger Universitätsmedizin abgeschlossenen Studie zur Zulassung eines solchen Gerätes wurden viel versprechende Ergebnisse erzielt, über die in der nächsten Trillium-Ausgabe berichtet werden soll.

Multimodale Diagnostik

Der Trend geht dabei klar zur Kombination verschiedener technischer Verfahren in einem Gerät. Die Zukunft der klinischen Diagnostik via molekularer und optischer Bildgebung liegt sicher in ebendieser multimodalen Verbindung verschiedener Techniken wie der Kombination aus Ultraschall und Fluoreszenz oder von MRT und PET.

Am Übergang von der präklinischen Forschung zur klinischen Diagnostik werden für den Einsatz in der in-vivo Bildgebung am lebenden Organismus derzeit zahlreiche neue Produkte entwickelt. Ein besonders aktueller Trend ist der Wechsel von „klassischen“ Fluorophoren im grün-rot Bereich hin zur Nahinfrarot-Bildgebung (NIR). Um Zellen zum Leuchten zu bringen, schleust man seit einiger Zeit fluoreszenzprotein-kodierende genetische Vektoren und Fluoreszenzfarbstoffe ein. Zunehmend werden klassische Produkte wie das grüne Fluoreszenzprotein (z.B. eGFP) oder dessen rote Derivate (z.B. DsRED) durch Marker, die im NIR-Bereich leuchten, verdrängt.

Der Wechsel in den nahen Infrarotbereich (> 650 nm) erlaubt eine tiefere optische Penetration des zu untersuchenden Gewebes und minimiert zudem störende Autofluoreszenzen. Daraus resultiert letztlich ein besseres Signal-Rausch-Verhältnis, das wiederum zu einer präziseren und sensitiveren in-vivo-Bildgebung führt.

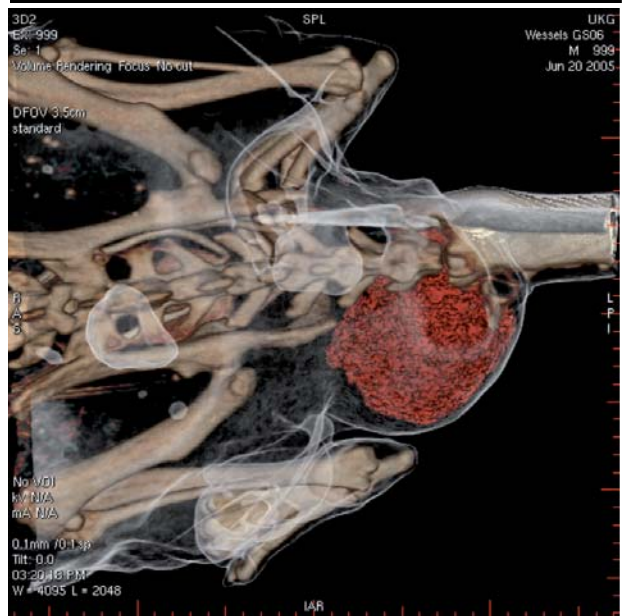
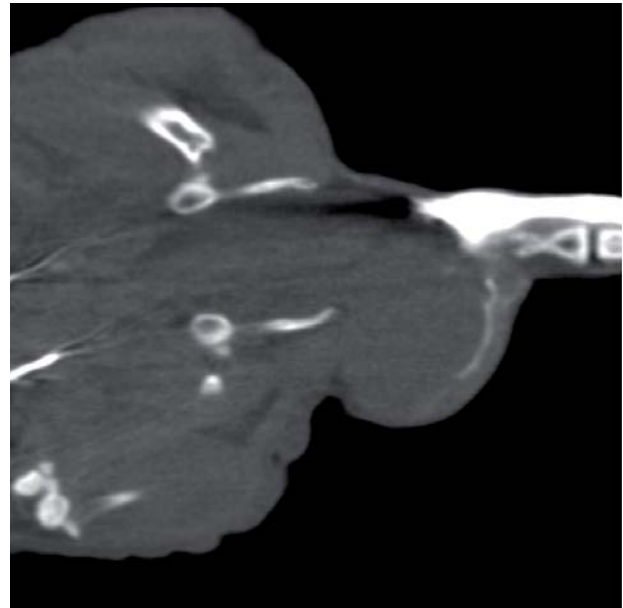
In der präklinischen Forschung an Kleintieren, beispielsweise in der Onkologie, ist der Einsatz von genetischen fluoreszenzprotein-kodierenden Vektoren im NIR-Bereich von großem Vorteil, da mit steigender Zellzahl das Fluoreszenzsignal des Tumors zunimmt. Hier kommen intravitale Mikroskope mit brillanten Optiken zum Einsatz, die es ermöglichen, im lebenden Tier einzelne markierte Tumorzellen in der Gefäßbahn in Echtzeit zu verfolgen und dabei sogar subzelluläre Strukturen zu erkennen.

Auch hier werden derzeit verschiedene Verfahren zu multimodalen Ansätzen kombiniert. So nützt die präklinische Forschung an der Göttinger Universitätsmedizin neben intravitalem Mikroskopieren vor allem laserbasierte Kleintierscanner und einen Flachdetektor-Volumencomputertomographen (fp-VCT) für das Auslesen der Signale (readout). Die zweidimensionalen Bilder des Laserscans können dann mit den dreidimensionalen Daten des fp-VCT verrechnet und überlagert werden, so dass Bilder von faszinierender Anschaulichkeit entstehen.

Auch in der mikroskopischen Diagnostik wird durch neue Verfahren die optische Eindringtiefe in Gewebe immer weiter optimiert. So lassen sich heute mit der Multiphotonen-Mikroskopie und gut ausgestatteten konfokalen Mikroskopen Tiefen von bis zu einem Millimeter erreichen. Die optische Auflösung solcher Systeme wird dabei durch neue Entwicklungen wie der Stimulated Emission Depletion (STED)-Mikroskopie durch Prof. Stefan Hell immer weiter verbessert.

Laserbasierte Systeme haben dabei ihre Stärke in der hervorragenden Bildqualität und in der Möglichkeit, 3D-Aufnahmen zu erzeugen. Ihre Schwäche bleibt die Echtzeitbildgebung, bedingt durch den Scan in xy-Richtung und die Verwendung von Photomultipliern gegenüber schnellen CCD-Kameras.

Die Weiterentwicklung der hier dargestellten Techniken und ihre Auswirkung auf die diagnostische Bildgebung und Labordiagnostik bleibt extrem spannend. Erkennbar ist schon jetzt, dass die molekulare Bildgebung zu einem verbesserten Verständnis vieler



Vergleich von konventioneller Röntgentechnik (oben) und Flachdetektor-Volumencomputertomografie (fp-VCT, unten) bei einem Tumor in der Maus. Deutlich erkennbar sind in kontrastmittel-optimierter Darstellung die unterschiedlichen Strukturen, deren differente Dichte über eine Falschfarbkodierung zum farbigen Bild führt.

Pathomechanismen bei bislang schwer zugänglichen chronischen Erkrankungen führt, und dass sie mit diesen Erkenntnissen dann auch rasch Eingang in die Klinik findet. So kann sie zu einer früheren Diagnostik und individuelleren Therapie führen und dazu beitragen, Spätschäden zu minimieren.



Dr. Johannes Wessels
Molecular & Optical Live Cell
Imaging, Universitätsmedizin
Göttingen, johannes.wessels@
med.uni-goettingen.de