

B. Riefke · K. Licha · W. Semmler · Institut für Diagnostikforschung GmbH
an der Freien Universität Berlin

Kontrastmittel für die optische Mammographie

Zusammenfassung

Die Nahinfrarotbildgebung (NIR-Bildgebung) nutzt Licht des Nahinfrarot (NIR) mit einem Spektralbereich von 650–1000 nm zur Gewebedifferenzierung aus. Da NIR-Licht durch körpereigene Farbstoffe (z. B. Hämoglobin) nur geringfügig absorbiert wird, werden Eindringtiefen von mehreren Zentimetern mit diffundierenden Photonen erzielt. Ein derzeit experimentell erprobtes Anwendungsgebiet dieses Verfahrens ist die optische Mammographie. In den letzten Jahren sind verschiedene Prototypen von Mammascannern mit dem Ziel konstruiert worden, die unterschiedlichen optischen Eigenschaften von Geweben bildgebend zu erfassen. Erste klinische Vorstudien an diesen Geräten haben jedoch ergeben, daß mit den angewendeten Verfahren bei der Erkennung und Differenzierung von Brusttumoren keine ausreichende Spezifität erzielt wird. Farbstoffe als potentielle Kontrastmittel könnten diesem Mangel abhelfen. Als bildgebendes Prinzip können bei der Verwendung von Farbstoffen als Kontrastmittel sowohl die Absorption als auch deren spezifisch emittierte Fluoreszenz herangezogen werden.

Schlüsselwörter

Nahinfrarotbildgebung · Optische Mammographie · Transillumination · Kontrastmittel · Farbstoffe

Durch die rechtzeitige Früherkennung des Mammakarzinoms kann die Mortalität der Frauen mit Brustkrebs um ca. 20–50 % gesenkt werden [8]. Als etabliertes Verfahren für diese Vorsorgeuntersuchungen steht die Mammographie mit Röntgenstrahlen zur Verfügung, die bei Frauen über 50 Jahren eine Sensitivität von 85 % erreicht. Bei der Untersuchung von Frauen unterhalb von 50 Jahren verliert jedoch die Röntgenmammographie aufgrund des röntgendichten Mammagewebes jüngerer Frauen rasch an diagnostischer Aussagekraft. Hinzu kommt die häufig geäußerte Kritik an der Anwendung ionisierender Strahlung bei jüngeren Patientinnen, obwohl die Zunahme des Krebsrisikos durch die Screeningmammographie von rechnerisch 0,006 % statistisch bedeutungslos ist [10]. Andere etablierte bildgebende Diagnoseverfahren, wie die MRT und Ultraschall, konnten sich in der Screeningmammographie bisher nicht durchsetzen. Ein alternatives Verfahren bietet prinzipiell die Diagnose mit NIR-Licht. NIR-Licht des Spektralbereichs 650–1000 nm kann bedeutend tiefer als sichtbares Licht in biologische Gewebe eindringen, da die Absorption körpereigener Farbstoffe, hauptsächlich des Hämoglobins und des Wassers, in diesem Spektralbereich minimale Werte aufweist. Dieser Bereich der größten optischen Gewebetransparenz wird daher auch als diagnostisches Fenster bezeichnet (Abb. 1). Der Transport der Photonen durch Gewebe kann im NIR-Bereich mit guter Näherung durch die Diffusionsgleichung beschrieben werden [29]. Die diffundierenden Photonen werden zum Nachweis von funktionellen Parametern aber auch zur Visualisierung von Strukturen verwendet. Die für die Messungen und Aufnahmen eingesetzten Bestrahlungsleistungen im NIR-Bereich sind für den Körper und die Gewe-

be unbedenklich und eignen sich für eine kontinuierliche, nichtinvasive Diagnostik, besonders aber für häufige Anwendungen in Screeningverfahren. Der endogene Gewebekontrast, der für die Detektion von Tumoren bei der Transillumination genutzt werden kann, beruht zum einen auf dem lokalen Absorptionskoeffizienten des Gewebes μ_a , der hauptsächlich durch Hämoglobin und durch die erhöhte Durchblutungsrate in Verbindung mit der Tumorangio-genese bestimmt wird und zum anderen auf dem Transportstreukoeffizienten μ_s' , der im NIR in erster Linie durch die Mitochondriendichte bestimmt wird [2]. Die Streuung dominiert im NIR-Spektralbereich, die Ausbreitung der Photonen im Gewebe erfolgt daher nicht geradlinig. Als Ergebnis resultieren unscharfe Bilder, die in der Vergangenheit dazu führten, daß die ersten Versuche, bei der Beleuchtung mit einer starken Lichtquelle Läsionen im Innern zu diagnostizieren (Diaphanographie), nicht erfolgreich verliefen [3, 11]. In den letzten Jahren wurden die Wechselwirkungen von Licht mit biologischem Gewebe intensiv untersucht. Auf der Basis der daraus gewonnenen Erkenntnisse werden neue Untersuchungsverfahren entwickelt, die die Anwendung einer Diagnostik mit Licht interessant erscheinen lassen.

Transport von Licht durch Gewebe

Bei der Ausbreitung eines kurzen Lichtpulses von der Dauer einer Pikosekunde durch biologisches Gewebe erfahren die Photonen eine räumliche und zeitliche

Dr. B. Riefke
Institut für Diagnostikforschung GmbH an der
Freien Universität Berlin, Spandauer Damm 130,
D-14 050 Berlin

Contrast agents for optical mammography

Summary

Near infrared imaging is a non-invasive imaging modality which uses light of a spectral range between 650 and 1000 nm for tissue transillumination. Near infrared photons can penetrate by diffusion into tissue up to several centimeters due to low absorption by intrinsic chromophors (e. g. hemoglobine). During the last years optical mammography has become field of growing interest. Several prototypes of near infrared scanners have been developed for clinical studies in order to obtain transillumination images of the breast. The results indicated, that discrimination of tumors located up to several centimeters below the tissue surface (e. g. breast tumors) from surrounding healthy tissue did not succeed with sufficient specificity. The diagnostic potential of near infrared imaging can be enhanced using dyes as contrast agents. Specially designed cyanine dye derivatives are potential contrast agents because of their suitable optical properties and pharmacokinetic behaviour leading to an increased tumor fluorescence in animals after intravenous injection.

Key words

Near infrared imaging · Optical mammography · Transillumination · Contrast agents · Fluorescent dyes

Mamma II

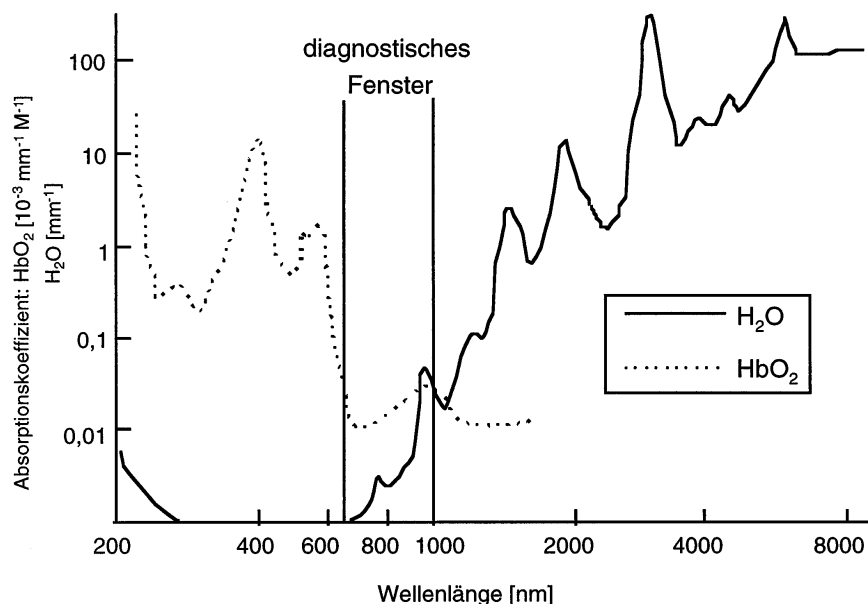


Abb. 1 ▲ Absorptionsbeiträge von Wasser und Oxyhämoglobin von 200 bis 8000 nm. Innerhalb des diagnostischen Fensters ist die Absorption beider Komponenten minimal (Modifiziert nach Boulnois J (1996) *Laser Med Sci* 1: 47–66).

Verteilung. Mißt man die zeitliche Verteilung der Intensität auf der Detektorseite, unterteilt man die transmittierten Photonen prinzipiell in 3 Anteile: die sog. ballistischen Photonen, die das Gewebe direkt ohne Streuprozesse durchlaufen, die nur schwach gestreuten Photonen, die sich parallel zur Ausbreitung des Lichtes fortbewegen und die diffus gestreuten Photonen, die stark gestreut werden und für die räumliche Verteilung und geringe Ortsauflösung optischer Bilder verantwortlich sind (Abb. 2). In biologischen Geweben von einigen Zentimetern Dicke sind ballistische Photonen nicht nachweisbar. Durch zeitaufgelöste Messungen sind die schwach gestreuten Photonen von den stark gestreuten Photonen abtrennbar, wodurch die Ortsauflösung der Bilder vergrößert wird [4]. Bei der Anwendung dieses Verfahrens wurde bei der Durchleuchtung eines Streuphantoms von 5 cm Dicke eine Ortsauflösung von ca. 1 cm erreicht [23]. Die Anpassung dieses Verfahrens an die Erfordernisse der Klinik wurde bisher allerdings durch die erheblichen technischen Anforderungen und die langen Meßzeiten aufgrund der sehr geringen Signalintensitäten behindert. Eine Alternative ist die Durchstrahlung mit intensitätsmoduliertem Licht. Dabei wird die Intensität des Lichtes sinusförmig im Frequenzbereich von einigen Megahertz

moduliert. Für die Bildinformation wird neben der Amplitude der Lichtimpulse auch die Phasenverschiebung gegenüber der Lichtquelle zur Bildinformation genutzt [13]. Durch Fourier-Transformation sind das Laufzeitverhalten der Photonen und die Modulationsfrequenz des Lichtes ineinander umrechenbar [18]. Bei steigender Modulationsfrequenz vergrößert sich der Kontrast der Bilder, und die Phaseninformation kann effektiver zur Bildauswertung herangezogen werden [13]. Die Intensität des transmittierten Lichtes verringert sich, wodurch die Meßzeiten verlängert werden. Um den technischen Aufwand zu begrenzen, wurden bisher Modulationsfrequenzen von 0–250 MHz in den Meßapparaturen verwendet.

Klinische Vorstudien

Auf der Basis der Transmission mit moduliertem Laserlicht sind von Zeiss [16] und Siemens [18, 24] optische Mammographen für die klinische Anwendung entwickelt und das diagnostische Potential in ersten Studien in der Klinik getestet worden. Diese Prototypen arbeiten mit 2 (Zeiss) und 4 (Siemens) diskreten Wellenlängen des NIR-Bereiches (690 und 825 nm bzw. 690, 750, 788 und 856 nm), die mit Frequenzen von 110 bzw. 70 MHz moduliert werden. Die

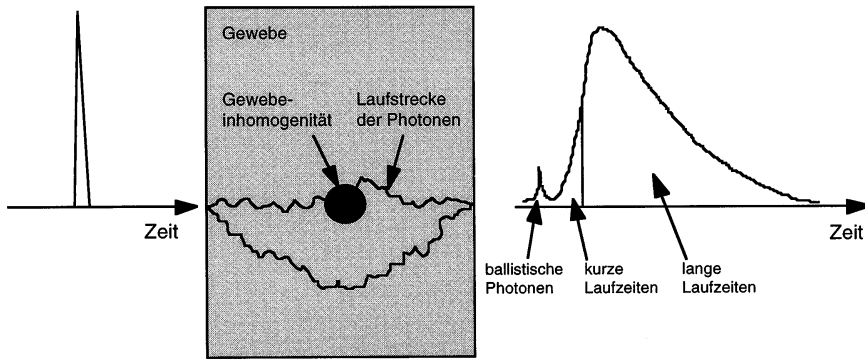


Abb. 2 ▲ Schematische Darstellung der zeitlichen Verteilung eines kurzen Laserimpulses nach Durchtritt durch ein Streumedium. Das Profil dieser Laufzeitverteilung ist charakteristisch für das Absorptions- und Streuverhalten des durchstrahlten Mediums. Die ballistischen Photonen sind in dicken Gewebeschichten nicht nachweisbar

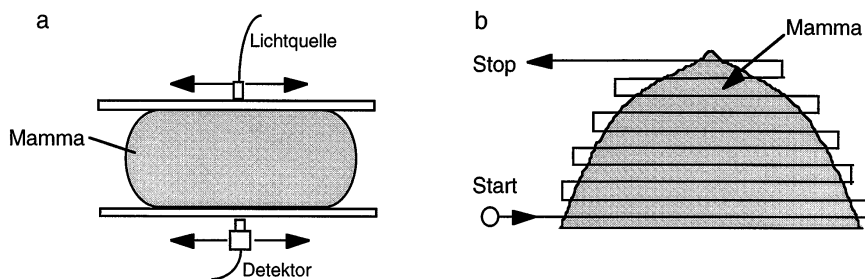


Abb. 3 ▲ Schematischer Aufbau und Abtastschema der optischen Mammascanner. Aus den einzelnen Bildpunkten wird rechnerisch ein Transilluminationsbild der Mamma zusammengesetzt

Brust wird in gleicher Weise wie der mammographischen Technik gelagert und komprimiert. Der Sender und der Empfänger werden simultan meanderförmig über die Brust geführt, wobei die Untersuchungsdauer ca. 2 min beträgt (Abb. 3).

Untersuchungen am Siemens-Mammascanner an der Universität Halle an 200 Patientinnen ergaben, daß Tumoren > 1 cm mit einer Sensitivität von 90 % detektiert werden konnten (Abb. 4). Karzinome unter ≤ 1 cm Durchmesser wurden mit einer deutlich

eingeschränkten Sensitivität von 65 % detektiert. Gutartige noduläre Veränderungen wurden mit der gleichen Häufigkeit erfaßt. In den meisten Fällen führten inhomogene mastopatische Veränderungen zu einem falsch-positiven Befund. Berichtet wurde eine geringe Spezifität von 28 % [12].

Von ersten klinischen Vorstudien mit dem optischen Mammographen von Zeiss, LIMA („light mammography apparatus“) wurde ebenfalls berichtet [15]. Beim Prototyp von Zeiss wird die gemessene Phasenverschiebung auch zur Randkorrektur herangezogen [5]. Die Rotation der Scanneinrichtung um 90° ermöglicht eine Untersuchung der Brust in craniocaudaler und mediolateraler Projektion (Abb. 5). Dadurch wird die räumliche Zuordnung verbessert und die Zahl falsch-negativer Befunde reduziert. In dieser Studie wurden bisher 37 Patientinnen mit Brusttumoren untersucht. Von den 37 Tumoren wurden 10 (27 %) nicht detektiert. Insgesamt wurden 16 Tumoren mit einer Größe zwischen 1–2 cm untersucht, von denen 11 (69 %) richtig erkannt wurden. Abschließende Aussagen über die Spezifität des verwendeten Verfahrens können aber aufgrund der geringen Patientenzahlen noch nicht getroffen werden. Als Ursache für die falsch-positiven Befunde wird hier nicht die geringe räumliche Auflösung diskutiert, da auch Tumoren unter einer Größe von 0,5 cm detektiert wurden. Vielmehr könnten ge-

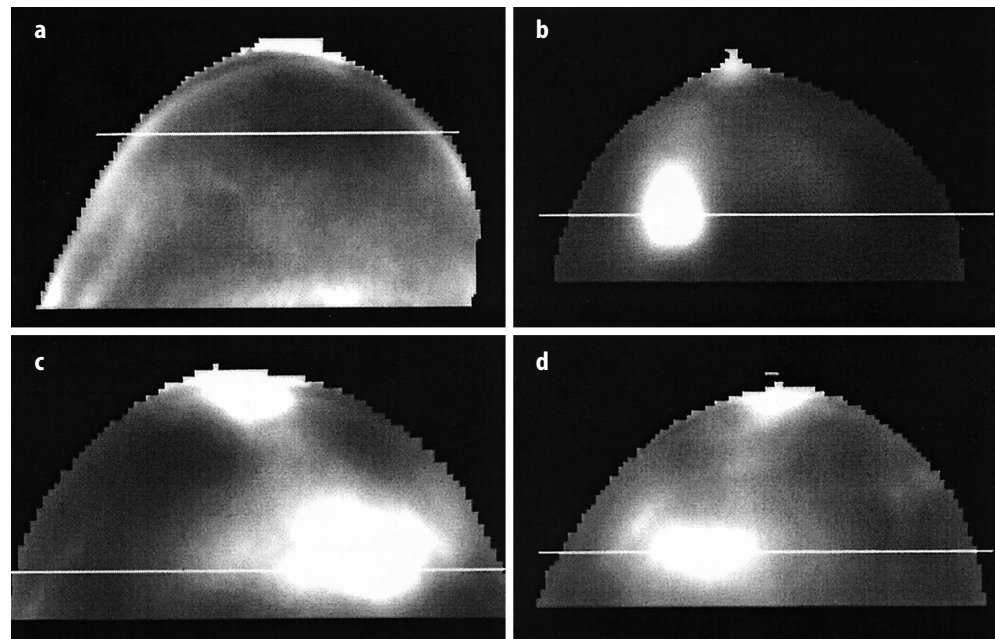


Abb. 4a–d ► Optische Mammogramme einer normalen weiblichen Brust (a), mit Zyste (b), mit Karzinom (15×20 mm) (c) und einer weiblichen Brust mit einem Fibroadenom (d).

Quotient der Amplitudenbilder: 790 nm/690 nm. Mit freundlicher Genehmigung von S. Heywang-Köbrunner, Universität Halle und H. Siebold, Siemens Medical, Erlangen

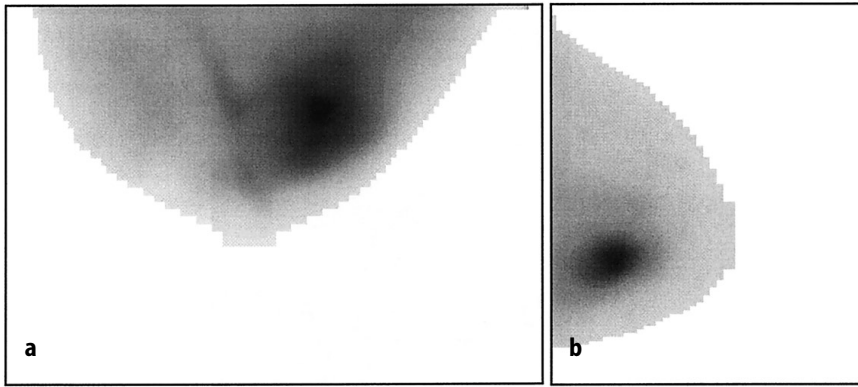


Abb. 5 a,b ▲ **Optisches Mammogramm einer weiblichen Brust mit einem invasiv duktalem Karzinom (1 ml) in kraniokaudaler (a) und mediolateraler (b) Projektion [9]**

ringe Unterschiede in den optischen Eigenschaften zwischen malignen Karzinomen und benignen Gewebehomogenitäten dafür verantwortlich sein.

Die Frage nach detektierbaren optischen Unterschieden zwischen Tumor und Umgebung wird seit langem diskutiert. In einer neueren Studie wurden weder signifikante Unterschiede im Transportstreuoeffizienten μ_s' noch im Absorptionskoeffizienten μ_a an Proben aus malignen und benignen Geweben von 88 verschiedenen Patientinnen beobachtet [28]. Vergleicht man jedoch die optischen Eigenschaften von Proben derselben Patientinnen ($n = 5$), wurden dagegen signifikante Unterschiede festgestellt. Die Ergebnisse dieser Studie müssen aber noch bei einer ausreichend großen Patientinnenzahl verifiziert werden, so daß eine abschließende Bewertung zum gegenwärtigen Zeitpunkt nicht erfolgen kann.

Kontrastmittel für die optische Mammographie

Wie schon bei den etablierten bildgebenden Verfahren, wie Röntgen, MRT und Ultraschall, kann angenommen werden, daß es auch bei der optischen Mammographie durch Kontrastmittel zu einer besseren Differenzierung zwischen benignen und malignen Geweben kommt und damit die diagnostische Aussagekraft des Verfahrens erhöht wird. Das Absorptionsverhalten solcher Verbindungen, sog. NIR-Farbstoffe, kann als Signal für die Bildinformation ausgewertet werden. Besitzen die Farbstoffe darüber hinaus die Eigenschaft, die absorbierte Energie als Fluoreszenzstrahlung zu emittieren, so kann diese

ebenfalls für die Bildgebung genutzt werden. Die Fluoreszenzstrahlung ist in bezug auf die Anregungsstrahlung hin zu größeren Wellenlängen verschoben („Stoke's shift“) und kann daher von der Anregungsstrahlung spektral separiert werden. Der besondere Vorteil der Detektion von Fluoreszenzstrahlung besteht darin, daß Gewebe im NIR-Bereich eine äußerst geringe Autofluoreszenz aufweist und somit das Signal des Gewebes bei der Bildgebung minimal ist. Letztendlich wird im Fluoreszenzbild die Signalverteilung durch die Lokalisation des Kontrastmittels bestimmt.

Substanzen, die in der optischen Mammographie als Kontrastmittel eingesetzt werden sollen, müssen folgende Anforderungen erfüllen: Absorptions- und Fluoreszenzmaximum zwischen 650 und 1000 nm, hohe molare Absorptionskoeffizienten in physiologischer Umgebung, hohe Fluoreszenzquantenausbeuten in physiologischer Umge-

bung, hohe Photostabilität, keine photosensibilisierende Wirkung durch Bestrahlung, hohe Wasserlöslichkeit, hohe Verträglichkeit und Anreicherung im Zielgewebe.

Die Auswahl der Farbstoffklasse muß sich an den oben aufgelisteten Anforderungen orientieren. Verbindungsklassen, die diese Anforderungen erfüllen, sind z. B. die Polymethinfarbstoffe und die Tetrapyrrolfarbstoffe, die Absorptionsmaxima im Bereich des diagnostischen Fensters oberhalb von 650 nm besitzen. Zu den Polymethinfarbstoffen zählen beispielsweise die Cyaninfarbstoffe, die Oxonolfarbstoffe und die Merocyaninfarbstoffe. Tetrapyrrolfarbstoffe sind u. a. Chlorine, Bacteriochlorine, Bacteriochlorophylle, Phthalocyanine und Porphyrine, wobei letztere nur in seltenen Fällen eine Absorption über 650 nm aufweisen [14, 17].

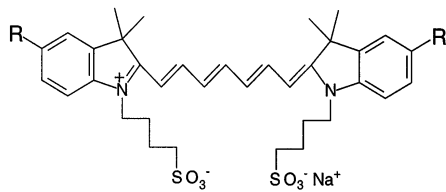
Betrachtet man diese beiden Farbstoffklassen unter dem Aspekt eines nebenwirkungsfreien, hochverträgliches Kontrastmittels, so erscheinen die Tetrapyrrole ungeeignet, da diese im Gegensatz zu den meisten Polymethinfarbstoffen photodynamisch aktiv sind und eine photosensibilisierende Wirkung nach Bestrahlung aufweisen, eine Eigenschaft, die für Diagnostika unerwünscht ist.

Im Gegensatz zu anderen Farbstoffen zeigen die Cyaninfarbstoffe bei Kombination der molaren Absorptionskoeffizienten mit den Fluoreszenzquantenausbeuten zwischen 750 und 800 nm die höchsten Werte. Durch diese günstigen photophysikalischen Eigenschaften sind die Cyaninfarbstoffe für die Verwendung als Kontrastmittel für diagno-

Tabelle 1

Überblick über die photophysikalischen Eigenschaften von NIR-Farbstoffen. Angegeben sind die Absorptions- und Fluoreszenzeigenschaften oberhalb 650 nm

Strukturtyp	Langwelligste Absorption [nm]	Fluoreszenzmaximum [nm]	Molare Absorptionskoeffizienten [$l \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$]	Photosensibilisierende Wirkung
Porphyrine	~ 650	650–700	bis 8000	+
Chlorine	~ 680	680–760	bis 30 000	+
Bacteriochlorine	~ 730	680–800	bis 50 000	+
Phthalocyanine	~ 680	680–760	bis 50 000	+
Expandierte Porphyrine	bis 800	bis 850	bis 80 000	+
Bacteriochlorophylle	bis 900	bis 930	bis 100 000	+
Cyaninfarbstoffe	bis 1200	bis 1250	bis 300 000	–
Oxonolfarbstoffe	bis 1200	bis 1250	bis 200 000	–



NIR96003 R = $-\text{COOCH}_3$

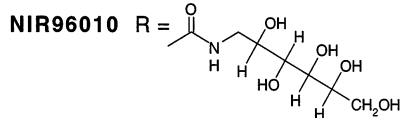


Abb. 6 ▲ Chemische Strukturen hydrophiler niedermolekularer ausgewählter Cyaninfarbstoffe nach [22]. Die Strukturen bestehen aus dem Bis-1,1'-(4-sulfobutyl)indotricarbocyanin-Natriumsalz, welches verschiedene Substituenten an den äußeren Ringpositionen trägt. Es handelt sich um ein kationisches Chromophor, wobei auf Grund der 2 anionischen Sulfatgruppen eine monoanionische Bruttoladung resultiert

stische optische Verfahren potentiell geeignet. In Tabelle 1 sind die photophysikalischen Eigenschaften verschiedener Farbstoffklassen zusammengefasst.

Cyaninfarbstoffe als potentielle Kontrastmittel für die optische Mammographie

Ein bekannter Cyaninfarbstoff ist Indocyaningrün (ICG). Dieser Cyaninfarbstoff wird in der Klinik für Funktionsuntersuchungen der Leber [20], in der Herz-Kreislauf-Physiologie zur Bestimmung des Herzzeit- und des Schlagvolumens [27] und in der Ophthalmologie zur Fluoreszenzangiographie der Choroidea [6] verwendet. ICG bindet unmittelbar nach i. v.-Gabe an die α_2 -Lipoproteine des Blutplasmas und wird schnell von den Hepatozyten der Leber aufgenommen. Als Folge dieser raschen Aufnahme durch die Leber sinken die Plasmawerte von ICG innerhalb von Minuten auf sehr niedrige Werte ab. Anschließend wird ICG unverändert von der Leber in die Gallenflüssigkeit und ohne enterohepatischen Kreislauf aus dem Körper ausgeschieden [25]. Seit ca. 2 Jahren wird die Anwendung von ICG als Kontrastmittel in der optischen Mammographie zur Darstellung von Tumoren mit Hilfe der Transillumination [30] und der Fluoreszenzdetektion [21] untersucht. Dabei zeigte sich, daß in den ersten Minuten nach Substanzapplikation ein Signalverhältnis zwischen Tumor und Normalgewebe von ca. 2,5-fach zu erzielen ist. Resultate aus Bildgebungsexperimenten mit größerer Patientenzahl liegen zum gegenwärtigen Zeitpunkt nicht vor.

Für die Entwicklung von neuen optischen Kontrastmitteln stehen eine Reihe von verschiedenen Methoden zur Verfügung. Eine Möglichkeit ist die Kopplung von Farbstoffen an spezi-

fisch-bindende Biomoleküle, wie z. B. Antikörper oder deren Fragmente. Erste In-vivo-Fluoreszenzbildgebungsexperimente mit Cyaninfarbstoff-Antikörper-Konjugaten wurden an Nacktmaus-tumormodellen beschrieben [17].

Eine weitere Möglichkeit der Entwicklung von optischen Kontrastmitteln ist die Verwendung von niedermolekularen Cyaninfarbstoffen mit gegenüber ICG veränderten pharmakologischen Eigenschaften. Farbstoffe auf der Basis des Bis-1,1'-(4-sulfobutyl)indotricarbocyaningerüsts wurden in struktureller Anlehnung an ICG synthetisiert. Diese Grundstruktur wurde dann unter Erhalt der Zielverbindungen durch Substitution mit verschiedenen hydrophilen Resten modifiziert (Abb. 6). Die Verbindungen überdecken einen weiten Polariitätsbereich und besitzen alle eine höhere Hydrophilie und geringere Plasmaproteinbindung als ICG. Die Hydrophilie der Verbindungen reicht von Verbindungen mit Verteilungskoeffizienten (n-Butanol/Wasser) von 30 und einer Plasmaproteinbindung von 86 bzw. 80 % bis zu hydrophilen Verbindungen mit einem Vertei-

lungskoeffizienten von $< 0,005$ und Plasmaproteinbindung von 20 bzw. 10 %. Zum Vergleich weist ICG einen Verteilungskoeffizienten auf, der gegen unendlich tendiert. Die Plasmaproteinbindung beträgt 100 %.

Die photophysikalischen Eigenschaften der neu synthetisierten Verbindungen sind typisch für die Verbindungsklasse der Cyaninfarbstoffe und mit denen von ICG vergleichbar. So liegen die Absorptionsmaxima im Plasma im Bereich von 749–770 nm, die entsprechenden Fluoreszenzmaxima bei 770–795 nm (Abb. 7). Im Plasma liegen die Extinktionskoeffizienten der synthetisierten Farbstoffe zwischen $100\ 000\ \text{l mol}^{-1}\ \text{cm}^{-1}$ und $250\ 000\ \text{l mol}^{-1}\ \text{cm}^{-1}$, die Fluoreszenzquantenausbeuten reichen von 5–10 % [22]. Bei schrittweiser Erhöhung der Hydrophilie wurde eine stufenweise Abnahme der hepatobiliären Elimination bei gleichzeitiger Zunahme der renalen Elimination beobachtet. Hydrophile Verbindungen wie NIR96 010 (Abb. 6) werden hauptsächlich über die Niere aus dem Körper entfernt. Nach 4 h wurden $0,8 \pm 0,4\ %$ der injizierten Dosis hepatobiliär, dagegen $68 \pm 10\ %$ der injizierten Dosis renal eliminiert. Um die Verträglichkeit der Farbstoffe abzuschätzen, wurde diese orientierend an Mäusen untersucht. Für sehr hydrophile Verbindungen wie NIR96 010 wurde eine Erhöhung der Verträglichkeit auf das 62fache gegenüber ICG erzielt. Für die In-vivo-Bildgebungsexperimente wurde ein Fluoreszenzbildgebungsaufbau der Physikalisch-Technischen Bundesanstalt Berlin (PTB Berlin) verwendet [19]. Ausgewählte Modellsubstan-

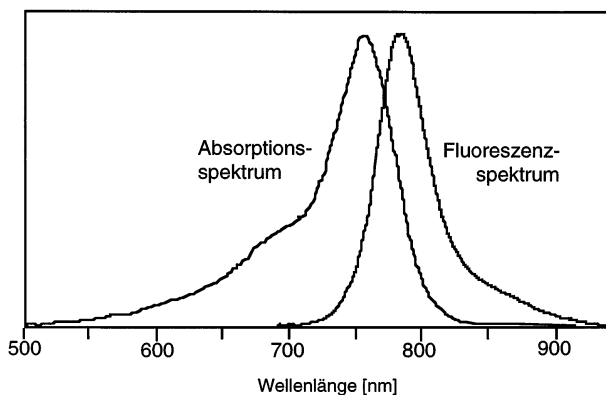


Abb. 7 ▲ Normiertes Absorptions- und Fluoreszenzspektrum eines hydrophilen Indotricarbocyaninfarbstoffes. Typisch für diese Farbstoffklasse ist die kurzwellige Schulter im Absorptionsprofil sowie die ca. 30 nm rotverschobene Fluoreszenzstrahlung

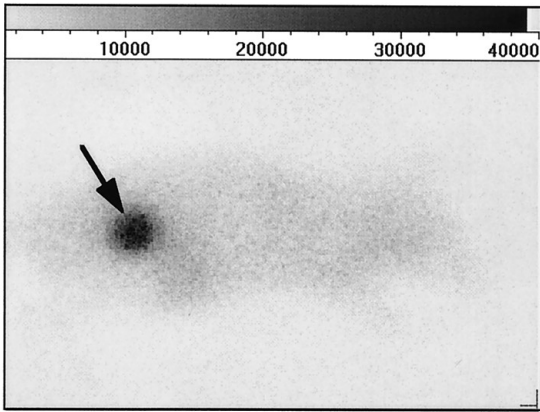


Abb. 8 ▲ In-vivo-Fluoreszenzbild einer tumortragenden Nacktmaus (Sk-Mel-28) 24 h nach i. v. Applikation von NIR96 003. Dosis $4 \mu\text{mol kg}^{-1}$. Rechtslaterale Aufnahme. Der Tumor Sk-Mel-28 (malignes Melanom) ist subkutan in die Flanke des rechten Hinterbeines inokuliert und die Lage durch einen Pfeil gekennzeichnet. Die Fluoreszenzbildgebung wurde in Zusammenarbeit mit der Physikalisch-Technischen Bundesanstalt Berlin, Abt. Medizinische Meßtechnik (Prof. Rinneberg), durchgeführt

zen wurden hinsichtlich ihrer Fluoreszenzbildgebungseigenschaften an verschiedenen Tumormodellen in Nacktmäusen und Ratten zu den Zeitpunkten 1 min, 10 min, 1 h und 24 h nach i. v.-Gabe untersucht. Bei diesen Untersuchungen interessierte besonders die Frage, ob im Vergleich zu ICG ein erhöhtes Fluoreszenzsignal im Tumor gegenüber Normalgewebe beobachtet werden kann. Im Gegensatz zur Leitstruktur ICG zeigten aus dem Pool der synthetisierten Substanzen zwei Vertreter, NIR96 003 und NIR96 010, in den untersuchten Tumormodellen ein erhöhtes Fluoreszenzsignal im Tumorgewebe 24 h p. a. [26]. Der Mechanismus, der zu einem erhöhten Fluoreszenzsignal in Tumoren nach Gabe dieser beiden Substanzen führt, ist bisher nicht bekannt und wird in weiterführenden Studien untersucht.

Schlußbemerkung

Ob sich die optische Mammographie in der Zukunft als bildgebendes Verfahren in der Diagnostik durchsetzen wird, ist aufgrund des gegenwärtigen Kenntnisstandes nur schwer abzuschätzen. Die derzeit in Vorstudien in der Klinik verwendeten optischen Mammographen auf der Basis der Detektion frequenzmodulierten Lichts deuten darauf hin, daß bei hoher Sensitivität geringe Spezifitäten bei der Differenzierung zwischen malignen und benignen Läsionen erzielt werden. Diese mangelnde Differenzierung kann auf intrinsisch geringe op-

tische Unterschiede zwischen malignen und benignen Gewebsveränderungen sowie normalem Brustgewebe zurückzuführen sein. In naher Zukunft wird die fortschreitende technische Entwicklung auf dem Gebiet der Lasertechnik, insbesondere der Entwicklung von zeit aufgelösten Meßverfahren zeigen, ob der theoretisch zu erwartende Kontrastanstieg eine Verbesserung der diagnostischen Aussagekraft zur Folge hat und inwieweit Zusatzinformationen wie die Phasenverschiebung, die Streueigenschaften der Gewebe sowie funktionelle Parameter der Gewebe zur Differenzierung herangezogen werden können. Auch wird die Anwendung von tomographischen Meßaufbauten zu einer Verbesserung führen. Zur Erhöhung der diagnostischen Aussagekraft der optischen Mammographie können NIR-Farbstoffe beitragen, deren schnelle Entwicklung für die klinische Anwendung aber wiederum von der zur Verfügung stehenden Gerätetechnik abhängig ist. In diesem Zusammenhang ist die Möglichkeit der Fluoreszenzdetektion von besonderer Bedeutung, da im NIR-Bereich die induzierte Fluoreszenz mit sehr hoher Empfindlichkeit gegen einen geringen Fluoreszenzhintergrund detektiert werden kann. Eine mögliche Anwendung der kontrastmittelgestützten, optischen Mammographie besteht in der häufigen Untersuchung von Hochrisikogruppen, bei nachgewiesener familiärer Belastung. Dieses Verfahren wird bei geringer Strahlenbelastung zur diagnostischen Sicherheit beitragen

und helfen, Biopsien bei jungen Frauen zu vermeiden.

Literatur

- Ballou B, Fisher GW, Waggoner AS, Farkas DL, Reiland JM, Jaffe R, Mujumdar RB, Mujumdar SR, Hakala TR (1995) **Tumor labeling in vivo using cyanine-conjugated monoclonal antibodies.** *Cancer Immunol Immunother* 41: 257–263
- Beauvoit B, Kitai T, Liu H, Chance B (1994) **Time-resolved spectroscopy of mitochondria, cells and rat tissues under normal and pathological conditions.** *SPIE* 2326: 127–136
- Cutler M (1929) **Transillumination as an aid in the diagnosis of breast lesions.** *Surg Gynecol Obstet* 48: 721–730
- De Haller EB (1996) **Time-resolved transillumination and optical tomography.** *J Biomed Optics* 1: 7–17
- Fantini S, Franceschini MA, Gaida G, Gratton E, Jess H, Mantulin WW, Moesta KT, Schlag PM, Kaschke M (1996) **Frequency-domain optical mammography: edge effect corrections.** *Med Phys* 23: 149–157
- Flower RW, Hochheimer BF (1976) **Indocyanine green dye fluorescence and infrared absorption choroidal angiography performed simultaneously with fluorescein angiography.** *John Hopkins Med J* 138: 33–42
- Folli S, Westermann P, Braichotte D, Pèlerin A, Wagnières G, van den Bergh H, Mach JP (1994) **Antibody-indocyanin conjugates for immunodetection of human squamous cell carcinoma in nude mice.** *Cancer Res* 54: 2643–2649
- Fournier Dv, Anton H-W, Junkermann H, Bastert G, van-Kaick G (1993) **Brustkrebscreening.** *Radiologe* 33: 227–235
- Franceschini MA, Moesta KT, Fantini S, Gaida G, Gratton E, Jess H, Mantulin WW, Seeber M, Schlag P, Kaschke M (1997) **Frequency-domain techniques enhance optical mammography: initial clinical results.** *Proc Natl Acad Sci USA* (in press)
- Friedrich M (1993) **Technik und Ergebnisse der Mammographie.** *Radiologe* 33: 243–259
- Geslien GE, Fisher JR, DeLaney C (1985) **Transillumination in breast cancer detection.** *AJR* 144: 619–622
- Götz L, Schütz O, Heywang-Köbrunner SH, Siebold H, Buchmann J, Lampe D (1996) **NIR-Mammographie-erste klinische Nativuntersuchungen mit dem Mammascanner.** *Fortschr Röntgenstr* 165: 328
- Grosenick D, Wabnitz H, Rinneberg H (1996) **Time-resolved imaging of solid phantoms for optical mammography.** *Appl Opt* 36: 221–231
- Hillegersberg Rv, Kort WJ, Wilson JHP (1994) **Current status of photodynamic therapy in oncology.** *Drugs* 48: 510–527
- Jess H, Erdl H, Moesta KT, Fantini S, Franceschini MA, Gratton E, Kaschke M (1996) **Intensity modulated breast imaging: technology and clinical pilot study results.** In: Alfano RR, Fujimoto JG (eds) *Advances in optical imaging and photon migration.* *OSA TOPS* 2: 126–129

16. Kaschke M, Jess H, Gaida G, Kaltenbach J, Wrobel W (1994) **Transillumination imaging of tissue by phase modulation techniques.** In: Alfano RR (ed) *Advances in optical imaging and photon migration.* OSA Proc 21: 88–92
17. Kessel D (1996) **Photodynamic therapy of neoplastic disease.** *Drugs Today* 32: 385–396
18. Klingenbeck K, Schütz OA, Oppelt A (1995) **Mammographie mit Licht-Möglichkeiten und Grenzen.** *Akt Radiol* 5: 115–119
19. Kohl M, Neukammer J, Sukowski U, Rinneberg H, Sinn HJ, Friedrich EA (1993) **Delayed observation of laser induced fluorescence.** *Appl Phys* B56: 131–138
20. Leevy CM, Smith F, Longueville J, Paumgartner G, Howard MM (1967) **Indocyanine green clearance as a test for hepatic function. Evaluation by dichromatic ear densitometry.** *JAMA* 200: 236–240
21. Li X, Beauvoit B, White R, Nioka S, Chance B, Yodh AG (1995) **Tumor localization using fluorescence of indocyanine green (ICG) in rat models.** *SPIE* 2389: 789–798
22. Licha K, Riefke B, Semmler W (1996) **Synthesis and characterization of cyanine dyes as contrast agents for near-infrared imaging.** *SPIE* 2927: 192–198
23. Nioka S, Miwa M, Orel S, Shnall M, Haida M, Zhao S, Chance B (1994) **Optical imaging of human breast cancer.** In: Hogan MC et al (eds) *Oxygen transport to tissue XI.* Plenum Press, New York, pp 171–179
24. Oppelt A, Schütz O, Siebold H (1994) **First clinical images of a 4 wavelength breast scanner (abstract).** In: *Integration of medical optical imaging and spectroscopy (MOI/MOIS) and magnetic resonance imaging (MRI).* University of Pennsylvania, Medical Center
25. Paumgartner G, Probst P, Kraines R, Leevy CM (1970) **Kinetics of indocyanine green removal from the blood.** *N Y Acad Sci* 170: 134–147
26. Riefke B, Licha K, Nolte D, Ebert B, Rinneberg H, Semmler W (1996) **In vivo characterization of cyanine dyes as contrast agents for near infrared imaging.** *SPIE* 2927: 199–208
27. Schad H, Brechtelsbauer H, Kramer K (1977) **Studies on the suitability of a cyanine dye for indicator dilution technique and its application to the measurement of pulmonary artery and aortic flow.** *Pfluegers Arch* 370: 139–144
28. Troy TL, Page DL, Sevic-Muraca EM (1996) **Optical properties of normal and diseased breast tissue: prognosis for optical mammography.** *J Biomed Optics* 3: 342–355
29. Yodh A, Chance B (1995) **Spectroscopy and imaging with diffusing light.** *Physics Today* 48: 34–40
30. Zhao S, O'Leary MA, Nokia S, Chance B (1995) **Breast tumor detection using continuous wave light source.** *SPIE* 2389: 789–798