

Grundlagen optischer und fluoreszenzgestützter Tomographie in diffusen Medien

Ralf B. Schulz, Wolfhard Semmler

Abteilung Medizinische Physik in der Radiologie, Deutsches Krebsforschungszentrum (dkfz), Heidelberg

Zusammenfassung

Die dreidimensionale, tomographische Bildgebung biologischen Gewebes durch sichtbares Licht gewinnt mehr und mehr an Bedeutung. Aktuelle Fortschritte im Bereich der mathematisch-physikalischen Modellierung des Photonentransports in streuenden Medien ermöglichen die örtlich aufgelöste Rekonstruktion optischer Parameter mit herkömmlichen Rechnern. Insbesondere im Bereich der molekularen Bildgebung verspricht die optische Tomographie die Übertragung erfolgreicher In-vitro-Assays, die mittels Fluoreszenzmikroskopie ausgewertet werden können, auf In-vivo-Anwendungen, also die Bildgebung im lebenden Tier. Hier spielt weniger die örtliche Auflösung als die Quantifizierung der Konzentration des fluoreszierenden Markers eine Rolle, die durch herkömmliche planare Bildgebung nicht möglich ist. In diesem Artikel werden die theoretischen Grundlagen der optischen Tomographie vorgestellt und einige Anwendungsbeispiele besprochen.

Schlüsselwörter: Diffuse optische Tomographie, fluoreszenzgestützte Tomographie, Rekonstruktionsverfahren

Principles of optical and fluorescence mediated tomography in turbid media

Abstract

Three-dimensional, tomographic imaging of biological tissues by means of visible light is becoming increasingly important. Current progress in the mathematical-physical modelling of photon propagation in scattering media allows spatially-resolved reconstructions of optical parameters with common computing hardware. Especially in the field of molecular imaging, optical tomography promises a transfer of knowledge from successful in vitro assays (as evaluated by fluorescence microscopy) to in vivo imaging of living animals. In the latter case, spatial resolution is not as critical as the ability to quantify the concentration of fluorescence-labelled probes, a task not solvable by the use of common planar imaging techniques. In this article, the theoretical foundations of optical tomography are introduced along with some examples of applications.

Keywords: Diffuse optical tomography, fluorescence-mediated tomography, reconstruction algorithms

Einleitung

Motivation

Vor etwa 10 Jahren war die Hoffnung groß, eine nichtinvasive, tomographische Bildgebungstechnik unter Verwendung sichtbaren Lichts („optische Tomographie“) zur Krebsprävention bei Mammakarzinomen, zur Messung der Gewebeoxygenierung o. Ä. entwickeln zu können [1]. Die Vorteile einer solchen Technik gerade für Screening-Untersuchungen liegen in der niedrigen Energie der Strahlung – nicht ionisierend

und leicht zu erzeugen – und den vergleichsweise preiswerten Lichtquellen und -detektoren. Aufgrund der Komplexität der zugrunde liegenden Mathematik, die selbst Hochleistungsrechner überforderte, und der unzureichenden Empfindlichkeit optischer Detektoren für Infrarotlicht konnten diese Visionen jedoch damals nicht erfüllt werden. Obwohl etliche Prototypen für die Bildgebung an Brust [10,13,18,23,32,36] und Hoden [17] sowie zur Überwachung der kortikalen Sauerstoffversorgung bei Frühgeborenen [19,44] entwickelt wurden, hat es die Technik bislang nicht in die Klinik geschafft. Hinzu kommen der oft unzureichende intrinsische Kontrast

zwischen gesundem und erkranktem Gewebe und die schlechte räumliche Auflösung von einigen Zentimetern. Eine aktuelle Übersicht bietet das Review von Boas [8].

Heute liegt die treibende Kraft hinter Weiterentwicklungen der optischen Tomographie auf dem Gebiet der molekularen Bildgebung. Als molekulare Bildgebung bezeichnet man die Darstellung zellulärer und subzellulärer Prozesse im lebenden, intakten Organismus [45]. Zum Erreichen dieses Ziels sind „intelligente“ Kontrastmittel (im englischen „smart probes“ genannt) ein essentieller Bestandteil [39]. Es gibt nicht nur eine große Zahl intelligenter Kontrastmittel für die optische Bildgebung [47], sondern sie besitzen teilweise einzigartige Eigenschaften:

- **Biolumineszenz:** In Zell-DNA kann die Sequenz zur Synthese so genannter Luciferasen eingeschleust werden. Luciferasen sind Enzyme, die Luciferin verstoffwechseln und dabei Licht emittieren. Dieses Enzym wurde zuerst in Leuchtkäfern („firefly luciferase“) gefunden, wo es zur Lichtproduktion dient. Die Metabolisierung von Luciferin bedeutet, dass das entsprechende Gen, in das die Luciferase-Sequenz eingeschleust wurde, aktiviert ist („reporter gene imaging“). Luciferase hat den Vorteil, selbstleuchtend zu sein, was den Hintergrund minimiert, da im Gegensatz zu Fluorochromen, die extern mit Licht angeregt werden müssen, keine Autofluoreszenz des Gewebes auftreten kann.
- **Autosynthese optischer Marker:** Es gibt eine Reihe fluoreszierender Proteine, die von Zellen synthetisiert werden können. Auch diese können in Gene eingeschleust werden, um die Genaktivierung darzustellen.
- **Enzymatisch-aktivierte Fluoreszenz:** Fluoreszenzmoleküle, die räumlich nahe zueinander lokalisiert sind, löschen sich aufgrund von Resonanzeffekten gegenseitig aus. Werden sie voneinander getrennt, z. B. wenn das Trägermolekül, auf dem zwei solche Moleküle befestigt sind, enzymatisch gespalten wird, tritt wieder Fluoreszenz auf. Diese Aktivierung kann zur Darstellung der enzymatischen Aktivität dienen [47].

Diese Eigenschaften sind gut erforscht und Standard in der Bildgebung von Zellkulturen. Ebenso existieren zahlreiche planare In-vivo-Verfahren, die z. B. die Lumineszenz an der Oberfläche eines Tieres darstellen [28]. Die besondere Bedeutung der optischen Tomographie liegt in der Bildgebung und Quantifizierung tief im Gewebe liegender Läsionen bzw. Kontrastmitelanreicherungen [31]. Hier ist sie ein wichtiger Beitrag zur Übertragung von In-vitro-Techniken auf lebende Tiere.

Begriffsdefinition

Als diffuse optische Tomographie bezeichnet man eine tomographische Bildgebungsmodalität, bei der Gewebe mit sichtbarem Licht durchstrahlt wird und aus der Intensitätsverteilung des austretenden Lichts eine räumlich aufgelöste, möglichst sogar quantitativ richtige Verteilung der optischen Parameter des Gewebes rekonstruiert wird. Optische Parameter sind dabei Absorptions- und Streukoeffizient μ_a bzw. μ_s (Einheit: cm^{-1}

oder mm^{-1}), sowie der Anisotropiefaktor g der Streuung (dimensionslos). Der Anisotropiefaktor $g \in [-1;1]$ ist definiert als der Erwartungswert des Kosinus des Streuwinkels. Ist $g=0$, handelt es sich um vollständig isotrope Streuung, bei $g \gg 0$ handelt es sich um Vorwärtsstreuung, für $g \ll 0$ um rückwärtsgerichtete Streuung. Ebenfalls von Bedeutung ist der reduzierte Streukoeffizient $\mu'_s = (1-g)\mu_s$, der die anisotrope Streuung auf eine äquivalente, isotrope Streuung reduziert.

Während Gewebe für kurzwelliges Licht aufgrund der hohen Absorption durch Cytochrome und Hämoglobin schwer durchlässig ist ($\mu_a \gg 1 \text{ cm}^{-1}$), kann Licht im Nahinfrarotbereich zwischen 600 und 900 nm mehrere Zentimeter weit ins Gewebe eindringen ($\mu_a < 0,5 \text{ cm}^{-1}$) [11,47]. In diesem Bereich ist die Absorption durch Wasser noch nicht so dominant wie im Terahertz- oder Mikrowellenbereich.

Das eigentliche Problem bei der Verwendung niederenergetischer Photonen zur Durchstrahlung ist jedoch nicht die Absorption, sondern die Streuung. Streukoeffizienten liegen im Bereich von $\mu_s \approx 100 \text{ cm}^{-1}$, was einer mittleren freien Weglänge von 0,1 mm entspricht. Dabei ist die Streuung stark vorwärtsgerichtet, die Anisotropie liegt im Bereich von 0,9; dies entspricht einem durchschnittlichen Streuwinkel von etwa 25° . Aus der geringen mittleren Weglänge folgt, dass der Anteil ungestreuter Photonen an den detektierten Photonen verschwindend gering ist. Herkömmliche Verfahren zur Streukorrektur versagen deshalb völlig.

Die optisch-tomographischen Verfahren lassen sich anhand der folgenden Charakteristika unterscheiden:

- **Art der Lichtquelle:** kontinuierlich (engl. „continuous wave“, CW), moduliert oder gepulst
- **Aufnahmetechnik:** Detektion von Licht mittels Glasfasern, die den Untersuchungsgegenstand berühren, oder über ein Objektiv (engl. „non-contact optical tomography“)
- **Zeitauflösung:** zeitaufgelöst über Lichtverstärker (photo multiplier tubes, PMTs), zeitaufgelöst über CCDs („charge coupled device“) mit Bildverstärker (engl. „gated CCD“, „intensified CCD“) oder integrierend
- **Art der Bildrekonstruktion:** Rekonstruktion von Streuung und Absorption („diffuse optische Tomographie“, DOT) oder fluoreszenzbasierte Rekonstruktion („Fluorescence Mediated / Molecular Tomography“, FMT).

Die theoretischen Grundlagen dieser Verfahren werden im Folgenden vorgestellt.

Material und Methoden

Theoretische Grundlagen

Vorwärtsproblem und inverses Problem

Vor der Behandlung der eigentlichen Grundgleichungen der optischen Tomographie sind einige Begriffe zu klären. Die Photonenausbreitung durch ein diffuses Medium wird durch

Download English Version:

<https://daneshyari.com/en/article/10733682>

Download Persian Version:

<https://daneshyari.com/article/10733682>

[Daneshyari.com](https://daneshyari.com)