

# Molekulare Bildgebung

## mittels Magnetresonanz-Imaging und Fluoroptischer Tomografie

# Molecular Imaging

## using Magnetic Resonance Imaging and Fluoroptical Tomography

Rudolf Stollberger, Hermann Scharfetter



Rudolf Stollberger ist Leiter des Instituts für Medizintechnik.

Seine Forschungsinteressen liegen im Bereich der Entwicklung und Verbesserung medizinischer Bildgebungsverfahren für die Gewinnung von funktioneller, molekularer und biophysikalischer Information, insbesondere mithilfe der Magnetresonanz.

Rudolf Stollberger is head of the Institute of Medical Engineering.

His research interests are in the area of development and improvement of medical imaging methods for the determination of functional, molecular, and biophysical information, in particular using magnetic resonance.

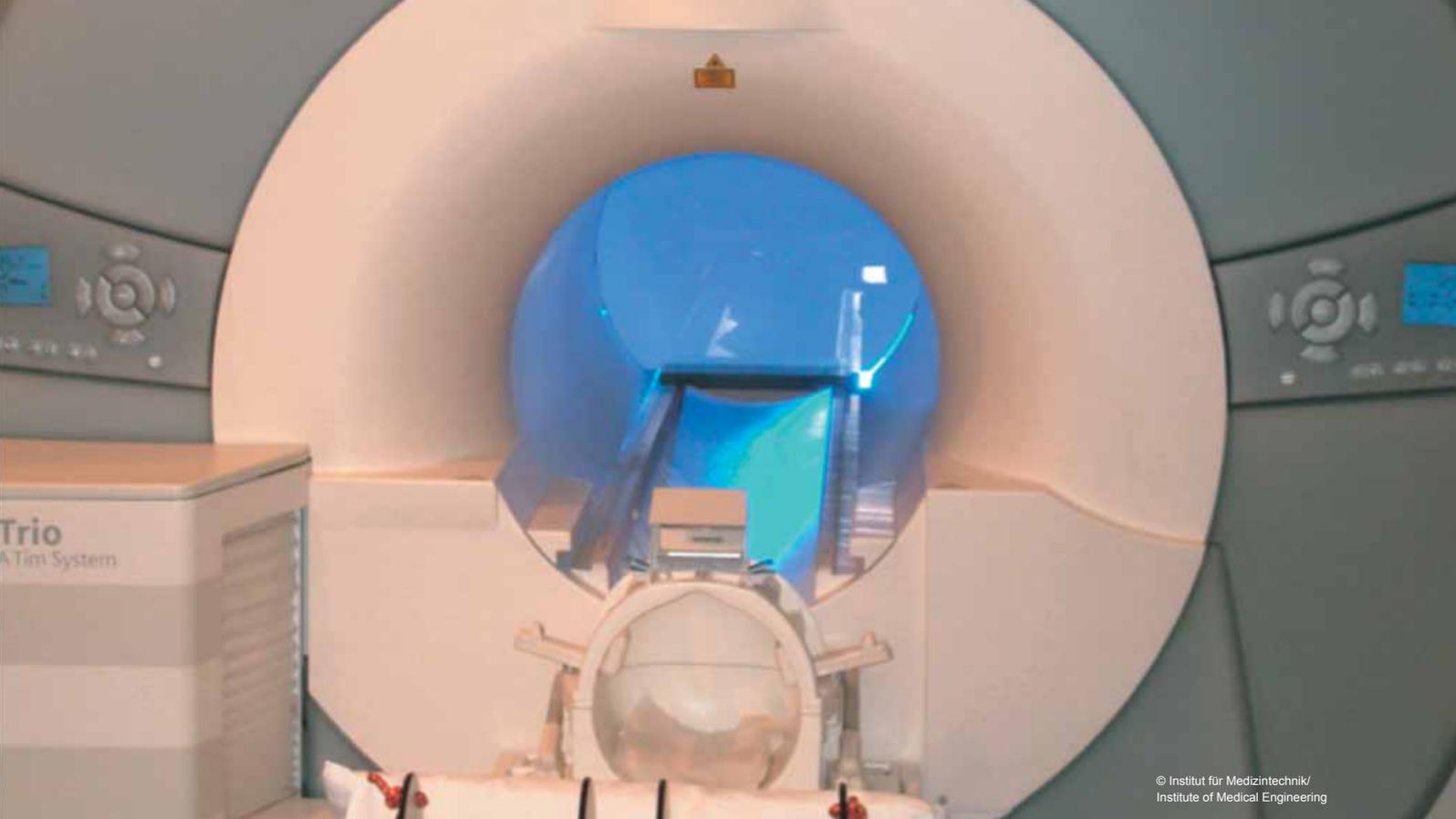
**Am Institut für Medizintechnik wird an neuen Bildgebungstechniken gearbeitet, die es erlauben, biologische Prozesse auf zellulärer und molekularer Ebene in vivo sichtbar zu machen, zu charakterisieren und zu quantifizieren. Dieses junge Feld der biomedizinischen Bildgebung, auch „Molekulares Imaging“ genannt, wird als wesentliches Zukunftsfeld für die Entwicklung einer individualisierten oder zumindest stratifizierten Medizin gesehen. Die Herausforderungen ergeben sich aus der Inter- und Multidisziplinarität, die durch die Überschneidung medizinischer Fragestellungen und Anwendungen mit der Erforschung der zugrunde liegenden biologischen Prozesse, der Entwicklung von molekularen Sensoren und von neuen Bildgebungstechnologien und Auswerteverfahren bedingt ist.**

Molekulares Imaging beruht in den meisten Fällen auf der Verwendung von Zielfindungsmolekülen, die spezifisch an einen molekularen Marker im Gewebe ankoppeln oder an einem biologischen Prozess teilnehmen. Diese Moleküle sind inhärent mit einer Komponente verknüpft, die mit bildgebenden Verfahren detektiert werden kann. Solche selektiv bindenden Strukturen können z. B. pegylierte Liposomen (PEG-Liposoms) sein, die mit Targeting-Molekülen wie z. B. globular Adiponektin selektiv an endothelialen Zellen in entzündeten Bereichen anhaften und diese markieren. Der In-vivo-Nachweis der gebundenen Partikel mithilfe der MR-Tomografie (MRT) kann nun z. B. über in die Liposomen eingebrachte paramagnetische Eisenoxide erfolgen. Wie sich diese Moleküle an unterschiedlichen Stellen im Körper auf die MR-Bildgebung auswirken, ist von einer Vielzahl von Faktoren, den verwendeten Untersuchungssequenzen und der Gerätekonfiguration abhängig. Um sowohl die Bildgebung als auch die verwendeten Sensormoleküle zu

*Research at the Institute of Medical Engineering is dedicated to novel imaging techniques which render possible the in-vivo visualization, characterization and quantification of biological processes at the cellular and molecular level. This emerging field of biomedical imaging, also called “molecular imaging” is considered as a highly relevant future area for the development of an individualized or at least stratified medicine. Challenges arise from the inter- and multidisciplinary nature which is the consequence of the interference between medical problems and applications, the investigation of the underlying biological processes, the development of molecular sensors and new imaging technologies as well as processing methods.*

Molecular imaging is in most cases based on the use of targeting molecules which bind specifically to molecular markers in the tissue or which participate in a biological process.

These molecules are inherently linked with a component which is detectable with an imaging method. Examples for such selectively binding structures are, for instance, polyethyleneglycol-coated liposomes (PEG liposomes) which, together with targeting molecules such as globular adiponektin, attach to endothelial cells in regions of inflammation. The bound particles (MRI) can be confirmed in-vivo with magnetic resonance imaging with the aid of paramagnetic iron particles which are introduced via liposomes. The effect of these molecules on the MR image in different parts of the body depends on a great variety of factors, the used MR sequences, and the device configuration. To optimize both imaging procedures and sensor molecules, it is essential to understand and investigate the physical basics of the NMR signal generation for these applications in detail. These goals as well as a quantitative as possible



© Institut für Medizintechnik/  
Institute of Medical Engineering

optimieren, ist es essenziell, die physikalischen Grundlagen der NMR-Signalentstehung für diese Anwendungen genau zu verstehen und zu untersuchen. Dies und das Erreichen einer möglichst quantitativen Darstellung der räumlich-zeitlichen Verteilung der Nanopartikel ist Ziel der Forschungstätigkeit am Institut für Medizintechnik. Im Rahmen des Verbundprojekts Nano-Health der FFG werden zurzeit zwei Anwendungen der molekularen/zellulären Bildgebung bearbeitet. Die Kooperationspartner in diesem Projekt sind Ruth Prassel von der Österreichischen Akademie der Wissenschaften, Harald Mangge und Dirk Strunk von der Medizinischen Universität Graz und Andreas Zimmer von der Karl-Franzens-Universität Graz.

### **Gefäßwand**

Die Charakterisierung der Morphologie arteriosklerotischer Veränderungen und die daraus resultierenden Gefäßverengungen ist eine wichtige Aufgabe für die vaskuläre Bildgebung und beschreibt den vorläufigen Endzustand einer Arteriosklerose. Für ein tieferes Verständnis des Krankheitsstatus und für das Monitoring des Verlaufes ist es von eminenter Bedeutung, Informationen über zugrunde liegende Prozesse und Parameter zu bekommen, zu denen u. a. der Entzündungsstatus der Gefäßwand gehört. Mittels fluoroptisch markierter Nanopartikel an operierten Aorten von ApoE defizienten Mäusen konnten

evaluation of the spatio-temporal distribution of the nanoparticles are important research topics at the Institute of Medical Engineering.

In the framework of the joint project Nano-Health of the FFG two applications of molecular/cellular imaging are currently being pursued. The cooperation partners in these projects are Ruth Prassel (Austrian Academy of Sciences), Harald Mangge and Dirk Strunk (Medical University Graz) and Andreas Zimmer (Karl-Franzens-University Graz).

### **Vascular wall**

The characterization of the morphology of arteriosclerotic alterations and the resulting vascular stenoses is an important task for vascular imaging and describes the preliminary end state of arteriosclerosis. Harvesting information about the underlying processes and parameters is pivotal for a deeper understanding of the state of the disease and for the monitoring of its evolution. One such parameter, for example, is the state of inflammation of the vessel wall. Inflammation parameters could be traced successfully with fluoroptically tagged nanoparticles in operated aortas of ApoE deficient mice. Currently the feasibility of the in-vivo detection of inflammation parameters by MRI in a Watanabe rabbit model is being investigated (Figure 1). Following this, the detectability (contrast/noise ratio) shall be further improved by specifically tailored RF receiver coils and the quantification of the nanoparticles shall



*Hermann Scharfetter ist ao. Universitätsprofessor am Institut für Medizintechnik. Sein Arbeitsgebiet umfasst die Entwicklung von Hardware sowie Bildrekonstruktionsalgorithmen für verschiedene diffuse Nahfeldmethoden wie magnetische Induktionstomografie und diffuse Fluoreszenztomografie.*

*Hermann Scharfetter is associate professor at the Institute of Medical Engineering. His research field covers the development of hardware solutions and image reconstruction algorithms for different diffuse near-field imaging methods, such as magnetic induction tomography and diffuse fluorescent tomography.*

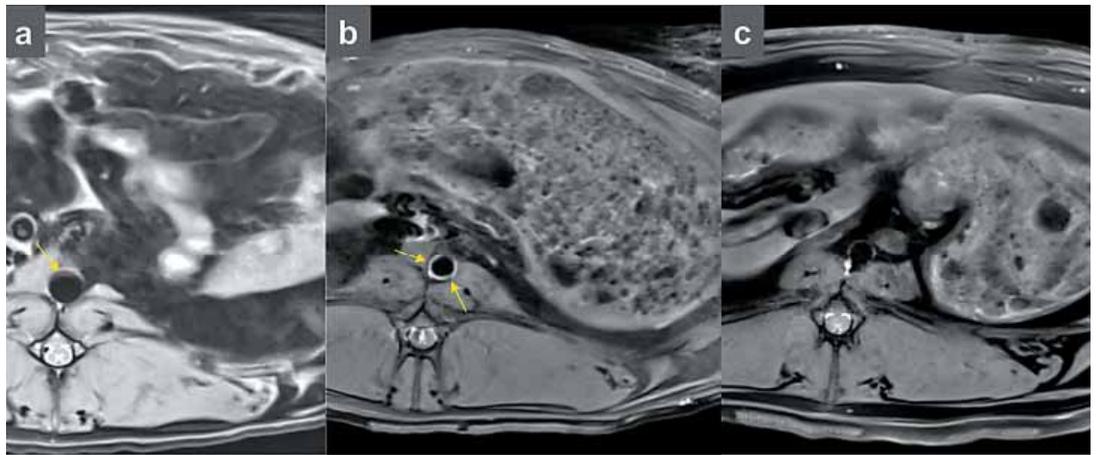


Abb. 1/ Fig. 1

© Institut für Medizintechnik/  
Institute of Medical Engineering

Abb. 1: In-vivo-MR-Bilder der Gefäßwand eines Tiermodells.

- (a) Erste strukturelle Änderungen in der Aorta eines Watanabe-Hasen (Protonendichte gewichtet TSE-Sequenz).
- (b) Darstellung von entzündlichen Prozessen in einer Gefäßwand ohne dedizierte Plaques durch selektive Anlagerung von Gadofluorin (24 h post Gadofluorin, T1-gewichtet TSE Sequenz).
- (c) Kontrolluntersuchung mit Gadofluorin mit einem gesunden New-Zealand-Hasen (24 h post Gadofluorin, T1-gewichtet TSE Sequenz).

Fig 1: In-vivo MR-images of a vessel wall of an animal model

- (a) First structural changes within the aorta of a Watanabe rabbit (Proton density weighted TSE-sequence).
- (b) Demonstration of inflammation related changes within a vessel wall without dedicated plaques by selective accumulation of Gadofluorin (24h post Gadofluorin, T1-weighted TSE sequence).
- (c) Control examination of a healthy New Zealand rabbit model (24h post Gadofluorin, T1-weighted TSE Sequence).

Entzündungsparameter bereits erfolgreich nachgewiesen werden. Gegenwärtig wird die Anwendbarkeit von MR-Bildgebung für den In-vivo-Nachweis von Entzündungsparametern in einem Watanabe-Hasenmodell untersucht (Abb. 1). In weiterer Folge soll durch spezifisch entwickelte HF-Empfangsspulen die Erkennbarkeit (Kontrast-Rausch-Verhältnis) weiter verbessert werden und eine Quantifizierung der Bindung der Nanopartikel mittels neuer biophysikalischer Modelle erfolgen. Herausforderungen für die Medizintechnik ergeben sich also sowohl in der Scanteknik als auch in der Hardware und der Signalanalyse mittels geeigneter mathematischer Methoden.

### Stem Cell

Eine andere höchst spannende Anwendung ist die Verfolgung von transplantierten Stammzellen. Es wird generell angenommen, dass Stammzellen in bestimmte Gewebe wandern und sich dort in vorhersehbarer und erwünschter Weise weiterentwickeln. Diese Annahmen müssen aber für verschiedene therapeutische Ansätze in vivo überprüft und validiert werden. Eine besondere Herausforderung besteht darin, dass die sensitivste Markierung der Stammzelle mittels superparamagnetischer Eisenoxyde bislang zu negativem Kontrast der Zellen führt. Im Rahmen unserer Arbeiten konnte nun gezeigt werden, dass mittels einer „Ultra Short Echo Time“-Sequenz (UTE) bei primär positivem Kontrast höchst aufgelöste Bilder von markierten Stammzellen erzielt werden können. In anderen In-vivo-Untersuchungen konnte mit konventioneller Scanteknik gezeigt werden, dass endotheliale Vorläuferzellen tatsächlich Gefäße bilden (Abb. 2).

be rendered possible with the aid of novel biophysical models. Challenges for medical engineering arise in the scanning technology as well as in the hardware development and the analysis of the signals with appropriate mathematical methods.

### Stem cell

Another very exciting application is the tracking of transplanted stem cells. It is generally assumed that stem cells migrate towards determined tissues and specialize there in a predictable and desired manner. This assumption, however, has to be confirmed and validated in vivo for any therapeutic approach. A particular challenge arises from the fact that, so far, the most sensitive labeling of the stem cells with superparamagnetic iron oxides has led to a negative contrast of the loaded cells. Recently, our research group could demonstrate that highly resolved images of labelled stem cells with positive contrast can be obtained with a special “ultra short echo time” sequence (UTE). In other in-vivo investigations, it could be demonstrated with conventional scanning technologies that endothelial precursor cells indeed can form vessels (Figure 2).

### Further directions of development (Integrated Dual Modality Imaging)

One basic problem of molecular imaging is that the available modalities typically exhibit only either a high sensitivity to the sensor molecules

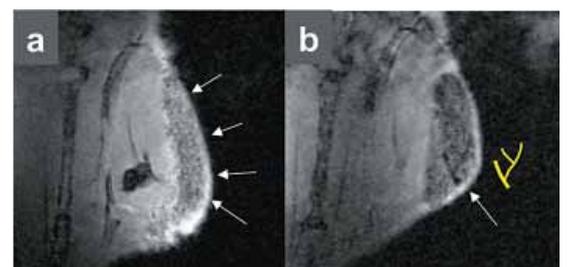


Abb. 2/ Fig. 2 © Institut für Medizintechnik/Institute of Medical Engineering

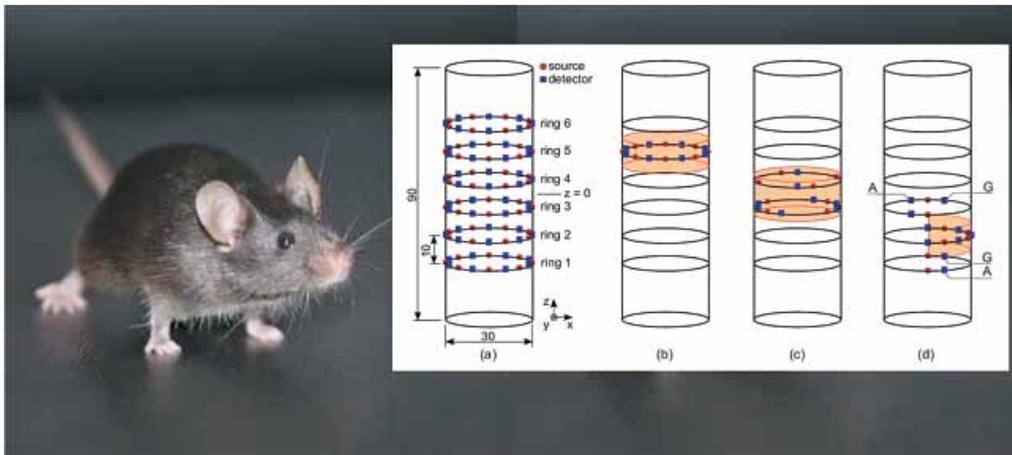


Abb. 3/ Fig. 3

© Institut für Medizintechnik/  
Institute of Medical Engineering

### Weitere Entwicklungsrichtungen (Integrated Dual Modality Imaging)

Ein essenzielles Grundproblem der molekularen Bildgebung besteht darin, dass die verfügbaren Modalitäten typischerweise nur entweder eine hohe Sensitivität für Sensormoleküle oder eine gute morphologische Darstellung ermöglichen. Dies hat in der Humanmedizin zur Entwicklung hybrider Systeme, wie PET-CT, und zur Forschung im Bereich PET-MR geführt. In der präklinischen Forschung wird mit Kleintiermodellen gearbeitet. Diese ermöglichen auch die Verwendung einer Vielzahl etablierter fluoro-optischer Marker. Um die Defizite des konventionellen (2-D) In-vivo-Fluoreszenzimagings zu überwinden, wird an fluoro-optischen Tomografieverfahren (FDOT) gearbeitet. Diese Verfahren können noch wesentlich verbessert werden, wenn morphologische Information zur Rekonstruktion der Fluoreszenzbilder herangezogen wird, was hervorragend durch die Kombination von FDOT und MRT erreicht werden kann. An einer solchen Kombination wird intensiv in der Arbeitsgruppe „Near Field Imaging“ gearbeitet. Diese Modalität kombiniert moderne Lasertechnologie, hochsensitive optische Detektoren und MR-Spulenbau mit der Entwicklung komplexer mathematischer Algorithmen aus dem Bereich der inversen Probleme sowie aufwendigen Registrierungs- und Bildverarbeitungsmethoden (Abb. 3). Die Arbeitsgruppe hat bereits im Rahmen des SFB „Mathematical Optimization and Applications in Biomedical Sciences“ ein Verfahren zur Optimierung der Sensor-Detektor-Positionen hinsichtlich des Signal-Rausch-Verhältnisses sowie Verbesserungen bisheriger fluoro-optischer 3-D-Bildrekonstruktionsalgorithmen entwickelt und treibt nun die Entwicklung eines Systems voran, das die Rekonstruktion biochemischer Information aus der Fluoreszenzlebensdauer ermöglichen soll.

or a good morphological resolution. In human medicine this fact has led to the development of hybrid systems, e. g. PET-CT, and research towards PET-MR. In preclinical research, small animal models are predominant which allow the use of a large variety of well-established fluoro-optical markers. In order to overcome the deficiencies of conventional 2-D fluorescence imaging, true 3-D fluoro-optical tomography (FDOT) has been developed. This method can be improved considerably if highly resolved morphological information is used for the reconstruction of the fluoro-optical images. This can be achieved in an excellent manner by the combination of MRI and FDOT. The working group on near-field imaging is working intensively in the realization of such a hybrid modality which combines modern laser technology, highly sensitive optical detectors and RF coil design for MRI with the development of complex mathematical algorithms in the field of inverse problems as well as intricate registration and image processing methods (see Figure 3). In the framework of the joint project “Mathematical Optimization and Applications in Biomedical Sciences” the working group has already developed a method for the optimization of the sensor/detector positioning with respect to maximum signal/noise ratio as well as improvements of established 3-D image reconstruction algorithms. Current activities focus on the implementation of a system which enables the reconstruction of biochemical information from fluorescence lifetime measurements.

Abb. 2: In-vivo-Darstellung von subkutan in ein Mausmodell injizierte endotheliale Vorläuferzellen, die mit superparamagnetischen Eisenoxiden markiert wurden. (a) Verteilung der Zellen nach Injektion (Pfeile), (b) Entwicklung von Gefäßstrukturen nach zwei Wochen (siehe auch Zeichnung daneben).

Abb. 3: Optimale Optoden-Subsets für die Fokussierung auf drei ausgewählte Zielregionen (b,c und d) in einem Gewebezylinder mit 3 cm Durchmesser. Die optimalen Sets wurden aus einem Grundpool von 48 Sender-Empfänger-Paaren ausgewählt, die auf 6 Ringen mit je 1 cm Ebenenabstand äquidistant verteilt waren.

Fig 2: In-vivo imaging of a mouse model with subcutan injected endothelial progenitor cells. Cells were marked using superparamagnetic iron oxide. (a) Distribution of the cells after injection (arrows), (b) Development of first vessel structures after two weeks (see also drawing).

Fig 3: Optimal subsets of optode positioning for focusing to three selected target regions (b,c and d) within a tissue cylinder of 3 cm diameter. The optimal positions were selected from a pool of 48 transmitter receiver pairs, on six rings with equidistant distribution. The distance of the planes are 1 cm.