

Aus dem
CharitéCentrum für Diagnostische und
interventionelle Radiologie und Nuklearmedizin (CC6)
Klinik für Radiologie
Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Bernd Hamm

HABILITATIONSSCHRIFT

Nahinfrarot (NIR) Bildgebung der weiblichen Brust: Evaluation von intrinsischem und extrinsischem Kontrast

zur Erlangung der Venia legendi
für das Fach Radiologie

vorgelegt dem Fakultätsrat der Medizinischen Fakultät der
Charité - Universitätsmedizin Berlin

von Herrn Dr. med. Alexander Pöllinger
geboren am 15. März 1971 in Neumarkt i.d.OPf.

eingereicht im September 2011

Dekanin: Univ. Prof. Dr. Annette Grüters-Kieslich
1. Gutachter: Univ. Prof. Dr. Per Skaane / Oslo, Norwegen
2. Gutachter: Univ. Prof. Dr. Thomas Helbich / Wien, Österreich

INHALTSVERZEICHNIS

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	3
EINLEITUNG UND ZIELSETZUNGEN	4
METHODIK	9
DESIGN.....	9
CONTINUOUS WAVE (CW).....	10
TIME-DOMAIN (TD)	11
FREQUENCY-DOMAIN (FD)	11
NIR-BILDGEBUNG BASIEREND AUF INTRINSISCHEM KONTRAST	12
NIR-BILDGEBUNG MIT EXSTRINSISCHEN KONTRASTMITTELN	12
<i>Indocyaningrün</i>	12
<i>Omocianine</i>	13
ERGEBNISSE	14
NIR-BILDGEBUNG BASIEREND AUF INTRINSISCHEM KONTRAST	14
<i>Publikation 1 - Machbarkeitsstudie</i>	14
<i>Publikation 2 - ROC-Analyse</i>	24
NIR-BILDGEBUNG MIT EXSTRINSISCHEM KONTRASTMITTEL INDOCYANINGRÜN	33
<i>Publikation 3 - Untersuchungen zu früher und später Fluoreszenzbildgebung</i>	33
<i>Publikation 4 - Untersuchungen zu früher und später Fluoreszenzbildgebung</i>	43
<i>Publikation 5 - Untersuchungen zur schnellen 3D Bildgebung mit Indocyaningrün</i>	62
NIR-BILDGEBUNG MIT EXSTRINSISCHEM KONTRASTMITTEL OMOCIANINE	71
<i>Publikation 6 - NIR-Bildgebung mit Omocianine</i>	71
DISKUSSION UND SCHLUSSFOLGERUNGEN	80
KLINISCHE IMPLIKATIONEN.....	86
ZUSAMMENFASSUNG	88
LITERATURVERZEICHNIS	90
LISTE DER IN DER VORLIEGENDEN ARBEIT VERWENDETEN PUBLIKATIONEN	103
DANKSAGUNG	105
ERKLÄRUNG	107

Abkürzungsverzeichnis

<i>Abkürzung</i>	<i>deutscher/englischer Begriff</i>
ANOVA	analysis of variance, Varianzanalyse
AUC	area under the curve
BI-RADS	Breast Imaging-Reporting and Data System
bw	body weight
CT	Computertomographie
CW	continuous wave
DOI	diffuse optical imaging
DOS	diffuse optische Spektroskopie/diffuse optical spectroscopy
DOT	diffuse optische Tomographie/diffuse optical tomography
EPR	enhanced permeability and retention
FD	frequency domain
ICG	Indocyaningrün
i.v.	intravenös
LOS	level of suspicion
MRT	Magnetresonanztomographie
NIR	Near-infrared/Nahinfrarot
ROC	Receiver operating characteristic
SO ₂	Sauerstoffsättigung
TD	time domain
TTP	time-to-peak
μ_a	Absorptionskoeffizient
μ_s	Streuungskoeffizient

EINLEITUNG UND ZIELSETZUNGEN

Das Mammakarzinom ist ein Tumor, der vom Brustdrüsenparenchym, meistens von Zellen der Milchgänge oder der Lobuli, ausgeht. Karzinome, die aus veränderten Zellen der Milchgänge entstehen, heißen duktale Karzinome, Tumore, die ihren Ursprung in den Lobuli haben, lobuläre Karzinome.

Das Mammakarzinom ist die häufigste Krebsneuerkrankung bei Frauen weltweit und in vielen Ländern die zweithäufigste Todesursache nach kardiovaskulären Erkrankungen (1). Gemäß des Robert Koch-Instituts und der Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e.V. erkrankten 2006 in Deutschland ca. 58.000 Frauen neu an Brustkrebs, über 17.000 starben daran (2). Die Brustkrebsinzidenz ist seit 1980 bis ca. zur Mitte der 1990er Jahre kontinuierlich angestiegen. Seit Rückgang der Anwendung der Hormonersatztherapie ist die Brustkrebsinzidenz für Frauen über 50 Jahre leicht rückläufig, jedoch für jüngere Frauen unter 50 Jahre in vielen Ländern weiterhin zunehmend oder konstant (3-7). Das Lebenszeitrisko für eine Frau in Deutschland an Brustkrebs zu erkranken beträgt ca. 11%, d.h. eine von neun Frauen erkrankt im Laufe ihres Lebens an Brustkrebs (2).

Der wichtigste prognostische Faktor des Mammakarzinoms ist das TNM-Stadium bei der Diagnosestellung (8). Die Stadieneinteilung berücksichtigt die Größe des Primärtumors, den Lymphknotenstatus und das Vorliegen von Fernmetastasen. Die Größe des Primärtumors korreliert eng mit dem Lymphknotenstatus und dem Vorhandensein von Fernmetastasen (9). Etwas vereinfacht lässt sich sagen: je kleiner der Primärtumor bei der Diagnosestellung, desto günstiger die Prognose. Um betroffenen Patientinnen eine bessere Prognose zu ermöglichen, ist von einem diagnostischen Verfahren zu fordern, dass es Mammakarzinome so früh wie möglich detektieren kann (hohe Sensitivität). Andererseits soll das Verfahren auch gut zwischen malignen und benignen Läsionen unterscheiden können (hohe Spezifität). Mammographie Screeningprogramme, die in vielen westlichen Ländern (2005 in Deutschland) eingeführt wurden, haben das Ziel, durch frühere Detektion der Karzinome eine Reduktion der Mortalität herbeizuführen.

Tatsächlich haben viele Studien gezeigt, dass Routine-Screening für Brustkrebs basierend auf Röntgenmammographie die Mortalität reduzieren kann (10). Die

durchschnittliche Sensitivität der Röntgenmammographie beträgt jedoch nur ca. 75% (11). Abhängig von der radiographischen Dichte des Brustdrüsengewebes kann diese weiter auf Werte von unter 50% sinken (11). Eine Meta-Analyse, die Röntgenmammographie und die Magnetresonanztomographie (MRT) der Brust in Patientinnen mit familiärem Brustkrebsrisiko verglich, zeigte sogar nur eine Sensitivität im Bereich von 30 - 40% für die Röntgenmammographie (12).

Oft sind zur Diagnosestellung zusätzliche Methoden wie Brust-Ultraschall oder Magnet-Resonanztomographie (MRT) notwendig. Während Ultraschalluntersuchungen sehr untersucherabhängig und zeitaufwändig sind und sich somit nicht als Screening-Methode eignen, ist die MRT - obgleich durch eine sehr hohe Sensitivität allen anderen Methoden überlegen - durch noch limitierte Spezifität und vor allem aufgrund der immer noch sehr hohen Kosten ebenfalls als Screening-Methode ungeeignet.

Die Nahinfrarot (NIR)-Bildgebung der Brust ist eine von mehreren neuen Methoden, die derzeit als Alternativen zu den etablierten Verfahren erforscht werden. Während diese - wie Mammographie und Ultraschall - hauptsächlich auf morphologischen Informationen basieren, haben optische Methoden das Potential, Informationen auf molekularer und zellulärer Ebene bildgebend darzustellen (13).

Die optische Bildgebung bietet eine Reihe weiterer Vorteilen gegenüber anderen Verfahren (14-16): Durch die Verwendung von niederenergetischen elektromagnetischen Wellen im Nahinfrarot-Bereich werden keine ionisierenden Wechselwirkungen erzeugt. Optische Bildgebung ermöglicht es, spektroskopische Informationen über die Zusammensetzung von Gewebe zu erhalten (17, 18). Sie ist relativ preisgünstig und kann portabel konstruiert werden. Optische Verfahren können Kontrastmittel sehr viel sensitiver detektieren, so dass bereits Konzentrationen im mikromolaren oder nanomolaren Bereich ausreichen, während bei iod- oder gadoliniumhaltigen Kontrastmittel Konzentrationen im milimolaren Bereich nötig sind (19).

Wird ein größeres Volumen biologischen Gewebes untersucht, tritt neben Absorption auch immer Streuung auf, die bereits bei Geweben ab einer Dicke von ca. 1 mm zum dominierenden Faktor wird (20). Eine Erzeugung von „Schatten-Bildern“, die in den Anfängen der optischen Brustbildgebung vorgeschlagen wurde

(21), wird dadurch extrem erschwert. Will man Gewebereinheiten größerer Dicke messen, müssen diese Streuungsvorgänge mit einbezogen werden. Die Bildgebung wird dann als diffuse optische Bildgebung bezeichnet (diffuse optical imaging, DOI).

Von entscheidender Wichtigkeit ist die Wahl der Wellenlänge. In einem Bereich von ca. 700 - 1000 nm sind Absorption und Streuung im biologischen Gewebe relativ gering, so dass dieser Bereich auch als diagnostisches Fenster bezeichnet wird (22). Eine Lichtpenetration von einigen cm (bis maximal ca. 10 cm) wird somit möglich. Die in diesem Wellenlängenbereich am stärksten absorbierenden Moleküle sind Oxy- und Desoxyhaemoglobin, wodurch Areale mit erhöhtem Hämoglobingehalt (wie sie z.B. bei Malignomen aufgrund der erhöhten Neovaskularisation gefunden werden) kontrastiert werden können.

Erste Versuche zur optischen Bildgebung reichen bis in 19. Jahrhundert zurück. 1830/40 verwendeten Bright (23) und Curling (24) sichtbares Licht, um den Kopf bzw. das Scrotum zu untersuchen. Nahezu ein Jahrhundert später veröffentlichte Cutler 1929 die erste Studie zur optischen Bildgebung der weiblichen Brust (21). Alle diese Versuche wurden mit einfacher Durchleuchtung (Transillumination) durchgeführt. Das Verfahren wird auch als Diaphanographie bezeichnet. Da die Ergebnisse jedoch nicht sehr erfolgreich waren, gab es in den darauffolgenden 30 bis 40 Jahren keine substantielle Arbeit mehr auf dem Gebiet der optischen Brustbildgebung. Erst mit der Entwicklung neuer Technologien wie Videokameras in den 1970er Jahren und der Verfügbarkeit schneller Computer und Laserdioden in den 1980ern kam es zu einem neuen Interesse an der optischen Bildgebung der Brust. Die grundlegenden Limitationen, mit denen bereits Cutler zu kämpfen hatte, wurden durch verbesserte Detektoren jedoch nicht gelöst (22). So waren die wieder aufgegriffenen Ansätze in den 1980er Jahren zur Brustbildgebung mit optischen Methoden meist enttäuschend und blieben in der diagnostischen Genauigkeit hinter etablierten Verfahren zurück (22, 25, 26).

In den 1990ern gab es weitere technische Fortschritte in der Lasertechnologie: So konnten erstmals Laser verwendet werden, die fähig waren, Laserpulse im Pico- oder Femtosekundenbereich zu erzeugen, wodurch sog. zeitaufgelöste Verfahren verwendet werden konnten (27). Zunehmend wurde die Brust jetzt auch mit einem tomographischen Ansatz untersucht, ein Verfahren, das auch als diffuse optische Tomographie (DOT) bezeichnet wird.

Die meisten Studien benutzten intrinsische Kontraste (28-47). Vor allem der Gewebekontrast von Hämoglobin, Wasser und Fett sowie Kontraste in der Sauerstoffsättigung wurden untersucht. Insbesondere der erhöhte Hämoglobingehalt maligner Läsionen infolge der Neovaskularisation wurde als Möglichkeit zur Detektion von Brustkrebs sowie zur Differenzierung von benignen Läsionen angesehen. Da jedoch auch gutartige Läsionen und fibrozytische Veränderungen eine erhöhte Hämoglobinkonzentration aufweisen können (48, 49), ist eine Unterscheidung der Läsionen nur basierend auf intrinsischen Kontrasten und ohne Zusatzinformation oft schwierig. Jedoch kann die optische Mammographie gerade als Zusatzverfahren wertvolle Informationen liefern, und in den letzten Jahren wurden mehrere Studien veröffentlicht, die Hybridverfahren insbesondere zur Steigerung der Spezifität vorstellten (33, 50).

Die Limitationen der auf intrinsischen Kontrasten beruhenden Verfahren können möglicherweise durch die Verwendung von extrinsischen Kontrastmitteln überwunden werden. Optische Kontrastmittel können z.B. die Lichtabsorption oder die Fluoreszenz erhöhen. Bislang wurde nur in wenigen Studien extrinsischer Kontrast verwendet, wobei in den meisten veröffentlichten Studien die ICG-Absorption (51, 52) (53-56) gemessen wurde. Ergebnisse zur ICG-Fluoreszenz wurden bislang nur in zwei Studien veröffentlicht (57) (58), während sich zum aktuellen Zeitpunkt 4 Publikationen zur Omocyanine-Fluoreszenz finden (59-62).

Die Einschätzung der diagnostischen Wertigkeit der optischen Mammographie fällt aufgrund des weitgehenden Fehlens größerer Studien mit prospektiver Durchführung schwer. In einer systematischen Übersichtsarbeit über optische Mammographie an insgesamt ca. 2000 Frauen fand Leff et al. eine Sensitivität von ca. 85%, wobei jedoch in vielen Studien die optische Mammographie als Zusatzverfahren zu etablierten Verfahren verwendet oder retrospektiv, zum Teil unter Kenntnis der Mammographieaufnahmen, ausgewertet wurde (63).

Aufgrund der oben skizzierten Möglichkeiten der optischen Bildgebung für die Mammadiagnostik aber auch aufgrund der bis dato mangelhaften Prüfung ihrer klinischen Wertigkeit hat sich die hier vorgestellte Arbeit zum Ziel gesetzt, eine

- Einschätzung der Machbarkeit und Prüfung der diagnostischen Genauigkeit der optischen Mammographie basierend auf intrinsischem Kontrast,
 - Evaluation früher und später Fluoreszenzbildgebung mit dem Fluoreszenzkontrastmittel Indocyaningrün
 - Analyse von frühen Perfusionsvorgängen mittels ICG-Absorption und
 - Evaluation des Fluoreszenzkontrastmittels Omocianine für die optische Bildgebung
- durchzuführen.

METHODIK

Zur Erzeugung zwei- oder dreidimensionaler Bilder der Brust mit optischer Mammographie wird Nahinfrarotlicht verwendet, das sich diffus im biologischen Gewebe ausbreitet.

Design

Drei grundsätzliche Designs kommen für die Brustbildgebung bislang zur Anwendung: ein zweidimensionaler Ansatz zur Durchleuchtung der Brust (Transillumination), wobei ein Aufbau ähnlich der Röntgenmammographiegeräte verwendet wird. Ein tomographischer Ansatz für die 3D-Akquisition der Brust (diffuse optische Tomographie DOT) und die Anwendung als Handheld-Gerät.

Transillumination

Bei der Transillumination wird die Brust zumeist zwischen zwei Glasplatten oder Platten anderen lichtdurchlässigen Materials gelagert (64) und gering komprimiert. Die Lichtquelle befindet sich auf einer Seite der Platten, der (oder die) Detektor(en) auf der Gegenseite, wobei bei einigen Geräten auch Detektoren an der ipsilateralen Seite, also der Seite der Lichtquelle, angebracht sind (65). Die Transillumination wurde von einigen Gruppen verwendet (35, 56, 66-70). Durch die (geringe) Kompression und die dadurch bedingte Verminderung der Dicke des durchstrahlenden Gewebes ergeben sich Vorteile durch höhere Photonendetektion auf Detektorseite (71). Die Scanzeit kann so vermindert werden und die technischen Anforderungen an Detektoren und Laserquelle können geringer ausfallen, was sich wiederum positiv auf die Gerätekosten auswirkt (22, 71). Die - wenngleich geringe - Kompression kann jedoch Auswirkung auf physiologische Parameter im Gewebe haben. So wird die Hämoglobinkonzentration im Gewebe vermindert, wobei noch nicht vollständig klar ist, wie sich Tumorgewebe und umgebendes Gewebe verhalten (72). Einige Gruppen versuchten, gerade Unterschiede in der Hämoglobinkonzentration bei unterschiedlicher Kompression im Sinne einer dynamischen Messung für die Tumordetektion/-charakterisierung auszunutzen (64, 73).

Ein in der vorgestellten Arbeit verwendeter Scanner (Publikationen 4 und 5), der von der Physikalisch Technischen Bundesanstalt (PTB) in Berlin gebaut wurde,

nutzte diese Gerätegeometrie. Weitere Detektoren (sog. off-set-Detektoren) dienten hierbei dazu, die Daten unter vier Projektionswinkeln zu erfassen, so dass eine Abschätzung in der dritten Dimension möglich war.

Diffuse optische Tomographie

Der zweite Designansatz besteht in einer tomographischen Akquisition der optischen Gewebeeigenschaften, wobei Lichtquellen und -detektoren auf der gesamten Oberfläche der Brust angeordnet sind oder diese abscannen. Dabei werden Lichtleiter entweder direkt auf die Haut der Brust aufgebracht (52, 57, 74) oder ein Laser wird, wie die Röntgenröhre in einem Computertomographen, in einer Gantry um die Brust geführt (47, 49, 59, 75, 76), auf der auch die Detektoren angebracht sind. Weder Lichtquelle noch Detektoren sind bei diesem Aufbau direkt mit der Hautoberfläche gekoppelt. Die Vorteile der DOT liegen vor allem in der dreidimensionalen Abbildung der Bruststrukturen, um Läsionen überlagerungsfrei darzustellen. Die fehlende Kompression der Brust stellt zwar für die Patientinnen einen Zugewinn an Komfort dar, das zu durchstrahlende Gewebe ist dadurch jedoch dicker, was sich negativ auf die Photonendetektion auf Detektorseite auswirkt.

Handheld Systeme

Als dritter Designansatz kann die NIR-Bildgebung auch mit Handheld-Geräten, die oft als Hybrid-Geräte konzipiert sind, angewandt werden (33, 34, 77). Durch die lokalisierte Messung des NIR-Signals werden Rekonstruktionsartefakte und Unsicherheiten in der Lokalisationsbestimmung vermindert.

Bei der optischen Mammographie kommen drei verschiedene Messarten zur Anwendung, die als Continuous-Wave (CW)-, Time-Domain (TD)- und Frequency-Domain (FD)- Systeme bezeichnet werden.

Continuous Wave (CW)

Bei Continuous-Wave (CW)-Systemen wird das Licht kontinuierlich mit konstanter Amplitude oder moduliert mit einer geringen Frequenz emittiert (63). CW-Systeme sind relativ preisgünstig herzustellen und kommen von allen klinisch verwendeten Systemen am häufigsten zur Anwendung. Der große Vorteil dieser Systeme besteht in der sehr schnellen Datenakquisition (78). Sie haben jedoch auch einige

Nachteile: sie können nicht zwischen Absorption und Streuung des Gewebes unterscheiden und sind empfindlich gegenüber Veränderungen der Oberflächenankopplung (79). Drei der in der vorliegenden Arbeit verwendeten Systeme sind CW-Systeme (Publikationen 1, 2, 5, 6). Als Beispiel für ein CW-System sei der Tomograph der Firma NIRx Medizintechnik, Berlin (DYNOT 232) genannt, mit dem eine Studie zur schnellen Kontrastmittelanflutung durchgeführt wurde (Publikation 5). Das Gerät benutzt zwei Laser mit den Wellenlängen 760 nm und 830 nm und kann zwei komplette 3D-Datensätzen pro Sekunde akquirieren.

Time-Domain (TD)

Time-Domain (TD)-Systeme verwenden sehr kurze Lichtpulse im Pico- oder Femtosekundenbereich (22, 67, 80). Die Lichtpulse werden mit einer Wiederholrate von 1 bis 50 MHz ausgesandt. Durch Messung der Flugzeiten der Photonen können Bilder zu bestimmten Zeitfenstern relativ zu den Zeitpunkten, wann der Laserpuls emittiert wurde, generiert werden. Photonen, die auf dem Weg von der Laserquelle zum Detektor im Gewebe nur geringe Streuung erfahren und somit in frühen Zeitfenster gemessen werden, können zur Erzeugung von Bildern mit höherer räumlicher Auflösung verwendet werden. Nachteile dieses Ansatzes sind das geringe Signal-Rausch-Verhältnis. Zudem benötigen diese Systeme relativ lange Akquisitionszeiten und sind aufgrund der technischen Komplexität relativ teuer. Das in den Publikationen 4 und 5 beschriebene System ist ein TD-System (53).

Frequency-Domain (FD)

Bei Frequency-domain (FD)-Systemen wird das Licht wie bei CW-Systemen kontinuierlich appliziert, jedoch findet eine Amplitudenmodulation mit einer Frequenz in der Größenordnung von 10-100 MHz statt. Somit werden Photonen-Dichte-Wellen erzeugt. Über Messung des Amplitudenabfalls und der Phasenverschiebung in Vergleich zum Ausgangssignal können optische Eigenschaften des untersuchten Gewebes gemessen werden. Im Vergleich zu TD-Systemen ist das Hardware-Design einfacher und preisgünstiger (81).

NIR-Bildgebung basierend auf intrinsischem Kontrast

Die Lichtausbreitung in biologischem Gewebe ist bestimmt durch örtlich unterschiedliche Streuungs- und Absorptionseigenschaften, die durch die Streuungs- und Absorptionskoeffizienten μ_s und μ_a beschrieben werden können (81).

Unterschiedliche Brechungsindices der intra- und extrazellulären Flüssigkeiten und verschiedener Zellkomponenten wie Mitochondrien oder des Zellkerns sowie verschiedene Gewebsdichten führen zu verschiedenen Streuungskoeffizienten (82-84). Unterschiede der Zusammensetzung und Konzentration von Hämoglobin, Wasser und Fett verursachen verschiedene Absorptionskoeffizienten (81).

Malignome weisen im Vergleich zu gutartigem Gewebe eine Reihe von Unterschieden im Absorptions- und Streuungsverhalten auf (63). Bedingt durch die Neovaskularisation findet sich eine erhöhte Hämoglobinkonzentration in malignen Tumoren im Vergleich zum umgebenden Brustdrüsenparenchym (85). Da Oxy- und Desoxyhämoglobin unterschiedliche Absorptionsspektren im NIR-Bereich aufweisen, ermöglichen sie so die Messung der Sauerstoffsättigung (SO_2). Einige Studien fanden in Malignomen eine Verminderung der Sauerstoffsättigung (32, 86), jedoch konnte diese Beobachtung nicht von allen Arbeitsgruppen bestätigt werden (37).

NIR-Bildgebung mit extrinsischen Kontrastmitteln

Ähnlich zu anderen Bildgebungsverfahren (CT/MRT/Nuklearmedizin) kann ein von aussen (extrinsisch) eingebrachtes Molekül zu einer Kontrastverstärkung verwendet werden. Optische Kontrastmittel können die Absorptions- oder die Fluoreszenzeigenschaften verändern. Optische Bildgebung kann - ähnlich nuklearmedizinischer Verfahren - sehr kleine Konzentrationen von Chromophoren oder Fluorophoren detektieren (22).

Indocyaningrün

Das einzige derzeit für die klinische Anwendung zugelassene Kontrastmittel ist Indocyaningrün (ICG) (87-89). ICG ist ein schwach fluoreszierendes optisches Kontrastmittel mit einer hervorragenden Verträglichkeit (90). ICG kann auch zur Absorptionsverstärkung eingesetzt werden. Aufgrund der starken und raschen Bindung an Makromoleküle wirkt ICG als sog. „blood-pool agent“, also als primär intravaskuläres Kontrastmittel. In malignen Tumoren kann das an Makromoleküle

gebundene ICG durch die größeren Poren der Tumorgefäße extravasieren (55). ICG wird durch die Leber aus der Blutbahn mit einer kurzen Halbwertszeit von wenigen Minuten eliminiert (91).

Omocianine

Omocianine (SH Y 00739, ZK 203468, Bayer Schering Healthcare, Berlin, Germany) ist ein neuer Sulfocyanin Fluoreszenzfarbstoff mit einem Verteilungsmuster vergleichbar der MR- oder CT-Kontrastmittel, der sich derzeit noch in der klinischen Erprobung befindet. Omocianine weist eine Plasmahalbwertszeit von ca. 15 Stunden im Menschen auf. Die Proteinbindung beträgt 89%. Im Gegensatz zu ICG hat Omocianine eine hohe Quantenausbeute von ca. 17% im Rinderplasma. Die Anregungswellenlänge beträgt 761 nm, die Emissionswellenlänge 780 nm.

ERGEBNISSE

NIR-Bildgebung basierend auf intrinsischem Kontrast

Publikation 1 - Machbarkeitsstudie

Near-infrared laser computed tomography of the breast first clinical experience.

Poellinger A, Martin JC, Ponder SL, Freund T, Hamm B, Bick U, Diekmann F.

Acad Radiol. 2008;15(12):1545-53.

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1076633208004558>

Ziel der Arbeit war, ein Nahinfrarot (NIR)-System zur Brustbildgebung (Computed Tomography Laser Mammography [CTLM]) als Zusatzverfahren zur Röntgenmammographie mittels einer ROC-Analyse (Receiver Operating Characteristic) zu evaluieren. 82 Patientinnen wurden sowohl mit CTLM als auch mit Röntgenmammographie untersucht. Bei 79 Patientinnen erfolgte ein histologische Sicherung der Herdbefunde, bei drei Patientinnen wurden die benignen Befunde durch ein 2-Jahres Follow-up kontrolliert. 3D-tomographische Aufnahmen wurden mit einem optischen Mammographiegerät mit einer Schichtdicke von 4 mm akquiriert. Die Röntgenmammographieaufnahmen wurden zunächst alleine, dann unter Zuhilfenahme der CTLM Bilder ausgewertet. Die Histologie erbrachte 37 benigne und 42 maligne Läsionen. Die Kombination aus Röntgenmammographie und CTLM zeigte eine signifikant größere Fläche unter der Kurve (Area under the curve = AUC) als für die Röntgenmammographie alleine. Für strahlendichte Brüste war die Differenz der AUC zwischen dem Kombinationsverfahren und der Mammographie alleine größer als für weniger strahlendichte Brüste. Dieses Ergebnis war jedoch nicht statistisch signifikant. Insgesamt rechtfertigten die Ergebnisse dieser Machbarkeitsstudie die Durchführung einer größeren Multi-Reader Studie.

Publikation 2 - ROC-Analyse

Diagnostic Performance of a Near-Infrared Breast Imaging System as Adjunct to Mammography versus X-Ray Mammography alone.

Collettini F, Martin JC, Diekmann F, Fallenberg E, Engelken F, Ponder S, Kroencke TJ, Hamm B, **Poellinger A.**

European Radiology 2011 (accepted for publication)

Ziel der Studie war, die diagnostische Genauigkeit der Kombination aus Röntgenmammographie und Nahinfrarot-Brustbildgebung mit der Röntgenmammographie alleine in einer Multi-Reader Studie zu evaluieren. Insgesamt wurden 276 konsekutive Patientinnen mit suspekten Brustläsionen eingeschlossen. Alle Patientinnen wurden mit Röntgenmammographie und optischer Mammographie untersucht. Vier verblindete Radiologen lasen zunächst die Röntgenmammographien alleine. Daraufhin analysierten sie die Röntgenmammographien zusammen mit den optischen Mammographien. Der diagnostische Benefit der optischen Mammographie als Zusatzverfahren zur Röntgenmammographie wurde mit einer ROC-Analyse (receiver operating characteristic) getestet. Es wurde sowohl eine ROC-Analyse für jeden einzelnen Reader als auch eine Multireader-Multicase-ROC-Analyse der Varianzen (ANOVA) durchgeführt. Die Aufnahmen wurden jeweils mit BI-RADS Werten (Breast Imaging-Reporting and Data System) und mit sog. Level of Suspicion (LOS) ausgewertet. Die Analysen zeigten eine gering größere Fläche unter der Kurve (area under the curve = AUC) für die LOS-basierte Analyse für alle Reader. Für die BI-RADS basierte Analyse wurde bei 3 von 4 Readern ein größeres AUC für das Kombinationsverfahren gefunden. Jedoch zeigten sich weder die für die separate ROC-Analyse noch für die ANOVA ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Methoden. Somit muss geschlossen werden, dass die Kombination aus Röntgenmammographie und optischer Mammographie nicht signifikant besser als die Röntgenmammographie alleine ist.

NIR-Bildgebung mit extrinsischem Kontrastmittel Indocyaningrün

Publikation 3 - Untersuchungen zu früher und später Fluoreszenzbildgebung

Breast cancer: early- and late-fluorescence near-infrared imaging with indocyanine green--a preliminary study.

Poellinger A, Burock S, Grosenick D, Hagen A, Ludemann L, Diekmann F, Engelken F, Macdonald R, Rinneberg H, Schlag PM.

Radiology. 2011;258(2):409-16.

<http://radiology.rsna.org/content/258/2/409.long>

Ziel dieser Studie war, frühe und späte Nahinfrarot Bildgebung - entsprechend der vaskulären (frühe Fluoreszenz) und der extravaskulären (späte Fluoreszenz) Phase von Indocyaningrün (ICG) - bezüglich der Brustkrebsdetektion und der Unterscheidung zwischen benignen und malignen Läsionen zu untersuchen. 20 Frauen mit 21 suspekten Brustläsionen wurden mit Nahinfrarot Bildgebung vor, während und nach intravenöser Applikation von ICG untersucht. Es wurden simultan Absorptions- und Fluoreszenz-Projektionsaufnahmen mit einem Prototyp Nahinfrarot-Scanner aufgenommen. Zwei verblindete Reader beurteilten unabhängig voneinander die Aufnahmen und vergaben Visibilitäts-Score für die Läsionen in den Absorptions- und den Absorptions-korrigierten Fluoreszenzaufnahmen. Die Bildauswertung wurde mit den histopathologischen Befunden verglichen. Die Kontraste der Läsionen als auch der Durchmesser der Läsionen wurde gemessen und statistisch ausgewertet.

Für die Absorptions-korrigierten Fluoreszenzaufnahmen zeigte sich eine hoher Kontrast (Kontrast-Wert von 0,25 bis 0,64) zwischen den Tumoren und dem umliegenden Brustdrüsenparenchym. Maligne Läsionen wurden korrekt in 11/13 (Reader 1) und 12/13 (Reader 2) Fällen detektiert. Benigne Läsionen wurde korrekt in 6/8 (Reader 1) und 5/8 (Reader 2) Fällen erkannt. Die Visibilitäts-Scores zwischen malignen und benignen Läsionen waren signifikant unterschiedlich für die Absorptions-korrigierten Fluoreszenzaufnahmen ($p = 0,003$), jedoch nicht für die Absorptionenaufnahmen ($p = 0,206$). Die gemittelte Sensitivität und Spezifität

erreichte für die Fluoreszenzbildgebung 92% und 75% im Vergleich zu 100% und 25% für die Röntgenmammographie.

Die Ergebnisse der Studie erlauben die Aussage, dass frühe und späte Fluoreszenzaufnahmen nach ICG-Applikation für die Unterscheidung von malignen und benignen Läsionen verwendet werden kann.

Publikation 4 - Untersuchungen zu früher und später Fluoreszenzbildgebung

Late-fluorescence mammography assesses tumor capillary permeability and differentiates malignant from benign lesions.

Hagen A, Grosenick D, Macdonald R, Rinneberg H, Burock S, Warnick P, Poellinger A, Schlag PM.

Opt Express. 2009;17(19):17016-33.

<http://www.opticsinfobase.org/abstract.cfm?URI=oe-17-19-17016>

Mit einem Time-Domain Nahinfrarot-Scanner wurden Fluoreszenz-Projektionsaufnahmen vor, während und nach intravenöser Applikation von Indocyaningrün (ICG) akquiriert. Simultan wurde die arterielle ICG-Konzentration durch transkutane Pulsdensitometrie gemessen. In den späten Fluoreszenzaufnahmen, die aufgenommen wurden, nachdem ICG im intravaskulären Kompartiment von Leber gecleart wurde, zeigten invasive Karzinome einen großen Kontrast gegenüber einem weitgehend homogenen Hintergrund. Benigne Läsionen zeigten keinen fokalen Fluoreszenzkontrast. Die Ergebnisse zeigen, dass während der Kontrastmittel-Applikation der Gewebe- und somit der Fluoreszenz-Kontrast durch die intravaskuläre Verteilung des Kontrastmittels bestimmt wird, während die späte Fluoreszenzbildgebung durch den Anteil von Protein-gebundenem ICG, das ins Interstitium extravasiert ist, dominiert wird. Diese Kontraste reflektieren die relativen Gefäßpermeabilitäten von Karzinomen und normalem, nicht erkranktem Brustdrüsengewebe. Die intravaskulären und extravaskulären Anteile der ICG Gewebskonzentration wurden mit einem Zwei-Kompartiment unidirektionalen pharmakokinetischen Modell simuliert.

Publikation 5 - Untersuchungen zur schnellen 3D Bildgebung mit Indocyaningrün

Fast 3D Near-Infrared Breast Imaging using Indocyanine Green.

Schneider P, Piper S, Schmitz C, Schreiter N, Volkwein, N, Diekmann F, Lüdemann L, Poellinger A.

Fortschr Röntgenstr, Oktober 2011 (akzeptiert zur Publikation)

Ziel der Studie war die Evaluierung eines schnellen 3D-Nahinfrarot-Bildgebungsverfahrens unter Verwendung von Indocyaningrün (ICG) für die Detektion und Charakterisierung von Brustläsionen. 30 Patientinnen mit mammografisch und/oder sonografisch detektierten suspekten Brustläsionen wurden mit einem schnellen optischen 2 Hz 3D-Mammographen vor, während und nach Applikation eines 25 mg ICG-Bolus vor histologischer Sicherung untersucht. Die Boluskinetik wurde mithilfe von zwei Perfusionsparametern und einem abgeleiteten Parameter analysiert: „peak amplitude“ (PA), „time to peak“ (TTP) und „peak-time grouped amplitude“ (PTA). Mithilfe einer Receiver-operating-characteristic (ROC)-Analyse wurde ein PTA-Cut-off-Wert für eine untersucherunabhängige Differenzierung zwischen benignen und malignen Läsionen festgelegt. Acht Patientinnen mussten von der Datenauswertung ausgeschlossen werden. Insgesamt wurden 14 Brüste mit malignen Läsionen, 8 Brüste mit benignen Läsionen und drei gesunde Brüste analysiert. Die cut-off-basierte PTA-Analyse führte zur korrekten Detektion von 12 der 14 malignen Läsionen (Tumorgröße 8 - 80 mm; Sensitivität = 85,7 %). Zwei maligne Läsionen wurden nicht erkannt. In der benignen Studiengruppe wurde lediglich ein Fibroadenom detektiert (Spezifität = 91 %). PTA-Werte unterschieden sich signifikant für die benigne und maligne Studiengruppe (Mann-Whitney U Test, $p < 0,05$). Brüste mit malignen Läsionen zeigten höhere Peaks zu früheren Zeitpunkten in der ICG-Perfusion. Die frühe Perfusionsanalyse in der ICG-gestützten optischen 3-D-Mammographie konnte unterschiedliche Muster der Kontrastmittelaufnahme in benignen und malignen Läsionen aufzeigen. Dieser Ansatz könnte der Detektion maligner Brustläsionen und der Abgrenzung zu benignen Herden dienen.

Nir-Bildgebung mit exstrinsischem Kontrastmittel Omocianine

Publikation 6 - NIR-Bildgebung mit Omocianine

Near-Infrared Imaging of the Breast Using Omocianine as a Fluorescent Dye: Results of a Placebo Controlled, Clinical Multicenter Trial.

Poellinger A, Persigehl T, Mahler M, Bahner M, Ponder SL, Diekmann F, Bremer C, Moesta T.

Invest Radiol. 2011 Jul 22.

http://journals.lww.com/investigativeradiology/Abstract/publishahead/Near_Infrared_Imaging_of_the_Breast_Using.99696.aspx

Ziel der Arbeit war die Evaluation des neuen Nahinfrarot Kontrastmittels Omocianine für die Detektion von malignen Brustläsionen im Rahmen einer Placebo-kontrollierten Multi-Center Studie mit Dosisescalation.

Die Fluoreszenzbildgebung erwies sich über alle Dosisgruppen der Absorptionsbildgebung hinsichtlich der Sensitivität überlegen. Die Detektionsraten für Malignome erreichte z.B. im Fluoreszenzmodus für die Dosisgruppe 0.1 mg/kg 100%. Die Ergebnisse variierten sowohl für die Absorptions- als auch die Fluoreszenzbildgebung zwischen den einzelnen Dosisgruppen sehr stark. Die Sensitivität für kleinere Brüste war über alle Dosisgruppen in der Fluoreszenzbildgebung mit ca. 69,2% größer als für große Brüste mit einer Sensitivität von ca. 46,2%. Es zeigte sich zudem eine bessere Detektion von oberflächlich lokalisierten Malignomen. Größere Malignome wurden besser detektiert als kleine. Diese ersten Daten zeigen, dass eine Detektion maligner Läsionen mit dem Kontrastmittel Omocianine möglich ist. Aufgrund der starken Variationen zwischen den verschiedenen Kontrastmittelkonzentrationen müssen noch weitere Arbeiten erfolgen, um die geeignete Dosis von Omocianine für die NIR-Bildgebung zu finden.

Diskussion und Schlussfolgerungen

Gegenüber etablierten Verfahren zur Mammadiagnostik bietet die optische Bildgebung einige entscheidende Vorteile: mit der optischen Mammographie können klinisch relevante Informationen über die Zusammensetzung des Brustdrüsenparenchyms (z.B. Fett- und Wassergehalt) und physiologische Informationen wie Hämoglobingehalt oder Sauerstoffsättigung gewonnen werden (28, 35, 92-95). Durch Verwendung von Licht, also niederenergetischer elektromagnetischer Wellen, ergibt sich die Möglichkeit, auch jüngere Patientinnen zu untersuchen (96), ohne sie der Gefahr ionisierender Strahlen auszusetzen. Patientinnen, die aufgrund einer genetischen Disposition ein erhöhtes Risiko für durch ionisierende Strahlen induzierte DNA-Doppelstrangbrüche aufweisen, könnten ebenfalls von der optischen Bildgebung profitieren (97). Zudem kann die optische Mammographie ohne Schaden für die Patienten so häufig wie gewünscht durchgeführt werden, eine wichtige Voraussetzung z.B. beim Monitoring einer neoadjuvanten Chemotherapie (98, 99). Die fehlende oder nur geringe Kompression der Brust bei der Bildakquisition mit optischer Mammographie ermöglicht für die untersuchten Frauen einen Zugewinn an Komfort, der möglicherweise die Patienten-Compliance erhöhen kann (100). Die optische Bildgebung weist zudem eine beträchtlich höhere Sensitivität gegenüber geringen Kontrastmittelkonzentrationen auf als Röntgenverfahren oder die MR-Tomographie (19). Schließlich sind ökonomische Faktoren zu erwägen: Optische Scanner können vergleichsweise günstig hergestellt werden, auch der Betrieb ist im Vgl. z.B. zur MR-Tomographie deutlich kosteneffektiver (63).

Die Vorteile eines jeden neuen Verfahrens müssen sich jedoch an der diagnostischen Genauigkeit messen. Die ersten Studien, die im Rahmen der vorliegenden Arbeit durchgeführt wurden, sollten eine Aussage über die Machbarkeit und die diagnostische Performance der optischen Mammographie, basierend auf intrinsischem Kontrast (Hämoglobin), liefern. An einem kleineren Patientenkollektiv von 82 Patientinnen, durchgeführt mit einem kommerziell erhältlichen Scanner, konnte ein Vorteil in der diagnostischen Genauigkeit der Kombination aus Röntgenmammographie und optischer Bildgebung gegenüber der

Röntgenmammographie alleine gezeigt werden (Publikation 1) (47). Limitationen der Studie lagen im Design, das nur einen Reader vorsah, sowie in der relativ geringen Anzahl eingeschlossener Patientinnen (N = 82). Um den individuellen Einfluss der Reader bei der Interpretation zu minimieren und um die Aussagefähigkeit basierend auf einem größeren Patientenkollektiv zu erhöhen, wurde die Folgestudie als Multi-Reader Studie (4 Reader) an 276 Patientinnen geplant. In dieser Studie wurde zwar wiederum eine gering bessere diagnostische Genauigkeit der Kombination aus Röntgenmammographie und optischer Mammographie gegenüber der Röntgenmammographie alleine gefunden (Sensitivität für das Kombinationsverfahren vs. Röntgenmammographie alleine: 75.96% vs. 74.52%, Spezifität 78.24% vs. 77.23%), das Ergebnis war jedoch nicht mehr signifikant (Publikation 2). Ein signifikanter diagnostischer Benefit der optischen Mammographie basierend auf intrinsischen Kontrasten als Zusatzverfahren zur Röntgenmammographie konnte für dieses Verfahren also nicht nachgewiesen werden.

Die in den vergangenen Jahren zur optischen Mammographie veröffentlichten Studien zeichnen ein kontroverses Bild: Mehrere Forscher konnten mit optischen Verfahren eine Steigerung der diagnostischen Genauigkeit erzielen: Unter Verwendung der diffusen optischen Spektroskopie (DOS) zeigten Cerussi et al. (101), dass sich intrinsische physiologische Merkmale für Malignome signifikant vom normalen Brustdrüsenparenchym unterschieden: maligne Läsionen wiesen in allen Fällen einen verminderten Lipidgehalt sowie einen erhöhten Wasser-, Desoxy- und Oxyhaemoglobingehalt im Vergleich zum normalen Brustdrüsenparenchym auf. Auch Zhu et al. (34) und Fang et al. (50) fanden signifikante Unterschiede in der Hämoglobinkonzentration zwischen malignen und benignen Läsionen.

Interessanterweise konnten Fang et al. nur signifikante Unterschiede in der Hämoglobinkonzentration zwischen malignen Läsionen und dem umgebenden nicht erkrankten Brustdrüsenparenchym, jedoch nicht zwischen malignen Läsionen und nicht-erkranktem Brustdrüsengewebe der Gegenseite oder anderen nicht erkrankten Brüsten nachweisen. Dies bedeutet, dass die Hämoglobinkonzentration, selbst wenn quantitativ gemessen, höchstwahrscheinlich nicht alleine zur Dignitätsbeurteilung verwendet werden kann. In einer Studie an 154 Patienten zeigten Rinneberg et al., dass 92 der 102 Karzinome mit optischer Mammographie detektiert werden konnten (Sensitivität ca. 90%), jedoch nur 72 sowohl in der

craniocaudalen und mediolateralen Projektion (Sensitivität ca. 70%) (48). Floery et al. fanden in einer Studie mit einem CW optischen Mammographiegerät, in der die Reader bezüglich der Histologie verblindet waren, eine vergleichsweise niedrige Detektionsrate von ca. 70% für maligne Brustläsionen (49) (bei einer Detektionsrate von ca. 30% für benigne Läsionen). Die Beurteilung der Wertigkeit der auf intrinsischen Kontrasten basierenden optischen Mammographie wird dadurch erschwert, dass die meisten Studien retrospektiv und oft nicht verblindet durchgeführt wurden. In einer Übersichtsarbeit, in der 2000 Fälle aus verschiedenen Studien über optische Mammographie verglichen wurden, konnten Leff et al. feststellen, dass nur ca. 85% der malignen Läsionen mit der optischen Mammographie detektierbar waren (63). Die verschiedenen Techniken (Continuous wave, frequency domain oder time-domain) schienen dabei keine großen Auswirkungen auf die diagnostische Genauigkeit zu haben (63).

Die hier vorgestellte Studie (Publikation 2) zeichnet sich gegenüber den bislang veröffentlichten Studien zur optischen Mammographie nicht nur durch die größte Anzahl an Patienten ($N > 270$) aus, die für eine Studie zur optischen Mammographie rekrutiert wurden, es ist auch die einzige Studie, in der eine Multi-Reader ROC-Analyse durchgeführt wurde.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass die auf intrinsischen Kontrasten basierende optische Mammographie nach heutiger Datenlage nicht als eigenständiges Verfahren für die Mammadiagnostik geeignet scheint. In Kombination mit etablierten Verfahren (Mammographie/Ultraschall/MRT) können jedoch diagnostisch wertvolle Informationen erhalten werden. Insbesondere die in mehreren Studien vorgestellten Handheld-Geräte könnten in Kombination mit Ultraschall eine Steigerung der Spezifität erzielen. Ein interessanter Ansatz ist auch die Verwendung intrinsischer Kontraste zum Therapiemonitoring bei neoadjuvanter Chemotherapie (98).

Die eingeschränkte diagnostische Genauigkeit der auf intrinsischen Kontrasten basierenden optischen Mammographie veranlasste uns, nach Möglichkeiten einer extrinsischen Kontrastverstärkung zu suchen. Eine extrinsische Kontrastverstärkung kann durch eine Verstärkung der Absorption oder der Fluoreszenz erfolgen.

Zwei Studien wurden mit dem Kontrastmittel Indocyaningrün (ICG) durchgeführt, das in einer Studie als Fluoreszenzkontrastmittel, in einer zweiten zur Verstärkung der Absorption verwendet wurde. In einer weiteren Kontrastmittelstudie kam das neue optische Kontrastmittel Omocianine zum Einsatz.

In der ersten Studie wurde frühe und späte Fluoreszenz mit einem zeitaufgelösten Verfahren untersucht (Publikation 3 und 4) (53, 58). Zwei Innovationen führten bei dieser Studie zu einem deutlich besseren Kontrast zwischen malignen Läsionen und dem umgebenden Brustdrüsenparenchym: Erstens konnte durch die Erzeugung von Absorptions-korrigierten Fluoreszenzaufnahmen der inhomogene Hintergrund, bestehend hauptsächlich aus Blutgefäßen und Brustdrüsengewebe, weitgehend homogenisiert werden. Zweitens wurden Konzentrationsunterschiede von ICG im Gewebe in den Spätaufnahmen ausgenutzt. Da ICG im Plasma sehr rasch an Makromoleküle mit einem Molekulargewicht von über 60 kDa bindet (102-105), fungiert es als makromolekulares Kontrastmittel. Tumorgefäße weisen größere Poren als Gefäße in gesundem Gewebe auf, die auch größeren Molekülen mit einem Molekulargewicht von über 50 kDa eine Extravasation ermöglichen. Dieses auch EPR-Effekt (enhanced permeability and retention) genannte Phänomen ist in erster Linie für die erhöhte Konzentration von ICG aufgrund von Extravasation durch die Gefäßporen verantwortlich (106). In gesundem Gewebe ist eine Extravasation aufgrund der kleineren Poren für Makromoleküle mit einem Molekulargewicht von mehr als ca. 20 kDa nicht möglich (107). Die über eine Zeit von ca. 25 min mittels eines Perfusors durchgeführte ICG-Gabe sollte über die längere Zirkulation des Kontrastmittels im Blut bewirken, dass eine größere Menge ICG in den Tumor austreten konnte. ICG wird aus dem Blut durch die Leber mit einer kurzen Plasmahalbwertszeit von ca. 150-180 sec. eliminiert (91). In den Spätaufnahmen, ca. 25 min nach Ende der Kontrastmittel-Applikation, ist ICG nahezu komplett aus dem Blut ausgewaschen und die ICG-Konzentration im nicht erkrankten Gewebe geht gegen Null. Das verbleibende Fluoreszenzsignal rührt somit ausschließlich vom extravasierten ICG her, es resultiert ein hoher Fluoreszenzkontrast zwischen Malignomen und dem umgebenden Gewebe. Wir maßen für die Spätaufnahmen Tumor-zu-Hintergrund Kontraste von ca. 64%, während der Kontrast für die Aufnahmen, die während der Kontrastmittelapplikation akquiriert wurden, im Mittel ca. 25% betrug. Für diese Studie fand sich eine im Vergleich zur Röntgenmammographie deutlich höhere Spezifität in den

Fluoreszenzspätaufnahmen im Vergleich zur Röntgenmammographie (75% vs. 25%) bei ähnlicher Sensitivität. Die späte Fluoreszenzmammographie erscheint somit als interessantes Zusatzverfahren zur Röntgenmammographie.

Die hier vorgestellte Studie unterscheidet sich von bislang veröffentlichten Untersuchungen mit ICG auch darin, dass zum ersten Mal Extravasationsvorgänge von ICG analysiert wurden. Weder Ntziachristos et al. (55) noch Intes et al. (54) nutzten die Extravasation von ICG aus. In der Studie von Ntziachristos an 3 Fällen wurde die ICG-Absorption nur über einen Zeitraum von 5 min nach ICG-Bolus gemessen, in dem noch der größte Teil des ICG in den Blutgefäßen vorhanden war. Somit wirkt das Kontrastmittel nur als Absorptionsverstärker des Hämoglobins. Die geringe zeitliche Auflösung ließ auch keine Perfusionsanalyse zu. Intes et al. maßen ebenfalls nur 3 Fälle, davon 2 maligne Tumoren. Die von Intes beschriebene verzögerte Kontrastmittelanflutung in den Malignomen im Vergleich zu der rascheren Anflutung benignen Läsion als auch zum nicht-erkrankten Drüsengewebe steht im Widerspruch zu unseren schnellen optischen Messungen mit ICG (Publikation 5). Auch die bekannten Beobachtungen aus der MRT-Mammographie, in denen ein schnelleres Anfluten des Kontrastmittels Gd-DTPA in Malignomen gefunden wird (108), sind dazu konträr.

In einer Studie von Corlu et al., in der erstmals die ICG-Fluoreszenz im Brustgewebe (ebenfalls von nur 3 Patientinnen) erfasst wurde (57), wurde ein um den Faktor 2 bis 4 höherer Kontrast für die rekonstruierte ICG-Konzentration als für die Hämoglobinkonzentration beschrieben. Diese Ergebnisse stehen im Widerspruch zu ICG-Absorptionsmessungen, die von der PTB durchgeführt wurden (56). In den Ergebnissen von Corlu ist der Kontrast im Streukoeffizienten immer wesentlich größer als der Kontrast in der Hb-Konzentration. Eine größere Studie, in der 87 Patientinnen untersucht wurden, zeigte dagegen ein umgekehrtes Bild (67).

Von der MRT-Bildgebung der Brust ist bekannt, dass die Analyse des frühen Kontrastmittelverhaltens entscheidende Hinweise für das Vorliegen eines malignen oder benignen Geschehens liefern kann (108-110): Malignome zeigen in der ersten Minute in der Regel ein deutlich rascheres Kontrastmittelenhancement als benigne Läsionen. Die Analyse des frühen und sehr frühen Kontrastmittelenhancements mit optischer Mammographie ist aus folgenden Gründen interessant.

1. Trotz der weiteren technischen Entwicklung der MR-Technologie ist eine so hohe zeitliche Auflösung wie bei optischen Verfahren noch nicht möglich (111, 112). Mit dem in dieser Studie verwendeten optischen Tomographen war eine zeitliche Auflösung von zwei vollen 3D Datensätzen pro Sekunde (2 Hz) möglich. 2. Das Kontrastmittel ICG unterscheidet sich durch die schnelle und starke Proteinbindung von Gadolinium-DTPA bezüglich der Verteilung in verschiedenen Kompartimenten und kann als Blood-pool Kontrastmittel angesehen werden (113). Ultraschnelle MRT-Bildgebung der Brust erbrachte bislang keinen diagnostischen Benefit (111). In unserer Studie zur Analyse der frühen Kontrastmitteldynamik mit optischer Mammographie sollte untersucht werden, ob sich die sehr schnelle Bildakquisition als diagnostisches verwenden lassen könnte (Publikation 5). Es zeigten sich signifikante Unterschiede der Kontrastmittelkinetik zwischen malignen und benignen Läsionen innerhalb der ersten 10 sec., wobei in Brüsten mit einem Malignom frühe Peaks mit hohen Amplituden gefunden wurden. Mit der Kombination von Perfusionsparametern wie der Time-to-Peak (TTP) oder der Peak Amplitude (PA) konnte die Gruppe der Malignome von der Gruppe der benignen Läsionen mit guter diagnostischer Genauigkeit unterschieden werden (Sensitivität: 85,7%, Spezifität: 87,5%). Wichtig anzumerken ist, dass die Analyse nicht durch eine subjektive Einschätzung der NIR-Bilder durch einen Reader erfolgte, sondern es sich hierbei um eine Reader-unabhängige Analyse basierend auf einem cut-off Wert, der in einer ROC-Analyse bestimmt wurde, handelt.

Eine Erklärung für den schnellen Signalanstieg in Brüsten mit malignen Läsionen könnte in der höheren Gefäßdichte liegen, die in malignem im Vergleich zu benignem Gewebe gefunden wird (114-116).

Unsere Ergebnisse sind mit den Resultaten einer Studie von Alacam et al. konsistent, in denen die ICG Pharmakokinetik an einem Zweikompartimentmodell untersucht wurde (52). Auch Alacam fand ein verzögertes Kontrastmittelenhancement in einem Fibroadenom im Vergleich zu den untersuchten malignen Läsionen.

Die optische Mammographie kann möglicherweise stark von der molekularen Bildgebung, die derzeit hauptsächlich noch in Tierexperimenten durchgeführt wird, profitieren. Es gibt eine Vielzahl von Ansätzen, um NIR Kontrastmittel spezifischer

für die Tumorbildgebung zu gestalten (117, 118). Zum einen können Targeting-Gruppen an die fluoreszierenden Moleküle gekoppelt werden, wie zum Beispiel Peptide, Proteine, Aptamer- und Antikörper-Liganden. Eine alternative Strategie zur Steigerung der Spezifität kann durch ein Kontrastmitteldesign erreicht werden, bei der die Wechselwirkung mit dem Zielgewebe über eine chemische Reaktion (z.B. enzymatische Spaltung oder Oxidation) das Einschalten der Sonde aus einem nicht- oder schwach fluoreszierenden Zustand in einen stark emittierenden bewirkt (117). So zeigten Bremer et al. im Mausmodell, dass eine enzymatisch gesteuerte Aktivierung von fluoreszierenden Proben eine bis 1,5-fach höhere Fluoreszenz in undifferenzierten Mammakarzinomen im Vergleich zu gut differenzierten verursachte (119, 120).

Auch die optische Mammographie ist durch die Gesetze der Physik limitiert. Das Signal-Rausch-Verhältnis wird bei einer Dicke des untersuchten Gewebes von mehr als 10 cm auch im sogenannten optischen Fenster von 700 - 1000 nm so klein (121), dass die Frage bleibt, ob geometrische Ansätze zur Untersuchung der Brust ohne Kompression sinnvoll sind. Es ist davon auszugehen, dass sich eine geringe Kompression auch bei optischen Mammographiegeräten nicht vermeiden lassen wird. Neue Designansätze, die über die zweidimensionale Darstellung hinausgehen und dreidimensionale Aufnahmen ermöglichen, tragen diesen Überlegungen bereits Rechnung (122).

Klinische Implikationen

Die hier vorgestellten Ergebnisse unterstreichen die Studienergebnisse anderer Forschungsgruppen, die zeigen, dass die diffuse optische Mammographie basierend auf intrinsischem Kontrast zum aktuellen Zeitpunkt keine ausreichende diagnostische Genauigkeit aufzuweisen scheint, um als Einzelverfahren eine Rolle im klinischen Setting einzunehmen. In der Kombination mit etablierten Verfahren wie Röntgenmammographie oder Ultraschall ergeben sich jedoch interessante Anwendungsmöglichkeiten, insbesondere zur Erhöhung der Spezifität. Auch zum Therapiemonitoring von neoadjuvanter Chemotherapie lässt sich die optische Mammographie gut einsetzen.

Die Verwendung optischer Kontrastmittel steigert die diagnostische Wertigkeit der optische Mammographie erheblich. Obwohl die Datenlage hier noch spärlich ist und derzeit insgesamt nur ca. 10 Studien (davon 3 aus unserer Arbeitsgruppe) zur kontrastverstärkten optischen Mammographie vorliegen (pubmed-Recherche), sind die Ergebnisse doch so positiv, dass dieses Verfahren nicht nur als Zusatzverfahren für die etablierten Bildgebung zur Steigerung der Spezifität gesehen werden kann, sondern möglicherweise auch eine Perspektive als primäres Diagnostikverfahren bei jungen Frauen oder bei Frauen mit dichtem Drüsenparenchym besteht. Dies trifft insbesondere für die späte Fluoreszenzmammographie mit dem Kontrastmittel ICG zu.

Mit Weiterentwicklung der Fluoreszenzkontrastmittel, insbesondere auch im Hinblick auf die beeindruckenden Ergebnisse der molekularen Bildgebung, und mit weiterer Optimierung der optischen Scanner könnte die optische Mammographie eine klinisch relevante Rolle spielen und helfen, durch frühere und genauere Erkennung von Brustkrebs die Prognose für betroffene Frauen zu verbessern.

ZUSAMMENFASSUNG

Das Mammakarzinom ist die häufigste Krebserkrankung der Frau in der westlichen Welt. Die Nachteile etablierter Verfahren zur Mammadiagnostik geben Anlass zur Suche nach alternativen Bildgebungsmethoden, von denen die diffuse optische Bildgebung (DOI, diffuse optical imaging) einen Ansatz darstellt.

Die vorliegende Arbeit hat sich zum Ziel gesetzt, 1. Machbarkeit und diagnostische Genauigkeit der optischen Mammographie basierend auf intrinsischem Kontrast zu evaluieren, 2. frühe und späte Fluoreszenzbildgebung sowie 3. das frühe Perfusionsverhalten mit dem optischen Kontrastmittel Indocyaningrün zu beurteilen und 4. eine Einschätzung der Nahinfrarot Brustbildgebung unter Verwendung des Fluoreszenzkontrastmittels Omocyanine durchzuführen.

In den ersten Studien wurde versucht, mit diffuser optischer Tomographie (DOT) über die Darstellung intrinsischen Kontrasts eine Unterscheidung zwischen malignen und benignen Läsionen zu erzielen. In einer Machbarkeitsstudie konnten wir zunächst nachweisen, dass sich die optische Mammographie basierend auf der Hämoglobinabsorption zur Bildgebung von Brustläsionen einsetzen lässt (Publikation 1). In einer zweiten, größer angelegten Multireader Studie an mehr als 270 Fällen mit einem optischen Mammographiegerät zur Messung der Hämoglobinabsorption, das als Zusatzverfahren zur Röntgenmammographie eingesetzt wurde, zeigte sich im Vergleich zur Röntgenmammographie alleine jedoch kein signifikanter diagnostischer Benefit für das Kombinationsverfahren im Vergleich zur Röntgenmammographie alleine (Publikation 2).

Konsequenterweise wurden die nächsten Studien unter Verwendung extrinsischer Kontrastmittel durchgeführt. In der ersten Studie sollte die Brustkrebsdetektion sowie die Differenzierung zwischen malignen und benignen Läsionen mittels früher und später Nahinfrarot (NIR) Fluoreszenzbildgebung von ICG getestet werden (Publikationen 3 und 4). Die Absorptions-korrigierten Fluoreszenzaufnahmen zeigten einen hohen Kontrast zwischen Malignomen und dem umliegenden Brustdrüsenparenchym (25 - 64%). Sensitivität und Spezifität betragen ca. 92% und 75% für die Fluoreszenz Verhältnis-Aufnahmen in Gegensatz zu 100% und 25% für die Röntgenmammographie-Aufnahmen alleine.

Die zweite Studie, die mit ICG durchgeführt wurde, befasste sich mit schneller 3D Bildgebung zur Detektion und Charakterisierung von Brustläsionen (Publikation 5).

Die Perfusionsanalyse der ersten 10 Sekunden zeigte unterschiedliche Kontrastmittel-Anflutungsmuster für benigne und maligne Läsionen. Es wurden 12 von 14 malignen Läsionen korrekt detektiert (Sensitivität = 85,7%) und eine Spezifität von ca. 91,0% erreicht.

In einer weiteren Studie wurde die Wirksamkeit eines neu entwickelten Kontrastmittels Omocianine für die NIR-Bildgebung getestet (Publikation 6). Eine Multicenter-Studie konnte die Machbarkeit der Methode aufzeigen. Für eine von 5 Dosisgruppen wurde eine sehr gute Sensitivität von 100% gefunden. Für die anderen, inklusive der benachbarten, Dosisgruppen zeigten sich jedoch deutlich niedrigere Werte, so dass weitere Studien für eine Dosisfindung notwendig sind.

Die in dieser Arbeit vorgestellten Ergebnisse unterstreichen Forschungen anderer Gruppen, die zeigen, dass die optische Mammographie basierend auf intrinsischem Kontrast nicht für die primäre Diagnose des Mammakarzinoms geeignet zu sein scheint.

Die kontrastmittelverstärkte optische Mammographie kann die diagnostische Genauigkeit deutlich erhöhen und erscheint somit zumindest als Zusatzverfahren einsetzbar. Mit weiterer Verbesserung der optischen Scanner sowie Entwicklung spezifischer Kontrastmittel ist die optische Mammographie auch als primäres diagnostisches Verfahren, z.B. bei Frauen mit dichtem Drüsenparenchym denkbar.

LITERATURVERZEICHNIS

1. Siegel R, Ward E, Brawley O, Jemal A. Cancer statistics, 2011: The impact of eliminating socioeconomic and racial disparities on premature cancer deaths. *CA Cancer J Clin.* 2011;61(4):212-36.
2. Krebs in Deutschland 2005/2006. Häufigkeiten und Trends: Robert Koch-Institut und Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e.V., 2010.
3. Katalinic A, Rawal R. Decline in breast cancer incidence after decrease in utilisation of hormone replacement therapy. *Breast Cancer Res Treat.* 2008;107(3):427-30.
4. Levi F, Te VC, Maspoli M, Randimbison L, Bulliard JL, La Vecchia C. Trends in breast cancer incidence among women under the age of forty. *Br J Cancer.* 2007;97(7):1013-4.
5. Ravdin PM, Cronin KA, Howlader N, et al. The decrease in breast-cancer incidence in 2003 in the United States. *N Engl J Med.* 2007;356(16):1670-4.
6. Kumle M. Declining breast cancer incidence and decreased HRT use. *Lancet.* 2008;372(9639):608-10.
7. Ponti A, Rosso S, Zanetti R, Ricceri F, Tomatis M, Segnan N. Re: Breast cancer incidence, 1980-2006: combined roles of menopausal hormone therapy, screening mammography, and estrogen receptor status. *J Natl Cancer Inst.* 2007;99(23):1817-8; author reply 9.
8. Soerjomataram I, Louwman MW, Ribot JG, Roukema JA, Coebergh JW. An overview of prognostic factors for long-term survivors of breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 2008;107(3):309-30.
9. Carter CL, Allen C, Henson DE. Relation of tumor size, lymph node status, and survival in 24,740 breast cancer cases. *Cancer.* 1989;63(1):181-7.

10. Tabar L, Vitak B, Chen TH, et al. Swedish Two-County Trial: Impact of Mammographic Screening on Breast Cancer Mortality during 3 Decades. *Radiology*. 2011.
11. Pisano ED, Gatsonis C, Hendrick E, et al. Diagnostic performance of digital versus film mammography for breast-cancer screening. *N Engl J Med*. 2005;353(17):1773-83.
12. Warner E, Messersmith H, Causer P, Eisen A, Shumak R, Plewes D. Systematic review: using magnetic resonance imaging to screen women at high risk for breast cancer. *Annals of internal medicine*. 2008;148(9):671-9.
13. Tromberg BJ, Pogue BW, Paulsen KD, Yodh AG, Boas DA, Cerussi AE. Assessing the future of diffuse optical imaging technologies for breast cancer management. *Med Phys*. 2008;35(6):2443-51.
14. Boppart SA, Luo W, Marks DL, Singletary KW. Optical coherence tomography: feasibility for basic research and image-guided surgery of breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. 2004;84(2):85-97.
15. Gu X, Zhang Q, Larcom L, Jiang H. Three-dimensional bioluminescence tomography with model-based reconstruction. *Opt Express*. 2004;12(17):3996-4000.
16. Intes X, Chance B. Non-PET functional imaging techniques: optical. *Radiol Clin North Am*. 2005;43(1):221-34, xii.
17. Gibson AP, Hebden JC, Arridge SR. Recent advances in diffuse optical imaging. *Phys Med Biol*. 2005;50(4):R1-43.
18. Hielscher AH. Optical tomographic imaging of small animals. *Curr Opin Biotechnol*. 2005;16(1):79-88.
19. Pogue BW, Leblond F, Krishnaswamy V, Paulsen KD. Radiologic and near-infrared/optical spectroscopic imaging: where is the synergy? *AJR Am J Roentgenol*. 2010;195(2):321-32.

20. Tromberg BJ, Cerussi A, Shah N, et al. Imaging in breast cancer: diffuse optics in breast cancer: detecting tumors in pre-menopausal women and monitoring neoadjuvant chemotherapy. *Breast Cancer Res.* 2005;7(6):279-85.
21. Cutler M. Transillumination as an aid in the diagnosis of breast lesions. *Surgery, Gynecology, and Obstetrics.* 1929;48:721-9.
22. Ntziachristos V, Chance B. Probing physiology and molecular function using optical imaging: applications to breast cancer. *Breast Cancer Res.* 2001;3(1):41-6.
23. Bright R. Diseases of the nervous system. Reports of medical cases selected with a view of illustrating the symptoms and cure of diseases by a reference to morbid anatomy. In: Longman, ed. London 1831; p. 431-5.
24. Curling TB. Hydrocele: A Practical Treatise on the Diseases of the Testis, and of the Spermatic Cord and Scrotum. In: Hart Ca, ed. Philadelphia 1843; p. 145-261.
25. Drexler B, Davis JL, Schofield G. Diaphanography in the diagnosis of breast cancer. *Radiology.* 1985;157(1):41-4.
26. Brenner RJ. X-ray mammography and diaphanography in screening for breast cancer. *J Reprod Med.* 1982;27(11):679-84.
27. Grosenick D, Wabnitz H, Rinneberg HH, Moesta KT, Schlag PM. Development of a Time-Domain Optical Mammograph and First in vivo Applications. *Appl Opt.* 1999;38(13):2927-43.
28. Nioka S, Chance B. NIR spectroscopic detection of breast cancer. *Technol Cancer Res Treat.* 2005;4(5):497-512.
29. Spinelli L, Torricelli A, Pifferi A, Taroni P, Danesini GM, Cubeddu R. Bulk optical properties and tissue components in the female breast from multiwavelength time-resolved optical mammography. *J Biomed Opt.* 2004;9(6):1137-42.
30. Shah N, Cerussi A, Eker C, et al. Noninvasive functional optical spectroscopy of human breast tissue. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2001;98(8):4420-5.

31. Pogue BW, Jiang S, Dehghani H, et al. Characterization of hemoglobin, water, and NIR scattering in breast tissue: analysis of intersubject variability and menstrual cycle changes. *J Biomed Opt.* 2004;9(3):541-52.
32. Srinivasan S, Pogue BW, Brooksby B, et al. Near-infrared characterization of breast tumors in vivo using spectrally-constrained reconstruction. *Technol Cancer Res Treat.* 2005;4(5):513-26.
33. Zhu Q, Cronin EB, Currier AA, et al. Benign versus malignant breast masses: optical differentiation with US-guided optical imaging reconstruction. *Radiology.* 2005;237(1):57-66.
34. Zhu Q, Hegde PU, Ricci A, Jr., et al. Early-stage invasive breast cancers: potential role of optical tomography with US localization in assisting diagnosis. *Radiology.* 2010;256(2):367-78.
35. Grosenick D, Moesta KT, Wabnitz H, et al. Time-domain optical mammography: initial clinical results on detection and characterization of breast tumors. *Appl Opt.* 2003;42(16):3170-86.
36. Grosenick D, Wabnitz H, Moesta KT, et al. Concentration and oxygen saturation of haemoglobin of 50 breast tumours determined by time-domain optical mammography. *Phys Med Biol.* 2004;49(7):1165-81.
37. Grosenick D, Wabnitz H, Moesta KT, Mucke J, Schlag PM, Rinneberg H. Time-domain scanning optical mammography: II. Optical properties and tissue parameters of 87 carcinomas. *Phys Med Biol.* 2005;50(11):2451-68.
38. Yates T, Hebden JC, Gibson A, Everdell N, Arridge SR, Douek M. Optical tomography of the breast using a multi-channel time-resolved imager. *Phys Med Biol.* 2005;50(11):2503-17.
39. Taroni P, Torricelli A, Spinelli L, et al. Time-resolved optical mammography between 637 and 985 nm: clinical study on the detection and identification of breast lesions. *Phys Med Biol.* 2005;50(11):2469-88.
40. Ntziachristos V, Yodh AG, Schnall MD, Chance B. MRI-guided diffuse optical spectroscopy of malignant and benign breast lesions. *Neoplasia.* 2002;4(4):347-54.

41. Spinelli L, Martelli F, Del Bianco S, et al. Absorption and scattering perturbations in homogeneous and layered diffusive media probed by time-resolved reflectance at null source-detector separation. *Phys Rev E Stat Nonlin Soft Matter Phys.* 2006;74(2 Pt 1):021919.
42. Spinelli L, Torricelli A, Pifferi A, Taroni P, Cubeddu R. Experimental test of a perturbation model for time-resolved imaging in diffusive media. *Appl Opt.* 2003;42(16):3145-53.
43. Spinelli L, Torricelli A, Pifferi A, Taroni P, Danesini G, Cubeddu R. Characterization of female breast lesions from multi-wavelength time-resolved optical mammography. *Phys Med Biol.* 2005;50(11):2489-502.
44. Srinivasan S, Pogue BW, Carpenter C, et al. Developments in quantitative oxygen-saturation imaging of breast tissue in vivo using multispectral near-infrared tomography. *Antioxid Redox Signal.* 2007;9(8):1143-56.
45. Srinivasan S, Pogue BW, Jiang S, et al. In vivo hemoglobin and water concentrations, oxygen saturation, and scattering estimates from near-infrared breast tomography using spectral reconstruction. *Acad Radiol.* 2006;13(2):195-202.
46. Franceschini MA, Moesta KT, Fantini S, et al. Frequency-domain techniques enhance optical mammography: initial clinical results. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1997;94(12):6468-73.
47. Poellinger A, Martin JC, Ponder SL, et al. Near-infrared laser computed tomography of the breast first clinical experience. *Acad Radiol.* 2008;15(12):1545-53.
48. Rinneberg H, Grosenick D, Moesta KT, et al. Scanning time-domain optical mammography: detection and characterization of breast tumors in vivo. *Technol Cancer Res Treat.* 2005;4(5):483-96.
49. Floery D, Helbich TH, Riedl CC, et al. Characterization of benign and malignant breast lesions with computed tomography laser mammography (CTLM): initial experience. *Invest Radiol.* 2005;40(6):328-35.

50. Fang Q, Selb J, Carp SA, et al. Combined optical and X-ray tomosynthesis breast imaging. *Radiology*. 2011;258(1):89-97.
51. Alacam B, Yazici B, Intes X, Chance B. Analysis of ICG Pharmacokinetics in Cancerous Tumors using NIR Optical Methods. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc*. 2005;1:62-5.
52. Alacam B, Yazici B, Intes X, Nioka S, Chance B. Pharmacokinetic-rate images of indocyanine green for breast tumors using near-infrared optical methods. *Phys Med Biol*. 2008;53(4):837-59.
53. Hagen A, Grosenick D, Macdonald R, et al. Late-fluorescence mammography assesses tumor capillary permeability and differentiates malignant from benign lesions. *Opt Express*. 2009;17(19):17016-33.
54. Intes X, Ripoll J, Chen Y, Nioka S, Yodh AG, Chance B. In vivo continuous-wave optical breast imaging enhanced with Indocyanine Green. *Med Phys*. 2003;30(6):1039-47.
55. Ntziachristos V, Yodh AG, Schnall M, Chance B. Concurrent MRI and diffuse optical tomography of breast after indocyanine green enhancement. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2000;97(6):2767-72.
56. Grosenick D, Moesta KT, Wabnitz H, et al. Near-infrared laser pulse mammography following indocyanine green administration. *European Conference on Biomedical Optics*. Munich2003.
57. Corlu A, Choe R, Durduran T, et al. Three-dimensional in vivo fluorescence diffuse optical tomography of breast cancer in humans. *Opt Express*. 2007;15(11):6696-716.
58. Poellinger A, Burock S, Grosenick D, et al. Breast cancer: early- and late-fluorescence near-infrared imaging with indocyanine green--a preliminary study. *Radiology*. 2011;258(2):409-16.
59. Poellinger A, Persigehl T, Mahler M, et al. Near-Infrared Imaging of the Breast Using Omocyanine as a Fluorescent Dye: Results of a Placebo-Controlled, Clinical, Multicenter Trial. *Invest Radiol*. 2011.

60. van de Ven S, Wiethoff A, Nielsen T, et al. A Novel Fluorescent Imaging Agent for Diffuse Optical Tomography of the Breast: First Clinical Experience in Patients. *Mol Imaging Biol.* 2009.
61. van de Ven S, Wiethoff A, Nielsen T, et al. A novel fluorescent imaging agent for diffuse optical tomography of the breast: first clinical experience in patients. *Mol Imaging Biol.* 2010;12(3):343-8.
62. Leproux A, van der Voort M, van der Mark MB, Harbers R, van de Ven SM, van Leeuwen TG. Optical mammography combined with fluorescence imaging: lesion detection using scatterplots. *Biomed Opt Express.* 2011;2(4):1007-20.
63. Leff DR, Warren OJ, Enfield LC, et al. Diffuse optical imaging of the healthy and diseased breast: a systematic review. *Breast Cancer Res Treat.* 2008;108(1):9-22.
64. Fang Q, Carp SA, Selb J, et al. Combined optical imaging and mammography of the healthy breast: optical contrast derived from breast structure and compression. *IEEE Trans Med Imaging.* 2009;28(1):30-42.
65. Hagen A, Steinkellner O, Grosenick D, et al. Development of a multi-channel time-domain fluorescence mammograph. *Proc SPIE.* 2007;6434:64340Z.
66. Culver JP, Choe R, Holboke MJ, et al. Three-dimensional diffuse optical tomography in the parallel plane transmission geometry: evaluation of a hybrid frequency domain/continuous wave clinical system for breast imaging. *Med Phys.* 2003;30(2):235-47.
67. Grosenick D, Moesta KT, Moller M, et al. Time-domain scanning optical mammography: I. Recording and assessment of mammograms of 154 patients. *Phys Med Biol.* 2005;50(11):2429-49.
68. Dierkes T, Grosenick D, Moesta KT, et al. Reconstruction of optical properties of phantom and breast lesion in vivo from paraxial scanning data. *Phys Med Biol.* 2005;50(11):2519-42.
69. Taroni P, Danesini G, Torricelli A, Pifferi A, Spinelli L, Cubeddu R. Clinical trial of time-resolved scanning optical mammography at 4 wavelengths between 683 and 975 nm. *J Biomed Opt.* 2004;9(3):464-73.

70. Pera VE, Heffer EL, Siebold H, et al. Spatial second-derivative image processing: an application to optical mammography to enhance the detection of breast tumors. *J Biomed Opt.* 2003;8(3):517-24.
71. Gibson A, Dehghani H. Diffuse optical imaging. *Philos Transact A Math Phys Eng Sci.* 2009;367(1900):3055-72.
72. Boverman G, Fang Q, Carp SA, et al. Spatio-temporal imaging of the hemoglobin in the compressed breast with diffuse optical tomography. *Phys Med Biol.* 2007;52(12):3619-41.
73. Jiang S, Pogue BW, Paulsen KD, Kogel C, Poplack SP. In vivo near-infrared spectral detection of pressure-induced changes in breast tissue. *Opt Lett.* 2003;28(14):1212-4.
74. Schmitz CH, R. Ansari, R. Al Abdi, R. Andronica, Y Xu, H. L. Graber, Y. Pei, M. Farber, K. Jagarlamudi, and R. L. Barbour. Simultaneous Bilateral Optical Tomography of Vascular Dynamics of the Breast Using High-Density Sensing Arrays. Poster No and Technical Digest Manuscript No BSuE1 presented at the OSA Biomedical Optics Topical Meeting and Tabletop Exhibit (St Petersburg, FL, USA, March 16-20, 2008). 2008.
75. Grable RJ, Rohler DP, Sastry KLA. Optical tomography breast imaging. *Proc SPIE.* 1997;2979:197-210.
76. Rohler DP, Sastry KLA, Ross S. Method for reconstructing the image of an object scanned with a laser imaging apparatus. US-Patent #6,130,958. 2000.
77. Erickson SJ, Godavarty A. Hand-held based near-infrared optical imaging devices: a review. *Med Eng Phys.* 2009;31(5):495-509.
78. Schmitz CH, M. Löcker, J.M. Lasker, A.H. Hielscher, R.L. Barbour. Instrumentation for fast functional optical tomography. *Review of Scientific Instruments.* 2002;73:429-39
79. Arridge SR, Lionheart WR. Nonuniqueness in diffusion-based optical tomography. *Opt Lett.* 1998;23(11):882-4.

80. Schmidt FE, Hebden JC, Hillman EM, et al. Multiple-slice imaging of a tissue-equivalent phantom by use of time-resolved optical tomography. *Appl Opt.* 2000;39(19):3380-7.
81. Hielscher AH, Bluestone AY, Abdoulaev GS, et al. Near-infrared diffuse optical tomography. *Dis Markers.* 2002;18(5-6):313-37.
82. Mourant JR, Canpolat M, Brocker C, et al. Light scattering from cells: the contribution of the nucleus and the effects of proliferative status. *J Biomed Opt.* 2000;5(2):131-7.
83. Mourant JR, Freyer JP, Hielscher AH, Eick AA, Shen D, Johnson TM. Mechanisms of light scattering from biological cells relevant to noninvasive optical-tissue diagnostics. *Appl Opt.* 1998;37(16):3586-93.
84. Mourant JR, Hielscher AH, Eick AA, Johnson TM, Freyer JP. Evidence of intrinsic differences in the light scattering properties of tumorigenic and nontumorigenic cells. *Cancer.* 1998;84(6):366-74.
85. Zhu Q, Huang M, Chen N, et al. Ultrasound-guided optical tomographic imaging of malignant and benign breast lesions: initial clinical results of 19 cases. *Neoplasia.* 2003;5(5):379-88.
86. Intes X. Time-domain optical mammography SoftScan: initial results. *Acad Radiol.* 2005;12(8):934-47.
87. El-Desoky A, Seifalian AM, Cope M, Delpy DT, Davidson BR. Experimental study of liver dysfunction evaluated by direct indocyanine green clearance using near infrared spectroscopy. *Br J Surg.* 1999;86(8):1005-11.
88. Hansen DA, Spence AM, Carski T, Berger MS. Indocyanine green (ICG) staining and demarcation of tumor margins in a rat glioma model. *Surg Neurol.* 1993;40(6):451-6.
89. Shinohara H, Tanaka A, Kitai T, et al. Direct measurement of hepatic indocyanine green clearance with near-infrared spectroscopy: separate evaluation of uptake and removal. *Hepatology.* 1996;23(1):137-44.

90. Jackson TL. Safety of indocyanine green as a vital stain. *Anesthesiology*. 2004;100(5):1330.
91. Ott P. Hepatic elimination of indocyanine green with special reference to distribution kinetics and the influence of plasma protein binding. *Pharmacol Toxicol*. 1998;83 Suppl 2:1-48.
92. Dehghani H, Pogue BW, Poplack SP, Paulsen KD. Multiwavelength three-dimensional near-infrared tomography of the breast: initial simulation, phantom, and clinical results. *Appl Opt*. 2003;42(1):135-45.
93. Key H, Davies ER, Jackson PC, Wells PN. Optical attenuation characteristics of breast tissues at visible and near-infrared wavelengths. *Phys Med Biol*. 1991;36(5):579-90.
94. Srinivasan S, Pogue BW, Jiang S, et al. Interpreting hemoglobin and water concentration, oxygen saturation, and scattering measured in vivo by near-infrared breast tomography. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003;100(21):12349-54.
95. Tromberg BJ, Shah N, Lanning R, et al. Non-invasive in vivo characterization of breast tumors using photon migration spectroscopy. *Neoplasia*. 2000;2(1-2):26-40.
96. Hebden JC, Delpy DT. Diagnostic imaging with light. *Br J Radiol*. 1997;70 Spec No:S206-14.
97. Colin C, Devic C, Noel A, et al. DNA double-strand breaks induced by mammographic screening procedures in human mammary epithelial cells. *Int J Radiat Biol*. 2011.
98. Choe R, Corlu A, Lee K, et al. Diffuse optical tomography of breast cancer during neoadjuvant chemotherapy: a case study with comparison to MRI. *Med Phys*. 2005;32(4):1128-39.
99. Zhu Q, Kurtzma SH, Hegde P, et al. Utilizing optical tomography with ultrasound localization to image heterogeneous hemoglobin distribution in large breast cancers. *Neoplasia*. 2005;7(3):263-70.

100. Morris N, Balmer B. Are you sitting comfortably? Perspectives of the researchers and the researched on "being comfortable". *Account Res.* 2006;13(2):111-33.
101. Cerussi A, Shah N, Hsiang D, Durkin A, Butler J, Tromberg BJ. In vivo absorption, scattering, and physiologic properties of 58 malignant breast tumors determined by broadband diffuse optical spectroscopy. *J Biomed Opt.* 2006;11(4):044005.
102. Yoneya S, Saito T, Komatsu Y, Koyama I, Takahashi K, Duvoll-Young J. Binding properties of indocyanine green in human blood. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1998;39(7):1286-90.
103. Paumgartner P, Probst P, Kraines R, Leevy CM. Kinetics of indocyanine green removal from the blood. *Ann N Y Acad Sci.* 1970;170:134-47.
104. Ott P, Weisiger RA. Nontraditional effects of protein binding and hematocrit on uptake of indocyanine green by perfused rat liver. *Am J Physiol.* 1997;273(1 Pt 1):G227-38.
105. Sauda K, Imasaka T, Ishibashi N. Determination of protein in human serum by high-performance liquid chromatography with semiconductor laser fluorometric detection. *Anal Chem.* 1986;58(13):2649-53.
106. Maeda H, Matsumura Y. Tumortropic and lymphotropic principles of macromolecular drugs. *Crit Rev Ther Drug Carrier Syst.* 1989;6(3):193-210.
107. Desser TS, Rubin DL, Muller HH, et al. Dynamics of tumor imaging with Gd-DTPA-polyethylene glycol polymers: dependence on molecular weight. *J Magn Reson Imaging.* 1994;4(3):467-72.
108. Heywang-Kobrunner SH, Bick U, Bradley WG, Jr., et al. International investigation of breast MRI: results of a multicentre study (11 sites) concerning diagnostic parameters for contrast-enhanced MRI based on 519 histopathologically correlated lesions. *Eur Radiol.* 2001;11(4):531-46.
109. Kaiser WA, Zeitler E. MR imaging of the breast: fast imaging sequences with and without Gd-DTPA. Preliminary observations. *Radiology.* 1989;170(3 Pt 1):681-6.

110. Fischer U, von Heyden D, Vosshenrich R, Vieweg I, Grabbe E. [Signal characteristics of malignant and benign lesions in dynamic 2D-MRT of the breast]. *Rofo*. 1993;158(4):287-92.
111. Schorn C, Fischer U, Luftner-Nagel S, Grabbe E. Diagnostic potential of ultrafast contrast-enhanced MRI of the breast in hypervascularized lesions: are there advantages in comparison with standard dynamic MRI? *J Comput Assist Tomogr*. 1999;23(1):118-22.
112. Herrmann KH, Baltzer PA, Dietzel M, et al. Resolving arterial phase and temporal enhancement characteristics in DCE MRM at high spatial resolution with TWIST acquisition. *J Magn Reson Imaging*. 2011.
113. Ebert B, Riefke B, Sukowski U, Licha K. Cyanine dyes as contrast agents for near-infrared imaging in vivo: acute tolerance, pharmacokinetics, and fluorescence imaging. *J Biomed Opt*. 2011;16(6):066003.
114. Papadimitrou JM, Woods AE. Structural and functional characteristics of the microcirculation in neoplasms. *J Pathol*. 1975;116(2):65-72.
115. Tsutsui S, Kume M, Era S. Prognostic value of microvessel density in invasive ductal carcinoma of the breast. *Breast Cancer*. 2003;10(4):312-9.
116. Weidner N, Semple JP, Welch WR, Folkman J. Tumor angiogenesis and metastasis--correlation in invasive breast carcinoma. *N Engl J Med*. 1991;324(1):1-8.
117. Hilderbrand SA, Weissleder R. Near-infrared fluorescence: application to in vivo molecular imaging. *Curr Opin Chem Biol*. 2010;14(1):71-9.
118. Weissleder R, Pittet MJ. Imaging in the era of molecular oncology. *Nature*. 2008;452(7187):580-9.
119. Bremer C, Tung CH, Bogdanov A, Jr., Weissleder R. Imaging of differential protease expression in breast cancers for detection of aggressive tumor phenotypes. *Radiology*. 2002;222(3):814-8.

120. Bremer C, Ntziachristos V, Weitkamp B, Theilmeyer G, Heindel W, Weissleder R. Optical imaging of spontaneous breast tumors using protease sensing 'smart' optical probes. *Invest Radiol.* 2005;40(6):321-7.
121. Ntziachristos V, Bremer C, Weissleder R. Fluorescence imaging with near-infrared light: new technological advances that enable in vivo molecular imaging. *Eur Radiol.* 2003;13(1):195-208.
122. Grosenick D, Hagen A, Steinkellner O, et al. A multichannel time-domain scanning fluorescence mammograph: performance assessment and first in vivo results. *Rev Sci Instrum.* 2011;82(2):024302.

LISTE DER IN DER VORLIEGENDEN ARBEIT VERWENDETEN PUBLIKATIONEN

1. Near-infrared laser computed tomography of the breast first clinical experience.

Poellinger A, Martin JC, Ponder SL, Freund T, Hamm B, Bick U, Diekmann F.

Acad Radiol. 2008;15(12):1545-53.

2. Diagnostic Performance of a Near-Infrared Breast Imaging System as Adjunct to Mammography versus X-Ray Mammography alone.

Collettini F, Martin JC, Diekmann F, Fallenberg E, Engelken F, Ponder S, Kroencke TJ, Hamm B, **Poellinger A**.

European Radiology 2011

3. Breast cancer: early- and late-fluorescence near-infrared imaging with indocyanine green--a preliminary study.

Poellinger A, Burock S, Grosenick D, Hagen A, Ludemann L, Diekmann F, Engelken F, Macdonald R, Rinneberg H, Schlag PM.

Radiology. 2011;258(2):409-16.

4. Late-fluorescence mammography assesses tumor capillary permeability and differentiates malignant from benign lesions.

Hagen A, Grosenick D, Macdonald R, Rinneberg H, Burock S, Warnick P, **Poellinger A**, Schlag PM.

Opt Express. 2009;17(19):17016-33.

5. Fast 3D Near-Infrared Breast Imaging using Indocyanine Green.

Schneider P, Piper S, Schmitz C, Schreiter N, Volkwein, N, Diekmann F, Lüdemann L, **Poellinger A.**

accepted RöFo 2011

6. Near-Infrared Imaging of the Breast Using Omocyanine as a Fluorescent Dye:
Results of a Placebo Controlled, Clinical Multicenter Trial.

Poellinger A, Persigehl T, Mahler M, Bahner M, Ponder SL, Diekmann F, Bremer C, Moesta T.

Invest Radiol. 2011 Jul 22.

DANKSAGUNG

An erster Stellen möchte ich Herrn Professor Dr. med. Bernd Hamm danken, meinem Betreuer und Leiter der Radiologie und des CharitéCentrum 6. Er hat diese Arbeit stets gefördert und mir alle wissenschaftlichen Freiheiten bei der Planung und Durchführung gewährt. Besonders möchte ich ihm für seine Unterstützung und seinen Rat in fachlichen wie in strategischen Fragen danken.

Ich möchte folgenden Mitarbeitern der Klinik für Radiologie danken: Vorneweg Herrn PD Dr. med. Felix Diekmann, der die Arbeiten zur optischen Mammographie immer mit Tat, Rat und Rekrutierung unterstützt hat. Darüber hinaus möchte ich den Kollegen aus der Mammadiagnostik für ihre Unterstützung, Studienteilnahme und wertvolle wissenschaftliche Diskussionen danken: Herrn Prof. Dr. med. Ulrich Bick, Frau Dr. med. Eva Fallenberg, Frau Dr. med. Susanne Diekmann, Herrn Dr. med. Florian Engelken und Frau Dr. med. Susan Meier.

Herzlicher Dank geht auch an Herrn Dr. med. Nils Schreiter, Herrn Dr. Federico Collettini, und Herrn PD Dr. med. Thomas Kröncke für die hervorragende Zusammenarbeit.

Den Doktoranden Paul Schneider, Nassia Volkwein und Jan Martin möchte ich für ihr enormes Engagement und die hochmotivierte wissenschaftliche Tätigkeit in der optischen Mammographie danken.

Ganz herzlich möchte ich dem Team der Physikalisch Technischen Bundesanstalt in Berlin danken: Herrn Dr. rer. nat. Dirk Grosenick, Herrn Dr. rer. nat. Axel Hagen, Herrn Prof. Dr. Rainer Macdonald, Herrn Prof. Dr. Herbert Rinneberg und Herrn Prof. Dr. Hans Koch. Ohne ihre exzellente Arbeit wären die Messungen zur Fluoreszenzmammographie mit ICG nicht möglich gewesen.

Mein Dank gilt auch Herrn Prof. Dr. med. Peter Michael Schlag und Frau Susen Burock aus dem Charité Comprehensive Cancer Center (CCCC).

Herzlicher Dank geht an Herrn Dr. rer. nat. Christoph Schmitz und Frau Dipl.-Phys. Sophie Piper für ihre wissenschaftliche Leidenschaft gepaart mit Spass bei dem Projekt der kontrastmittelgestützten schnellen optischen Bildgebung.

Herrn PD Dr. rer. nat. Lutz Lüdemann danke ich für seinen ausgewiesenen fachlichen Rat zu Perfusionsproblemen.

Ich danke Herrn Dr. rer. nat. Steve Ponder von der Firma Imaging Diagnostics aus Fort Lauderdale, USA für seinen hervorragenden Support und für die offene Diskussionen über optische Mammographie und neue Anwendungen. Darüber hinaus möchte ich Frau Deborah O'Brien und Frau Linda Grable für ihre Bereitschaft, ein Forschungsgerät zur Verfügung zu stellen, danken.

Für die Multicenterstudie gilt mein Dank Herrn Dr. med. Thorsten Persigehl, Herrn Prof. Dr. med. Christoph Bremer, Herrn PD Dr. med. Malte Bahner, Frau Marianne Mahler und Herrn PD Dr. med. K. Thomas Moesta. Nur durch die verlässliche Kooperation konnte die Omocianine-Studie entstehen.

Frau Bettina Herwig danke ich für ihre schnelle und unbürokratische Hilfe bei der Editierung und Übersetzung der Manuskripte.

Herzlich danken möchte ich dem Statistiker Herrn Dr. rer. nat. Uwe Malzahn für seine stets freundliche und kompetente Unterstützung in statistischen Fragen.

Ganz herzlicher Dank gilt auch allen MTRAs der Mamma-Diagnostik am Charité Campus Mitte für ihre stets freundliche Hilfe.

Frau Steffi Gerlach und Frau Sandra Köppchen aus dem Mammazentrum sei für ihre Freundlichkeit und Hilfe gedankt.

ERKLÄRUNG

§ 4 Abs. 3 (k) der HabOMed der Charité

Hiermit erkläre ich, dass

- weder früher noch gleichzeitig ein Habilitationsverfahren durchgeführt oder angemeldet wurde,
- die vorgelegte Habilitationsschrift ohne fremde Hilfe verfasst, die beschriebenen Ergebnisse selbst gewonnen sowie die verwendeten Hilfsmittel, die Zusammenarbeit mit anderen Wissenschaftlern/Wissenschaftlerinnen und mit technischen Hilfskräften sowie die verwendete Literatur vollständig in der Habilitationsschrift angegeben wurden,
- mir die geltende Habilitationsordnung bekannt ist.

.....

.....

Datum

Unterschrift