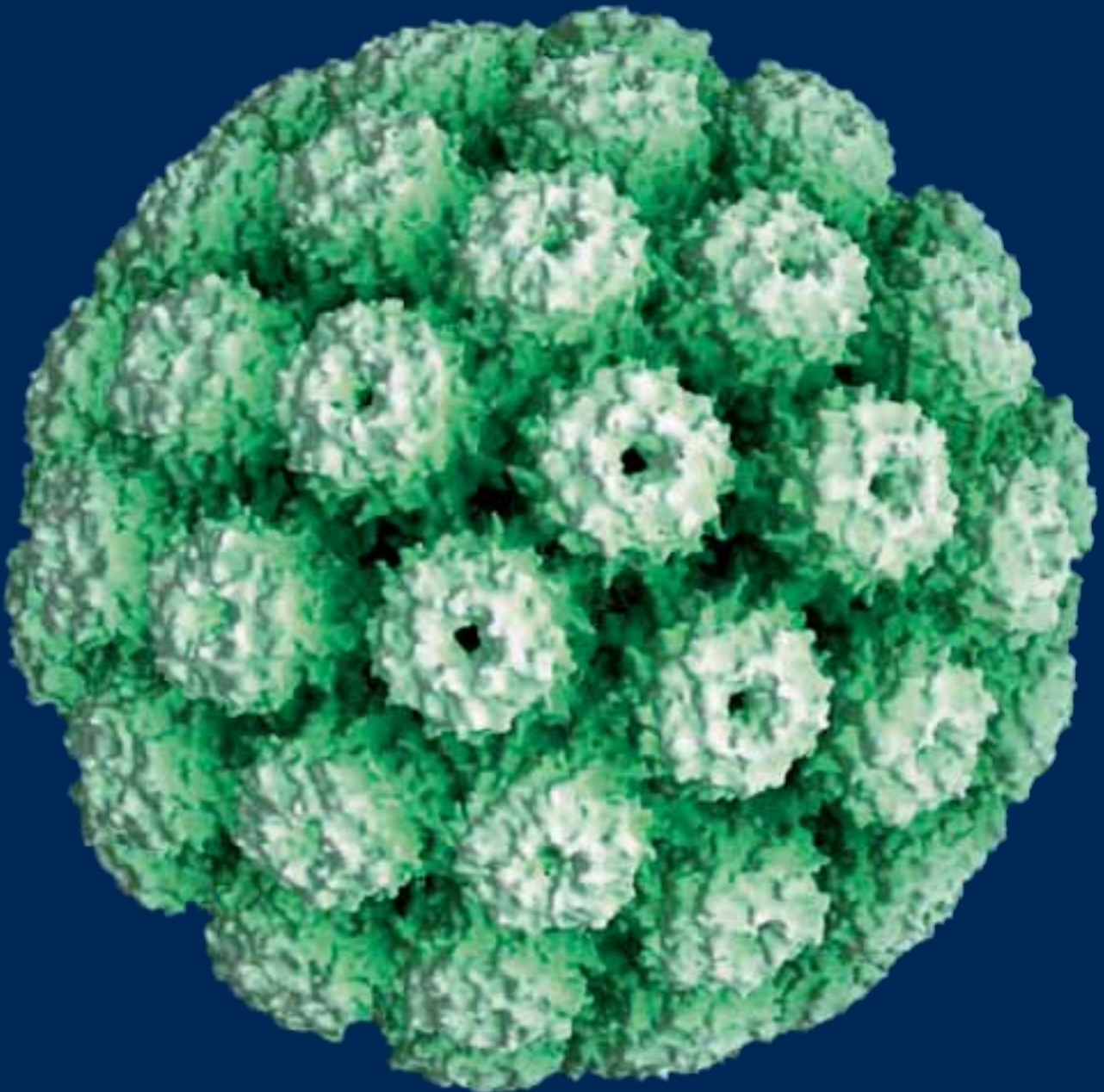


BULLETIN

MAGAZIN DER EIDGENÖSSISCHEN TECHNISCHEN HOCHSCHULE ZÜRICH

**BIOLOGICAL IMAGING –
BILDER VOM LEBEN**



ETH

Eidgenössische Technische Hochschule Zürich
Swiss Federal Institute of Technology Zurich

IMPRESSUM:

HERAUSGEBER:

Schulleitung der ETH Zürich
ETH-Alumni-Vereinigung

REDAKTION:

lic. phil. I Martina Märki-Koepp (mm), Redaktionsleitung
lic. phil. Vanja Lichtensteiger-Cucak (vac), Text- und Bildredaktion
Dr. Felix Würsten, Alumni aktuell
Corporate Communications der ETH Zürich
ETH Zentrum, 8092 Zürich
Tel. 044-632 42 52 Fax 044-632 35 25

INSERATE:

Go! Uni-Werbung, Rosenheimstr. 12
9008 St. Gallen, Tel. 071-244 10 10

GESTALTUNG:

Inform, Agentur für visuelle Kommunikation AG, Zürich

DRUCK:

NZZ Fretz AG, Zürich

AUFLAGE:

Erscheint 4-mal jährlich
Auflage dieser Ausgabe 28 000

INHALT

9_ Ein Zentrum für Sciences and Technologies
ZÜRICH STARK IM BILD

Yves Barral, Markus Rudin und Vahid Sandoghdar

10_ Bildwelten des Lebens
**IN BILDERN DENKEN
MIT BILDERN KOMMUNIZIEREN**

Richard R. Ernst

14_ Wie Bilder vom Gehirn die Sicht auf den Körper verändern
HIRNLISTIGE BILDER

Samuel Brandner

16_ Biologische Bildgebung
SPANNUNGSFELD: RISIKO, KOSTEN, ETHIK

Lutz Jäncke

23_ Multimodales Imaging: Diagnostik,
Verlaufskontrolle und Therapie-Evaluation
DAS RÄTSEL ALZHEIMER

Markus Rudin, Klaas Prüssmann, Peter Bösiger
und Roger Nitsch

26_ Bakterielle Infektionen
«NANO-SPRITZEN» MACHEN KRANK

Markus Schlumberger, Hubert Hilbi und Wolf-Dietrich Hardt

29_ Krebsbiologie und -therapie
WEIST UNS LICHTMIKROSKOPIE DEN WEG?

Caren Norden und Yves Barral

36_ Animal Imaging Center auf dem Campus ETH Hönggerberg
**VON MAKROSKOPISCHEN STRUKTUREN
ZU MOLEKULAREN PROZESSEN**

Markus Rudin und P. August Schubiger

39_ Biomedical Computation & Imaging
**COMPUTERGESTÜTZTE INTERPRETATION
BIOMEDIZINISCHER BILDDATEN**

Gábor Székely, Kevin Boomsma, Petros Koumoutsakos,
Ralph Müller, Dimos Poulidakos und Philipp Stämpfli

44_ Visualisieren, messen und berechnen
KRÄFTESPIELE IN LEBENDEN ZELLEN

Viola Vogel, Yves Barral und Ruth Kroschewski

48_ Infektionskrankheiten
HEIMTÜCKISCHE VIREN AUF LEBENDEN ZELLEN

Ivo F. Sbalzarini, Helge Ewers, Alicia Smith, Ari Helenius
und Petros Koumoutsakos

53_ Renaissance der Lichtmikroskopie
DIE GEBURT DER OPTISCHEN NANOSKOPIE

Andreas Stemmer und Vahid Sandoghdar

57_ Elektronenmikroskopie
**MAKROMOLEKULARE MASCHINEN IN
BEWEGUNG SICHTBAR MACHEN**

Takashi Ishikawa

60_ Synchrotron-Lichtquelle Schweiz (SLS)
**MIT SYNCHROTRONLICHT DIE NANOWELT
ERKUNDEN**

Rafael Abela, Marco Stampanoni, Ralph Müller
und Johannes Friso van der Veen

64_ Magnetresonanz der Atomkerne
**VON DER ATOMAREN EBENE BIS ZUM
GANZEN KÖRPER**

Klaas P. Prüssmann, Peter Bösiger, Markus Rudin,
Beat H. Meier, Christian Degen, Qiong Lin, Andreas Hunkeler
und Urban Meier

67_ ETH-Jubiläum

68_ Alumni Aktuell?



Einsatzbereite Leute unter einem guten Namen

**Bekannte Namen verpflichten: die ETH zu weiteren Spitzenleistungen
in Forschung und Lehre – die Holcim zu hochwertigem Zement, Kies
und Beton.**

Wir gratulieren herzlich zum Jubiläum!

Holcim (Schweiz) AG
Hagenholzstrasse 83
CH-8050 Zürich
Telefon 058 850 68 68
Telefax 058 850 68 69
info-ch@holcim.com
www.holcim.ch

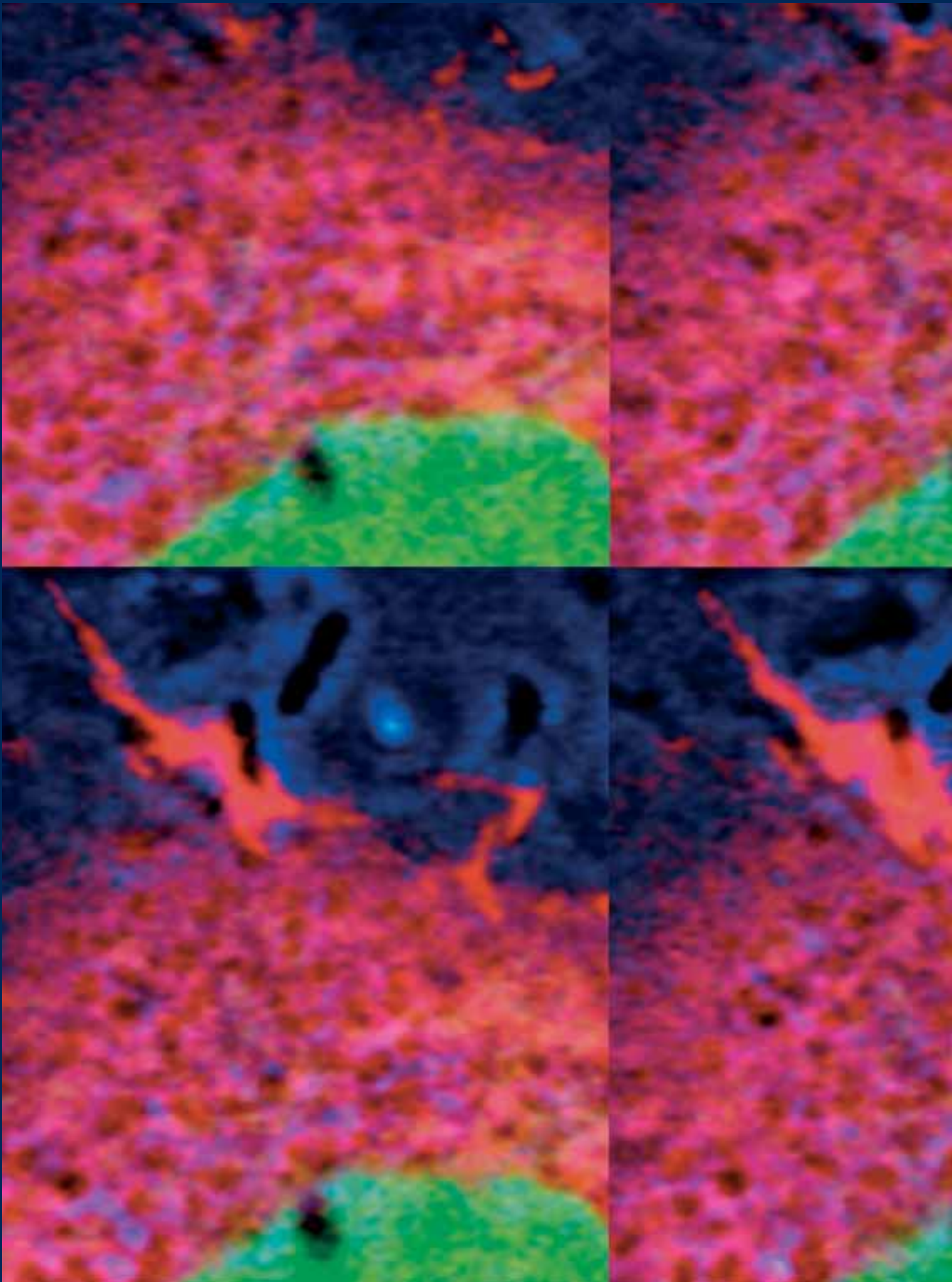
IMAGING: NEUE EINBLICKE INS LEBEN

Die «Röhre» kennt heute fast jeder. Der tomographische Blick in den Körper ist aus der modernen Medizin nicht mehr wegzudenken. Nicht alle aber wissen, dass diese Entwicklung auch eng mit Zürich und der ETH Zürich verbunden ist. Zwei Nobelpreisträger der ETH, Richard Ernst und Kurt Wüthrich, haben Wesentliches zur Entwicklung der Magnetresonanztomographie beigetragen. Diese erstaunliche Methode hat viele Anwendungen. Man kann zum Beispiel die dreidimensionale Struktur von Molekülen bestimmen oder weiches Gewebe wie das Gehirn abbilden.

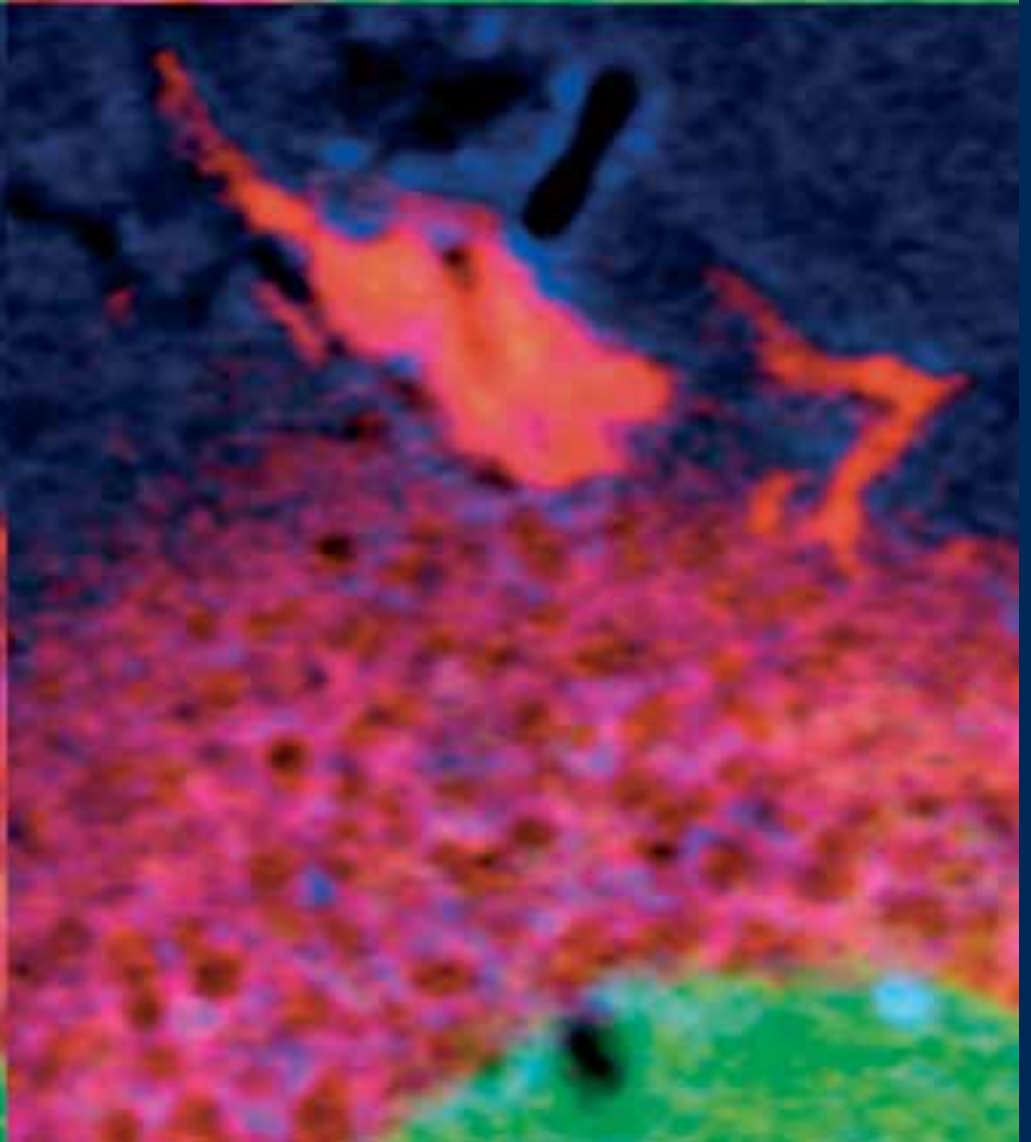
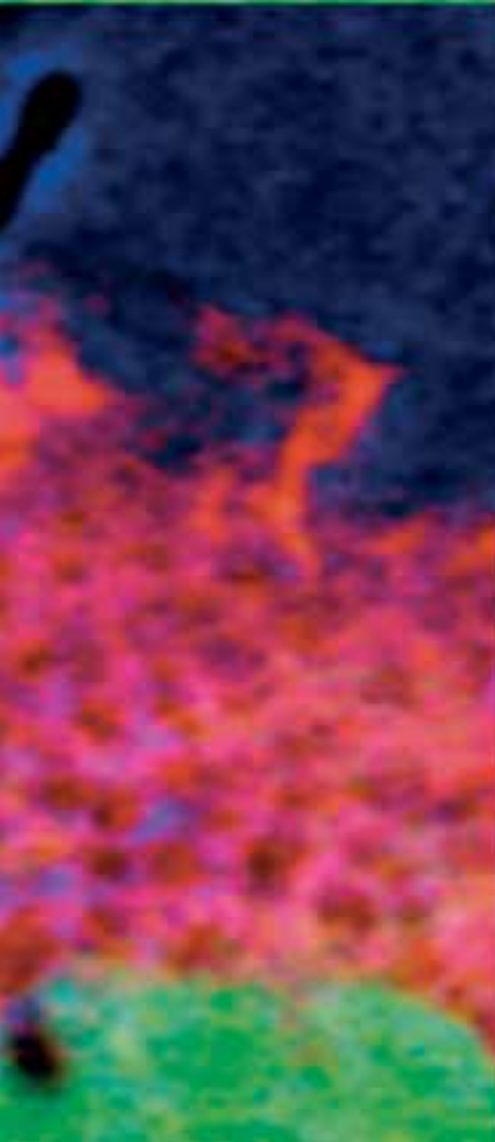
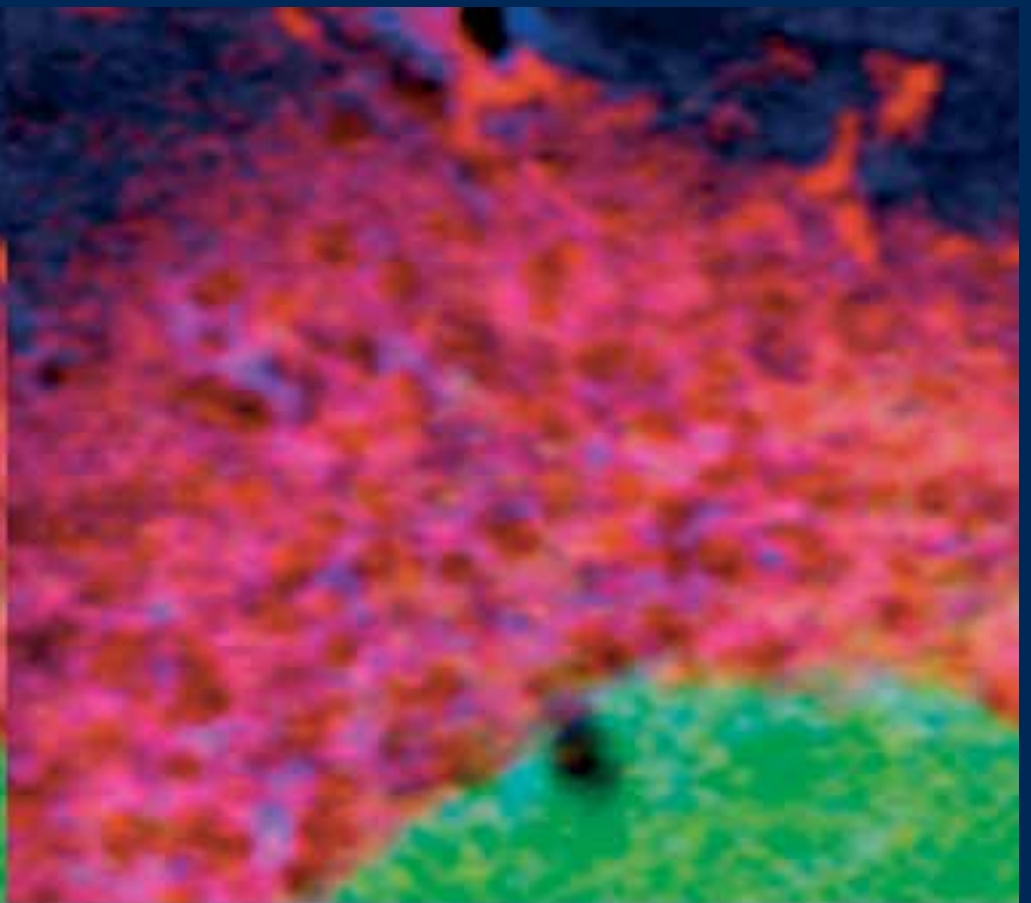
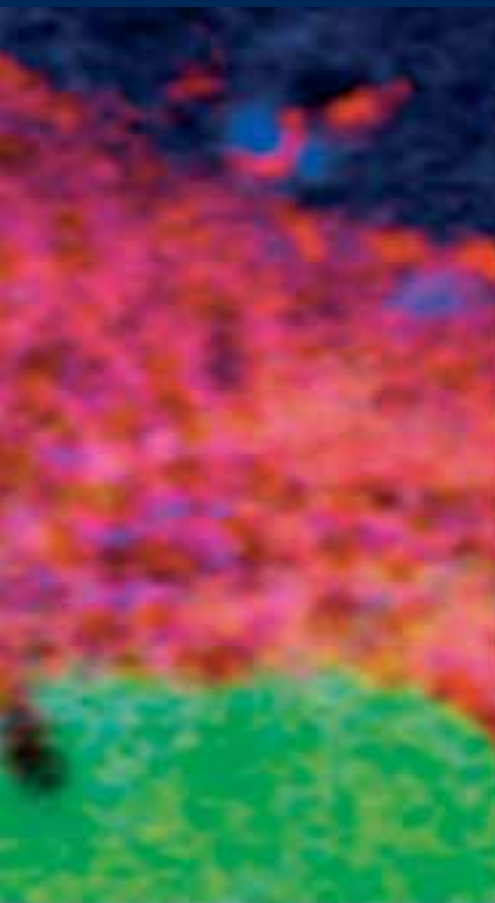
Ein Blick in den lebenden menschlichen Körper, ohne diesen öffnen zu müssen, gelang erstmals im Jahr 1895 mit einer ganz anderen Technik. Am 8. November 1895 entdeckt Wilhelm Conrad Röntgen bei der Untersuchung der Leitung von Elektrizität in Gasen eine unsichtbare Strahlung, mit der das bisher verborgene Innere eines Organismus betrachtet werden kann. Die Röntgenstrahlung, die nach ihm benannt werden wird, nennt er vorab «X-Strahlen». Am 22. November entstehen die ersten Röntgenbilder der Geschichte. Röntgen fotografiert das Handskelett einer Frau mit über 20-minütiger Durchleuchtungszeit. Auch Wilhelm Conrad Röntgen ist eng mit Zürich verbunden: Von 1865 bis 1868 studiert er Maschinenbaukunde am Polytechnikum in Zürich. Er schliesst ein Aufbaustudium in Physik bei dem nur sechs Jahre älteren August Kundt (1839–1894) an und promoviert an der Universität Zürich.

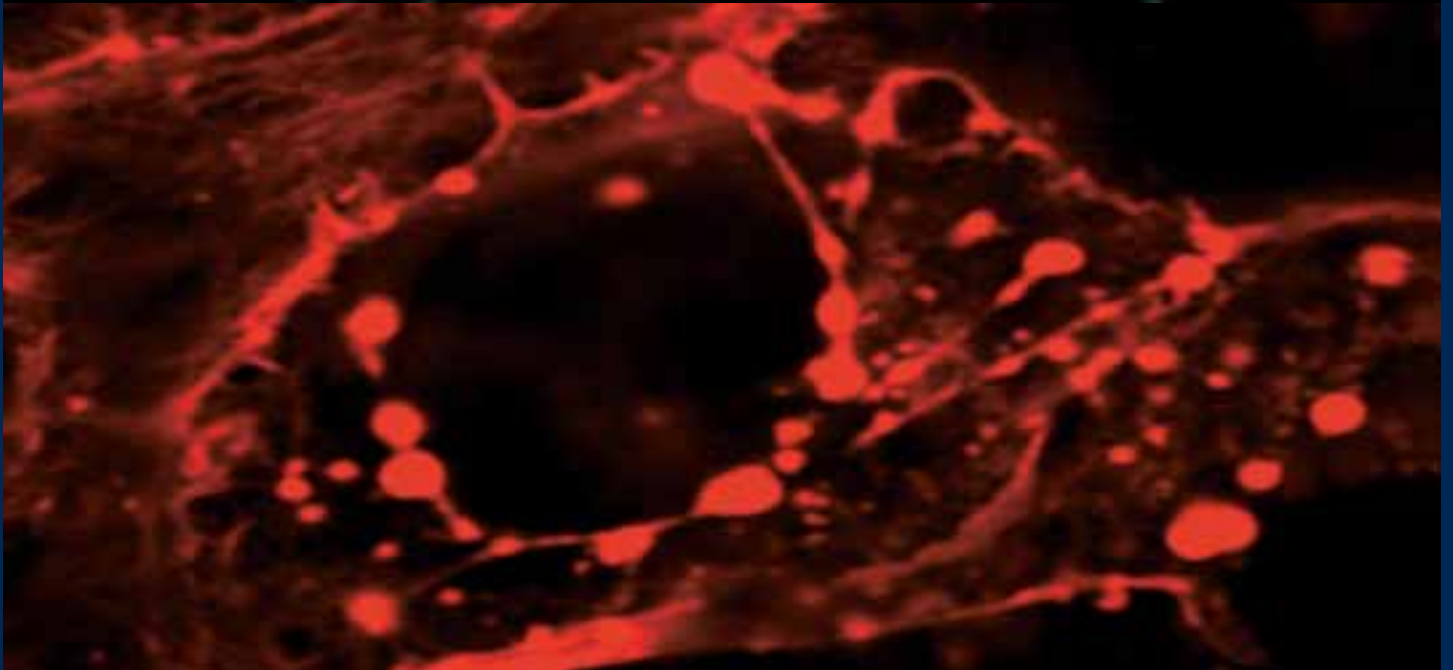
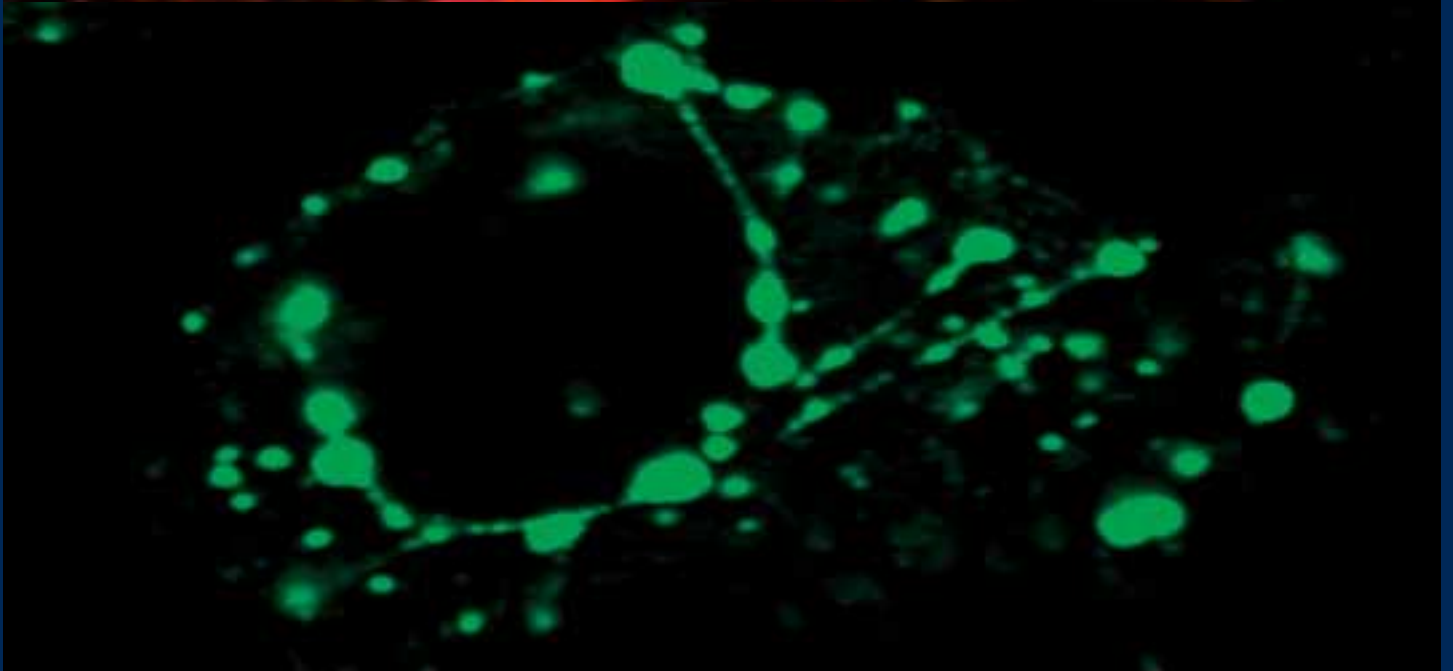
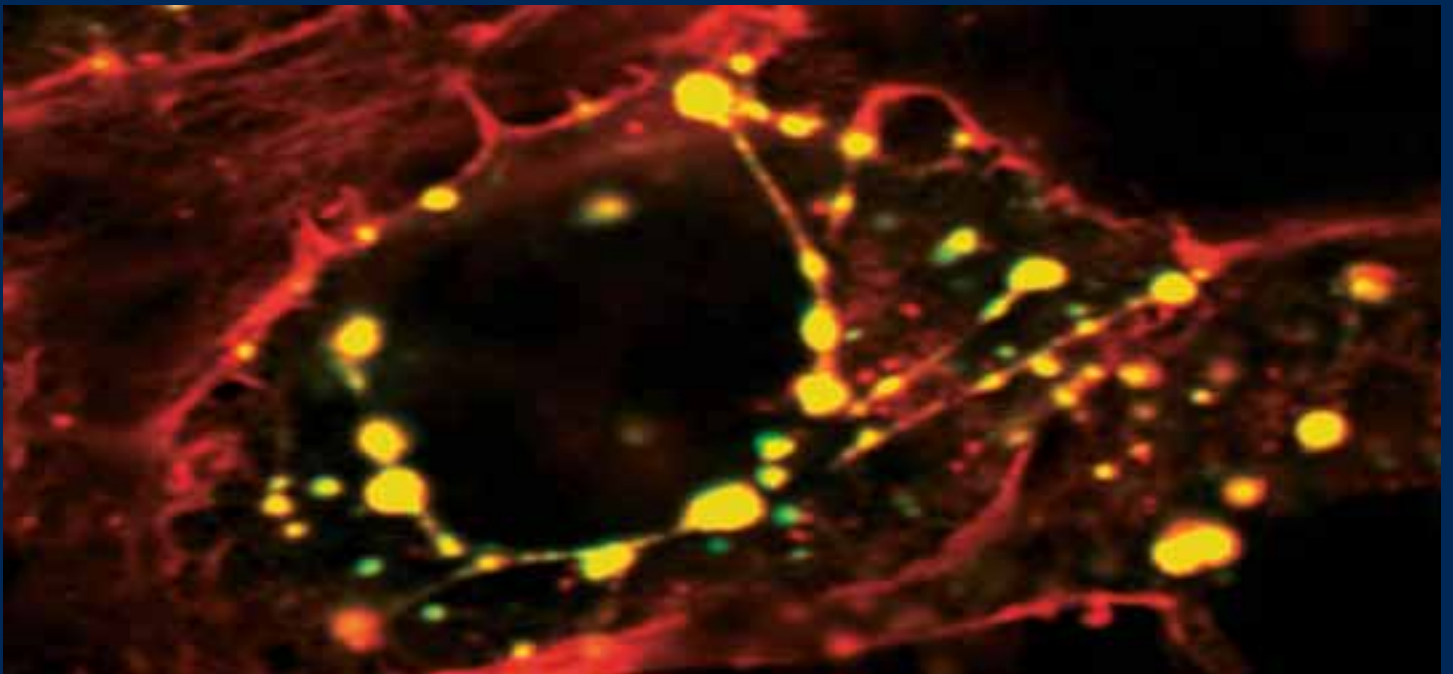
Doch Imaging umfasst viel mehr als den Blick in den Körper. Imaging-Technologie reicht von nichtinvasiver Bildgebung im Bereich Biomedizin bis zur Darstellung von Molekülen im Nanobereich. So erlaubt sie Einblicke in Vorgänge, die dem menschlichen Auge nicht zugänglich sind – und diese Einblicke werden immer erstaunlicher. Einblicke in neue Welten: Bilder, die Sie so vielleicht noch nicht gesehen haben und mit welchen Methoden die Wissenschaft sie entwickelt und wozu – dies zeigt Ihnen das vorliegende ETH-Bulletin an Beispielen aus dem Bereich Bio-Imaging.

Martina Märki-Koepf
Redaktion ETH-Bulletin



Filmsequenz einer Salmonelle bei der Invasion einer Säugetierzelle (siehe S. 28)





Aggregation des zellulären Aktin-Zytosketts (rot), ausgelöst durch einen Virulenzfaktor (grün) von *Salmonella typhimurium* (siehe S. 28)

ZÜRICH STARK IM BILD

YVES BARRAL, MARKUS RUDIN UND VAHID SANDOGHDAR

Bilder sind für das Gehirn intuitiv erfassbar. Eine riesige Menge von Informationen kann äusserst effizient, oft in Sekundenbruchteilen, analysiert werden. Dabei ist es essenziell, dass die einzelnen Informationsbestandteile, die Bildelemente (picture elements: pixels), in einem Kontext stehen (Abbildung), der für die Interpretation entscheidend ist; genau wie bei einem Buchstaben, der erst im Wort oder Satz einen Sinn ergibt.

Es ist daher nicht überraschend, dass die Darstellung von Information in Form von Bildern in unserem Alltag, aber auch in der Wissenschaft von enormer Bedeutung ist. Heutzutage wird Imaging in fast jedem Bereich von Wissenschaft und Technologie angewendet, von diagnostischen Schnittbildern durch den menschlichen Körper bis hin zur mikroskopischen Untersuchung von subzellulären Strukturen, von der Darstellung der Erdoberfläche zur Abbildung von einzelnen Molekülen auf einer Oberfläche. Imaging-Anwendungen lassen sich in den verschiedensten wissenschaftlichen Disziplinen finden und decken Dimensionen von neun bis zehn Grössenordnungen ab, wenn man sich auf Verfahren, die in der Biomedizin Anwendung finden, beschränkt (von Nanometer bis Meter). Ein so breites Spektrum von Applikationen kann natürlich nicht durch eine bildgebende Methode abgedeckt werden. Verschiedene Verfahren nutzen unterschiedliche physikalische Eigenschaften der Materie aus, haben ihre Stärken und ihre Schwächen. Die Problemstellung bestimmt die optimale Imaging-Methode für deren Lösung, wobei häufig eine Kombination von Methoden erforderlich ist. Moderne Bildgebung ist multimodal, umfasst komplementäre Technologien, die weit über die intuitive und daher qualitative Analyse hinausgehen. Mittels leistungsstarker Computer ist es heute mög-



BILDELEMENT (PIXEL) IM KONTEXT

Der markierte Pixel hat in allen Bildern den gleichen Graustufenwert. Sein Informationsgehalt wird erst im Kontext ersichtlich. Von links nach rechts: Weisse Substanz im menschlichen Gehirn (Magnetresonanzbildgebung), markierte Zellen (Makrophagen, Lichtmikroskopie), Pseudomonas-Bakterien (Elektronenmikroskopie) und Hintergrundsignal in einer Scanningtunnelmikroskopie-Aufnahme eines DNA-Strangs.

lich, die enormen Datenmengen, die sich im Hundert-Gigabyte-Bereich bewegen, effizient zu bewältigen und somit quantitative Informationen zu gewinnen, was die Qualität der Aussage wesentlich verbessert.

Die rasante Entwicklung von Imaging basiert auf der effizienten Zusammenarbeit von Wissenschaftlern aus unterschiedlichsten Disziplinen – Physikern, Ingenieuren, Mathematikern, Informatikern, Chemikern, Biochemikern, Materialwissenschaftlern, Biologen und Medizinern. Nur die komplementäre Zusammenarbeit von diesen Experten auf ihren jeweiligen Fachgebieten kann zur erfolgreichen Entwicklung und Anwendung einer komplexen Technologie wie Imaging führen.

All diese «Ingredienzien» sind in Zürich vorhanden, und es ist daher nicht überraschend, dass der Wissenschafts- und Technologieraum Zürich eine starke Imaging-Tradition aufgebaut hat. Sie reicht von nichtinvasiver Bildgebung im Bereich Biomedizin bis zu den Darstellungen von Molekülen im Nanobereich. Vor kurzem wurde beschlossen, diese starke Position von Zürich mit der Gründung eines Center for Imaging Sciences and Technologies (CIMST)

zu festigen. Das Zentrum umfasst Imaging-Gruppen der ETH, der Universität und des Paul-Scherrer-Instituts. Ziel ist es, durch Koordination der vielseitigen Imaging-Aktivitäten in Zürich und durch Interaktion mit entsprechenden Initiativen an anderen Schweizer Universitäten die Spitzenposition unseres Landes im Bereich Imaging zu stärken beziehungsweise auszubauen. Ein wesentlicher Aspekt ist dabei auch die Zusammenarbeit der schweizerischen Hochschulen mit der Industrie: Entwicklungen von Imaging-Technologien stellen einen bedeutenden wirtschaftlichen Wert dar. Das vorliegende Heft soll einen repräsentativen Querschnitt über Imaging im Raum Zürich (ETH, Universität, PSI) geben.

Yves Barral

Institut für Biochemie, ETH Zürich

Markus Rudin

Institut für Biomedizinische Technik, Universität Zürich

Vahid Sandoghdar

Laboratorium für Physikalische Chemie, ETH Zürich

IN BILDERN DENKEN MIT BILDERN KOMMUNIZIEREN

RICHARD R. ERNST

Kaum ein Bereich menschlicher Aktivität wäre denkbar, gäbe es nicht Bilder, um Erfahrungen und Gedanken darstellen zu können. Dies wird hier mit zwei sehr unterschiedlichen Beispielen illustriert.

Das Sprichwort «Bilder sagen mehr als tausend Worte!» scheint in verschiedenen Kulturen und in verschiedenen Varianten seit langem bekannt zu sein; und es hat nach wie vor seine universelle Gültigkeit. Bilder waren Kommunikationsmittel, schon Jahrtausende bevor eine eigentliche Schrift erfunden worden war, etwa in den Höhlen von Lascaux (15 500 v. Chr.) und Altamira (13 000 v. Chr.). Und es ist nur natürlich, dass auch die ersten Schriften Bilderschriften waren, so die altägyptischen Hieroglyphen (4000 v. Chr.) und die sumerische Keilschrift (3500 v. Chr.). Die chinesische Schrift ist noch heute in ihren Grundelementen eine Bilderschrift. Wer zweifelt heute an der Macht der Bilder? – Beileibe nicht die Wissenschaftler!

«Bildersüchtige» Wissenschaftler

Wissenschaftler sind nicht nur zahlensüchtig, sondern noch viel mehr: Sie sind geradezu bildersüchtig geworden. So bezieht sich beispielsweise der Satz: «Die Botschaft hör ich wohl, allein mir fehlt der Glaube» (Johann Wolfgang von Goethe, Faust) auf eine Botschaft in Worten. Und in der Tat haftet einer wortgewaltigen wissenschaftlichen Abhandlung ohne Bilder und ohne Formeln für manchen Wissenschaftler etwas Unglaubliches an. Was man nicht darstellen und bildlich in Evidenz setzen kann, lässt Realität vermissen.

Wissenschaftler denken und kommunizieren in Bildern. Bildliche Darstellungen dienen aber nicht nur als kleinster gemeinsamer Nenner von Verschiedensprachigen, sondern bildhaftes Denken ist der Wissen-

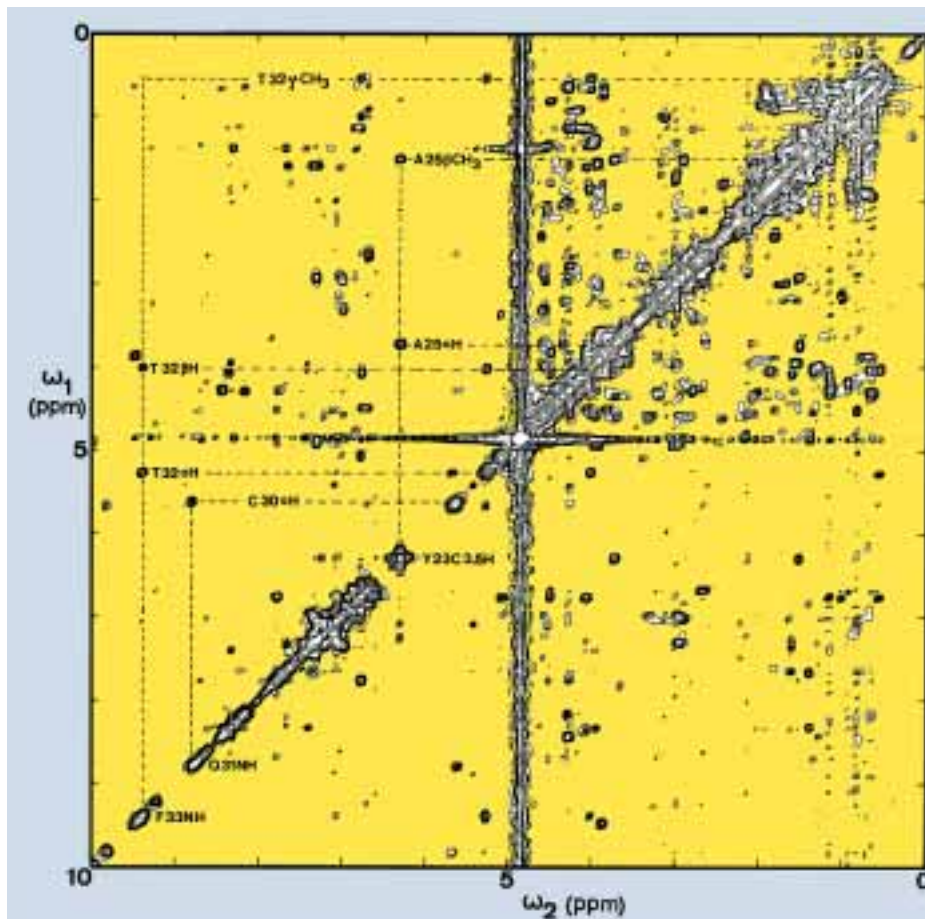


Abb. 1: Zweidimensionales NOESY-NMR-Spektrum

schaft zutiefst inhärent. In sehr vielen Fällen sind Bilder oder bildhafte Darstellungen experimenteller Resultate die eigentlichen Quellen wissenschaftlicher Inspiration. Die meisten Wissenschaftler benutzen bei ihren erfinderischen gedanklichen Streifzügen Papier und Schreiber, nicht so

sehr für mathematische Formeln oder für Text, sondern vorerst für bildliche Skizzen ihrer Gedanken. Textliche und mathematische Formulierungen folgen meist erst später. Bilder erlauben, Zusammenhänge zu visualisieren, ohne die Übersicht zu verlieren.

Und werden mathematische Beziehungen ausgelotet oder neue Gesetze in mathematischer Form konzipiert, so zeigen oft erst die numerische Auswertung und die graphische Darstellung, ob die Hypothese sinnvoll und in sich selbst konsistent ist. Auch hier ist es die bildhafte Darstellung, welche den Weg weist. Heute können graphische Auswertungen auf Knopfdruck durch den Computer mit Programmen wie Mathematica und MATLAB durchgeführt werden. Früher waren aufwändige numerische Rechnungen und die mühsame Darstellung der Resultate auf Millimeter- oder Logarithmenpapier unumgänglich, doch das Resultat rechtfertigte stets den Aufwand.

Bildhaftes Verständnis

Ich möchte noch einen Schritt weiter gehen und behaupten, dass unser grundlegendes Verständnis wissenschaftlicher Phänomene ein bildhaftes ist. Erst wenn wir in der Lage sind, einen Sachverhalt in der Form eines Bildes oder einer Graphik darzustellen, können wir überzeugt sein, ihn wirklich verstanden zu haben.

Dabei ist nicht zu vergessen, dass «Verstehen» immer nur ein Eingrenzen und Abtasten beinhaltet. Das endgültige «Begreifen» von Naturphänomenen bleibt uns für immer vorenthalten. In der Naturwissenschaft beschäftigen wir uns bekanntlich mit modellhaften Interpretationen der uns zugänglichen Manifestationen der Natur. Je mehr Beobachtungen uns zur Verfügung stehen, desto detaillierter werden unsere Modelle und Bilder. Doch die Natur als solche bleibt für uns unerreichbar. Es sind also mathematische oder bildhafte Modelle, Sinnbilder sozusagen, mit denen wir uns anstelle der realen Natur beschäftigen.

Jeder erfahrene Vortragende weiss, dass man auch einem noch so gebildeten Publikum möglichst wenige oder gar keine mathematische Formeln zumuten sollte. Und wird eine Formel projiziert, so wird tunlichst auch eine graphische Darstellung der wesentlichsten Eigenheiten mitgeliefert. Eine solche Visualisierung kann zwar kaum je den gesamten Inhalt eines mathematischen Ausdruckes wiedergeben, aber trotzdem ist sie unentbehrlich für das Verständnis.

Bildhaftes Denken ist für viele Menschen Denken per se. Dies ist auch der Ausgangs-

punkt eines ETH-Projektes zur Darstellung von biologischen Beobachtungen, von molekularen bis zu makroskopischen Dimensionen durch Bilder, zur Erarbeitung von bildgebenden Verfahren und von Methoden zur Bildanalyse. Dies alles dient der Visualisierung als Mittel zum Verständnis komplexer molekularer oder systemischer Sachverhalte und zur Kommunikation zwischen Wissenschaftlern und mit der breiteren Gesellschaft.

Beispiele zur Bedeutung von Visualisierung gibt es in unüberschaubarer Fülle. Ich möchte hier nur zwei aus meinem eigenen Erfahrungsbereich herausgreifen. Sie haben zwar direkt wenig mit diesem Projekt zu tun, zeigen aber Eigenheiten des menschlichen visuellen Verständnisses.

Mehrdimensionale Kernresonanzspektroskopie

Ihr Wesen steckt schon im Wort Spektroskopie mit «spectrum» lateinisch für «Bild» und «skopein» griechisch für «ausspähen». Der Begriff bezeichnet also die bildliche Darstellung in diesem speziellen Fall von «spektralen» Eigenschaften, wobei dem Wort «Spektrum» dabei schon eine sehr stark eingeschränkte, sehr spezifische Bedeutung gegeben wurde. Bei einem konventionellen, eindimensionalen Spektrum werden elektromagnetische Absorptionseigenschaften eines Objektes für verschiedene eingestrahlte Wellenlängen bildlich dargestellt. Jeder Punkt eines Spektrums entspricht der Reaktion des Objektes auf eine eingestrahlte Welle mit bestimmter Frequenz.

Mehrdimensionale Kernresonanzspektren sind im Vergleich dazu wesentlich abstrakter. Wiederum geht es um die Darstellung von experimentellen Daten, wobei aber eine mathematische Umwandlung der Daten, im Speziellen eine Fourier-Transformation, erforderlich ist, um die Resultate in eine interpretierbare Form zu bringen.

Mehrdimensionale Kernresonanzspektren sind Korrelationsdiagramme, welche die Zusammenhänge von Objekteigenschaften in Evidenz setzen. Ein NOESY-Spektrum zum Beispiel stellt die paarweisen räumlichen Abstände von Atomkernen in Molekülen dar. Die zwei Achsen eines zweidimensionalen NOESY-Spektrums (siehe Abb. 1)

charakterisieren die Resonanzfrequenzen der einzelnen Kernpositionen im Molekül. Die Signalintensitäten in der zweidimensionalen spektralen Ebene sind ein Mass für den paarweisen räumlichen Abstand von Kernen. Diese Information kann zur Bestimmung der dreidimensionalen räumlichen Struktur eines Moleküls benutzt werden mit einem Verfahren, welches von Kurt Wüthrich und Mitarbeitern konzipiert wurde. Abb. 1 zeigt ein historisches Dokument, das erste publizierte NOESY-Spektrum eines Proteins, hier von BPTI, aufgenommen von Anil Kumar (Anil Kumar, R. R. Ernst, and K. Wüthrich, *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 95, 1–6 [1980]). Das eindimensionale Protonenresonanzspektrum bildet die Diagonale von links unten nach rechts oben, und die Intensitäten der Ausserdiagonalsignale messen Abstände von Wasserstoffkernen im untersuchten Protein.

In einem zweidimensionalen (oder auch in einem dreidimensionalen) Spektrum wird also nicht direkt das Molekül in seiner geometrischen Form veranschaulicht, sondern es werden Messdaten in einer leicht interpretierbaren Form dargestellt im Hinblick auf eine nachfolgende Strukturbestimmung, welche aber oft alles andere als trivial sein kann. Die Bildhaftigkeit eines mehrdimensionalen Spektrums ist hier also nur ein Hilfsmittel auf dem Weg zur Konstruktion eines anschaulichen Bildes eines Moleküls. Das so gewonnene Bild des Moleküls erfordert damit einen langen Weg und einen komplexen logischen Ablauf, wobei auch Mehrdeutigkeiten der Interpretation nicht auszuschliessen sind.

Bilder sind in der Wissenschaft somit wichtig als Hilfsmittel im wissenschaftlichen Erkenntnisprozess, bilden oft aber auch das eigentliche Forschungsziel.

Buddhistische Bildsymbolik

Der thematische Sprung von der Kernresonanzspektroskopie zur buddhistischen Bildsymbolik scheint ein weiter zu sein – und ist es auch –, doch die graphischen Mittel, welche in den zwei Sparten menschlicher Aktivität zur Visualisierung verwendet werden, sind sich recht ähnlich. Bekanntlich gibt es Religionen, in welchen bildliche Darstellungen von Glaubensinhalten unüblich oder verboten sind. Dazu gehören der Islam und der Judentum. Hier zählt vor

allem das Wort. Das Visuelle ist hingegen von zentraler Bedeutung im Hinduismus, so etwa bei der Krishna-Verehrung, und ganz besonders im tibetischen Buddhismus. Die unüberschaubare Vielfalt des tibetischen Pantheons hätte sich ohne Visualisierungsmöglichkeiten nicht entwickeln können.

Dabei besteht ein grundsätzlicher Unterschied zwischen den monotheistischen und den polytheistischen Religionen. In den ersteren ist das Göttliche für den Gläubigen eine immanente Realität, welche in seiner Grösse mit unseren beschränkten Mitteln nicht dargestellt werden kann («Du sollst Dir kein Gottesbild machen», 2. Mose 20.4). In den polytheistischen Religionen auf der anderen Seite hat das Göttliche häufig keine objektive Realität, sondern Gottheiten sind Sinnbilder, welche spirituelle Konzepte veranschaulichen und der Glaubensgemeinschaft verständlich zu machen versuchen. In diesem Sinn steht die Visualisierung von philosophischen Erkenntnissen in östlichen Religionen in Analogie zur naturwissenschaftlichen Beschreibung der Natur durch Modelle und Bilder. Weder das Göttliche noch die Natur können wir dabei je ganz erfassen.

Visualisierung von Gedanken

Buddhismus wird oft als eine «atheistische Religion» oder als eine Philosophie betrachtet. So wird auch der angehende Buddhist gelehrt, die Gottheiten als Projektionen des eigenen Selbst zu verstehen. Sie sind sozusagen Bilder von unseren Gedanken und Emotionen. Aufschlussreich sind in diesem Zusammenhang die so genannten Projektions-*Thangkas*, in welchen nur die Attribute einer Gottheit bildlich dargestellt werden, während die Gottheit selbst fehlt und erst durch den Gläubigen meditativ ins Bild hineinprojiziert wird. Die Gottheit existiert also nur in unserem und durch unseren Geist.

Dualität oder Mehrdeutigkeit sind im Buddhismus so wichtig wie in der modernen Naturwissenschaft. Wir wissen, dass es in der Physik inkompatible Messgrössen gibt, die nicht gleichzeitig gemessen werden können, wie Ort und Impuls in der Quantenmechanik. Ein einziges Bild genügt oftmals nicht, um die Realität zu beschreiben, es braucht mehrere, scheinbar inkompatible Repräsentationen. Oft ist der virtuose und flexible Gebrauch solcher Bilder

ein Geheimtipp zum Verständnis komplexer Phänomene. So braucht es zum Begreifen der Phänomene der magnetischen Kernresonanz sowohl klassische Vektormodelle mit präzedierenden magnetischen Momenten wie auch quantenmechanische Modelle mit diskreten Energiezuständen und zeitabhängiger Kohärenz.

Symbolik der Überwindung des Todes

Ein illustratives Beispiel hierzu aus dem Buddhismus bildet die wichtige Gottheit Yamantaka, der Überwinder des Todes, welche den Sterblichen während des Prozesses ihrer Wiedergeburt beisteht. Sie wird in Furcht erregender Form dargestellt, mit neun Köpfen, wobei ein dominanter Büffelkopf darunter auffällt. Yamantaka besitzt 34 Arme, jede Hand mit einem Attribut. Die grosse Zahl von Attributen symbolisiert seine Allmacht. Mit seinen 16 Füßen trampelt er auf Tieren und Hindu-Gottheiten. Acht Gesichter haben einen Angst einflössenden Ausdruck. Nur der neunte Kopf ist ein friedfertiger. Er repräsentiert Manjushri, die friedvolle Gottheit der Weisheit. Und in der Tat wird Yamantaka als eine Inkarnation von Manjushri betrachtet: Die Weisheit, welche zur Überwindung des Todes notwendig ist, ist ein schönes Symbol auch für unsere wissenschaftlichen Ambitionen, da wir doch mit unseren Publikationen unsterblich werden wollen! Yamantaka und Manjushri bilden zwei komplementäre Aspekte oder Bilder derselben Realität. Diese Komplementarität, welche zur besseren Beschreibung der Wirklichkeit notwendig ist, wird ja auch durch das Yin-Yang-Symbol bildlich dargestellt.

Mandalas, Bilder des Universums

Eine besonders eindruckliche bildhafte Darstellung der spirituellen Realität ist in Mandalas realisiert (siehe Abb. 2). Mandalas repräsentieren das Universum in Kreisform im Wechselspiel mit konzentrischen quadratischen Strukturen. Symmetrien und gebrochene Symmetrien dominieren Mandalas. Eigentlich sind gemalte zweidimensionale Mandalas Projektionen von dreidimensionalen Strukturen mit dem mythischen Berg Meru im Zentrum. Das gemalte Kalachakra-Mandala von Bild 2 (eine detaillierte Beschreibung dieses Bildes aus der Sammlung des Autors findet sich in J. C. Huntington and D. Bangdel: *The Circle of*

Bliss, *Buddhist Meditational Art*, Serindia Publ., 2003) besteht von aussen nach innen aus den konzentrischen Sphären des Körpermandalas, des Sprachmandalas, des Verstandesmandalas, des Weisheitsmandalas und des Wonnemandalas, in dessen Zentrum die tantrische Gottheit Kalachakra («Rad der Zeit») steht, welcher das Mandala geweiht ist. Der Weg führt also von aussen stufenweise tief hinein in die menschliche Seele. Doch es gibt noch eine weitere, eine farbliche oder «spektrale» Dimension mit den fünf (!) farbkodierten Himmelsrichtungen: Der weisse diagonale Quadrant rechts im Bild stellt die chronologisch erste Welt dar, diejenige des transzendenten Buddhas Vairocana. Es folgt unten der blaue Quadrant, die zweite Welt, diejenige von Akshobhya; oben der gelbe Quadrant, die dritte Welt des Ratnasambhava; und links der rote Quadrant, die vierte, die heutige Welt des Amitabha. Das Zentrum schliesslich stellt die fünfte, die grüne, zukünftige Welt des Amoghasiddhi dar. Die Zeitachse ist also in diesem Bild des Universums auch enthalten.

Sichtweisen der Welt

Doch wichtiger als eine detaillierte Interpretation dieses Mandalas ist in unserem Zusammenhang die Erkenntnis, dass hier mit graphischen und farblichen Mitteln ein höchst informatives Bild einer Weltsicht geschaffen worden ist, das in seiner Komplexität einem wissenschaftlichen Weltbild kaum nachsteht. Hier entspringt es der spirituellen Erfahrung vieler Generationen von buddhistischen Weisen. In der westlichen Wissenschaft wird langjährige experimentelle Erfahrung in ein kohärentes Weltbild verarbeitet. Der Prozess hat in den zwei Fällen eine formale Ähnlichkeit, obwohl sowohl Ursprung der Information oder Inspiration wie auch das visuelle Schlussresultat sehr verschieden sein können.

Ein westliches wissenschaftliches Weltbild wird verstandesmässig erfasst, führt nach aussen und dient dazu, die Natur nutzbringend manipulieren zu können. Eine buddhistische Weltsicht auf der anderen Seite wird meditativ erfahren und führt nach innen. Sie vertieft das Verständnis der menschlichen Psyche. In diesem Sinn sind die beiden Betrachtungsweisen komplementär, ergänzen sich und sind kaum je widersprüchlich, da sie sich sozusagen auf



Abb.2: KALACHAKRA-MANDALA, Kloster Ngor, Tibet, um 1580

verschiedenen Bildebenen bewegen. Zwei sehr verschiedenartige Beispiele wurden herausgegriffen, um die Bedeutung einer bildhaften Denk- und Ausdrucksweise zu unterstreichen. Zu einem ähnlichen Resultat wären wir auch durch Betrachtung anderer Disziplinen menschlicher Aktivität gekommen. Bilder gehören untrennbar zu unserem Denken. Und es ist nicht erstaun-

lich, dass die Faszination an gelungenen und zum Teil genialen Bildern nicht erlahmt. Diese haben meist neben ihrem Informationsgehalt auch einen hohen ästhetischen Wert. Sie prägen sich ein, verändern unser Lebensgefühl und bleiben unvergesslich.

Richard R. Ernst
 Laboratorium für physikalische Chemie,
 ETH Zürich
 Nobelpreisträger für Chemie

HIRNLISTIGE BILDER

SAMUEL BRANDNER

In der heutigen Spitzenforschung spielen Bilder eine wichtige Rolle. Bildgebende Verfahren, wie die Magnetresonanztomographie, geben Einblick in die faszinierenden Mechanismen unserer Organe. Besonders interessant sind dabei die Bilder vom Gehirn, weiss man heute doch nach wie vor wenig über dessen Funktionsweise. Der Umgang mit Hirnbildern verändert aber auch die Sichtweise auf den menschlichen Körper in Medizin und Gesellschaft.



DIE GALL'SCHE PHRENOLOGIE teilt das Hirn in 44 verschiedene Felder ein. Die stärkere oder geringere Entwicklung dieser Felder gibt dem Schädel seine charakteristische Form. Jedes dieser Felder hat eine besondere Bedeutung und lässt auf bestimmte Charakterzüge, Triebe und Fähigkeiten eines Menschen schliessen.

Das Magnetresonanztomographie (MRI) gilt als ein Symbol der Spitzenmedizin. Entwickelt wurde dieses Verfahren von den beiden ETH-Physikern Richard Ernst und Kurt Wüthrich, die dafür mit dem Nobelpreis geehrt wurden (siehe auch Ernst, S. 10). Statt mit Röntgenstrahlen werden Schnittbilder des Körpers mit magnetischen Feldern erzeugt, die oft eine hervorragende Beurteilung des Zustandes der Organe erlauben. Obwohl nicht alle verstehen, woraus sich das Kürzel zusammensetzt, so wissen doch die meisten, was mit dem MRI gemeint ist. Schuld daran sind die eindrucklichen Bilder, welche die Maschine erzeugt. Der Forschung wird damit die Möglichkeit zu ganz neuen Beobachtungen und Diagnosen eröffnet. Doch verfügen gerade Hirnbilder über eine schwer kontrollierbare Dynamik und beeinflussen unseren Umgang mit dem Körper beziehungs-

weise unserem Gehirn. Wie die Verwendung bildgebender Verfahren in Medizin und Öffentlichkeit die Sicht auf den menschlichen Körper verändert, ist deshalb keine müssige Frage.

Bilder, die keine sind

Die über die Magnetresonanztomographie entstandenen Bilder sind eigentlich gar keine Bilder, sondern Aufzeichnungen bestimmter Daten, die über komplizierte mathematische Verfahren in Bilder umgerechnet werden. Welche Daten dabei die «Realität» wiedergeben und welche bloss, über das Verfahren erzeugte Artefakte sind, entscheidet die Maschine. Aufgrund vorweg definierter Kriterien besitzt die Maschine die erste Interpretationsmacht über die Messdaten. Kommt hinzu, dass diese Bilder mit dem Einsatz von Farben für besonders durchblutete Stellen oder fremdes Gewebe der Realität noch weiter entzogen werden. Wichtig sind diese scheinbar banalen Bemerkungen, weil sie auf die notwendige kritische Betrachtung dieser konstruierten Bilder verweisen, die im klinischen Alltag wie in der Öffentlichkeit nur zu leicht verloren geht. Dies bestätigt auch Anton Valavanis, Direktor des Instituts für Neurologie am Universitätsspital Zürich.

Unsere Potenziale im Gehirn

Die Grundlage der modernen Hirnforschung bildet die Phrenologie, eine pseudowissenschaftliche Lokalisationslehre, die der deutsche Arzt und Anatom Franz Josef Gall (1778–1828) zu Beginn des 19. Jahrhunderts formuliert hat. Seine Theorie ging davon aus, dass alle möglichen Eigenschaften und geistigen Qualitäten, über die Menschen nach der damaligen Vorstellung verfügen würden, in verschiedenen Regionen der Gehirnrinde zu lokalisieren sind. Seine

Zuordnung von Funktionen erfolgte auf seiner persönlichen Beobachtung des bürgerlichen Verhaltensspektrums um 1800. Zu diesen Funktionen zählte er etwa die Kinder- und Nächstenliebe, den Geschlechtstrieb, Geiz sowie den Wort- und Farbensinn. Wissenschaftlichkeit konnte die Gall'sche Theorie natürlich damals wie heute nicht beanspruchen. Falsch ist der Zugang Galls aus heutiger Sicht dennoch nicht. Neurowissenschaftler fanden ein Beispiel nach dem anderen für Funktionen, die im Gehirn lokalisierbar sind. Für Neurochirurgen ist dieses Wissen, wo sich welches Areal befindet, ganz entscheidend. Wollen sie beispielsweise eine Operation durchführen, ohne das Sprachzentrum des Patienten zu verletzen, hilft ihnen dabei die heute mögliche neuronale Verortung des Sprechvermögens.

Genialität im Gehirn verorten

Mag Galls Phrenologie dem Prinzip nach richtig sein, so ist sie doch auch Grundlage für Fragestellungen, deren Relevanz der Wissenschaftsforscher und ETH-Professor Michael Hagner bezweifelt. Mit Befremden stelle er fest, dass Neurowissenschaftler heute glauben, sie könnten so etwas wie Spiritualität, Kriminalität oder Genialität irgendwo im Gehirn lokalisieren. «Dieses Erkenntnisinteresse beruht allerdings auf einem grossen Irrtum, denn Attribute wie «kriminell» oder «genial» sind rein sozialhistorisch ausgehandelte Zuschreibungen und können nicht wie etwa das Sprach- oder Sehvermögen im Gehirn verortet werden», so Hagner. Über die bildgebenden Methoden ist das Forschungsfeld zur Zuordnung bestimmter menschlicher Eigenschaften im Gehirn stark gewachsen und droht nur zu leicht die Erklärungsbemühungen zur Funktionsweise des Gehirns zu simplifizieren, erklärt Valavanis (siehe auch Jäncke, S. 16).

Suche nach Seelen-Spuren

Wohl eher zu den Exoten dieses Forschungsfeldes zählt der holländische Neurologe Gert Holstege. Er befasst sich etwa mit Fragen, was im menschlichen Gehirn während eines Orgasmus geschieht. Dazu hat er die Gehirnaktivitäten von 13 Frauen und 11 Männern im Alter von 21 bis 48 Jahren während eines Orgasmus über eine Positronen-Emissions-Tomographie (PET) untersucht und markante Unterschiede in der Aktivierung und Deaktivierung verschiedener Hirnregionen zwischen männlichem und weiblichem Orgasmus festgestellt. Bei der Positronen-Emissions-Tomographie können einzelne aktive bzw. inaktive Regionen im menschlichen Körper über leicht radioaktive Kontrastmittel sichtbar gemacht werden. Ziel seiner Forschung sei es, so Holstege, über die Sexualforschung «die Anatomie der Seele» zu erkunden.

Von solchen wissenschaftlichen Arbeiten hält Michael Hagner wenig. Die Anatomie der Seele zu erforschen sei ein vollkommen sinnloses Unterfangen, das Gehirnforscher bereits vor 200 Jahren aufgegeben hätten, hält der Wissenschaftsforscher fest. Fragestellungen dieser Art seien mit einer Sehnsucht verbunden, im Gehirn Spuren der Seele zu entdecken. Mit den neuen Möglichkeiten bildgebender Verfahren werde diese Sehnsucht zusätzlich angestachelt, so Hagner weiter. Er glaubt, dass hinter dieser Sehnsucht der Wunsch stecke, die Fähigkeiten und Potenziale des Menschen physisch zu verorten, um sie gezielt zu nutzen und zu verbessern. Neu sei dieses Verlangen, den Menschen zu verbessern, nicht, betont Hagner. Bereits vor 100 Jahren hätten Wissenschaftler davon geträumt. Forscher waren davon überzeugt, mit den Konzepten der Eugenik und Rassenhygiene das menschliche Erbgut in einen «besseren» Zustand überführen zu können und den Menschen nach bestimmten Kriterien auszugestalten. Bekanntlich verfehlte diese Forschung ihre politische Wirkung nicht. In Verbindung mit dem Nationalsozialismus und dem Stalinismus erwiesen sich diese Wissenschaftskonzepte als katastrophale zivilisatorische Utopie.

Bilder zeigen nur die halbe Wahrheit

Die sorglose Verwendung der Hirnbilder und die damit verbundene schwer kontrollierbare Dynamik des nach aussen gewendeten Innern beobachtet auch Anton Vala-

vanis mit zunehmender Sorge. «Als diagnostisches Instrument kann die Neurologie heute nicht mehr auf bildgebende Verfahren verzichten, doch die Verwendung der Hirnbilder im Klinikalltag führt immer mehr dazu, dass Ärzte nur noch glauben wollen, was sie auf Bildern sehen können», warnt Valavanis. Verhängnisvoll sei dies, weil bildgebende Verfahren nicht alles sichtbar machen könnten und damit nicht vollkommen sichere Diagnoseinstrumente seien. Mit einer unkritischen Verwendung der Bilder drohten diese Tatsachen vernachlässigt zu werden. Daher sei auch beim deutlichsten Hirnbild aus dem Kernspintomographen eine richtige Diagnose noch lange nicht garantiert. Allerdings steckt die Diagnostik der Neurologie in einem Dilemma, wie Valavanis selbst einräumt. Bis heute gibt es zu den bildgebenden Verfahren keine alternativen diagnostischen Methoden. Daher plädiert der Neurologe für die Entwicklung alternativer Diagnosemethoden, um die Macht der Bilder wenn nicht zu brechen, so doch zumindest etwas zu relativieren.

Simplifizierung des Gehirns

Heute lösen Bilder vom Hirn eine grosse Faszination unter Wissenschaftlern aus. Neuerdings macht sich auch die Ökonomie die zuvor ausschliesslich von der Medizin angewendeten Verfahren zunutze. Um zum Beispiel neue Erkenntnisse über das Verhalten von Menschen vor einer Preisentscheidung zu generieren, werden deren Gehirne im Rahmen einer Studie sichtbar gemacht. Mit bildgebenden Verfahren versucht ein Forscherteam um den Zürcher Ökonomie-Professor Ernst Fehr von der Universität Zürich emotionale Prozesse zu messen. Mit Hilfe bildgebender Methoden konnte er so genannte Belohnungsareale nachweisen, die aktiviert werden, wenn man andere Menschen für die Verletzung von Gerechtigkeitsnormen bestraft. Solche Forschungsfragen haben aus Sicht Valavanis ihre Berechtigung. Aber auch hier stehe und falle die Erkenntnis mit einer fachmännischen Interpretation. Und für diese fehlten fachfremden Wissenschaftlern oft die nötigen Kenntnisse, gibt Valavanis zu bedenken. Die Hirnbilder hätten so den Effekt, dass die Funktionsweise des Gehirns simplifiziert würde. Der Einsatz stark kontrastierender Farben für leicht stärker durchblutete Gehirnregionen beispielsweise führe oft zu vorschnellen Annahmen, die

sich bei genauerer Auswertung der Daten nicht halten liessen, hält Valavanis fest. Diese angefärbte Gehirnregion gleich mit einer bestimmten Funktion in Verbindung zu bringen, sei äusserst problematisch. Um die Darstellungen richtig auszuwerten, fehlen den Wissenschaftlern zudem oft auch die notwendigen anatomischen Fachkenntnisse, wie Valavanis bei der Lektüre von Fachzeitschriften aufgefallen ist. Daher fordert er, dass fachfremde Wissenschaftler, die sich für bildgebende Verfahren interessieren, vermehrt von Fachkräften sekundiert werden, welche die Kenntnis zur richtigen Interpretation von Hirnbildern hätten.

Gehirne am Computer modellieren

Die neusten Probleme zeichnen sich jedoch in der Produktion der Bilder ab, so Valavanis. Im Zeitalter der schon fast unbegrenzten Rechenleistung von Computern sei es möglich, Gehirne am Computer virtuell zu modellieren. Wissenschaftler, die sich mit diesen Methoden befassen, hätten aber oft wenig Ahnung vom realen Gehirn, kritisiert Valavanis. Zudem drohe die Gefahr, dass sich über die vermehrte Thematisierung virtualisierter Gehirne Fragen und «Erkenntnisse» etablieren, die mit den realen Problemen der Neurologie nur noch wenig zu tun haben. Problematisch ist dies zumal deshalb, weil jedem Bild, das dem Fachpublikum vorgelegt wird, eine spezifische Bearbeitung des Wissenschaftlers vorangeht. Diese Bildbearbeitung wird immer von ästhetischen Kriterien des Forschers begleitet und gewinnt mit der Virtualisierung der Hirnbilder an Relevanz. Die Frage nach der «Echtheit» von Bildern stellt sich stärker denn je.

Hirnbilder verfügen über eine verfängliche Anziehungskraft. Kultur, Wissenschaft und Gesellschaft haben sich immer schon vom Gedanken faszinieren lassen, über die Darstellung der Funktionen unseres Zentralorgans seiner habhaft zu werden. Ob wir aber mit unserem Gehirn das menschliche Gehirn vollkommen erfassen können, bleibt vorderhand offen. Der Zürcher Nobelpreisträger für Medizin des Jahres 1949, Walter Rudolf Hess, jedenfalls bezweifelt es: «Das Gehirn ist nicht so organisiert, dass es seine eigene Arbeitsweise analysieren kann.»

Samuel Brandner

Freier Journalist

SPANNUNGSFELD: RISIKO, KOSTEN, ETHIK

LUTZ JÄNCKE

Die biologische Bildgebung hat in den letzten 15 Jahren einen enormen Aufschwung erlebt und somit viele wissenschaftliche Disziplinen belebt (unter anderem die kognitiven Neurowissenschaften und die medizinische Diagnostik). Mittels bildgebender Verfahren können nun erstmals neuronale Netzwerke mit hoher räumlicher Auflösung beim Bearbeiten verschiedener Aspekte quasi in vivo beobachtet werden. Anatomische Strukturen können mit hoher räumlicher Genauigkeit gemessen und psychischen Funktionen zugeordnet werden.

Der Begriff «Bildgebung» bzw. «bildgebende Verfahren» ist im Zusammenhang mit der medizinischen Diagnostik geprägt worden. Typische bildgebende Verfahren sind die Sonographie (Messung von Schallreflexionen), die Computertomographie (CT, Messung der Röntgenabsorption), die Szintigraphie (Aktivität eines Tracers), Positronenemissionstomographie (PET, Messung der Tracerkonzentration), die Magnetresonanztomographie (MRI, magnetische Resonanz von H-Kernen), die Magnetenzephalographie (MEG) und neuerdings auch Varianten der Elektroenzephalographie (EEG).

Im Folgenden sollen wesentliche Aspekte bezüglich des Risikos, der Kosten und der Ethik bildgebender Verfahren erörtert werden. Weitergehende methodische und inhaltliche Aspekte sind an anderer Stelle dargestellt (Jäncke, 2005).

Risiken der Magnetresonanztomographie

Seit der Einführung der Magnetresonanztomographie (MRI) in den frühen 80er-Jahren des vorigen Jahrhunderts sind weltweit mehr als 100 000 000 diagnostische Untersuchungen hiermit durchgeführt worden. Trotz dieser Vielzahl von Untersuchungen ist über sehr wenige Komplikationen berichtet worden. Die meisten publizierten Fälle, in denen MRI-bezogene Schädigungen berichtet werden, beziehen sich auf Probleme im Zusammenhang mit Metall-

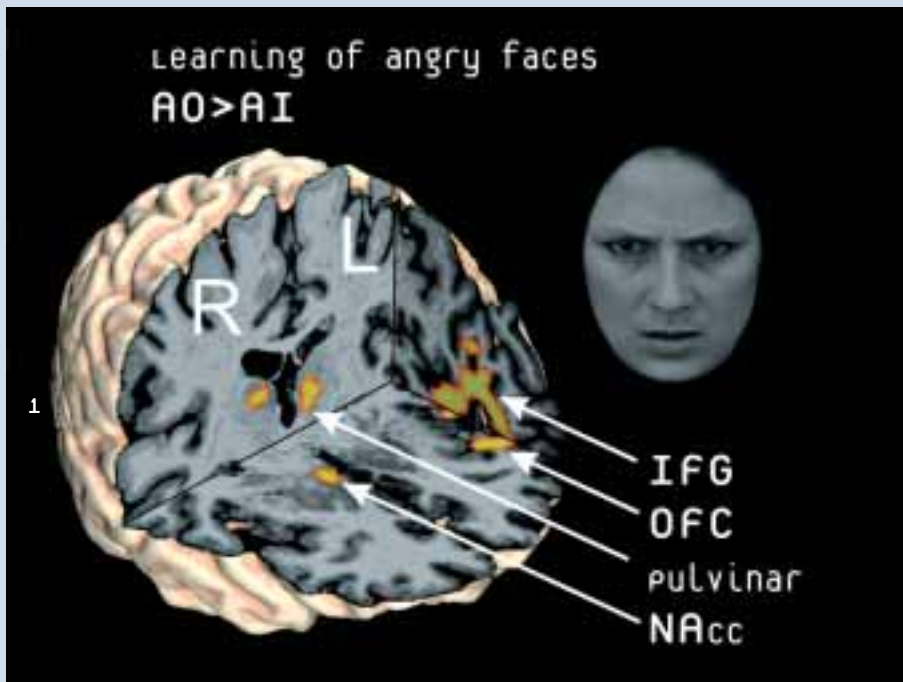
teilen, Implantaten oder biomedizinischen Geräten, welche die Probanden während der MRI-Messung trugen. Metallgegenstände sind in einem magnetischen Umfeld wie beim MRI-Tomographen extrem gefährlich und können tödliche Folgen haben (durch magnetisch induzierte Bewegungen oder durch Erhitzung der Metallteile mit folgenden Gewebeverbrennungen). Besonders achten muss man auch auf elektronische Geräte wie z. B. Herzschrittmacher, die im Magnetfeld nicht mehr funktionsfähig sind. Diese Probleme sind allerdings durch die gute Schulung des Bedienpersonals praktisch ausgeschlossen.

Neben dem oben beschriebenen Problem werden auch so genannte Bioeffekte der MRI-Messung diskutiert (direkter oder indirekter Einfluss der MRI-Messung auf das Gewebe). In den bislang publizierten Übersichtsarbeiten sind keine signifikanten Einflüsse von statischen Magnetfeldern auf die Gesundheit des Menschen und auf verschiedene biologische Aspekte nachgewiesen worden (z. B. Zellwachstum, Zellmorphologie, Zellteilung, Teratogenität usw.). Die während der MRI-Messung geschalteten Gradientenfelder können elektrische Ströme induzieren, die letztlich das neuronale Gewebe stimulieren können. Allerdings müssen schon sehr starke Gradientenfelder benutzt werden, um neuronale Erregungen zu induzieren, die z. B. zu wahrnehmbaren Schmerzempfindungen führen könnten. Solch starke Gradientenfelder werden derzeit nicht verwendet.

Die während der MRI-Messung applizierten elektromagnetischen HF-Felder werden im biologischen Gewebe zu Wärme umgeformt. Zur Beurteilung der physiologischen Wirkung von HF-Feldern wird die Temperaturerhöhung im Gewebe angegeben, die nicht nur von der lokalen Leistungsabsorption und der Expositionsdauer abhängig ist, sondern auch von anderen biologischen Parametern. Eine Reihe von Untersuchungen an Menschen hat bei HF-Expositionen des Rumpfes und des Kopfes eine Erhöhung der Körpertemperatur von maximal 1 °C gemessen, die allerdings keine gesundheitlich nachteiligen Wirkungen mit sich bringen.

Risiken der Positronenemissionstomographie

Das Prinzip der Untersuchung beruht darauf, dass dem Probanden eine Substanz (z. B. Glukose) in die Blutbahn eingespritzt wird. Sie ist an eine signalgebende Substanz – Tracer (ein schwach radioaktiver Stoff) – gekoppelt, verteilt sich mit dem Blutfluss im gesamten Körper und wird in stoffwechselaktiven Zellen aufgenommen. Je mehr Stoffwechselaktivität der Zelle, desto mehr Aufnahme. Der Gesetzgeber hat für die erlaubten Strahlenbelastungen in PET-Untersuchungen für Patienten, Probanden und Bedienpersonal Grenzwerte angegeben, die strikt einzuhalten sind. So liegen die erlaubten Strahlenbelastungen bei 15 mSv (Sievert) für das Bedienpersonal, Patienten und freiwillige Probanden. Bei



In Farbe sind Durchblutungs Zunahmen in auditorischen Cortex beim mentalen Vorstellen des Hörens von Silben dargestellt. Physikalisch sind keine akustischen Reize vorhanden, und dennoch ist der auditorische Cortex aktiv (Jancke & Shah, 2004).

Darstellung der Durchblutungs Zunahmen (rote und gelbe Farbcluster) in Hirngebiet, die besonders stark beim assoziativen Lernen von emotionalen Gesichtern aktiv sind (nach Richter et al., unpubliziert).

Frauen, die jünger als 45 Jahre sind, wird schon ein niedriger Grenzwert gefordert, der bei 1/10 von 15 mSv liegt. Prinzipiell ist davon auszugehen, dass in den meisten PET-Untersuchungen die Strahlenbelastung etwa so gross ist wie die natürliche Strahlenbelastung in der Schweiz pro Jahr oder bei einem zweiwöchigen Skiurlaub in den Bergen.

Die Kosten von bildgebenden Verfahren

Die meisten bildgebenden Verfahren erfordern technisch anspruchsvolle Hard- und Software. Die Preise für MRI-Geräte liegen bei ca. 2 bis 4 Millionen Schweizer Franken je nach Ausstattung und Anbieter. Zusätzlich sind eine Reihe von baulichen Massnahmen notwendig, um die MR- und PET-Geräte unterzubringen. Gleichzeitig müssen insbesondere für die MRI-Technik noch jährlich anfallende Kosten im Bereich von ca. 100 000 Schweizer Franken für das Auswechseln des Heliums veranschlagt werden. Insgesamt kann man bei guter Auslastung eines MR- und PET-Zentrums von 300–500 Schweizer Franken pro Proband und Stunde ausgehen. Die Kosten für EEG-Untersuchungen sind erheblich günstiger und liegen im Bereich von 50–100 Schweizer Franken.

Ethische Aspekte von bildgebenden Verfahren

Verschiedene ethische Aspekte werden im Zusammenhang mit bildgebenden Verfahren diskutiert. Hierzu gehören ethische Aspekte im Zusammenhang mit der Durchführung von bildgebenden Untersuchungen und dem Umgang und der Interpretation der erhobenen Daten. Für alle bildgebenden Studien ist zwingend notwendig, dass die untersuchte Person über die möglichen Risiken und Konsequenzen der Messung informiert wird. Dieses Prozedere ist durch die Deklaration von Helsinki geregelt und wird auch von allen lokalen Ethikkommissionen entsprechend gefordert. Wichtige Voraussetzung im Zusammenhang mit Forschungsfragestellungen ist, dass zu jedem Zeitpunkt der Datenanalyse die jeweiligen Datenschutzbestimmungen gewahrt bleiben. Das bedeutet, dass die Identität der gemessenen Person von Dritten nicht aus den Hirnbildern zu erschliessen ist. Grössere Probleme entstehen allerdings im Zusammenhang mit der Interpretation der Daten. Zunächst ist festzuhalten, dass solche Daten von Experten ausgewertet und interpretiert werden sollten. Sie sind dann in der Lage, die Befunde in einen normativen Kontext zu setzen. Das bedeutet für den Bereich der kognitiven Neurowissenschaften, dass Neuroradiologen, Neurologen oder kognitive Neurowissenschaftler (Neuropsychologen) die Interpretation der Daten übernehmen müssen, denn nur

diese Berufszweige verfügen über die notwendigen Ausbildungshintergründe, um neuroanatomische und neuropsychologische Befunde zu bewerten. Des Weiteren ist derzeit noch ein erhebliches Mass an Zurückhaltung im Hinblick auf die Interpretation der Daten notwendig. Derzeit werden zunehmend Befunde publiziert, die neuroanatomische und neurofunktionelle Besonderheiten des menschlichen Gehirns mit spezifischen normalen und devianten Verhaltensweisen in Verbindung bringen (siehe auch Brandner, S.14). Typische Fragestellungen, die derzeit weltweit von kognitiven Neurowissenschaftlern bearbeitet werden, beziehen sich z. B. auf den Zusammenhang zwischen Hirnfunktionen sowie verschiedene psychische Aspekte wie:

- Persönlichkeit
- Vulnerabilität für psychiatrische und neurologische Erkrankungen
- Sexuelle Präferenzen
- Politische Gesinnung
- Neigung zu aggressivem Verhalten
- Neigung zu Sucht
- Emotionsverarbeitung
- Intelligenz
- Empathie
- Kaufwünsche

Die hier dargestellte Liste repräsentiert eher die ethisch problematische Seite der Bildgebung. Es soll nicht unerwähnt bleiben, dass auch unzählige Fragestellungen existieren, die im Hinblick auf die Ethik eher unbedenklich sind (z.B. Fragen zur Lernfähigkeit, allgemeine Verarbeitungsprinzipien im Zusammenhang mit der Wahrnehmung und dem Gedächtnis).

Brain reading

Für die oben dargestellten psychischen Bereiche wird die Gefahr gesehen, dass man mittels der bildgebenden Verfahren quasi verdeckte Wünsche, Neigungen und Verhaltensweisen objektiv gegen den Willen des Untersuchten messen könnte. Diese Gefahr ist für einige Aspekte durchaus gegeben, insbesondere für die Erkennung der Vulnerabilität für psychische Erkrankungen, aber auch für die Analyse der neuronalen Emotionsverarbeitung. Manche befürchten gar, dass in Zukunft so etwas wie «brain reading» möglich sei. Darunter versteht man die potenzielle Möglichkeit, anhand der objektivierten Hirnaktivierungen auf die ablaufenden Kognitionen und Emotionen zu schliessen. In gewissen Grenzen ist dies jetzt schon möglich, obwohl die kognitiven Neurowissenschaften noch sehr weit davon entfernt sind, die Funktionsweise des menschlichen Gehirns derart zu verstehen, um ein perfektes «brain reading» zu gewährleisten. Es existieren darüber hinaus auch ernst zu nehmende philosophische Einwände, die betonen, dass das subjektive Erleben einer Person nie mittels bildgebender Verfahren ergründbar sein kann, weil die Erste-Person-Perspektive (ich) nie durch eine dritte Person (also aus der Dritte-Person-Perspektive) erschlossen werden könne. Insofern sind viele der oben aufgeführten psychischen Bereiche noch als spekulative Ausblicke aufzufassen, die sich wahrscheinlich so nie einstellen werden. Ein typisches Beispiel ist wohl das Neuromarketing, eine neue Forschungsrichtung, die vorgibt, anhand von Hirnaktivierungen das Kaufverhalten von Kunden vorherzusagen. Aus derzeitiger Sicht der kognitiven Neurowissenschaften ist dieser Ansatz eher kritisch zu sehen.

Soziopathen: Auffälligkeiten im Frontalkortex?

Ein anderer ethischer Problembereich ist viel virulenter und birgt auch für die Zukunft erhebliche ethische Gefahren. Der-

zeit häufen sich Befunde, die psychische und neurologische Auffälligkeiten mit hirnanatomischen Devianzen in Verbindung bringen. So konnte z.B. gezeigt werden, dass Soziopathen über neuroanatomische Auffälligkeiten im Frontalkortex verfügen. Es wird davon ausgegangen, dass diese neuroanatomischen Auffälligkeiten die defizitären Verhaltenskontrollfunktionen bei diesen Soziopathen determinieren. Wenn dem so ist, könnte man in Zukunft alleine anhand neuroanatomischer Bilder in vivo Soziopathen identifizieren und entsprechend behandeln. Dies kann auch zu veränderten Einstellungen zu Soziopathen führen, denn wenn sie einen Hirndefekt haben, dann sind sie offenbar nicht direkt verantwortlich für ihre Taten. Aktuelle Fälle des US-amerikanischen Gerichtswesens belegen den lebhaften Einfluss solcher Überlegungen auf das Rechtssystem. In diesem Zusammenhang ist auch darauf zu verweisen, dass die mit bildgebenden Verfahren erhobenen Daten lange gespeichert werden können. Dies kann dazu führen, dass Hirndaten, die vielleicht im Zusammenhang mit einer ärztlichen Routineuntersuchung erhoben wurden, Jahre später zu anderen Zwecken verwendet werden. Möglicherweise könnten sich die Analysemethoden verbessert haben, und man würde feststellen, dass eine Person über ein Hirn verfügt, das typisch für ein soziopathisches Gehirn ist. Wenn dies publik würde, wie reagieren dann die Versicherungen, die Angehörigen und der Proband selbst?

Die vielen diagnostischen Möglichkeiten, die bildgebende Verfahren eröffnen, sind auch mit dem Problem verbunden, dass einige Krankheiten früher erkannt werden können. Das könnte von Vorteil sein, wenn entsprechende Behandlungsmethoden zur Verfügung stehen. Wenn allerdings keine Behandlungsmethoden zur Verfügung stehen, dann wird der Patient unter erheblichen psychischen Belastungen leiden. Die weitaus häufiger auftretende Möglichkeit ist, dass nicht eindeutig zu diagnostizierende anatomische Defizite identifiziert werden, die sowohl den Arzt als auch den Patienten ratlos zurücklassen (z.B. so genannte «Zufallsbefunde»). Solche Befunde können aber erhebliche Veränderungen im Hinblick auf die Lebenszufriedenheit des Betroffenen auslösen.

Trotz aller Probleme darf etwas nicht ausser Acht gelassen werden: Die Bildgebung hat insbesondere für die kognitiven Neurowissenschaften, aber auch für die medizini-

sche Diagnostik einen erheblichen Erkenntnisgewinn erbracht.

Literaturliste:

Jäncke, L. (2005): Methoden der Bildgebung in der Psychologie und den kognitiven Neurowissenschaften. Stuttgart: Kohlhammer.

Jancke, L. & Shah, N. J. (2004): Hearing syllables by seeing visual stimuli. Eur. J. Neurosci., 19, 2603–2608.

Lutz Jäncke

Universität Zürich,
Lehrstuhl für Neuropsychologie

Methoden der Bildgebung in der Psychologie und den kognitiven Neurowissenschaften.

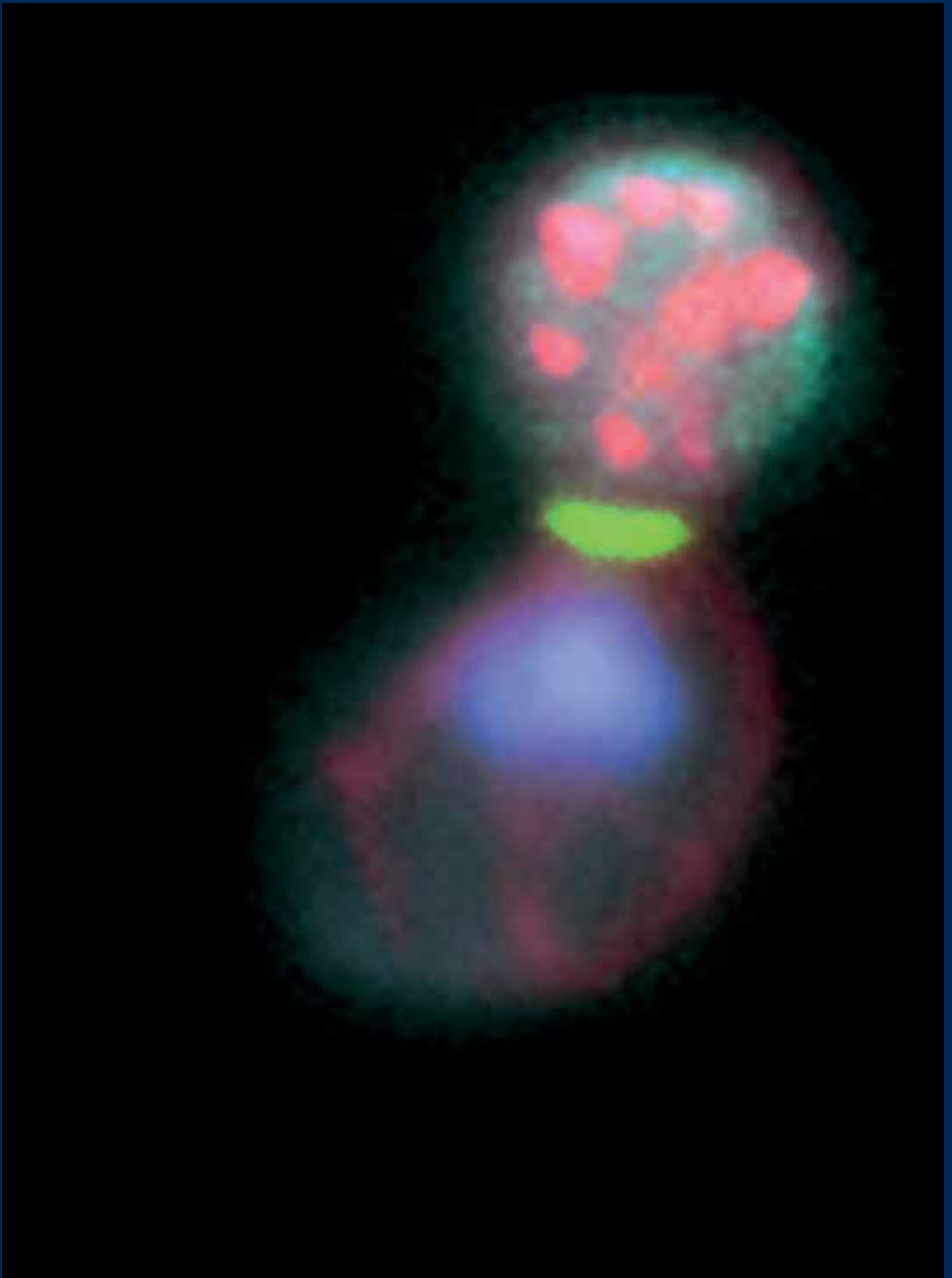
von Jäncke, Lutz

Standards Psychologie, 235 S., 129 Abb., gebunden, Kohlhammer, 2005

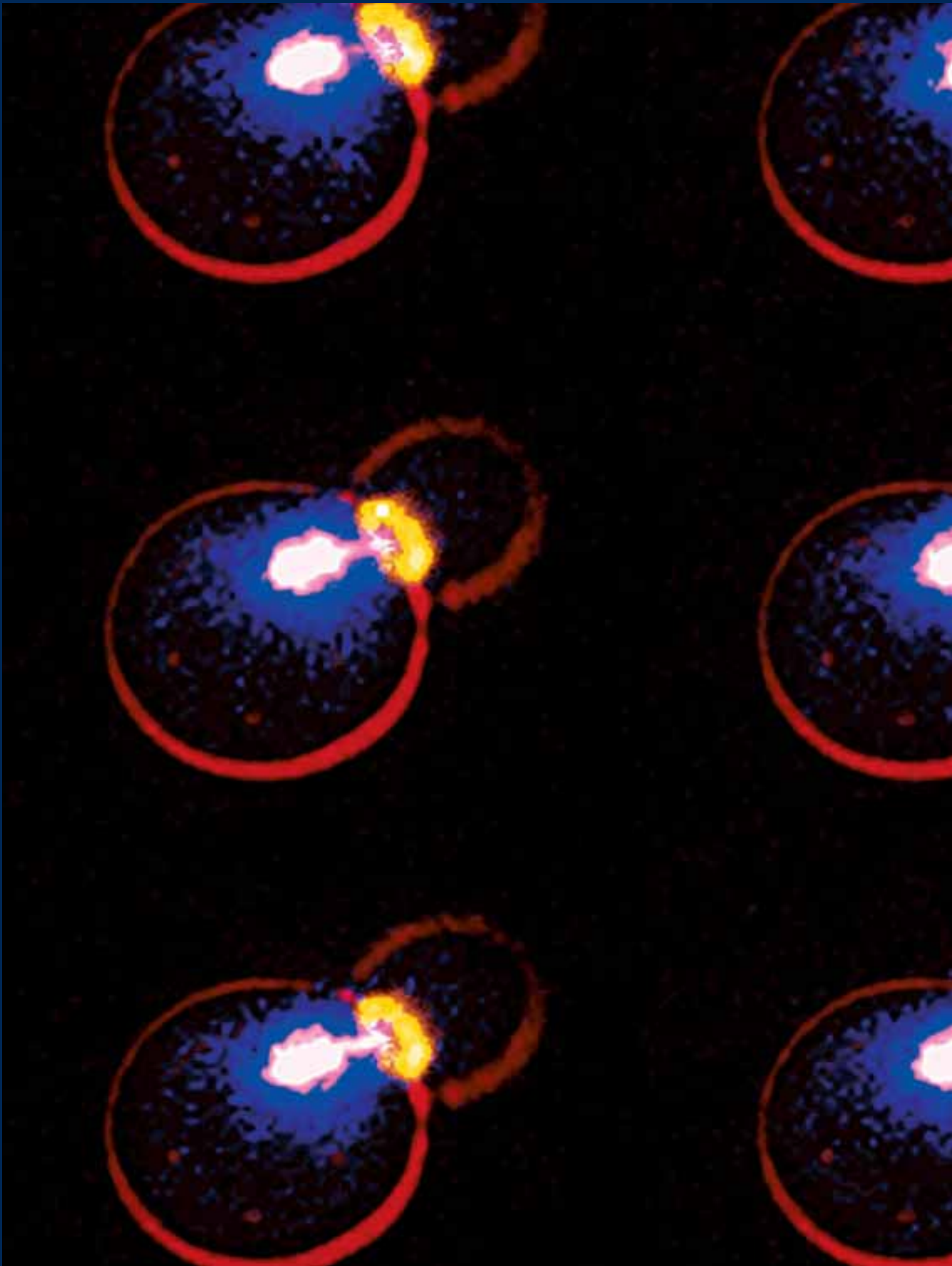


Seit Anfang der 1990er-Jahre haben sich die technischen Möglichkeiten enorm verbessert, das menschliche Gehirn zu untersuchen und dessen Strukturen und Aktivitäten

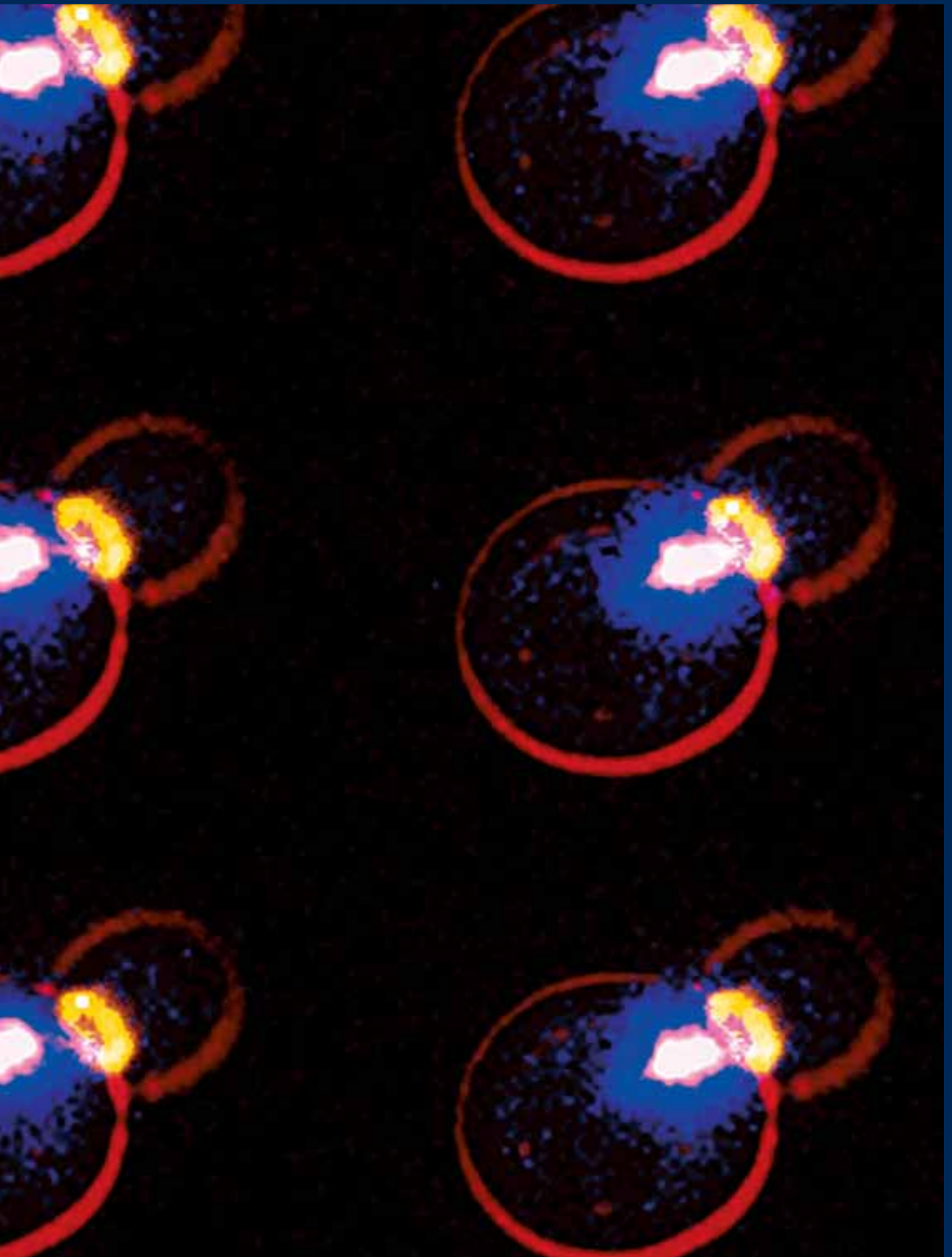
zu messen. Heute gehören die verschiedenen Formen der Bildgebung – u.a. Positronenemissionstomographie, Magnetresonanztomographie, Magnetenzephalographie, Transkranielle Magnetstimulation – zu den grundlegenden Methoden der Neurowissenschaften, insbesondere der Neuropsychologie, der Klinischen Psychologie, der Neurologie, der Neurobiologie und der Psychiatrie. Die mit den neuen Methoden verbundenen faszinierenden technischen Entwicklungen haben nicht nur zu einer neuen Wissenschaft, nämlich der kognitiven Neurowissenschaft, geführt, sondern auch neuen theoretischen Konzepten des menschlichen Verhaltens und Denkens zum Durchbruch verholfen. Dieses Lehrbuch führt Studierende und Lehrende behutsam in die komplexen Verfahren ein und gibt Psychologen, Neurologen und Psychiatern in Praxis sowie in Aus-, Fort- und Weiterbildung darüber hinaus anwendungsorientierte Hilfestellungen und Anregungen.



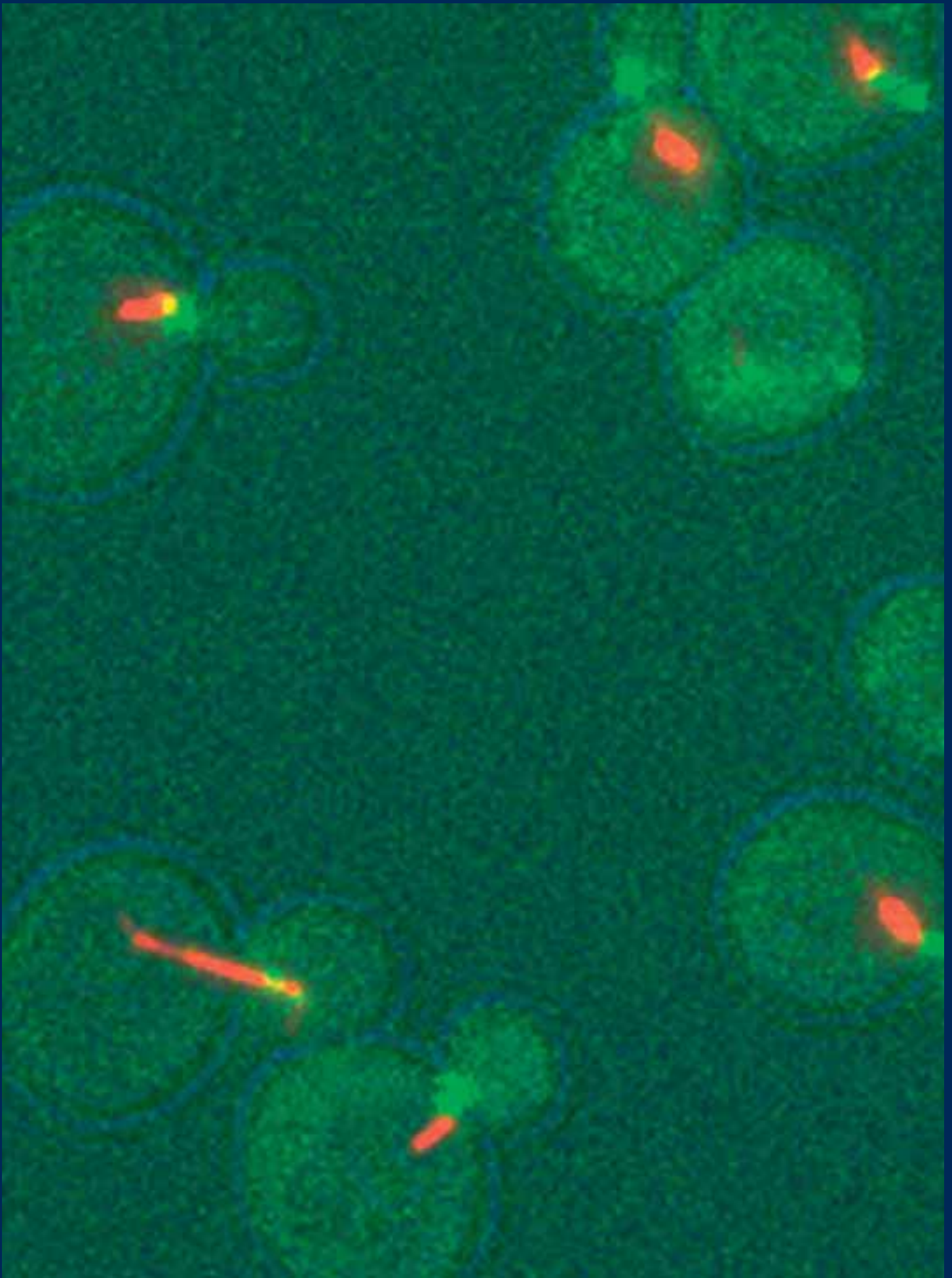
HEFEZELLEN TEILEN SICH DURCH KNOSPUNG. Die Mutter-Hefezelle (dunkler Zellbereich, darunter Septin-Ring – grün) enthält den Kern mit allen Chromosomen (blau). Um sich zu teilen, lässt die Zelle einen neuen Zellbereich wachsen, die Knospe, die später zur Tochterzelle wird. Das Knospfen-Wachstum hängt vom Actin (rot) und Polaritätsfaktoren (grün) ab. (siehe S. 31)



SPINDELBEWEGUNG ZUM KNOSPENHALS HIN. Neun aufeinander folgende Filmbilder zeigen die Bewegung der mitotischen Spindel in Richtung des Knospenhalses. Gelb: Septin-Fäden beim Knospenhals.



Rosa: Mikrotubuli; die Kontur der Zelle ist rot markiert. Die Spindel ist der dicke Balken im Zentrum der Zelle. Die beiden Enden des Balkens stellen die beiden Spindeln dar. (siehe S. 31)



Das Protein Kar9 befindet sich asymmetrisch zu den Spindelpolen und den zugehörigen Microtubuli. Ein Zellenfeld, das fluoreszierendes Tubulin (rot) und fluoreszierendes Kar9 (grün) exprimiert. Das Tubulin bildet die Mikrotubuli, die ihrerseits die Spindel bilden (rote Balken in Mutterzellen). (siehe S. 31)

DAS RÄTSEL ALZHEIMER

MARKUS RUDIN, KLAAS PRÜSSMANN, PETER BÖSIGER UND ROGER NITSCH

Die Perspektiven für die Behandlung der Alzheimer-Demenz sind eng gekoppelt an die Entwicklung diagnostischer Verfahren: Mit ihrer Hilfe kann die Therapie früh indiziert und in ihrem Verlauf kontrolliert werden. Die biologischen Mechanismen, die den morphologischen und physiologischen Veränderungen der Alzheimer-Demenz zugrunde liegen, sind für die Entwicklung neuer Therapien wie auch neuer diagnostischer Strategien massgeblich. Neue Imaging-Methoden könnten dabei von Nutzen sein.

Frühsymptome der Alzheimer-Demenz sind die Beeinträchtigung des Kurzzeitgedächtnisses sowie andere Defizite kognitiver Funktionen. Alzheimer-Demenz ist eine neurodegenerative Erkrankung, die rund 8% der über 65- und 20% der über 80-Jährigen betrifft (1, Abb. 1). In der Schweiz gibt es heute rund 70 000–85 000 Patienten mit steigender Tendenz aufgrund der demographischen Entwicklung. Die durchschnittlichen Kosten pro Patient (Behandlung / Pflegeheim) belaufen sich in Deutschland auf rund 44 000 Euro pro Jahr (2), was auf die Schweiz extrapoliert das Gesundheitswesen mit etwa 5 Mrd. Schweizer Franken pro Jahr belastet. Diese Zahlen belegen, dass die Entwicklung von Therapien zur Behandlung von Alzheimer-Demenz von grosser medizinischer Relevanz ist; alle grossen pharmazeutischen Firmen bearbeiten entsprechende Projekte.

Die zuverlässige quantitative Erfassung des Zustandes eines Patienten ist essenziell für die Beurteilung von potenziellen Therapieeffekten. Die klassische Alzheimer-Diagnose basiert auf neuropsychologischen Testbatterien (z. B. mini-mental score), welche die kognitiven Fähigkeiten eines Patienten erfassen. Die Spezifität solcher Verfahren ist limitiert; andere neurodegenerative Erkrankungen (beispielsweise vaskuläre Demenz) können auf diese Weise nicht ausgeschlossen werden.

Definitive Diagnose – erst nach dem Tod

Bei fortgeschrittener Krankheit nimmt das Gehirnvolumen ab. Diese so genannte Atrophie kann mittels nichtinvasiver Magnetresonanztomographie (MRI) quantitativ er-

fasst werden. (siehe auch Brandner, S. 14). So wurde beispielsweise gezeigt, dass die jährliche Reduktion des Gehirnvolumens bei Alzheimer-Patienten signifikant erhöht ist im Vergleich zu gleichaltrigen Gesunden (3). Die definitive Diagnose Alzheimer kann jedoch erst nach dem Tod gestellt werden. Zweifelsfrei lässt sich die Krankheit bislang nur durch histologische Untersuchungen nachweisen. Sie manifestiert sich in charakteristischen Ablagerungen im Gehirn, den so genannten amyloiden Plaques und neurofibrillären Tangles.

Häufigkeit und Zeitpunkt des Auftretens von Alzheimer sind weitgehend unabhängig vom Kulturkreis des Betroffenen. Dies deutet darauf hin, dass die Mechanismen, die zur Erkrankung führen, primär altersabhängig sind (1). Das Erkrankungsrisiko ist individuell genetisch bedingt, vererbte Veränderungen von einzelnen Genen sind vor allem wesentlich bei Patienten, die in frühem Alter erkranken, jedoch insgesamt selten (1). Beteiligt sind unter anderem jene Gene, die für die Bildung von Amyloid Precursor Protein (APP), Präsenilin 1 und 2 (PS-1, PS-2) und Apo-Lipoprotein E (Apo E) verantwortlich sind. Im Folgenden konzentrieren wir uns auf Mechanismen, die mit der Bildung von amyloiden Plaques zusammenhängen. Die erhöhte zerebrale Konzentration von β -Amyloid-Peptid (β) bei Alzheimer-Patienten ist das Resultat einer abnormalen Spaltung eines Transmembran-Proteins, des Amyloid Precursor Proteins (APP). Dieses wird durch proteolytische Enzyme, die Sekretasen, gespalten. Beim sukzessiven Abbau von APP durch β - und γ -Sekretase entsteht β , ein Prozess, der auch bei Gesunden auftritt und nicht notwendiger-

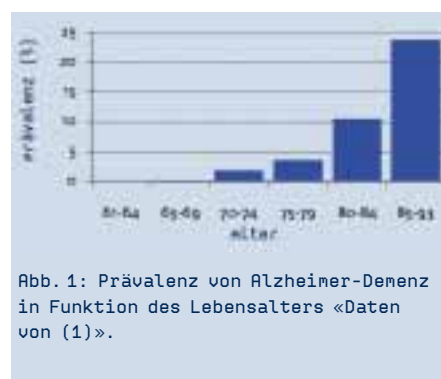


Abb. 1: Prävalenz von Alzheimer-Demenz in Funktion des Lebensalters «Daten von (1)».

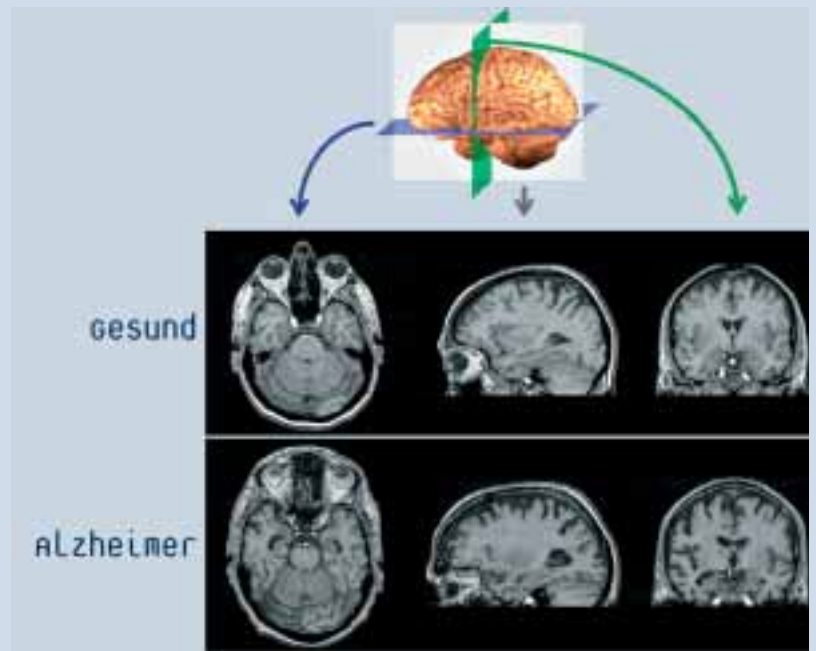
weise pathologisch ist. Erhöhte Aktivität von diesen Enzymen führt aber zu erhöhter Konzentration von β , das zu Plaques aggregieren kann (Abb. 2). β -Plaques ihrerseits können im Gehirn eine Immunantwort auslösen, assoziiert mit Entzündungsprozessen, Verlust von Neuronen und beschleunigter Plaque-Bildung (4). Es wurde gezeigt, dass an Stellen, wo Plaques auftreten, ebenfalls typische Zeichen einer Entzündung in Form spezieller Proteine und Immun-Zellen auftreten (5).

Zur Behandlung der Alzheimer-Demenz versucht man, in diesen Prozess in verschiedenen Phasen einzugreifen. Eine Strategie zielt auf die Reduktion der zerebralen β -Konzentration durch Hemmung der β -Bildung ab, und zwar durch die Hemmung der β - und γ -Sekretasen. Ein zweiter Ansatz besteht darin, die Aggregation von β zu potenziell toxischen Plaques zu verhindern. Die schädliche Immunantwort auf diese Plaques versucht man schliesslich durch eine vorgängige Impfung zu verhindern. In allen Fällen würde eine erfolgreiche Behandlung zur Reduktion der Plaque-Konzentration im Gehirn führen.



Abb. 2: PROTEOLYTISCHE SPALTUNG VON Amyloid Precursor Protein (APP) durch β - und γ -Sekretase verursacht zu hohe Konzentrationen von zerebralem β -Amyloid, was zu Aggregation und Plaquebildung führt.

Abb. 3: STRUKTURELLES MR-IMAGING von einem Alzheimer-Patienten (untere Reihe) und einem gleichaltrigen Gesunden (obere Reihe). Die Abnahme des Hirnvolumens beim Patienten ist offensichtlich (vergrösserte Hirnfurchen und Ventrikel).



Moderne Bildgebungsverfahren

Um potenzielle Therapie-Effekte früh, quantitativ und reproduzierbar zu ermitteln, sind diagnostische Verfahren erforderlich, die hohe Sensitivität und Spezifität aufweisen. Zudem sollten sie nicht oder nur minimal invasiv sein. Diese letzte Bedingung wird am besten durch moderne Bildgebungsverfahren erfüllt. Strukturelle und funktionelle Bildgebung mittels MRI misst morphologische und physiologische Veränderungen infolge des Krankheitsprozesses. So wurde gezeigt, dass die jährliche Abnahme des Gehirnvolumens in Alzheimer-Patienten ungefähr 5-mal grösser ist als jene bei gleichaltrigen Gesunden: $-2,5\%$ gegenüber $-0,5\%$ pro Jahr (Abb. 3, (3)). Methoden zur quantitativen Volumenbestimmung müssen äusserst akkurat sein, damit bei diesen geringen Unterschieden Therapie-Effekte zuverlässig nachgewiesen werden können. Die Empfindlichkeit der Morphometrie kann optimiert werden durch Vermessen spezifischer Gehirnregionen, die besonders starke Atrophien zeigen, wie zum Beispiel der Hippocampus. Alternativ könnten Änderungen in physiologischen Gewebsparametern, beispielsweise der Durchblutung, als Indikator für den Therapieerfolg herangezogen werden: Durchblutungsstörungen infolge von Ablagerungen von Amyloid an den Gefässen spielen möglicherweise eine bedeutende Rolle bei der Entwicklung der Alzheimer-Krankheit (siehe auch Abela et al., S. 60). Schliesslich könnten therapiebedingte Verbesserungen bei der Durchführung von kognitiven Tests mittels funktioneller MR-Bildgebung

(fMRI) quantitativ bestimmt werden. Alle diese Verfahren sind eingesetzt worden, um bei Patienten den spontanen Krankheitsverlauf zu dokumentieren und andererseits in Pilot-Studien potenzielle Alzheimer-Therapeutika zu evaluieren. Dabei sind zwei wesentliche Probleme zutage getreten: 1) die Methoden haben sich als nicht genügend sensitiv erwiesen und 2) Effekte konnten nur über lange Zeiträume gezeigt werden.

In den vorgängig diskutierten Therapie-Konzepten kommt der quantitativen Erfassung der Belastung durch $A\beta$ -Plaques eine zentrale Bedeutung zu. Amyloide Plaques unterscheiden sich strukturell vom umgebenden Gewebe; ihre Grösse liegt typischerweise im Bereich von $100\ \mu\text{m}$. Prinzipiell sollte es daher mittels MRI möglich sein, solche Plaques ohne Zugabe eines Kontrastmittels nachzuweisen. Tatsächlich konnten in einem Maus-Modell $A\beta$ -Plaques abgebildet werden (7); die erforderliche räumliche Auflösung und die damit verbundenen Aufnahmezeiten schliessen jedoch derzeit eine direkte Übertragung des Verfahrens auf den Menschen aus. Die quantitative Erfassung der Plaquebelastung erfordert offensichtlich eine andere Strategie: Die selektive Markierung von Plaques mit kontrastverstärkenden Molekülen sollte eine zuverlässige Messung ihrer Konzentration auch bei geringerer räumlicher Auflösung erlauben.

Die Entwicklung von solch spezifischen Marker-Molekülen erfolgt analog zur Entwicklung von spezifischen Wirkstoffen. Das Marker-Molekül muss eine hohe Affinität und Selektivität zu seinem Zielmolekül ha-

ben (in unserem Beispiel aggregiertes $A\beta$), es muss zu den Plaques gelangen (gute Bioverfügbarkeit) und sollte keine toxischen Nebeneffekte auslösen. Spezifische Farbstoffe aus der Histologie können ebenfalls als Referenzstrukturen für In-vivo-Marker herangezogen werden. Tatsächlich basiert die Struktur von Plaque-Markern für die Positronenemissionstomographie (PET) auf Histologie-Farbstoffen wie Kongorot oder Thioflavin. In-vitro-Studien an Gehirnpräparaten bestätigten diesen Markern hohe Plaque-Affinität (8), während klinische PET-Studien signifikant höhere Signalintensitäten bei Alzheimer-Patienten im Vergleich zu gesunden Altersgenossen ergaben (8,9). Verschiedene von diesen PET-Markern sind zurzeit in der klinischen Erprobung.

Bei transgenen Mausmodellen der Alzheimer-Krankheit können als Alternative zu PET-Markern plaquespezifische Farbstoffe eingesetzt werden, die Fluoreszenz-Emission im nahen Infrarotbereich (NIR) aufweisen (siehe auch Rudin/Schubiger, S. 36). In diesem spektralen Fenster ist die Lichtabsorption durch Gewebe relativ gering, so dass Signale aus Tiefen von bis zu einigen Zentimetern gemessen werden können. Ein entsprechender Farbstoff wurde zur Bestimmung der Plaquekonzentration bei einem transgenen Mausmodell eingesetzt ((10), Abb. 4). NIR-Fluoreszenz-Imaging ist präklinisch attraktiv; in der Klinik ist die Methode aufgrund der geringen Eindringtiefe der NIR-Strahlung jedoch nur beschränkt einsetzbar.

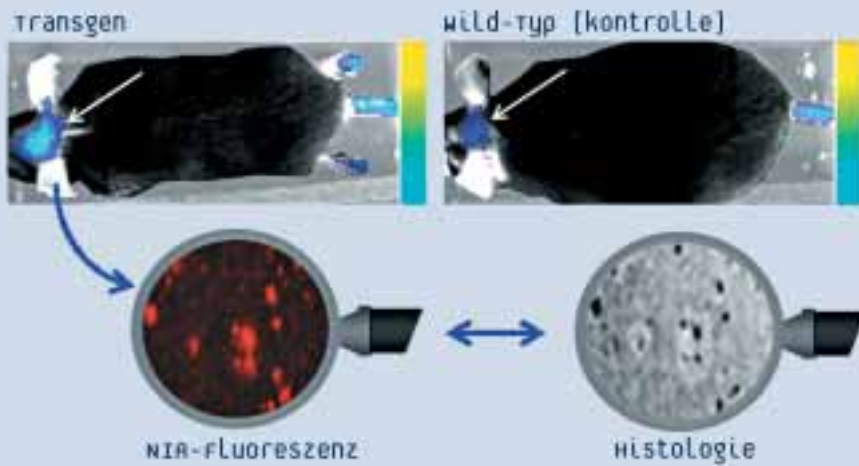


Abb. 4: PLAQUE-IMAGING mittels NIR-Fluoreszenz-Imaging bei einem transgenen Mausmodell der Alzheimer-Demenz (APP23). In-vivo-Experimente ergaben signifikant höhere NIR-Intensität im Gehirn der transgenen Mäuse (farbige Überlagerung) im Vergleich zu normalen Tieren. Histologische Analysen ergaben hohe NIR-Fluoreszenzsignale (rote Bereiche, linkes Bild) an Orten von Plaques (dunkle Stellen, rechtes Bild) und demonstrieren damit die Plaque-Affinität des Farbstoffs (nach (10)).

Intelligente Proben

Neben den beschriebenen Ansätzen für die Untersuchung struktureller Details zielt eine weitere Klasse neuer Bildgebungsmethoden darauf, sogar molekulare Prozesse im intakten Organismus sichtbar zu machen. So wurden beispielsweise «intelligente» NIR Marker («smart Probes») entwickelt, die via Spaltung durch ein spezifisches proteolytisches Enzym aktiviert werden; d. h., die Proben geben nur ein Signal, wenn das entsprechende Enzym im Gewebe vorhanden ist. Der zugrunde liegende Mechanismus wird als Fluoreszenz-Energie-Resonanz-Transfer bezeichnet. «Smarte» Proben erlauben es, räumlich und zeitlich aufgelöst die Aktivität von proteolytischen Enzymen darzustellen (11). Hohe proteolytische Aktivität findet sich bei einer Vielfalt von Pathologien wie z. B. bestimmten Tumortypen, Arteriosklerose oder Arthritis. Auf die Alzheimer-Demenz angewendet, könnte man mittels Sekretase-Markern direkt die Wirksamkeit von Enzym-Hemmstoffen (Inhibitoren) und dadurch Evidenz zur Gültigkeit der pharmakologischen Hypothese zeigen. Spezifische Sekretase-Marker-Moleküle sind allerdings bis heute noch nicht beschrieben.

Der kombinierte Einsatz von modernen nichtinvasiven Imagingmethoden erlaubt eine umfassende diagnostische Charakterisierung von Krankheitsprozessen sowie die quantitative Evaluation von therapeutischen Interventionen. Dies wurde am Beispiel von Behandlungsstrategien bei der Alzheimer-Demenz, die auf Reduktion der Plaquebelastung abzielen, diskutiert. Spe-

zifische Marker erlauben es, die Plaquekonzentration nichtinvasiv zu visualisieren und zu messen, eines Tages möglicherweise auch die zugrunde liegenden molekularen Mechanismen. Klassische Bildgebung erfasst die morphologischen und physiologischen Konsequenzen dieser molekularen Prozesse – eine essenzielle, komplementäre Information. Das eigentliche Ziel der Behandlung ist schliesslich nicht die Reduktion der Plaquebelastung, sondern die Erhaltung oder Verbesserung der kognitiven Fähigkeiten des Patienten.

Die Entwicklung der Biomedizin in die Richtung immer gezielterer kausaler Therapien bringt eine Vielzahl neuer Herausforderungen für die Bildgebung und allgemeiner für die Bioanalytik mit sich. Dabei kommt den nichtinvasiven Methoden eine zentrale Bedeutung zu, erlauben sie doch mechanistische Studien auch im intakten Organismus, d. h. im Gesamtkontext. Dazu müssen die Bildgebungstechnologien so erweitert und kombiniert werden, dass sie Einblicke in molekulare und zelluläre Mechanismen in zeitlich und räumlich aufgelöster Form liefern. Vieles deutet darauf hin, dass diese Entwicklung die diagnostischen und therapeutischen Möglichkeiten für eine grosse Zahl von Patienten nachhaltig erweitern wird.

Markus Rudin^a, Klaas Prüssmann^a, Peter Bösiger^a, Roger Nitsch^b

^a Institut für Biomedizinische Technik, D-ITET ETH Zürich und Universität Zürich

^b Psychiatrische Universitätsklinik, Universität Zürich

Zitierte Literatur:

1. Staehelin HB. (2004): Epidemiologie der Demenzerkrankungen. Schweiz Med Forum 4: 247–250
2. www.meb.unibonn.de/epileptologie/aktion/dekade/berlin/ppt-2003-02-05.ppt
3. Fox NC. et al.: Correlation between rates of brain atrophy and cognitive decline in AD. Neurology 1999; 52: 1687–1689
4. Eikelenboom P., van Gool WA. (2004): Neuroinflammatory perspectives on the two faces of Alzheimer's disease. J Neural Transm. 111: 281–94.
5. Brodyman O., Malter JS. (2004): Anti-A β : the good, the bad, the unforeseen. J Neurosci Res 75: 301–306
6. Schenk D. et al. (1999): Immunization with A β attenuates Alzheimer-disease-like pathology in the PDAPP mouse. Nature 400: 173–177
7. Jack CR. et al. (2004): In vivo visualization of Alzheimer's amyloid plaques by magnetic resonance imaging in transgenic mice without a contrast agent. Magn Reson Med 52: 1263–1271
8. Agdeppa ED. et al. (2001): Binding characteristics of radiofluorinated 6-dialkylamino-2-naphthylethylidene derivatives as positron emission tomography imaging probes for beta-amyloid plaques in Alzheimer's disease. J Neurosci. 21: RC189
9. Klunk WE. et al. (2004): Imaging brain amyloid in Alzheimer's disease with Pittsburgh Compound-B. Ann Neurol. 55: 306–319
10. Hintersteiner M. et al. (2005): In vivo detection of amyloid deposits by near-infrared fluorescence imaging using a novel oxazine derivative as contrast agent. Nature Biotechnology 23: 577–83
11. Tung CH. et al. (2000): In vivo imaging of proteolytic enzyme activity using a novel molecular reporter. Cancer Res. 2000 60: 4953–8

«NANO-SPRITZEN» MACHEN KRANK

MARKUS SCHLUMBERGER, HUBERT HILBI UND WOLF-DIETRICH HARDT

Es gibt eine Unzahl verschiedener Bakterienarten auf der Welt. Und obwohl die meisten völlig harmlos für den Menschen sind, können einige Dutzend Bakterienarten ernsthafte Krankheiten auslösen. Wie dies genau vor sich geht, kann man dank neuer bildgebender Verfahren sogar filmen.

Bekannte Erreger wie *Vibrio cholerae* (Cholera), *Bacillus anthracis* (Milzbrand), *Yersinia pestis* (Pest), *Salmonella typhimurium* (Durchfall), *Shigella flexneri* (Bakterienruhr) und *Legionella pneumophila* (Legionärskrankheit) lösen bei Menschen diverse Krankheiten aus.

Was unterscheidet nun pathogene Bakterien von ihren harmlosen Verwandten? Es stellte sich heraus, dass der Unterschied zu meist auf der An- beziehungsweise Abwesenheit von bestimmten DNA-Abschnitten, den Virulenzgenen, beruht. Pathogene Bakterien besitzen solche Virulenzgene, harmlose nicht. Das Arsenal von Virulenzgenen bestimmt die Art der Krankheit, die ein pathogenes Bakterium auslösen kann. Für die Entwicklung neuer Strategien zur Bekämpfung von Infektionskrankheiten ist die Entschlüsselung der Wirkungsweise der Virulenzfaktoren von grosser Bedeutung.

«Nano-Injektionsspritzen» manipulieren Zellen

Viele Pathogene, die im engen Kontakt mit ihren Wirten leben, haben eine ganz besondere Fähigkeit erworben, den Wirt zu manipulieren: Spritzen im Nano-Massstab. Tritt ein pathogenes Bakterium mit einer Wirtszelle in Kontakt, injiziert es mit Hilfe dieser Spritzen einen Cocktail von Virulenzfaktoren direkt in die Zelle. Im Inneren der Wirtszelle manipulieren diese Virulenzfaktoren zelluläre Prozesse. Auf diesem Wege werden die Wirtszellen zu Verhaltensweisen gezwungen, die das Wachstum des Pathogens fördern und die Infektionsabwehr erschweren.

Bislang sind zwei Bauarten für solche Nano-Spritzen bekannt, die Typ-III- und die Typ-IV-Sekretionssysteme. Die Typ-III-Sekretionssysteme stammen vermutlich von den Fortbewegungsapparaten (Flagellen) der Bakterien ab. Die Typ-IV-Sekretionssysteme sind aus Transportsystemen entstanden, die ursprünglich dem Austausch von Erbmaterial zwischen verschiedenen Bakterien gedient haben. Beide Nano-Spritzen haben gemein, dass sie eine Art Hohl-nadel-Struktur ausbilden, die einen Innendurchmesser von wenigen Nanometern haben. Treffen die Bakterien auf eine Wirtszelle, wird ein Cocktail von Virulenzfaktoren durch diese Hohl-nadelstrukturen direkt ins Innere der Wirtszelle gepumpt. Die Bakterien (1–2 μm), die Injektionsnadeln (ca. 30–500 nm lang), die Virulenzfaktoren (Durchmesser: ca. 1–50 nm) und die betroffenen Strukturen im Inneren der infizierten Zelle (ca. 0,1–10 μm) sind äusserst klein. Deshalb sind hoch auflösende lichtmikroskopische Verfahren und die Elektronenmi-

kroskopie von grosser Bedeutung, um diese Pathogen-Wirt-Interaktion zu analysieren. Zwei Beispiele aus dem Institut für Mikrobiologie der ETH Zürich werden hier vorgestellt.

Salmonella typhimurium: Schuld am Durchfall

Der Durchfallerreger *Salmonella typhimurium* besitzt ein Typ-III-Sekretionssystem, das die Manipulation der Darmzellen erlaubt und Durchfall auslöst. *S. typhimurium* pumpt mit Hilfe dieses Typ-III-Sekretionssystems einen Cocktail von Virulenzfaktoren in die Darmzellen. Die Erkrankung beruht also letztlich auf der Wirkungsweise dieses Virulenzfaktor-Cocktails.

Die Komplexität dieses Cocktails ist verblüffend. Es setzt sich aus mindestens 12 unterschiedlichen Virulenzfaktoren zusammen. Um die Wirkungsweise des Cocktails zu verstehen, werden vielerlei Informationen benötigt: Welche biochemischen Eigenschaften haben die einzelnen Virulenzfaktoren? In welcher Menge und in welchem Mischungsverhältnis kommen die Virulenzfaktoren zum Einsatz? Werden die Virulenzfaktoren gleichzeitig oder in einer bestimmten Reihenfolge injiziert? Wie schnell erfolgt die Injektion durch ein Typ-III-Sekretionssystem?

Die molekulare Funktion einiger *S. typhimurium*-Virulenzfaktoren konnte schon geklärt werden. Es scheinen bevorzugt zentrale Schaltstellen der Informationsverarbeitung angegriffen zu werden wie zum Beispiel die Guanin-Nukleotid-bindenden Proteine Cdc42 und Rac1 oder Signalmoleküle der Phosphatidyl-Inositol-Phosphat-Familie. Nun gilt es aufzuklären, wie die



Das konfokale «Spinning-disc»-Mikroskop in Aktion: Filmaufnahme einer bakteriellen Infektion.

Abb. 1

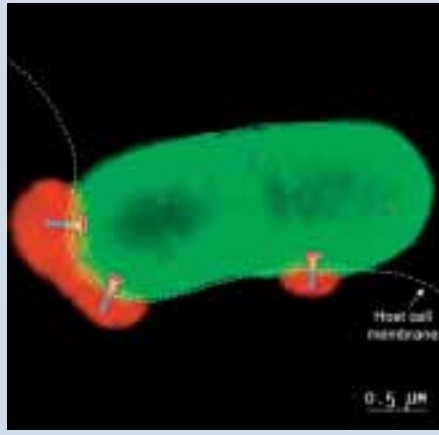
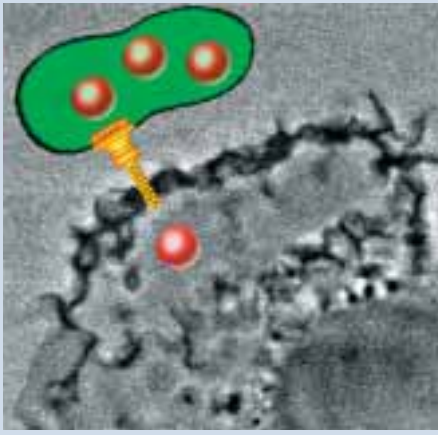


Abb. 1: PATHOGENE BAKTERIEN

wie *Salmonella* und *Legionella* (grün) benutzen molekulare Nano-Injektionsnadeln, um ihre Virulenzfaktoren (rot) direkt in die Wirtszelle einzuspritzen.

Links: SCHEMATISCHE DARSTELLUNG der Injektion von Virulenzfaktoren in eine Fresszelle (Makrophage).

Rechts: FLUORESCENZMIKROSKOPISCHE AUFNAHME

einer *Salmonelle* (grün) während der Injektion eines ihrer Virulenzfaktoren (rot). Zur besseren Anschaulichkeit wurden die Strukturen der Injektionsnadeln* und der Bakterien-Hülle dazu modelliert. Die exakte Darstellung der Nadel-Strukturen bei der Infektion erfordert Mikroskopieverfahren mit höherer Auflösung (z. B. Elektronenmikroskopie). Der Verlauf der Wirtszelle ist durch die gestrichelte weiße Linie angedeutet. Die Injektionsnadeln (Protein-Sekretionssysteme) sind nicht massstäblich abgebildet.

* Die Struktur der Injektionsnadeln wurde modelliert aus Daten der folgenden Publikationen: 1) Marlovits TC. et al., *Science*. 2004 Nov 5;306(5698):1040-2. 2) Cordes FS et al., *Biol. Chem.* 2003 May 9;278(19):17103-7.

Abb. 2

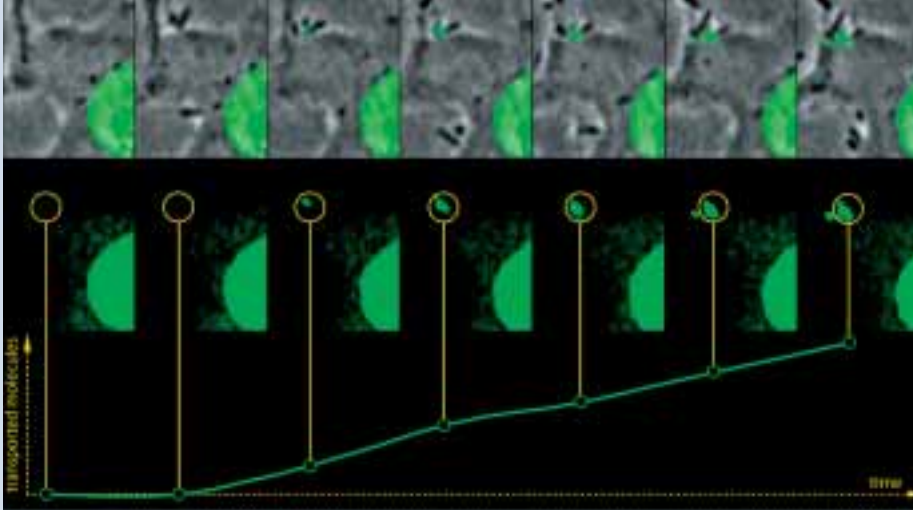


Abb. 2: FILMAUFNAHME

der Virulenzfaktor-Injektion bei *Salmonella typhimurium*. Die Injektion wird durch Rekrutierung einer spezifischen, fluoreszenten Sonde (grün) hin zum eingespritzten Virulenzfaktor zeitlich verfolgt und quantifiziert. Der Beginn der Injektion kann schon wenige Sekunden nach dem Kontakt der Bakterien mit der Wirtszelle nachgewiesen werden.*

Virulenzfaktoren zusammenwirken (synergistisch, antagonistisch) und in ihrer Wirkungsweise und Dosierung aufeinander abgestimmt sind. Das wird erklären, warum *S. typhimurium* seinen Wirt so effizient manipulieren kann, und könnte neue Ansatzpunkte zur Entwicklung von Therapeutika liefern.

«Spinning-disc»-Konfokal-Mikroskopie: Infektionen «filmen»

Kürzlich ist es gelungen, erste Filmaufnahmen des Injektionsvorgangs selbst zu machen. Zunächst wurden hierfür spezielle Fluoreszenzmarker entwickelt. Diese Fluoreszenzmarker binden an die bakteriellen Virulenzfaktoren, sobald diese in der Wirtszelle eintreffen. Für die Filmaufnahmen wurde die Infektion im Zellkulturmodell nachgestellt. Die Säugetierzellen werden in speziellen Mikroskopie-Gefässen gezüchtet, auf den Objektstisch eines Mikroskops montiert und dann unter den Augen des Beobachters infiziert. Der Infektionsvorgang und die Veränderungen im Inneren der infizierten Wirtszelle werden dann gefilmt. Wegen der geringen Proteinmengen (200–5000

Moleküle) und der hohen Geschwindigkeit des Injektionsvorgangs musste eine besonders schonende, lichtempfindliche (Quantenausbeute > 70%) und zeitlich hochauflösende (> 2 Bilder pro Sekunde) Methodik der Fluoreszenzmikroskopie eingesetzt werden, die so genannte «Spinning-disc»-Konfokal-Mikroskopie. Es zeigte sich, dass *S. typhimurium* an Wirtszellen andockt und bereits wenige Sekunden später mit der Injektion des Virulenzfaktor-Cocktails beginnt. Allein für einen Virulenzfaktor konnten Injektionsgeschwindigkeiten von bis zu 60 Molekülen pro Sekunde nachgewiesen werden. Beendet wird die Injektion, wenn der Vorrat des Virulenzfaktors im Inneren des Bakteriums erschöpft ist. Dies sind die ersten quantitativen Daten zur Funktionsweise eines Typ-III-Sekretionssystems und ein Meilenstein zum Verständnis der Wirkung des Virulenzfaktor-Cocktails im Inneren der Wirtszelle. Durch Kombination der Filmaufnahmen des Injektionsprozesses mit hochauflösender Fluoreszenzmikroskopie an fixierten Proben ist es nun möglich, verschiedene Phasen des Injektions- und Infektionsprozesses aufzuschlüsseln (siehe auch Sbalzarini et al., S. 48). So können einzelne Eigenschaften der

bakteriellen Virulenzfaktoren und deren Auswirkungen auf die Wirtszelle untersucht werden (z. B. die Manipulation des Aktin-Zytoskeletts der Wirtszelle). Solche Analysen werden in nächster Zeit massgeblich zum besseren Verständnis der *Salmonella*-Infektionen beitragen.

Legionella pneumophila verursacht Lungenentzündung

Legionella pneumophila ist ein Umweltbakterium, das sich in einzelligen Fresszellen, den Amöben, vermehrt. Gelangen Legionellen über Aerosole in die menschliche Lunge, können sie sich in Fresszellen des Immunsystems (Makrophagen) vermehren. Diese Eigenschaft ist eine Voraussetzung für das Verstehen der schweren Lungenentzündung, der Legionärskrankheit. In Amöben und Makrophagen bilden Legionellen ein «membranhülltes» Organell (Vakuole), worin sie sich vermehren, bis die Wirtszelle platzt. Um diese Vakuole zu bilden, benutzt *L. pneumophila* ein Typ-IV-Sekretionssystem. Fehlt dieses Sekretionssystem, werden die Legionellen von den Fresszellen abgetötet und sind daher nicht

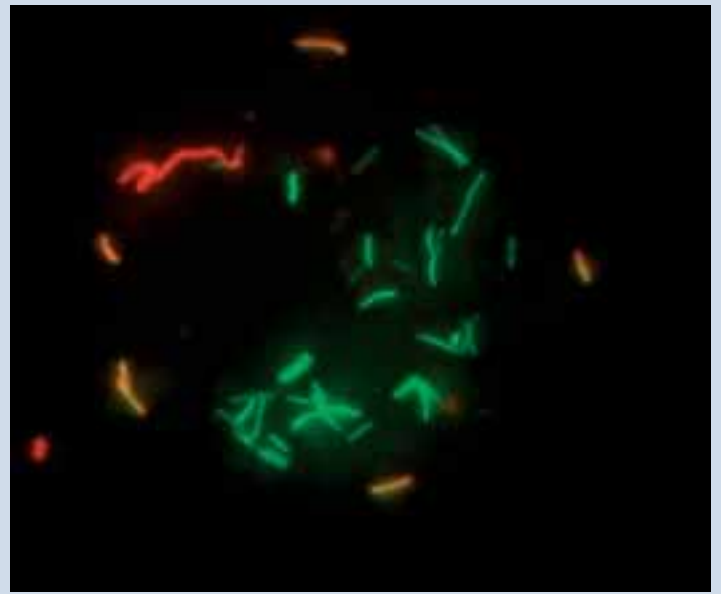
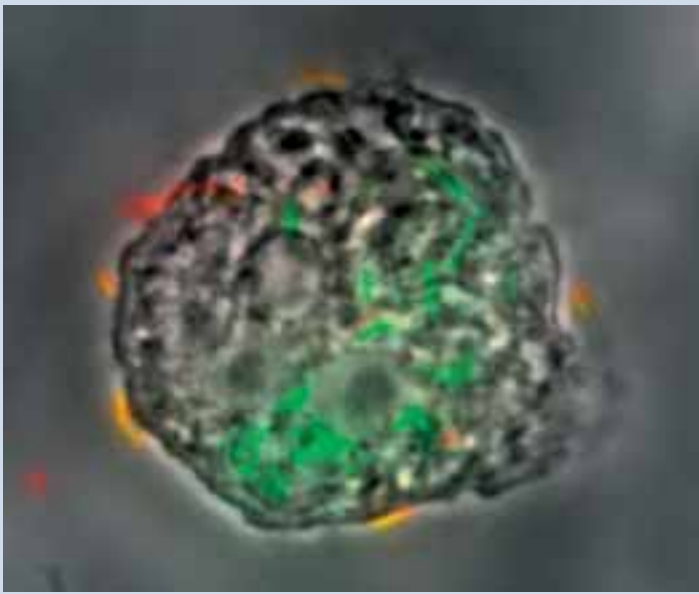


Abb. 3: AUFNAHME EINER AMÖBE infiziert mit grün fluoreszierenden Legionellen. Bakterien ausserhalb der Zelle wurden zusätzlich rot angefärbt.

mehr pathogen. Diese molekularen Injektions-spritzen spielen somit eine zentrale Rolle für die Entstehung der Legionärs-krankheit.

Jüngst konnten ca. 30 verschiedene Virulenzfaktoren von *L. pneumophila* identifiziert werden, die mit Hilfe des Typ-IV-Sekretionssystems in die Wirtszellen transportiert werden. Die molekulare Wirkungsweise der meisten dieser Virulenzfaktoren und ihr Zusammenspiel müssen nun geklärt werden. Man nimmt an, dass diese Proteine ähnlich wie Typ-III-Virulenzfaktoren direkt in Signalwege der Wirtszelle eingreifen, um die Bildung der replikativen Vakuole zu ermöglichen. Die soziale Amöbe *Dictyostelium discoideum* eignet sich besonders, um dynamische Interaktionen zwischen Fresszellen und Legionellen zu untersuchen, da diese Amöbe genetisch manipuliert werden kann. Zurzeit wird insbesondere der Einfluss einer Klasse von Lipiden, der Phosphatidyl-Inositol-Phosphate, auf die intrazelluläre Vermehrung der Legionellen untersucht. Analog zum Salmonella-System (s. o.), ist auch in diesem Fall die Kombination von molekularbiologischen Analysen, Elektronenmikroskopie und hochauflösender Fluoreszenzmikroskopie von zentraler Bedeutung.

Künftige Entwicklungen

Protein-Injektionssysteme spielen bei bakteriellen Infektionskrankheiten eine wichtige Rolle. Die funktionelle Analyse dieser bakteriellen Nano-Spritzen ist für die Medizin und die Grundlagenforschung gleichermaßen interessant. Selbst technische Anwendungen, wie z. B. gezielter Transport

und Injektion von massgeschneiderten Agenzien in bestimmte Zielorte in der Umwelt oder im menschlichen Körper sind denkbar. Für die funktionelle Analyse der Protein-Injektionssysteme sind neben biochemischen Methoden vor allem bildgebende Verfahren von grosser Bedeutung. Die Echtzeitanalyse des Injektionsvorgangs in einzelne Wirtszellen ist hier besonders wichtig. In näherer Zukunft sind vor allem in der Lichtmikroskopie methodische Fortschritte zu erwarten, die für die Erforschung von Protein-Injektionssystemen von grosser Bedeutung wären. Dazu gehören hochauflösende Vielfarben-Fluoreszenzmikroskopie (< 100 nm Auflösung) und schnelle konfokale Darstellungsverfahren. Diese methodischen Fortschritte müssen einhergehen mit der Entwicklung eines breiten Spektrums fluoreszierender Sonden (Genbanken für Fusionsproteine mit fluoreszierenden Proteinen; Fluorophor-markierte monoklonale Antikörper; niedermolekulare, fluoreszierende «tags»). Diese technischen Entwicklungen versprechen bahnbrechende Fortschritte im Hinblick auf die Erforschung der bakteriellen «Nano-Spritzen» und somit für das Verständnis von Infektionskrankheiten.

Markus Schlumberger, Wolf-Dietrich Hardt und Hubert Hilbi

Institut für Mikrobiologie (D-BIOL) der ETH Zürich

* Abb. 2 aus: Schlumberger M.C. et al., PNAS 2005 Aug 30; 102(35):12548–53.

Forschungsinformationen

Markus Schlumberger ist Doktorand in der Gruppe von Prof. Wolf-Dietrich Hardt (ausserordentlicher Professor für Mikrobiologie am Institut für Mikrobiologie (D-BIOL) der ETH Zürich). Die Arbeitsgruppe erforscht die molekularen Mechanismen bakterieller Infektionskrankheiten, insbesondere der Typ-III-Sekretion bei *Salmonella typhimurium*. Zur Untersuchung der Salmonellen-Erkrankung werden verschiedene Infektionsmodelle sowie ein breites Methodenspektrum aus der Biochemie, Molekularbiologie, Zellbiologie und Immunologie angewendet.

Kontakt: Tel. +41 (0)44 632 51 43

Hubert Hilbi ist SNF-Assistenzprofessor für zelluläre Mikrobiologie am Institut für Mikrobiologie (D-BIOL) der ETH Zürich. In seiner Arbeitsgruppe wird die Pathogenität von *Legionella pneumophila* (Legionärskrankheit) und *Shigella flexneri* (Bakterienruhr) analysiert. Im Zentrum stehen die Wechselwirkungen zwischen diesen pathogenen Bakterien und Fresszellen des Immunsystems (Makrophagen) und der Umwelt (Amöben) sowie die Bildung von bakteriellen Biofilmen.

Kontakt: Tel. +41 (0)44 632 47 82

WEIST UNS LICHT-MIKROSKOPIE DEN WEG?

CAREN NORDEN UND YVES BARRAL

Krebs ist eine der Haupttodesursachen in Industrienationen. Die Verbreitung dieser Krankheit ist leider immer noch ansteigend: Schuld daran sind hauptsächlich Umwelteinflüsse und die zunehmende Überalterung unserer Gesellschaft. Viele Patienten, die sich noch in den 70er-Jahren mit einer sehr schlechten Prognose konfrontiert gesehen hätten, können heute, dank den grossen Fortschritten in der medizinischen Forschung, therapiert und oft sogar geheilt werden. Welche Rolle spielt dabei die Lichtmikroskopie?

Alle Krebserkrankungen haben eine gemeinsame Ursache – die fehlgeleitete Zellteilung, die auf zwei verschiedenen Ebenen passieren kann: Zum einen können Zellen, die eine kontrollierte Teilung unterlaufen, zum Beispiel um abgestorbene Zellen zu ersetzen oder um einen Wundverband zu schliessen, ausser Kontrolle geraten. Dies geschieht, wenn Signale des Gesamtsystems an die Zellen nicht erkannt und befolgt werden. In der Folge wird gesundes Gewebe verdrängt oder zerstört. Der Grund hierfür ist meistens, dass der genetische Code für den Informationsempfang und die Informationsverarbeitung verloren gegangen ist oder abgeschaltet wurde. Demzufolge kann Krebs als ein fehlerhafter Eintritt von Zellen in ihr Teilungsprogramm angesehen werden. Krebs kann aber auch durch Fehler in diesem Teilungsprogramm entstehen. Mutationen, die Krebs verursa-

chen, akkumulieren, weil Zellen fehlerhafte Zellteilung unterläuft. Dadurch wird der Defekt multipliziert, was oft zur Entstehung von Krebs beiträgt. Krebs ist also sowohl ein Auslöser wie auch eine Konsequenz fehlerhafter Zellteilung.

Rätsel Zellteilung: Eine komplexe Choreographie

Was ist so besonders am Prozess der Zellteilung, dass er so anfällig gegenüber Mutationen ist? Wie können wir ihn am besten studieren? Wie ist es möglich, «gute» von «schlechten» Teilungen zu unterscheiden? Gibt es Möglichkeiten, in Zellteilungsprozesse einzugreifen, um speziell die Krebszellen zu eliminieren, ohne gesundes Gewebe zu schädigen?

Zellteilung ist ein Prozess, der annähernd jede zelluläre Struktur und Substruktur mit

einbezieht. Dies unterscheidet ihn von anderen Prozessen in der Zelle, wie Stoffwechsel (Metabolismus) und Wachstum (Anabolismus) oder Zellmigration und interzelluläre Kommunikation, die oft nur Substrukturen der Zelle beeinflussen. Man kann Zellteilung am besten als komplexe Choreographie verstehen, in der die Zelle in ihrer Gesamtheit eine Duplikationsprozedur durchläuft, um eine Mutterzelle in zwei überlebensfähige Tochterzellen zu verwandeln. Subzelluläre Strukturen müssen präzise dupliziert bzw. repliziert werden, andere Strukturen müssen aufgelöst und durch neue ersetzt werden, zelluläre Bestandteile müssen gerichtet in andere Teile der Zelle bewegt werden, und dies alles muss koordiniert zueinander stattfinden, sowohl zeitlich wie auch räumlich. Dies ist offensichtlich eine der grössten Herausforderungen an Zellen: diesen Prozess ohne

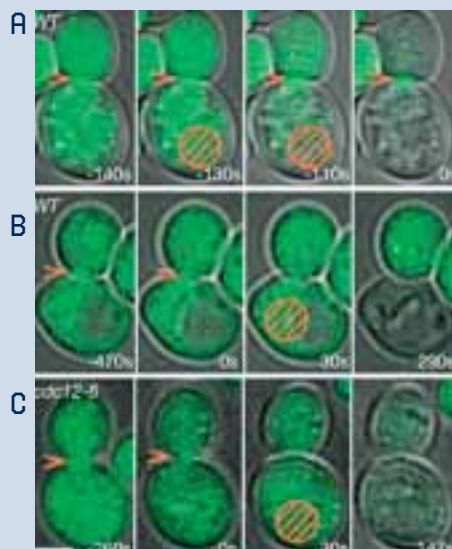


Abb. 1:
EIN BEISPIEL FÜR DIE ANWENDUNG VON LASER-BLEICH-EXPERIMENTEN

Eine Hefezelle wurde auf ihre Fähigkeit, erfolgreich Zellteilung durchzuführen, überprüft und mit einer Mutante verglichen, die einen Zellteilungsdefekt hat. Der gestrichelte Kreis markiert die Stelle, an der mit dem Laserstrahl gebleicht wird. Der Keil markiert die Zellteilungsebene.

- A Ein Teil der Mutterzelle wird wiederholt mit Laserlicht bestrahlt, was dazu führt, dass das GFP-Protein ausgebleicht wird. Da in dieser Wildtyp-Zelle Zytokinese noch nicht stattgefunden hat, können die grün markierten Proteine sowohl in der Mutter- wie auch in der Tochterzelle frei diffundieren. In der Folge verliert man das Fluoreszenzsignal im Laufe des Experiments in beiden Zellen.
- B Der Versuchsverlauf ist der gleiche wie in A). Allerdings beginnt man mit der Bestrahlung mit Laserlicht erst, nachdem Zellteilung stattgefunden hat. Demzufolge handelt es sich bereits um zwei Zellen, die nicht mehr durch ein Zytoplasma verbunden sind. Dies führt dazu, dass über Zeit nur die Mutterzelle ausbleicht und grünes Signal verliert, da die Moleküle nicht mehr im Austausch mit der Tochterzelle stehen.
- C Versuchsverlauf wie in A), doch dieses Mal verwendet man eine Mutante, in der der letzte Schritt der Zellteilung blockiert ist. Deshalb sind Mutter- und Tochterzelle immer noch miteinander verbunden, und man verliert Fluoreszenz in beiden Kompartementen.

Looking ahead

www.swissre.com

You know what you want. And when it comes to planning your professional future, you leave nothing to chance. As a global leader in risk and capital management, Swiss Re thinks hard about the future too. We foster a strong culture of knowledge and development, and are constantly seeking ways of deepening our understanding of new risks. To meet this challenge we need motivated, committed people. Why not join us and help us shape our future together!

Expertise you can build on. **Swiss Re**



Fehler, die katastrophale Konsequenzen haben können, durchzuführen.

Lichtmikroskopie kombiniert mit Genetik und Biochemie

Drei experimentelle Ansätze haben sich in unserer Forschung über Zellteilung bewährt: Mikroskopie erlaubt, Zellteilung als Gesamtprozess zu studieren und nicht nur als eine Abfolge individueller Schritte. Diesen Aspekt hat die Mikroskopie anderen Techniken voraus. Es ist möglich, biochemische und biophysikalische Ereignisse anhand der Moleküle, die in sie verwickelt sind, in der lebenden Zelle zu verfolgen.

Die parallele Durchführung von genetischen Studien ermöglicht die Identifikation von Proteinen, die einen Einfluss auf den Zellteilungsprozess haben.

Biochemische Methoden entschlüsseln ergänzend die exakten molekularen Strukturen und Ereignisse, die mit zellulärer Vielfältigkeit zusammenhängen, bis hin in den nanoskopischen Bereich. Die Kombination dieser drei Methoden eröffnet momentan eine neue Ära von biologischem Imaging. In den letzten Jahren wurde klar: Um den komplexen Prozess der Zellteilung in all seinen Feinheiten von Desorganisation bis hin zu Reorganisation und Duplikation verstehen zu können, müssen Zellen unter dem Mikroskop in allen ihren Aktivitäten beobachtet werden. Die hohe zeitliche und räumliche Auflösung, die mit moderner Fluoreszenzmikroskopie erreicht wird, ermöglicht es, diesen komplexen Prozess in vollem Umfang darzustellen, zu analysieren und zu begreifen (siehe auch Stemmer/Sandoghar, S. 53). Während uns biochemische Methoden ein sehr gutes Verständnis des Zellmetabolismus ermöglichen, reichen diese Techniken für die Analyse der Zellteilung allein nicht aus. Hier brauchen wir detaillierte, systematische Untersuchungen innerhalb lebender Zellen, um die Biochemie und die Mechanik dieser Prozesse zu verstehen. Wir begreifen diese Analyse als eine der grössten Herausforderungen der Zellbiologie unserer Zeit! Den Aspekt der Zellmechanik behandelt der Artikel von Viola Vogel, Yves Barral und Ruth Kroschewski im Detail (S. 44).

Multidimensionale Mikroskopie

Die Möglichkeit, annähernd jedes Protein in vielen verschiedenen Organismen mit verschiedenfarbig fluoreszierenden Proteinen zu markieren, hat uns in vivo Einblicke in zelluläre Prozesse wie Spindelaufbau und Segregation ermöglicht und unser Ver-

ständnis der Zellteilung vertieft. Heute ist es möglich, Zellen und deren Teilung über Tage hinweg zu beobachten: Somit kann man Wildtyp-Situationen mit den Vorgängen in Zellen vergleichen, die in einem der mutierten Gene stattfinden. Diese Gene spielen eine Rolle bei der Zellteilung. Man kann sich auch bis zu drei Proteine, die mit verschiedenen Farben markiert sind, innerhalb einer Zelle über einen längeren Zeitraum gleichzeitig anschauen. Diese so genannte multidimensionale Mikroskopie liefert tiefgreifende Einblicke über Protein-Interaktionen in einem Zellzyklus und während der Zellteilung (siehe auch Schlumberger et al., S. 26). Unser Verständnis wird hierdurch laufend differenzierter, und molekulare Vorgänge werden zunehmend klarer. Laser-«bleach»- und -«recovery»-Techniken an konfokalen Mikroskopen erlauben uns jetzt, Stabilitäten und Diffusionsverhalten anhand von fluoreszenzmarkierten Proteinen zu untersuchen (siehe auch Boomsma et al., S. 39). Dadurch gewinnen wir ein grundlegendes Verständnis von Protein-Protein-Interaktionen und auch deren eventuellen Fehlern (Abb. 1).

Unsere laufenden Arbeiten demonstrieren, dass die Kombination von Lichtmikroskopie mit genetischen Methoden fantastische Ansätze liefert, um molekulare und physikalische Verbindungen zwischen Zellteilungskomponenten zu verstehen. Die Sequenzierung der Genome liefert uns eine komplette Liste aller zellulären Bestandteile und Maschinerien. Darauf aufbauend werden mikroskopische Techniken uns erlauben, die Funktionen und das Zusammenwirken all dieser Komponenten zu entschlüsseln. Ein neuer Ansatz, sich dieses Wissen über das Genom auch in humanen Zellen zunutze zu machen, ist RNAi. Diese Methode macht es möglich, die Expression einzelner Gene herunterzuregulieren, diese Gene also auszuschalten. Die Folgen des Fehlens eines bestimmten Gens können durch mikroskopische Versuchsreihen studiert werden. Eine Konsequenz dieser technischen Entwicklungen: Während früher nur einzelne Komponenten studiert werden konnten, sind wir jetzt in der Lage, vollständige Netzwerke zu betrachten.

«Zellzyklus-Checkpoints»: Sicherheit durch Selbstüberwachung

Eine Besonderheit der Zellteilung ist, dass dieser Prozess extrem robust ist. Diese Robustheit zeigt sich auf zwei unterschiedlichen Ebenen. Zellteilung hängt von vielen stochastischen Ereignissen ab. Zum Bei-

spiel müssen einzelne Mikrotubuli je ein Kinetochore binden, um bipolare Bindungen herzustellen. Ausserdem beeinflussen Umwelteinflüsse die Zellteilung. Dies sind zum Beispiel Hitze, Kälte, Strahlung, die Verfügbarkeit von Nährstoffen und die toxischen Substanzen des täglichen Lebens. Trotz dieser Hindernisse wird Zellteilung mit einer beeindruckenden Regelmässigkeit erfolgreich abgeschlossen. Die zweite Ebene der Robustheit ist, dass Zellteilung bemerkenswert resistent gegenüber Mutationen ist. Nur sehr wenige Mutationen führen allein zu einem dramatischen Effekt, und nur wenige Gene in diesem Prozess sind essenziell. Es gibt verschiedene Erklärungen für diese Robustheit: Für einmal sind die meisten Ereignisse der Zellteilung überbesetzt. Mit anderen Worten: Wenn die Zelle verschiedene unabhängige Wege zur Verfügung hat, um ein bestimmtes Ziel zu erreichen, dann wird sie auch mehrere von diesen nutzen. Demzufolge führt eine Störung in einem dieser Wege zwar zu einem Unterschied in der Art, wie der Endzustand erreicht wird, aber nicht im Endzustand selbst. Zusätzlich haben sich Zellen im Laufe der Evolution verschiedene Überwachungsmechanismen zugelegt, die so genannten «Zellzyklus-Checkpoints». Diese Checkpoints kontrollieren, ob bestimmte Aspekte der Zellteilung korrekt abgelaufen sind. Detektieren diese Checkpoints einen Fehler, so wird der weitere Verlauf der Zellteilung so lange blockiert, bis die Zelle durch Reparaturmechanismen den Fehler behoben hat.

Welche Mechanismen beeinflussen die Zellteilung?

Ein weiterer Aspekt, der zur Robustheit beiträgt, ist der Umstand, dass die Zellarchitektur um Strukturen mit sehr unterschiedlicher Dynamik angeordnet ist. Schlüsselfaktoren, so wie die Chromosome und das Zentrosom, sind sehr undynamische Strukturen, die über Jahre erhalten bleiben. Sie agieren als Organisationszentren für dynamischere Bestandteile der Zelle wie Mikrotubuli oder das endoplasmatische Retikulum. Diese dynamischen Elemente verleihen der Zelle wiederum Plastizität und unterstützen die Fähigkeit der Zelle, sich wechselnden Umweltbedingungen schnell anzupassen. Demzufolge stellt die Interaktion zwischen Strukturen verschiedener Dynamiken die Voraussetzung für Stabilität und Anpassungsfähigkeit der Zelle dar, wodurch ein Teil der Robustheit gewährleistet wird. Durch Forschung, die auf dem Verständnis von Robustheit grün-



ALSTOM

**Mit Ihrer Energie erzeugen
wir Energie, weltweit.
ALSTOM bietet Raum für
Innovation und Entwicklung.**

Wir bleiben in Bewegung!

www.careers.alstom.com

ALSTOM, der globale Spezialist auf den Infrastrukturmärkten Energie und Transport.



Abb. 2:
EIN SENSOR

erkennt die Anwesenheit von DNA in der Teilungsebene und inhibiert daraufhin die Zellteilung, um den Bruch von Chromosomen zu vermeiden.

- A** Ddc1-GFP erkennt und markiert Brüche in Chromosomen. In Zellen, die eine normale Mitose durchlaufen, kann man keine solchen DNA-Bruchstellen sehen.
- B** Verliert eine Zelle die Fähigkeit, DNA in der Zellteilungsebene zu erkennen, wie hier in der *esp1-1*-Mutante, so treten Chromosomenbrüche auf (Pfeile). Diese Brüche passieren

während der Zytokinese, wenn die Teilungsmaschinerie die Zellmembran zerschneidet und damit auch DNA, die noch im Weg liegt.

- C** Kombiniert man eine Mutante in der Sensormaschinerie allerdings mit einer Mutante in der Zytokinese-Maschinerie, so treten keine Brüche mehr auf. Es kann zwar immer noch DNA in der Teilungsebene liegen, doch die Zelle ist im letzten Teilungsschritt inhibiert und kann somit weder Plasmamembran noch DNA zerschneiden.

det, ist es uns zum Beispiel gelungen, einen neuen Sensormechanismus im Zellzyklus zu finden. Dieser Sensor, der Ähnlichkeit mit einem Checkpoint hat, lokalisiert in der direkten Nähe der Zellteilungsmaschinerie und erkennt die Anwesenheit von Chromosomen in der Teilungsebene der Zelle. In Fällen, in denen ein Chromosom nicht nach der Duplikation der Chromosomen erfolgreich in die Tochter- bzw. Mutterzelle gebracht wurde, sorgt dieser Sensormechanismus dafür, dass die weiteren Schritte der Zellteilung blockiert sind. Dies geschieht so lange, bis alle Chromosomen die Stelle, an der die Zelle sich zu teilen beginnt, verlassen haben. Die Inaktivierung dieses Sensors durch spezifische Mutationen führt zu vorzeitiger Teilung der Zelle, auch wenn noch DNA in der Zellteilungsebene vorhanden ist. Dies führt zum Bruch einzelner Chromosomen, und in der Folge stirbt die Zelle (Abb. 2). Dies zeigt die Relevanz dieses Sensormechanismus, der, zusammen mit anderen Mechanismen, Robustheit in der Zellteilung sichert.

Grossartige Aussichten zur Früherkennung von Krebs

Eine wichtige Schlussfolgerung aus der Robustheit des Teilungsprozesses ist, dass der Verlust von Schlüsselproteinen der Zellteilung nicht so sehr beeinflusst, ob, sondern viel eher wie eine Zelle sich teilt. Um die Mechanismen der Zellteilung zu verstehen, ist es also sehr wichtig, zu erforschen, wie Mutationen Änderungen in diesem Prozess

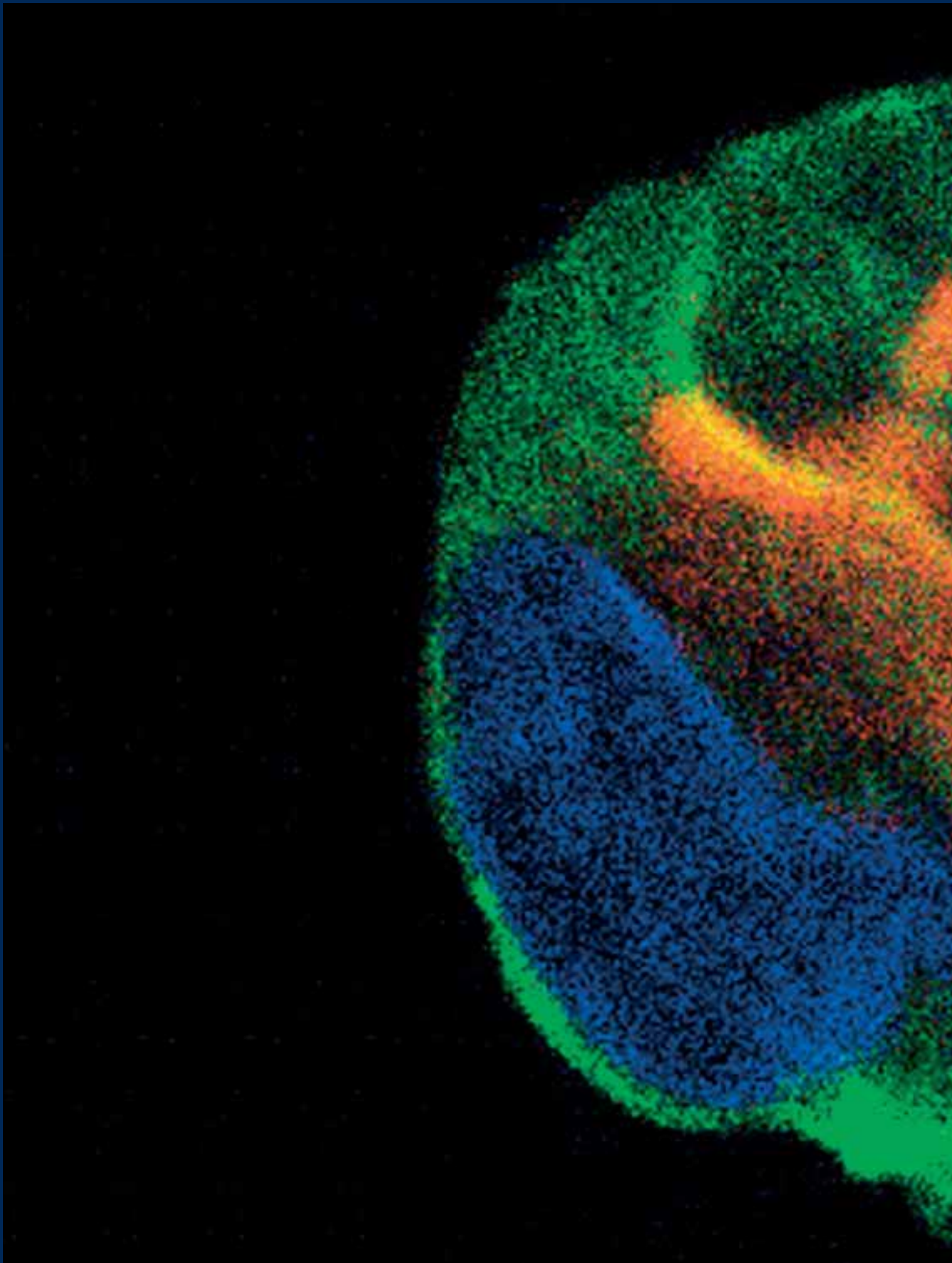
verursachen, und nicht ausschliesslich, zu evaluieren, ob Teilung überhaupt vorstatten geht. Um dies zu tun, sind jetzt temporal und räumlich hochauflösende Imaging-Methoden nötig, die den gesamten Prozess der Teilung in all seinen Details und all seiner Komplexität verfolgbarmachen.

Um den Krebs zu bekämpfen, benötigen wir dieses Wissen, damit wir schädliche Zellen eliminieren oder zumindest ihre weitere Teilung unterbinden können. Um Zellen daran zu hindern, sich zu teilen, ist es also nicht ausreichend, ein Gen in einem Weg zu eliminieren, wenn es noch einen anderen Weg gibt, das Ziel zu erreichen. Vielmehr müssen Bestandteile aller Wege beeinflusst sein, damit es wirklich zu einem Stillstand der Teilung kommt. Eine Hauptfolge der Inaktivierung eines bestimmten Weges ist der Verlust von Robustheit für die Zelle, auch wenn sie die Fähigkeit, sich erfolgreich zu teilen, behält.

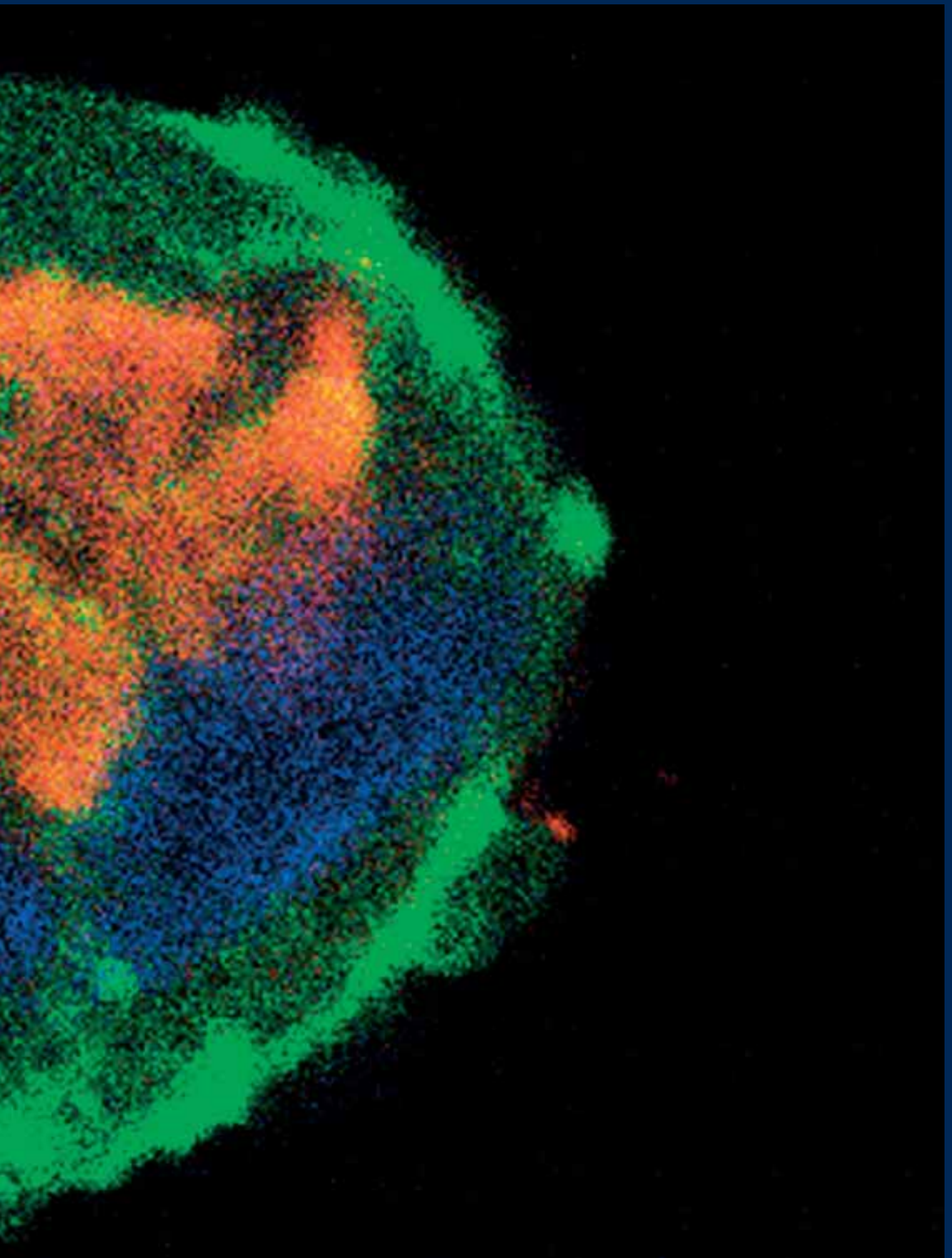
Daraus folgt, überspitzt formuliert, dass Onkogenese ein Prozess ist, bei dem die Zelle Robustheit gegen ein erhöhtes Potenzial, sich zu teilen, eintauscht. Bekanntermassen akkumulieren Krebszellen solche Mutationen. Sie verlieren also eventuell die Redundanz einzelner Mechanismen und könnten somit hypersensitiv gegenüber speziellen äusseren Faktoren werden. Dieses Erkenntnis erklärt im Nachhinein die Wirkungsweise wichtiger Chemotherapeutika, die schon lange im Einsatz sind. Ein wichtiger Forschungsansatz ist also, parallele Mechanismen zu finden, die die Zellteilung

beeinflussen, und aus diesen Untersuchungen präventive oder therapeutische Ansätze hervorzubringen. Beim Eingriff in solche parallelen Mechanismen sollten gesunde Zellen nicht beeinflusst, die Krebszellen hingegen spezifisch vernichtet werden. Zusammenfassend gesagt: Der derzeitige Stand der Technik liefert in Zusammenhang mit extensiver Grundlagenforschung fortschreitende Erkenntnisse über einen vielschichtigen und komplexen Prozess wie die Zellteilung. In Kombination mit genetischen Ansätzen werden uns Imaging-Methoden bald die Entwicklung von quantitativen Modellen erlauben, die in der Lage sein werden, kinetische und räumliche Ereignisse des Zellzyklus in einen Zusammenhang zu bringen. Dieser systemorientierte Ansatz wird es ermöglichen, die Verbindungen dieser Ereignisse mit den unterliegenden Mechanismen näher zu erleuchten. Präzise Bildanalyse von Tumorzellen wird es möglich machen, bestimmte Mutationen bestimmten Wegen der Zellteilungsmechanismen zuzuordnen. Demzufolge werden Imaging-Methoden immer wertvollere Mittel werden, um die Diagnose und Therapie auf einzelne Tumore und deren Träger spezifisch zurechtzuschneiden. Dies sind grossartige Aussichten zur Therapie und besonders auch zur Früherkennung von Krebs, die potenziell viele Leben einfacher machen oder sogar retten könnten.

Caren Norden und Yves Barral
Institut für Biochemie



Confokales Bild eines Zellaggregates, das sich aus einer Einzelzelle nach 4 Tagen Kultur in einer Collagenmatrix entwickelt hatte. Sichtbar sind: die Zellkerne (blau), das Aktinzytoskelett (grün) und



das gp135 (rot), ein Protein, das normalerweise in der luminalen Plasmanembran lokalisiert ist (Generiert von Alexey Veligodskiy und Aldo Ferarri in der Arbeitsgruppe von Ruth Kroschewski). (siehe S. 46)

VON MAKROSKOPISCHEN STRUKTUREN ZU MOLEKULAREN PROZESSEN

MARKUS RUDIN UND P. AUGUST SCHUBIGER

Am 1. September weihte die ETH Zürich ein neues Imaging Center ein, das sich auf die präklinische Forschung an Tiermodellen spezialisiert. Als Plattform der interdisziplinären Forschung erlaubt es einerseits die Überprüfung und Weiterentwicklung bildgebender Verfahren. Zudem ermöglichen es die nichtinvasiven bildgebenden Verfahren, komplexe biochemische und biophysikalische Vorgänge im lebenden Organismus zu studieren. Fortschritte in der Tumordiagnose und Erkenntnisse zu Krankheiten wie Parkinson und Alzheimer sind wichtige Anwendungsgebiete.

Die klassische Anwendung für nichtinvasive biomedizinische Bildgebung liegt in der medizinischen Diagnostik: Projektionsbilder, Querschnittsbilder (tomographische Bilder) oder dreidimensionale Daten sollen dem Radiologen Information liefern, ob als Ursache für die klinischen Symptome eines Patienten eine pathologische Gewebeveränderung vorliegt. Strukturelles Imaging wird ergänzt durch funktionelle Bildgebung: In einem funktionellen/physiologischen Bild stellt die Intensität an einem bestimmten Bildpunkt den Wert einer physiologischen Grösse dar, beispielsweise die Durchblutung in einem bestimmten Gewebe. Es hat sich gezeigt, dass die Messung physiologischer Prozesse in vielen Fällen den Zustand eines Gewebes empfindlicher widerspiegelt als morphologische Parameter. Schliesslich sind in den letzten Jahren Methoden entwickelt worden, die es erlauben, molekulare und zelluläre Vorgänge im lebenden Organismus abzubilden. Diese «Molecular Imaging»-Verfahren werden sowohl für die Grundlagenforschung als auch für die klinische Anwendung für Diagnostik, Verlaufskontrolle und Therapieprüfung von grosser Bedeutung sein. Viele von diesen Verfahren sind heute bereits für Humananwendungen etabliert, beziehungsweise wurden auf klinischen Imaging-Systemen entwickelt.

Warum ein neues Animal Imaging Center?

Animal Imaging soll eingesetzt werden für die Entwicklung neuer Imaging-Verfahren und für die Validierung von bestehenden und neuen Methoden. In der Grundlagenforschung erlaubt Animal Imaging das Studium von komplexen biochemischen und biophysikalischen Prozessen im Gesamtkontext, d. h. im intakten Organismus. Prozesse können auf verschiedenen hierarchischen Stufen erforscht werden, auf der Ebene von einzelnen Molekülen (RNA, Proteine), Molekül-Interaktionen (Protein-Protein, Protein-Ligand), zellulären Prozessen (Zellaktivierung, Zellmigration) sowie auf der Ebene der Struktur und Funktion von Gewebe und Organen. Durch Kombination mehrerer Imaging-Methoden können verschiedene Aspekte eines biologischen Vorgangs simultan erfasst werden. Moderne Imaging-Methoden werden angewendet zur Untersuchung von entwicklungsbiologischen Fragen (Organbildung), von Pathogenese und zur Erfassung von therapeutischen Interventionen. Eine Vielzahl von biologischen Hypothesen wird heutzutage mittels genetisch veränderter Organismen (beispielsweise transgene Mäuse) untersucht. Imaging kann zur effizienten Charakterisierung (Phänotypisierung) herbeigezogen werden. Wir möchten das anhand von zwei Beispielen illustrieren:

Tumor-Charakterisierung

Tumor-Gewebe unterscheidet sich charakteristisch von gesundem Gewebe. Tumorspezifisch sind schnelles Wachstum (Proliferation), Gefässneubildung als Voraussetzung für Wachstum (Angiogenese), hohe metabolische Aktivität, veränderter Zellzyklus (verminderte Zellapoptose = programmierter Zelltod) und Metastasenbildung (siehe auch Norden/Barral, S. 29). All diese Prozesse können heute nichtinvasiv mittels Imaging untersucht werden. Gewebe-Proliferation bedingt erhöhte Synthese von Zellbestandteilen wie DNA, Proteine, Membranen. Nach Verabreichung von radioaktiv markierten Synthesebausteinen (Nukleotide, Aminosäuren, Membranmolekülen wie Cholin) können diese Prozesse mittels Positronenemissionstomographie (PET) untersucht werden. Neu gebildete Tumor-Gefässe sind durchlässig (permeabel), eine Eigenschaft, die mittels Magnetresonanztomographie (MRI) gemessen werden kann: Die Geschwindigkeit, mit der ein MRI-Kontrastmittel aus dem Gefäss austritt, wird durch die Permeabilität der Gefässwand und die Gesamt-Oberfläche der Gefässe in einer Region bestimmt. Die metabolische Aktivität kann durch Verabreichung eines radioaktiv markierten Substrates (2-Fluoro-Deoxyglucose) mittels PET gemessen werden. Programmierter Zelltod führt zu charakteristischen Veränderungen in der Zellmembran sowie Aktivierung von spezifischen Signal-Übertragungspfaden.

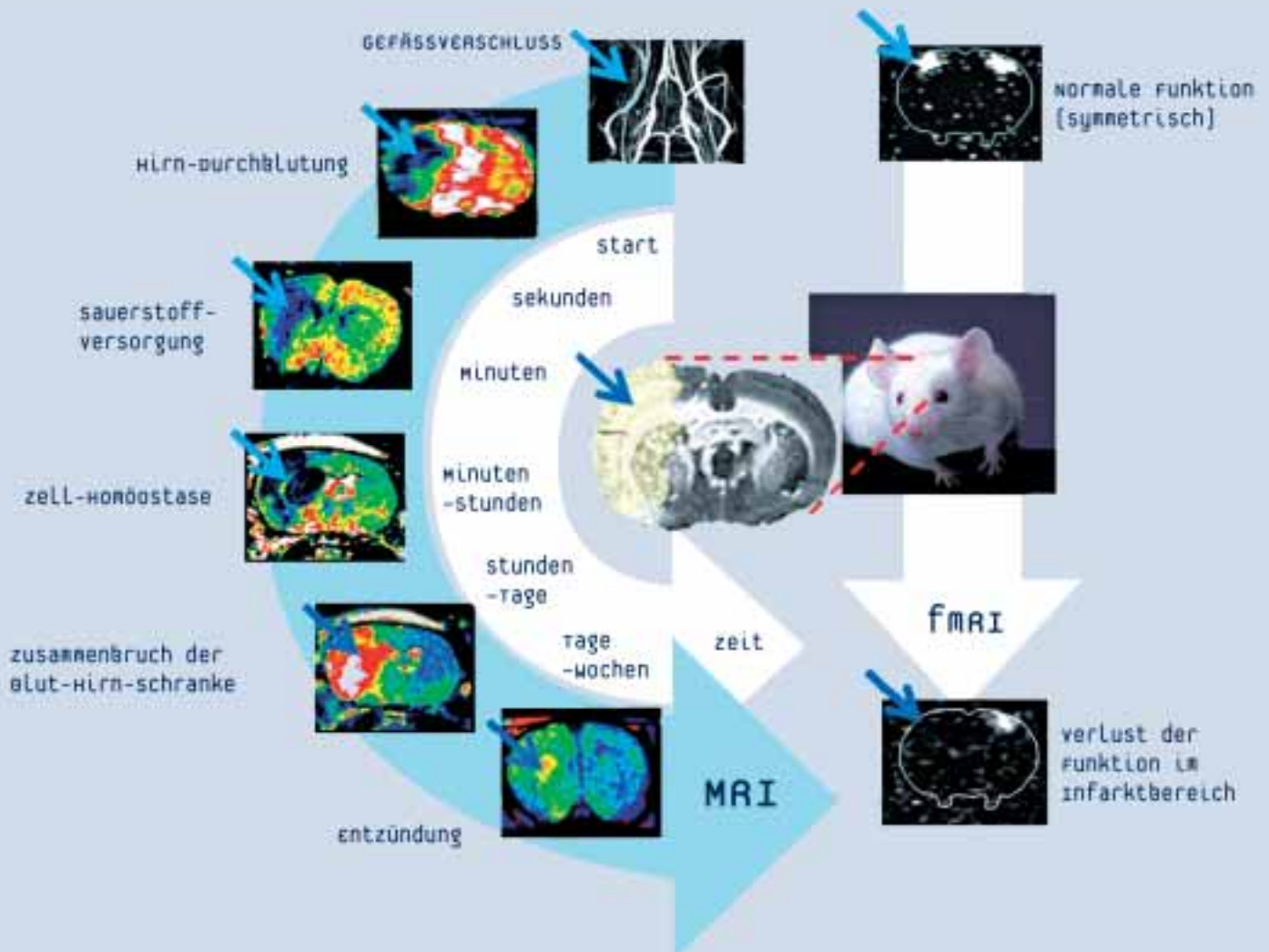


Abb. 1: EIN NEU ENTWICKELTES, mit $[^{18}\text{F}]$ -markiertes Folat-Derivat eignet sich zur spezifischen Darstellung von Tumoren, welche Folat-Rezeptoren exprimieren: Eine Nacktmaus mit zwei KB31-Tumoren (siehe Pfeile) wurde auf Folat-Diät gesetzt und 75 min nach Injektion des PET-Tracers gescannt, zunächst unter Kontrollbedingungen (Bild links) und dann erneut 24 Stunden später unter Blockadebedingungen (Bild rechts).

Abb. 2: MRI-CHARAKTERISIERUNG der pathophysiologischen Kaskade beim experimentellen Schlaganfall bei Nagern. Der initiale Gefäßverschluss führt im betroffenen Gebiet (Pfeil) zu mangelnder Blutversorgung (Ischämie) und damit zu Sauerstoffarmut, zum Aufhören von energieabhängigen zellulären Prozessen (Verlust der Homöostase) und zum Zusammenbruch der Blut-Hirnschranke. Kann der Blutfluss nicht innert einer nützlichen Frist (einige Minuten bis wenige Stunden) restauriert werden, so kommt es unweigerlich zum Zelltod. Gewöhnlicherweise treten nach zwei Tagen im Infarktgebiet Entzündungsprozesse auf. Die strukturellen und physiologischen Veränderungen führen zu einem Verlust der neuronalen Funktion.



Abb. 3: ANIMAL IMAGING CENTER (AIC) auf dem Campus der ETH Höggerberg im Chemie-Komplex HCI (Eingang via Finger 4)

Spezifische Markierungs-Techniken erlauben es, diese Prozesse sichtbar zu machen. Schliesslich können genetisch veränderte Tumorzellen, die ein Marker-Gen exprimieren, im Körper verfolgt werden. Dadurch ist es bei der Maus möglich, in vivo Mikrometastasen zu entdecken, deren Grösse im Bereich von wenigen 100 Mikrometern liegt. Diese generischen Verfahren werden er-

gänzt durch spezifische Bildgebungsverfahren, welche spezifische Zielmoleküle von Tumoren ausnützen (Abb. 1).

Schlaganfall

Der Verschluss einer Hirnarterie führt zu einer Kaskade von Prozessen, die zum Tod der Zellen im betroffenen Gehirnareal führen.

Die Flexibilität von MRI-Methoden erlaubt es, verschiedene Phasen dieser Sequenz zu erfassen, vom initialen Gefäßverschluss mittels MR-Angiographie bis zur Darstellung der Spätfolgen wie der Einwanderung von Immunzellen (Makrophagen, Abb. 2). Die strukturellen und physiologischen Veränderungen führen zum Verlust der Neuro-nenfunktion, die mittels funktioneller MRI

(fMRI) gemessen werden kann. Es hat sich gezeigt, dass die Messung der Funktionalität wesentlich ist: Die Tatsache, dass eine Region strukturell normal erscheint, bedeutet nicht notwendigerweise, dass sie funktioniert (strukturelle Integrität ist eine notwendige, aber nicht hinreichende Bedingung für Funktionalität).

Die beiden Beispiele illustrieren das Potenzial von Animal Imaging einerseits zur Entwicklung neuer Verfahren, die in die Klinik übersetzt werden können, andererseits als Werkzeug zum Studium von biologischen Mechanismen. Aufgrund des nichtinvasiven Charakters von Imaging können verschiedene Vorgänge im gleichen Individuum gemessen werden.

Animal Imaging hat in der letzten Dekade enorme Fortschritte gemacht und ist in ganz neue Bereiche vorgestossen – im Speziellen im Bereich Molecular Imaging. Dabei wird versucht, Konzepte aus der Molekularbiologie (beispielsweise Reporter-Gene Assays) so zu modifizieren, dass sie unter In-vivo-Bedingungen angewendet werden können. Dies wird wesentliche methodische Entwicklungen erfordern:

1. Die hohe räumliche Auflösung, die für die Detektion von kleinen Strukturen notwendig ist, erfordert hohe Sensitivität.
2. Zur Erfassung von molekularen Prozessen müssen spezifische Markierungs-Strategien entwickelt werden, spezifische Liganden, die an einen Rezeptor binden oder Reporter-Gene, die unter geeigneten Bedingungen exprimiert werden.
3. Genetisch modifizierte Tiere werden heute immer mehr zur Verifizierung einer biologischen Hypothese eingesetzt. Dabei werden in der Regel mehrere Linien erzeugt, das heisst, es muss eine Vielzahl von Tieren charakterisiert werden. Dies erfordert Imaging-Methoden, die einen hohen Durchsatz erlauben.
4. Schliesslich werden effiziente, automatisierte Bildauswertungsverfahren benötigt, mit denen sich die immensen Datenmengen bewältigen lassen (siehe auch Boomsma et al., S. 39).

Das Animal Imaging Center (AIC) auf dem Campus der ETH Höggerberg

Das AIC auf dem Campus der ETH Höggerberg (Abb. 3) bietet eine umfassende Plattform für nichtinvasive bildgebende Verfahren bei Kleintieren. Es umfasst zwei Forschungsgruppen:

- Forschungsgruppe Prof. Markus Rudin (Institut für Biomedizinische Technik, D-ITET und Universität Zürich) mit Fokus MRI und optische Bildgebung
- Forschungsgruppe Prof. P. August Schubiger (Zentrum für Radiopharmazeutische Wissenschaft, D-CHAB) mit Fokus Positronenemissionstomographie (PET)

Der Fokus der MRI/Optical-Imaging-Gruppe richtet sich einerseits auf die Weiterentwicklung der Messmethodik. Diese Verfahren sollen aber auch im Bereich Neurowissenschaften angewendet werden. MRI/fMRI und MR-Spektroskopie sollen eingesetzt werden zur Untersuchung der Reorganisation des Gehirns nach einem traumatischen Ereignis (Hirn- oder Rückenmark-Verletzung, Schlaganfall) oder von neurodegenerativen Prozessen. Als Grundlage für diese Studien wird die neurovaskuläre Kopplung untersucht.

Die Stärke der optischen Bildgebung ist die hohe Sensitivität, die es erlaubt, geringe Marker-Konzentrationen zu erfassen. Zudem sind die verwendeten Fluoreszenz-Marker stabil, das heisst, sie können über Tage oder allenfalls Wochen beobachtet werden. Optisches Imaging wird primär zum Studium von molekularen Prozessen eingesetzt. Ein Beispiel ist die Verwendung von Fluoreszenz-Markern, die spezifisch an Alzheimer-Plaques binden (siehe auch Rudin et al., S. 23). Daneben werden Reporter-Gen-Systeme entwickelt, die es erlauben, die Expression von bestimmten Genen quantitativ zu erfassen. Eine wesentliche Voraussetzung von solchen Studien ist die Entwicklung von optischen Tomographieverfahren. Schwerpunkt im Anwendungsbereich stellen neurowissenschaftliche Fragestellungen dar. Es wird aber auch Support für Forschungsgruppen aus anderen Bereichen angeboten.

Der Fokus der PET-Imaging-Gruppe liegt – wie schon bis jetzt am Paul-Scherrer-Institut – einerseits bei der Entwicklung hoch affiner PET-Tracer für die differenzielle Tu-

mordiagnose (z.B. Hypoxie, Proliferation, Folatrezeptoren) und Gentherapie-Monitoring (Thymidin-Kinase-Substrate) und andererseits bei der Darstellung von spezifischen Neurorezeptoren zur Sichtbarmachung molekularer Vorgänge bei neurodegenerativen Erkrankungen wie Alzheimer und Parkinson. Weitere Forschungsarbeiten konzentrieren sich in enger Zusammenarbeit mit der pharmazeutischen Industrie auf den Einsatz von PET-Tracern für die Entwicklung von Medikamenten durch die genaue Erfassung von Biodistribution und Bio-kinetik im Tiermodell und bei Freiwilligen. Die Stärke der Methode liegt in ihrer ausserordentlichen Empfindlichkeit, so können noch Neurorezeptoren im picomolaren Konzentrationsbereich dargestellt werden. Der Tier-PET-Scanner erlaubt dabei eine Auflösung von 1 mm³, wobei auch dynamische Messungen am ganzen Tier gemacht werden können. Die gleiche PET-Methodik kann schliesslich auf den Menschen übertragen werden, da das Zentrum über GMP-Laboratorien verfügt und durch die enge Zusammenarbeit mit dem Uni-Spital Zugang zu den Human-PET-Scannern hat.

Das neue Animal Imaging Center bietet eine multimodale Plattform bildgebender Verfahren an, die einerseits der biomedizinischen Grundlagenforschung zugute kommen wird und andererseits beitragen soll, die Übertragbarkeit der Resultate auf den Menschen zu erleichtern.

Markus Rudin

Institut für Biomedizinische Technik an Universität und ETH Zürich

Pius August Schubiger

Institut für Pharmazeutische Wissenschaften an der ETH Zürich

COMPUTERGESTÜTZTE INTERPRETATION BIO- MEDIZINISCHER BILDDATEN

GÁBOR SZÉKELY, KEVIN BOOMSMA, PETROS KOUMOUTSAKOS, RALPH MÜLLER, DIMOS POULIKAKOS
UND PHILIPP STÄMPFLI

Bilder sind seit der Erfindung des Mikroskops vor fast 400 Jahren und der Entdeckung der Röntgenstrahlen vor etwas mehr als hundert Jahren zur wichtigsten Informationsquelle der biomedizinischen Forschung sowie der klinischen Diagnose und Therapie geworden. Bis vor kurzem wurden die entstehenden Bilddaten direkt von deren Benutzern ohne jegliche Hilfsmittel interpretiert und analysiert. Doch unsere visuelle Wahrnehmung ist beschränkt: Ohne Computer wären wir heute bei der Interpretation von riesigen biomedizinischen Bilddatenmengen masslos überfordert.

Es gibt drei wichtige Gründe, weshalb sich die klassische Art der Bildinterpretation in den letzten dreissig Jahren grundlegend verändert hat. Mit der schnellen Entwicklung neuer, immer komplexerer Bildgebungsverfahren wie 3D-Mikroskopie, Magnetresonanz- oder Computer-Tomographie sind einerseits viele der durch die Geräte direkt gelieferten Informationen von abstrakter Natur und müssen zuerst durch Berechnungen in visuell wahrnehmbare Form umgewandelt werden (siehe

auch den Beitrag von Brandner, S. 16). Zweitens ist die Menge an Bildern, die die Geräte der neuesten Generation liefern können, so gross geworden, dass ihre vollständige Auswertung aus rein zeitlichen Gründen nicht mehr möglich ist (ein moderner Computertomograph kann innerhalb einiger Minuten mehrere Tausend hochauflösende anatomische Schnittaufnahmen generieren). Der letzte und vielleicht wichtigste Grund ist, dass in vielen Fällen der Mensch nicht in der Lage ist, die

notwendigen Informationen aus den Bildern zu extrahieren. Während unsere visuelle Wahrnehmung für bestimmte Aufgaben (wie z. B. dreidimensionales Sehen oder die Erkennung von Objekten in sehr komplexen Szenen) durch die Evolution perfektioniert worden ist, überfordern andere Aufgaben, wie beispielsweise quantitative Bildauswertung, schnell unsere Fähigkeiten. Glücklicherweise sind verfügbare Rechenleistung und Flexibilität der Software im gleichen Zeitraum so schnell gewach-

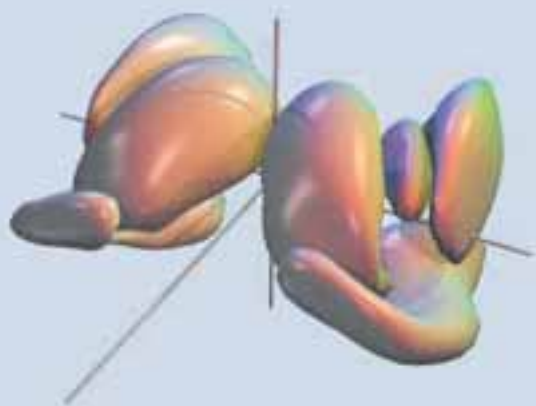


Abb. 1:
DAS DURCHSCHNITTSMODELL der Basalganglien erzeugt aus 30 individuellen Magnetresonananzaufnahmen.

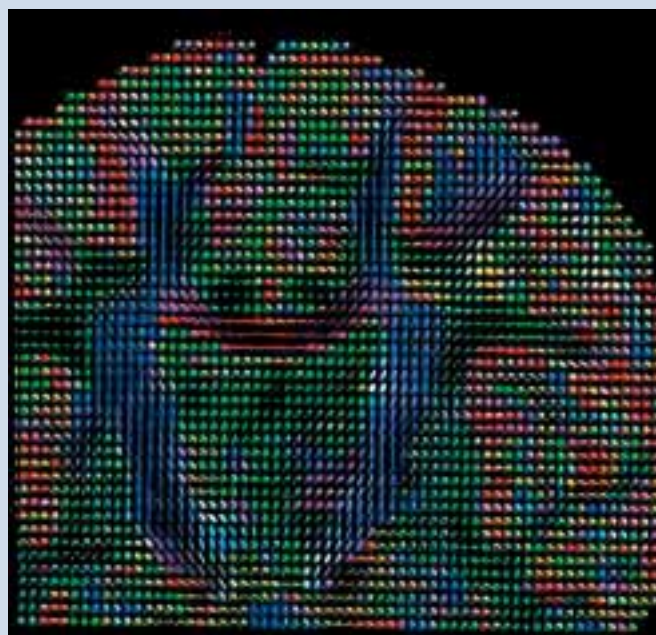


Abb. 2:
AUSWERTUNG VON
DIFFUSIONSTENSORBILDERN.
Dargestellt sind die Rotationsellipsoide, die der lokalen Anisotropie der Diffusion entsprechen.

sen, dass Computerverfahren heute in der Lage sind, einen wesentlichen Teil der anfallenden Aufgaben der Bildinterpretation zu übernehmen.

Mögliche Ansätze für die Interpretation neuroradiologischer Magnetresonanzdaten

Rechnergestützte Bildverarbeitung kann heute viele notwendige Informationen aus den Bildern entweder vollautomatisch oder durch effiziente Benutzerführung (d. h. interaktiv) extrahieren. Diese Aufgabe kann in den meisten Fällen nicht gelöst werden ohne die korrekte semantische Interpretation der zu analysierenden Bilder. Die grundlegende Komponente dieses Prozesses ist die Segmentierung, d. h. die Identifikation und Erkennung der wichtigen strukturellen Elemente in einer Szene. Die folgenden, aus den Forschungsergebnissen der ETH Zürich ausgewählten Beispiele illustrieren zwei mögliche Ansätze für die Interpretation neuroradiologischer Magnetresonanzdaten.

Bei der Analyse des zentralen Nervensystems stehen üblicherweise zwei Strukturen im Zentrum des Interesses: die graue Substanz (d. h. die Zentren der Informationsverarbeitung, gebildet aus den Zellkörpern der Nervenzellen) und die weisse Substanz, bestehend aus den axonalen Verbindungen (Nervenbahnen), die diese Einheiten verbinden. Bei der Suche nach den einzelnen Bereichen der grauen Substanz, die für

verschiedene Aufgaben verantwortlich sind, erkennt man rasch, dass die aufgenommenen Bilder nicht alle Informationen enthalten, die für die Identifikation dieser Strukturen notwendig sind. Da die Radiologen diese Aufgabe trotzdem meistens ziemlich konsistent lösen können, muss man davon ausgehen, dass sie sich dabei auf Annahmen und Informationen stützen, die entweder durch die Evolution als Teil der visuellen Wahrnehmung verankert (d. h. vererbt), oder während ihrer Ausbildung spezifisch erworben worden sind. Die Sammlung, Formalisierung und Verwendung dieses Wissens ist eine der Schlüsselaufgaben der automatischen Bildanalyse. Bei der Identifikation der tief liegenden Kerne der grauen Substanz (der Basalganglien) wurde ein statistischer Ansatz gewählt, welcher auf der Analogie zum menschlichen Lernen basiert. Auf zahlreichen neuroradiologischen Aufnahmen wurden diese Strukturen durch Experten manuell identifiziert und dem Rechner präsentiert. Die Morphologie und die Erscheinung der Beispiele wurden parametrisch beschrieben, die Verteilung der Parameter statistisch analysiert. So wurde neben einer repräsentativen Durchschnittsmorphologie (Abb. 1) auch die beobachtete Variabilität durch die geschätzte Wahrscheinlichkeitsdichte beschrieben. Dieses Wissen erlaubt es, das Durchschnittsmodell auf eine neue, noch nie vorher gesehene individuelle Aufnahme anzupassen, ohne durch andere vorhandene Strukturen gestört und

abgelenkt zu werden. Natürlich wird dieses Verfahren nur so lange funktionieren, wie die neue Aufnahme dem gelernten Wissen entspricht, d. h., die Lernbeispiele müssen für die zu erwartenden Fälle repräsentativ sein.

«Fibertracking»: 3D-Rekonstruktion und Visualisierung von Nervenfasern

Die Identifikation der verbindenden Nervenbahnen bedarf eines völlig unterschiedlichen Ansatzes. Die auf der Magnetresonanz basierende Diffusionssensorbildgebung (DTI), welche sich seit einigen Jahren etabliert hat, ist zurzeit die erste nichtinvasive Technik, mit welcher sich diese morphologische Konnektivität des Gehirns in vivo untersuchen lässt. In strukturiertem Gewebe, wie zum Beispiel der weissen Materie, ist die passive Diffusion von Wassermolekülen stark anisotrop. Aufgrund mikrostruktureller Gegebenheiten ist die Diffusion entlang der Nervenfasern stärker ausgeprägt als senkrecht dazu. DTI misst diese Anisotropie in jedem Bildvoxel und liefert räumliche Informationen über die zugrunde liegende Struktur in Form von Tensoren. Diese Tensoren können durch Rotationsellipsoide repräsentiert werden, welche sich visualisieren lassen (Abb. 2). Dabei zeigt die Hauptkomponente der Ellipsoiden in Richtung der grössten Diffusion im entsprechenden Voxel und repräsentiert den Verlauf der zugrunde liegenden Nervenfasern. Diese Rohdaten reichen

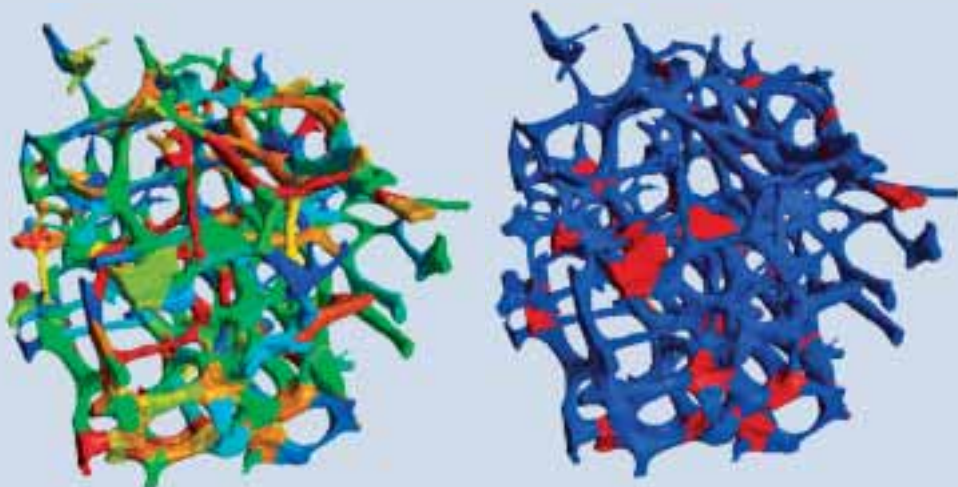


Abb. 3:
Räumliche Dekomposition von Knochenmikrostrukturen in einzelne Stäbe (blau) und Platten (rot). Diese Bilder einer menschlichen Wirbelkörperprobe wurden mit Hilfe eines Mikrotomographen der Firma Scanco Medical aus Bassersdorf aufgenommen.

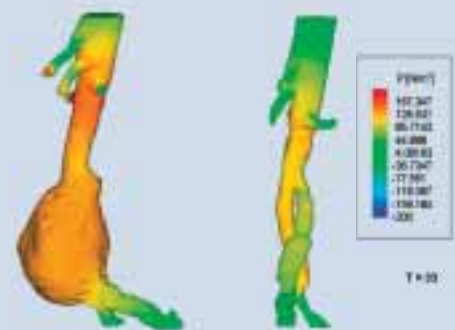


Abb. 4:
ANEURYSMA DER ABDOMINALEN AORTA. Die Wand ist dem statischen Druck entsprechend koloriert. Links ist der präoperative, rechts der postoperative Zustand, wobei der hohe Druck auf die Wand durch die intravaskuläre Platzierung eines Stents wesentlich reduziert wird.

aber noch nicht für eine umfassende strukturelle Analyse der axonalen Verbindungen und müssen deshalb mit einer spezifischen Bildverarbeitungsmethode, dem so genannten «Fibertracking» bearbeitet werden. Diese Technik erlaubt die dreidimensionale Rekonstruktion und Visualisierung von kompletten Nervenfasern (siehe Illustration auf S. 51). Die Möglichkeit, Nervenfasern nichtinvasiv und in vivo zu rekonstruieren, trägt zu einer besseren Beschreibung der neuronalen Architektur sowohl im gesunden als auch im pathologischen Gehirn bei und liefert in der Klinik wertvolle Informationen zur Behandlung von neurologischen Krankheiten oder zur Planung von chirurgischen Eingriffen.

Knochenstrukturen untersuchen

Die Identifikation der einzelnen morphologischen Elemente in einem Bild ist nur der erste Schritt in der quantitativen Bildanalyse. Durch Entwicklungen an der ETH und der Universität Zürich im Bereich der volumetrischen Bildgebung können seit den späten 1990er-Jahren dreidimensionale (3D) Mikrostrukturen von Knochen gemessen und analysiert werden. Die für verschiedene Knochenerkrankungen, wie z. B. die Osteoporose, relevanten Strukturparameter werden direkt aus den 3D-Bilddaten berechnet und beinhalten Werte für volumetrische Dichte, Strukturfläche, Dicke, Abstand und Anzahl von Platten und Stäben sowie quantitative Werte zur Anisotro-

pie und Konnektivität der Knochenstruktur. Alle Werte zusammen ergeben dann ein Gesamtbild, wie Knochenstrukturen prinzipiell aufgebaut sind und wie sie sich mit dem Alter oder durch Krankheiten ändern (zum Vergleich dient auch der Text von Abela et al., S. 60). In den letzten Jahren hat sich aber gezeigt, dass eine Betrachtung der Knochenstruktur mit Hilfe globaler Parameter nicht genügt, um die Knochenqualität zu beschreiben. Deshalb zielen neue Entwicklungen dahin, einzelne Platten und Stäbe aus der Knochenstruktur zu extrahieren (Abb. 3), um sie dann einzeln vermessen zu können. Damit konnte in einer kürzlich erschienenen Studie gezeigt werden, dass die lokalen Eigenschaften der Knochenstäbe und nicht die Knochenplatten zur Stabilität von Wirbelkörpern massgeblich beitragen. Dies ist eine wichtige Erkenntnis, um optimale Strategien in der pharmakologischen Behandlung von Wirbelkörperfrakturen entwickeln zu können.

Rechenbasierte Bildanalyse ist heute in einigen Aspekten der menschlichen visuellen Wahrnehmung klar überlegen. Insbesondere die Reproduzierbarkeit der Resultate, die präzise Quantifizierung und die unbeschränkte Ausdauer eines Auswertungsprogramms sind Stärken, die heute viele Studien überhaupt erst ermöglichen. Trotz diesen zahlreichen Erfolgen der automatischen Bildanalyse ist es aber noch ein weiter Weg, bis Rechner die menschlichen Fähigkeiten im Bereich der semantischen Bildinterpretation erreichen können. Der

Grund dafür liegt in der Vielfalt und Komplexität des Vorwissens, das wir dabei bewusst oder unbewusst verwenden, aber noch immer nicht in der Lage sind, in genügender Tiefe zu verstehen.

Mensch und Maschine ergänzen sich

Die vorher erwähnten Beispiele illustrieren, dass die heutige Computertechnologie zahlreiche wichtige Informationen für die klinische Versorgung und die biologisch-medizinische Forschung aus den rohen Bilddaten extrahieren kann. Gleichzeitig zeigen sie aber auch, dass die Deutung und Interpretation dieser Informationen weiterhin dem Benutzer überlassen werden, wobei wir relativ rasch an die Grenzen der menschlichen Fähigkeiten stossen. Mensch und Maschine ergänzen sich in nahezu idealer Weise im Hinblick auf zwei wesentliche Prozesse, die zur Lösung jedes Problems beitragen: Intuition und systematische Analyse. Insbesondere wenn die untersuchten Systeme zunehmend komplexer werden, was ohne Zweifel für biomedizinisch relevante Objekte der Fall ist, wird es immer schwieriger, alle relevanten Informationen zu überblicken und systematisch zu ordnen. Mathematische Modelle sind seit Jahrhunderten bewährte und z. B. in der Physik mit durchschlagendem Erfolg verwendete Werkzeuge, die in dieser Situation aushelfen können. Mit der rasanten Entwicklung der numerischen Mathematik sowie der extrem schnellen Zunahme der

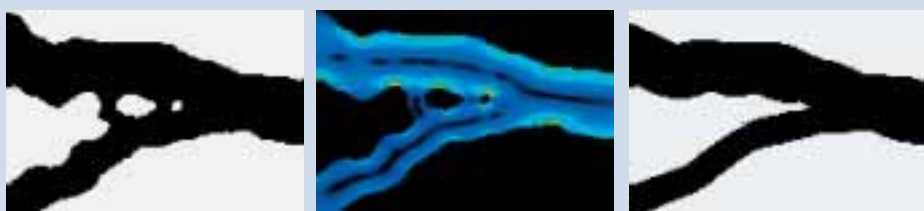
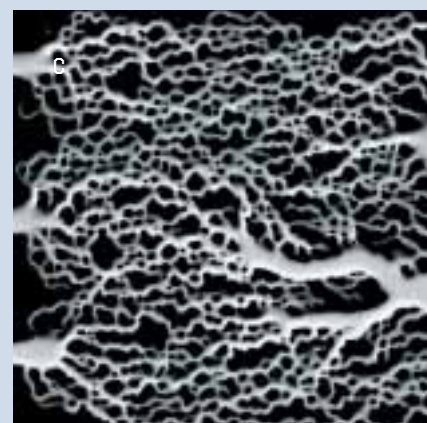
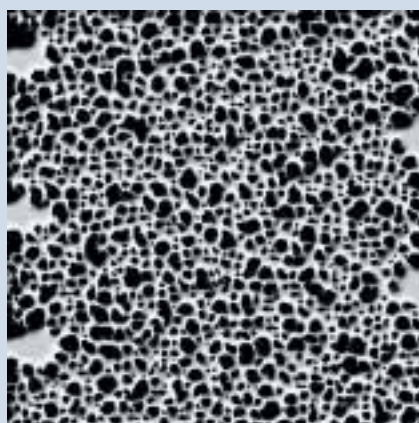


Abb. 5: Entstehung und Umbau von Gefäßverzweigungen während intussuszeptiver Angiogenese. Der strömungstechnisch ungünstige Winkel einer ausgewählten Verzweigung wird durch die Bildung von Säulen aus Endothelzellen angepasst (links). Dadurch werden die lokal wirkenden Scherkräfte weiter vermindert (Mitte) was zum Zusammenwachsen der ursprünglich isolierten Gebiete und dadurch zu einer Verkleinerung der Verzweigungswinkel führt (rechts).



Die Resultate der simulierten Remodellierung (rechts) des ursprünglichen Kapillarbetts (links).

notwendigen Rechenkapazität ist heute ein ähnliches Vorgehen für die Untersuchung und das Verstehen von biologischen und medizinischen Systemen und Prozessen denkbar geworden. Obwohl diese Entwicklung noch in den Kinderschuhen steckt, kann man schon auf erste ermutigende Resultate hinweisen, wie die folgenden Beispiele aus der aktuellen Forschung verschiedener Gruppen an der ETH Zürich illustrieren.

Ruptur eines Aneurysma vermeiden

Krankhafte Erweiterungen von Arterien (Aneurysmen) sind potenziell lebensbedrohliche Erkrankungen, weil dadurch die Gefässwände reissen und massive Blutungen auftreten können. Es ist von grosser Bedeutung, die damit verbundene Gefahr möglichst präzise abzuschätzen, um die Notwendigkeit und die Effektivität eines (in vielen Fällen nicht ganz risikolosen) Eingriffes objektiv zu beurteilen. Wenn nur die Morphologie der Gefässe aus segmentierten CT- oder MR-Bilddaten zur Verfügung steht, müssen die Kliniker diese Aufgabe weitgehend anhand ihrer Erfahrung und Intuition lösen. Der Blutfluss in der Arterie und dessen Auswirkung auf die Gefässwand kann aber durch Computersimulation quantitativ berechnet werden. Es ist dann möglich, verschiedene hemodynamische Eigenschaften davon abzuleiten, die in vivo nicht direkt messbar sind. Insbesondere der statische Druck, die auf die Wand

wirkenden Scherkräfte und deren Gradienten sind von grossem diagnostischem Wert, sie weisen hohe Korrelation mit der Bildung arteriosklerotischer Ablagerungen und der Gefahr eines Aneurysmen-Risses auf. Die Genauigkeit der Simulation kann durch die Berücksichtigung weiterer Daten erhöht werden, welche durch MR-Phasenkontrastbilder gewonnen werden und der Computersimulation die Eingangsdaten über Blutflussgeschwindigkeit in ausgewählten Bildschichten liefern. Die Abb. 4 zeigt ein Beispiel für die Planung eines Eingriffes, um den Riss eines Aneurysma an der abdominalen Aorta zu vermeiden. Am linken Bild, das eine präoperative Simulation zeigt, kann man den hohen Druck auf die Wand des Aneurysmas gut beobachten, was die Notwendigkeit einer Operation klar indiziert. Nach der Platzierung eines Stents im Gefässlumen sind die Druckverhältnisse wesentlich verbessert, wie das linke, postoperative Simulationsbild zeigt. Sehr ähnliche Werkzeuge können die Forschung in der Entwicklungsbiologie unterstützen beim Verstehen der Prozesse, die zur Bildung der für das Wachstum der Organe notwendigen Gefässe führen. Einer der relevanten Mechanismen ist die intusussuszeptible Angiogenese, wobei ein existierendes Kapillarbett umgebaut wird, um die umliegenden Gewebe optimal mit Sauerstoff zu versorgen. Mikroskopische Beobachtungen in vivo zeigen, wie sich die Morphologie der Endothelzellschichten schrittweise ändert, was zur Bildung von grösseren

Kapillargefässen und deren sukzessiver Remodellierung durch die Entstehung von Verzweigungen und die Anpassung deren lokaler Geometrie (wie z.B. der Verzweigungswinkel) führt. Die Aufgabe der Modellierung in diesem Fall war es zu untersuchen, wie die Interaktion zwischen dem Blutfluss durch das Kapillarbett und der Endothelzellschicht beschrieben werden kann und inwieweit ein solches Modell die Beobachtungen zu erklären vermag. Die relevanten Flussparameter sind identisch mit den oben diskutierten, wobei aus der Literatur bekannt ist, dass die Scherkräfte, die auf die Endothelzellen wirken, eine dominante Rolle spielen. Die Simulation muss aber in diesem Fall berücksichtigen, dass sich die Morphologie des Gefässsystems während des Prozesses permanent ändert. Die ersten Resultate zeigen, dass dadurch die wichtigsten Schritte der Remodellierung realitätsnah beschrieben werden können. Die untere Bildserie in der Abb. 5 zeigt die simulierte Bildung der Arteriolen und Venolen in voller Übereinstimmung mit den experimentellen Bildern. Die dabei entstehenden neuen Verzweigungen entsprechen aber keineswegs den in ausgereiften Gefässsystemen beobachteten Geometrien. Die Endothelzellen, die durch suboptimale Flussverhältnisse aktiviert werden, bilden zuerst isolierte Säulen, die dann mit der Verzweigung schrittweise verschmelzen, was zu einer veränderten, diesmal den Flussverhältnissen angepassten Geometrie führt. Die Resultate der in der oberen Bild-



Abb. 6: Detailansicht einer simulierten Knochenatrophie bei einer 47-jährigen Frau.

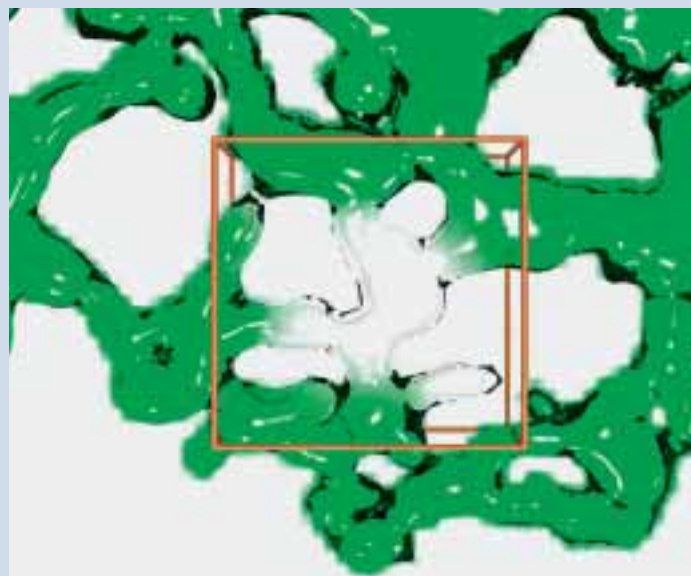


Abb. 7: Simulation des Wiederaufbaus der Fluoreszenz nach Ausbleichen in der realen Geometrie des endoplasmatischen Reticulums.

serie der Abbildung 5 gezeigten Simulation entsprechen sehr genau den experimentellen Beobachtungen. Nach der Erweiterung dieses noch sehr rudimentären Modells mit weiteren Komponenten, die die relevanten biochemischen und Transportprozesse beschreiben, könnte ein solches System als Werkzeug für die Erzeugung und das Testen neuer Hypothesen und für die Planung neuer Therapieformen z. B. für die Krebsbehandlung dienen.

Simulierte Knochenatrophie bei prämenopausalen Frauen

Die Modellierung des Verhaltens von Gewebe-Mikrostrukturen unter dem Einfluss der mechanischer und biochemischer Umgebung ist von grosser Bedeutung für die Entwicklung neuer Therapien auch in anderen Gebieten. Wie vorher schon demonstriert, erlaubt es die hochauflösende Mikrotomographie heute, die innere Struktur des Knochens zu messen und zu vermessen. Dies bestimmt das mechanische Verhalten des Knochens, welcher seinerseits die Fähigkeit hat, sich auf die vorherrschende mechanische Belastung zu adaptieren. Das Problem ist aber, dass sich solche Adaptionsprozesse im Menschen über Jahrzehnte abspielen und man deshalb eigentlich nicht in der Lage ist, die Adaption klinisch zu verfolgen. Computermodelle sind hier eine mögliche Alternative und erlauben die Simulation von biologischen Prozessen über mehrere Dekaden. In einer kürzlich publizierten Studie wurde untersucht, ob die Änderungen in der Knochenmikrostruktur, wie sie beim altersbedingten Knochenschwund oder der Osteoporose nach Hormonmangel auftreten, mit Hilfe von realistischen Computermodellen simuliert werden können. Dabei wurde eine Reihe von Knochenproben von prämenopausalen Frauen mikrotomographisch gemessen. Aus den mikrostrukturellen Bildern wurden dreidimensionale Computermodelle generiert. Die altersbedingten Strukturänderungen wurden dann mit Hilfe der simulierten Knochenatrophie über drei Jahrzehnte verfolgt. Dabei werden sowohl die Knochenresorption wie auch der Knochenaufbau über zelluläre Prozesse gesteuert, sodass Daten generiert werden können, die den Knochenabbau, wie er nach der Menopause auftritt, sehr genau nachempfinden können (Abbildung 6). Dabei stellte sich heraus, dass in den ersten sechs Jahren nach dem Einsetzen

der Menopause bis zu 30% der Knochenmasse verloren ging. Dieser Verlust wurde vor allem durch Verdünnung der Knochenelemente und durch Umwandlung von plattenförmigen in stabförmige Strukturen realisiert. Vor allem das Letztere hat wichtige mechanische Konsequenzen, da damit die Gefahr einer Fraktur um über 50% erhöht wird. Als Konsequenz aus diesen Simulationen wird nun geprüft, ob es therapeutische Ansätze gäbe, die es ermöglichen würden, vor allem die schnellen Knochenverluste nach dem Einsetzen der Menopause zu unterbinden. Dies als Alternative zur Behandlung im hohen Alter, wo der Knochen schon weitgehend abgebaut ist und somit fast nicht mehr aufgebaut werden kann.

Die nahe Zukunft gehört der Modellierung

Die numerische Simulation behält ihre Bedeutung bei der Betrachtung biologischer Systeme bei weiter zunehmender Auflösung. Man ist im Prinzip mit dem gleichen Problem konfrontiert, nämlich dass die verfügbaren bildgebenden Verfahren nicht alle relevanten Parameter des untersuchten Systems direkt abbilden können. Bei der Beschreibung intrazellulärer Transportprozesse spielt die Diffusion eine entscheidende Rolle. Um diese Diffusion quantitativ charakterisieren zu können, muss die Diffusionskonstante bestimmt werden. Im Lumen des endoplasmatischen Reticulums (ER) kann der Transport eines löslichen, fluoreszierenden Proteins (GFP-KDEL) mit konfokaler 3D-Mikroskopie durch die Beobachtung des Wiederaufbaus der Fluoreszenz nach Ausbleichen (FRAP) verfolgt werden. Die Geometrie des ER wurde aus den Mikroskopie-Bildern rekonstruiert (siehe Abbildung 7) und die Diffusion innerhalb dieses sehr komplexen Gebiets ist durch neue, adaptive Partikel-basierte Methoden simuliert worden. Die Resultate der Simulation wurden mit experimentell beobachteten FRAP-Kurven verglichen und dadurch die effektive Diffusionskonstante bestimmt. Auf diese Weise konnte man demonstrieren, dass die Hürden, die durch die geometrische Komplexität der ER-Domäne verursacht werden, den Diffusionsprozess zweibis vierfach verlangsamen im Vergleich mit Bewegungen in einem freien Raum. Diese Ergebnisse demonstrieren, dass die Gestalt der Organellen den intrazellulären Transport wesentlich beeinflusst; dies muss bei

der Interpretation der FRAP-Messungen entsprechend berücksichtigt werden. Die Weiterentwicklung der Methode wird die Simulation von Diffusions-Reaktionsprozessen auch auf komplexen deformierbaren Oberflächen ermöglichen (für ein Anwendungsbeispiel siehe Abb. 2 im Text von Norden und Barral, S. 31).

Schon die ersten Resultate der skizzierten Forschungsprojekte lassen die Möglichkeiten erahnen, die die Modellierung in der nahen Zukunft für die Analyse und Interpretation biomedizinischer Bilddaten bieten kann. Die schnelle Zunahme der verfügbaren Rechenleistung, insbesondere durch parallele Datenverarbeitung, wird im Prinzip bald die Simulation sehr komplexer Systeme erlauben. Wie schnell diese Methoden im Alltag der biologischen Forschung und klinischen Versorgung angewendet werden können, ist vor allem durch unsere Fähigkeit bestimmt, genügend realitätsnahe Modelle der relevanten Prozesse zu erzeugen. Dazu ist es entscheidend, dass die projektorientierte Zusammenarbeit zwischen Biologen, Klinikern und Ingenieuren, die hier dargestellt wurde, weiter verstärkt wird.

Kevin Boomsma und Dimos Poulikakos
Laboratorium für Thermodynamik in Neuen Technologien, ETH Zürich

Petros Koumoutsakos
CSE Lab, Institut für Computational Sciences, ETH Zürich

Ralph Müller und Philipp Stämpfli
Institut für Biomedizinische Technik, Universität und ETH Zürich

Gabor Székely
Institut für Bildverarbeitung, ETH Zürich

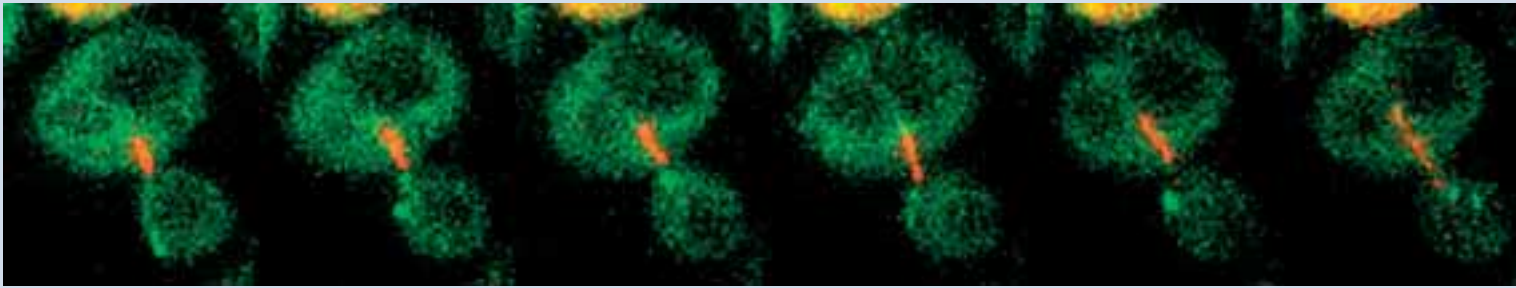
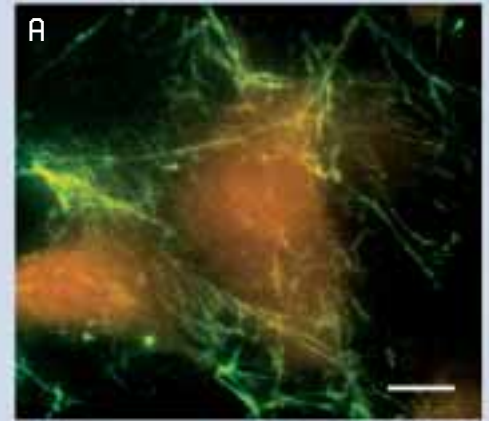


Abb. 2:
ZELLEN STRECKEN UND ENTFALTEN IHRE EXTRAZELLULÄRE MATRIX.
 Intramolekulare Energietransfermessungen zwischen Fluoreszenzdonoren und Akzeptoren (FRET) zeigt, dass aktive Zellen (A, B) so stark an ihren extrazellulären Matrixfibern ziehen können, dass die Matrixmoleküle wie Fibronectin teilweise entfaltet werden (grün). Sobald das kontraktile Zytoskeletton durch Zugabe von 10 μ M Cytochalasin D blockiert wird (C, D), falten sich die Fibronectinmoleküle wieder. Um ein Mass zu bekommen, wie stark die Proteinfaltung das FRET Spektrum verändert, wurde Fibronectin in physiologischer Lösung (rot) durch Zusatz von GnHCl schrittweise denaturiert (schwarze Linien in b & d). Die Lösungsspektren wurden den in Zellkultur gemessenen Spektren überlagert. Da sich die Kraft und somit der Streckungsgrad in Fibrillen und die Spektren von Ort zu Ort ändert, zeigen die gestreiften Regionen den spektralen Bereich der Fibronectinfibrillen an (Baneyx et al., 2002).



VISUALISIEREN, MESSEN UND BERECHNEN

KRÄFTESPIELE IN LEBENDEN ZELLEN

VIOLA VOGEL, YVES BARRAL UND RUTH KROSCHEWSKI

Durch neue Methoden und Techniken in der Mikroskopie und Nanotechnologie ist für die Zellbiologie eine neue Ära angebrochen. Mit neuen Verfahren kann endlich beobachtet werden, wie Zellen nicht nur biochemische und genetische Informationen verarbeiten, sondern auch, wie sie das mechanische Kräftespiel mit ihrer Umgebung und sich selbst nutzen, um ihre Funktionen zu regulieren.

Angetrieben von der Umwandlung biologischer Brennstoffe in mechanische Energie haben die Zellen raffinierte molekulare Maschinerien entwickelt, mit denen sie ihre Bausteine und sich selber aktiv bewegen können. Der durch biologische Motoren angetriebene Transport erlaubt es Zellen, ihre Lebensprozesse weit entfernt vom thermodynamischen Gleichgewicht zu betreiben. Nur zwanzig Jahre

nach der Entdeckung des molekularen Motors Kinesin wurden riesige Fortschritte in unserem Verständnis, wie biologische Motoren funktionieren, erzielt. Jetzt gilt es zu verstehen, wie Zellen Kräfte messen und nutzen, um Zellfunktionen zu regulieren, wie die Dynamik der Kraft erzeugenden Motoren und ihre zugehörigen Filamente im System Zelle integriert sind und schliesslich wie lokale

und globale Kräfte die Funktion von anderen zellulären Bausteinen regulieren.

Mechanische Kräfte als Regulatoren von Zellfunktionen

Um diese Fragen zu beantworten, ist es hilfreich, verschiedene funktionelle Ebenen zu unterscheiden, auf denen Kräfte biologische Systeme regulieren: (1) Kräfte können

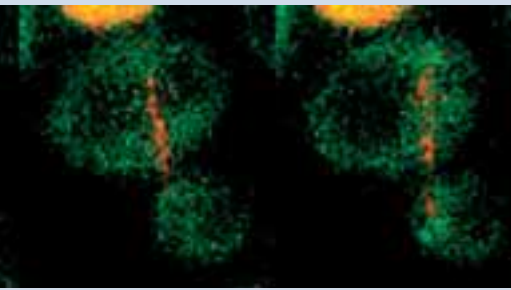
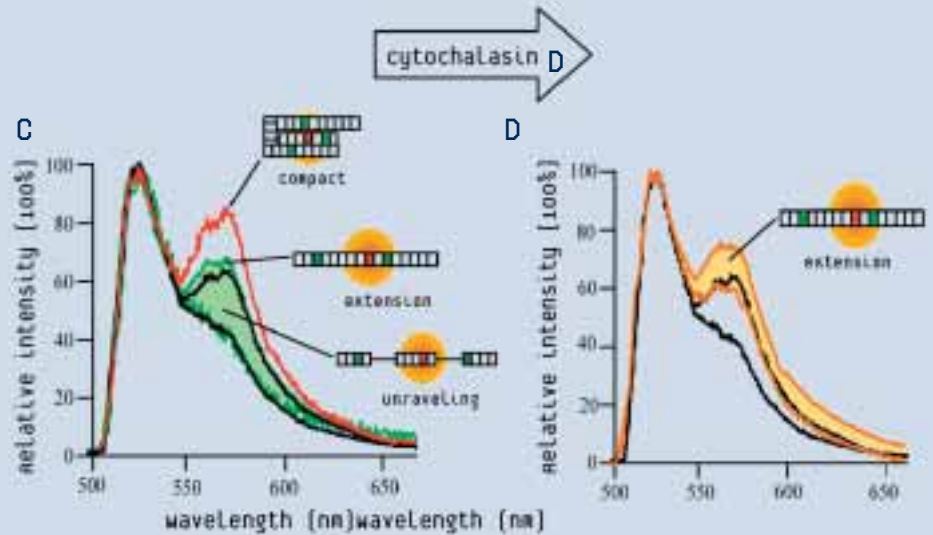
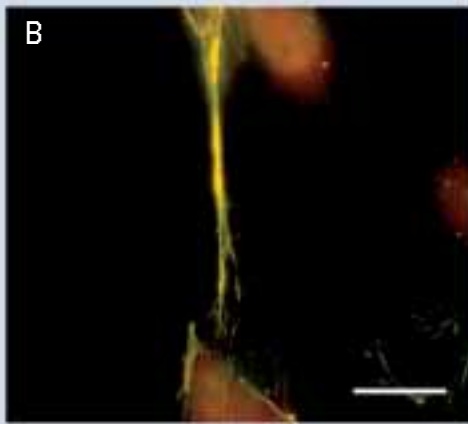


Abb. 1:
SPINDELORIENTIERUNG WÄHREND DER MITOSE.

Die Videoaufnahme einer Hefezelle während der Zellteilung zeigt die Spindel (rot), die aus Mikrotubuli besteht, und die Verteilung des Motorproteins Dynein (grün). Neben den stark gefärbten Spindelmikrotubuli gibt es auch kaum sichtbare cytosolische Mikrotubuli, die ihren Ursprung an Spindelpol haben und bis zur Zellmembran reichen.

Kurz bevor die Spindel verlängert wird, lokalisiert Dynein nur auf den Mikrotubuli und dem Spindelpol, die in Richtung Bud (untere kleine Zelle) orientiert sind. Aktivierung von Dynein verursacht, dass dieser Spindelpol durch den Knospenhals gezogen wird (drei letzte Bilder). Die Bilder repräsentieren eine Projektion von 10 XY-Bildern durch die Zelle in zwei Farben. Jede Projektion ist mit Zehn-Sekunden-Abständen aufgenommen worden.



auf Moleküle einwirken und deren Funktionszustand verändern (Mechanotransduktion), (2) Kräfte regulieren die strukturelle Organisation aller intrazellulären Bausteine und somit (3) die Form der Zelle. Schliesslich bestimmen Kräfte (4) die Koordination von Zellen miteinander. Offensichtlich ist das dynamische Kräftespiel auf allen diesen Ebenen im lebenden Organismus gleich wichtig. Trotz grosser Fortschritte wissen wir noch sehr wenig über die detaillierten Mechanismen, mit denen Zellen Kräfte nutzen, um ihre Funktion zu regulieren, und wie diese verschiedenen Funktionsebenen zusammenspielen. Eine aktive Zelle besitzt Kräftesensoren, die mechanische in biochemische Signale verwandeln und somit intrazelluläre Prozesse steuern. Kräfte regulieren indirekt die Polymerisation von filamentösen Systemen und schliesslich die Genexpression der Zellen. Während der Mitose, z. B. wenn Chromosomen auf zwei Zellen verteilt werden sollen, werden die Kräfte in der aus Mikrotubuli bestehenden Spindel gemessen. Nur wenn das richtige Kräftegleichgewicht detektiert wird, teilt sich die Zelle und verän-

dert für bestimmte Gene die Expression. Welches sind die Kraftsensoren in diesem Fall, und welche Signalkaskade wird ausgelöst? Bei der Bildung von Epithelien, worin die Zellen eine spezifische Zellform einnehmen, werden in Abhängigkeit von Aktin und Mikrotubuli Zell-Zell-Kontakte ausgebildet. β -Catenin spielt darin und bei der Transkriptionsregulation eine wichtige Rolle. Welcher Trigger verursacht die Zellformveränderung und wie wird sie ausgeführt? Und schliesslich, um ein Beispiel für supra-zelluläre Kräftewirkungen zu geben, wie wirken Kräfte bei der Organbildung und -funktion? Um z. B. eine Niere zu bilden, werden tausende von funktionellen Untereinheiten produziert, die den Urin produzieren. Während der Ontogenese dieser Untereinheiten kommen Zellen zusammen und generieren zu einem bestimmten Zeitpunkt einen zellfreien Raum (Lumen) zwischen sich, der dann vergrössert wird und schliesslich mit der Aussenwelt verbunden wird. Woher kommen die Kräfte, die das Lumen verursachen, und welchen physikalischen Regeln unterliegt dieses System? Diese Beispiele verdeutlichen auf

verschiedenen Ebenen unsere Wissenslücken über die Entstehung und die Effekte von Kraftwirkungen in und zwischen Zellen.

Analyse von Kräften auf molekularer Ebene

Das Verhalten von isolierten Molekülen kann sich drastisch von dem in lebenden Zellen unterscheiden, da die Makromoleküle in Zellen dicht gepackt sind und hoch spezifisch miteinander interagieren. Eine riesige technische Herausforderung wird darin bestehen, zu entziffern, wie das Andocken an den nächsten Nachbarn, das Übertragen von chemischen Zwischenprodukten von Molekül zu Molekül oder die direkte chemische Modifikation durch Nachbarmoleküle das kinetische Wechselspiel von zellulären Bausteinen ermöglicht und reguliert. Mit grosser zeitlicher und örtlicher Auflösung müssen wir lernen, die Trajektorien von einzelnen Molekülen in lebenden Zellen zu verfolgen, beobachten, wie einzelne Moleküle synthetisiert und schliesslich wieder abgebaut werden, wie

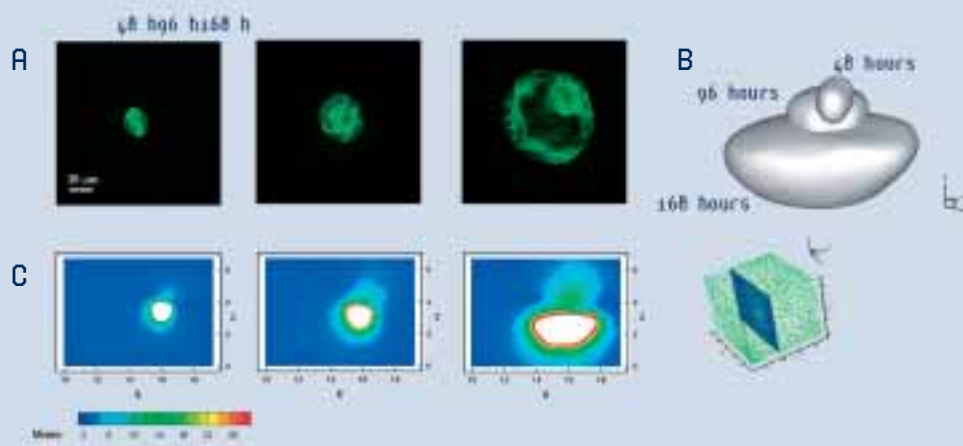


Abb. 3:
KRÄFTEBESTIMMUNG IM 3-DIMENSIONALEN RAUM WÄHREND
IN-VITRO-ORGANOGENESE

A Epithelzellen entwickeln sich in einer Kollagenmatrix zu einer Zyste. Diese Entwicklung ist in 3D und über die Zeit im Fluoreszenzmikroskop verfolgbar, da die Zellen stabil transfiziert sind und GFP-markierte Proteine exprimieren, die in der Plasmamembran lokalisieren.

B Translokation der sich entwickelnden Zyste in der 3D-Matrix. Die xy-Stapel der konfokalen Fluoreszenzbilder wurden in bildverarbeitende Programme importiert. Die 3D-Geometrie der sich entwickelnden Zyste ist in einem fixierten Koordinatensystem dargestellt und zeigt die zeitabhängige Grössen- und Ortsveränderung.

C In Kollaboration zwischen den Arbeitsgruppen von D. Poulikakos (D-MAUT) und R. Kroschewski (D-BIOL) wurde eine Computer-Methode entwickelt, die die Kräfte simuliert, die an der Oberfläche und in der Matrix während der Zystenbildung wirken. Dargestellt ist die zeitabhängige Kräfteverteilung (van-Mises-Stress) in der Matrix in der Schnittebene (blau), die ganz rechts aussen im Simulationsraum wiedergegeben ist. Es handelt sich um die in A abgebildete Zystenentwicklung.

einzelne Moleküle mit ihren Nachbarn interagieren und wie die spezifische Aggregation dieser Moleküle deren Funktionsweise reguliert. Das Aneinanderkoppeln von Molekülen ist auch notwendig, um mechanische Kräfte zu übertragen und ultimativ mechanische Kräfte in biochemische Signale zu verwandeln. Wissenschaftliche Erkenntnis wird wiederum von technischem Fortschritt abhängen, so zum Beispiel durch Erhöhung der Auflösung optischer Mikroskopie bis hinunter zur Nanoskala. Ex vivo können die mechanischen Eigenschaften von einzelnen Molekülen dadurch bestimmt werden, dass das eine Ende eines Moleküls auf einer Oberfläche verankert wird, während das andere Ende zum Beispiel entweder mit der Spitze eines Kraftfeldmikroskops gegriffen oder gekoppelt an eine kleine Kugel von optischen Tweezern gepackt und dann daran gezogen wird. In der Zelle sind solche Messungen sehr viel komplizierter. Zusätzlich zum Einsatz von optischen Tweezern, um Kräfte zu messen, die auf Organellen einwirken, müssen neue molekulare Kraftsonden entwickelt werden, mit denen wir ablesen können, wann, wie und wo Moleküle Kräften ausgesetzt sind und wie ihre Funktions-

weise von Kräften reguliert wird. In ersten Ansätzen wird versucht, zum Beispiel synthetische oder biologische Moleküle als Kraftsonden zu verwenden, deren spektroskopische Eigenschaften sich ändern, wenn man an ihnen zieht. Solche Sonden könnten dann spezifisch in intrazelluläre Proteine eingebaut oder angekoppelt werden. Das fluoreszierende Protein GFP könnte als Kraftreporter eingesetzt werden, da es sich unter Kräfteinfluss strukturell verändert.

Die globale Zellarchitektur: Ausgewogene Kräftespiele

Nachdem Zellen Kräfte erzeugt und detektiert haben, müssen diese auch ausgerichtet werden, sodass verschiedene intrazelluläre Organellen ihre richtigen Positionen relativ zueinander einnehmen. Ein besonders eindrückliches Beispiel dafür ist die Ausrichtung der mitotischen Spindel in der knospenden Hefe, *S. cerevisiae*, die senkrecht zu der Teilungsachse sein muss. Hier ist ungeklärt, wie Kräfte nicht nur die Position, sondern auch die Orientierung der Spindel in der Zelle kontrollieren (vgl. Abb. 1). Die Analyse der Proteinverteilung innerhalb einer Zelle mittels hochauflösender

Videomikroskopie zeigte, dass die räumliche Verteilung und Aktivität von Motoren so reguliert ist, dass nur einer von zwei Spindelpolen zu einem Zellende gezogen wird. Die Spindelpolkörper, die die Spindelpole ausmachen, konnten als die Zentren identifiziert werden, an denen die Verteilung von Motorproteinen reguliert wird. Richtige Spindelorientierung ist dadurch gewährleistet, dass nur ein Pol aktiv ist. Wenn diese räumliche Regulation fehlt, ziehen Kräfte beide Spindelpole zum gleichen Zellende. Die darauf folgende Zellteilung führt dann zur Bildung einer Zelle ohne Chromosomen, welche nicht lebensfähig ist, und einer zweiten Zelle mit dem doppelten Chromosomensatz, eine Situation, die oft Krebs verursacht (Liakopoulos et al., 2003; siehe auch Norden/Barral, S. 29). Diese Studien haben gezeigt, dass Zellen die Fähigkeit erworben haben, die räumlichen Kräfte entlang von Mikrotubuli zu regulieren. Dies bildet ein erstes Paradigma, um zu erklären, wie Zellen ihre interne Organisation kontrollieren und sich relativ zur Umgebung orientieren.

Zellen in Wechselwirkung mit ihrer Umgebung

Nicht nur intrazelluläre Kräfte sind wichtig, um Zellen das Wachsen und Gedeihen zu ermöglichen. Die meisten Zellen können komplexe mechanische Wechselwirkungen mit ihrer Umgebung eingehen, was zur Folge hat, dass nicht nur die biochemischen, sondern auch die physikalischen Eigenschaften der Umgebung einer Zelle einen starken Einfluss auf das Zellverhalten und schliesslich auf die Genexpression haben können. Auf molekularer Ebene zu verstehen, wie Zellen mechanische Stimuli von ihrer Umgebung dekodieren und in biochemische Signale umwandeln, ist deshalb von entscheidender Bedeutung für das Verständnis von physiologischen und pathologischen zellulären Prozessen.

Während die meisten bisherigen Studien sich damit beschäftigten, an isolierten Molekülen zu messen, wie Kräfteinwirkungen die Bildung von Zelladhäsionsstellen und die nachfolgenden intrazellulären Ereignisse beeinflussen, stellten wir uns zum Beispiel die Frage, ob durch Kräfteinwirkung entstandene strukturelle Änderun-

gen von extrazellulären Matrixproteinen selber eine wichtige Rolle bei der Mechanotransduktion spielen könnten. Um diese Frage angehen zu können, mussten neue nanotechnische Ansätze entwickelt werden, um zellinduzierte mechanische Proteinentfaltungen in Zellkulturen nachzuweisen. Zudem mussten hochauflösende Strukturmodelle entwickelt werden, um zu verstehen, wie Zellen mechanische Kräfte nutzen, um das Offenlegen von molekularen Erkennungsstellen durch Streckung extrazellulärer Matrixproteine zu regulieren. Mit Hilfe von intramolekularem Fluoreszenz-Resonanz-Energie-Transfer (FRET) konnte gezeigt werden, dass das extrazelluläre Matrixprotein Fibronectin zumindest teilweise durch zellinduzierte Kräfte mechanisch entfaltet wird (Abb. 2) (Baneux et al., 2002). Wir verwendeten dann Computersimulationen (steered molecular dynamics, SMD), um hochauflösende Strukturmodelle von Proteinentfaltungstrajektorien zu erstellen und fanden, dass die mechanischen Stabilitäten der diversen Fibronectinmodulen, die wie in einer langen Kette aneinander hängen, sich wesentlich voneinander unterscheiden (Craig et al., 2004). Die relative mechanische Stabilität dieser Module wird durch Substitution von nur wenigen wichtigen Aminosäuren, welche den Zugang von Wasser zu denjenigen Wasserstoffbrücken regulieren, bestimmt die früh während des Entfaltungsprozesses brechen. Da sich diese Fibronectinmodule nicht nur in ihrer mechanischen Stabilität, sondern auch in ihren molekularen Erkennungssequenzen voneinander unterscheiden, liegt die Schlussfolgerung nahe, dass Zellen durch sequenzielles Entfalten dieser Module gezielt Kraftänderungen in biochemische Veränderungen übersetzen. Die Entfaltungssequenz der Bausteine extrazellulärer Proteine ist also direkt dafür verantwortlich, in welcher Sequenz die chemischen Funktionalitäten spezifischer Bausteine umgeschaltet werden, wenn das Protein durch Krafteinwirkung gestreckt wird. Diese und andere Daten lassen vermuten, dass Zellen nicht nur auf extrazelluläre Matrixproteine reagieren oder diese als strukturgebende Scaffolds verwenden, sondern dass sie das biochemische Aussehen der extrazellulären Matrixproteine aktiv verändern, indem die entsprechende Matrix entweder gestreckt oder die Kraft vermindert wird. Die Zellen

erhalten so die aktive Möglichkeit, die funktionellen Merkmale ihrer Umgebung je nach Bedarf zu regulieren.

Kräfte während Organogenese im 4D-Raum

Einzelne Zellen beeinflussen ihre Matrix und regulieren die Kontakte zu Nachbarzellen. Um funktionelle multizelluläre Einheiten, Organe, zu bilden, müssen die einzelnen Zellen aber auch ihre Reaktionen miteinander abstimmen. Dieses System ist in vivo sehr komplex und schwer kontrollierbar. Daher sind systematische In-vitro-Analysen erste gangbare Schritte, um die globalen Gesetzmässigkeiten der Organbildung herauszuarbeiten. Z. B. war es bisher nicht möglich, die räumliche Verteilung von Kräften, ihre Grösse und die verschiedenen Teilkomponenten zu bestimmen. Daher entwickelten wir eine Computermethode, die auf videomikroskopischen Aufnahmen von dreidimensionalen Aggregatoberflächen zu verschiedenen Entwicklungszeitpunkten, genau charakterisierten Materialeigenschaften und auf universellen Grundsätzen der Physik basiert, um die Kräfteverteilung in der Matrix und an der Aggregatoberfläche während der Zystenbildung von Epithelzellen zu untersuchen (Abb. 3) (Zeng et al., 2005). Mit hoher Zeitauflösung wird es bald möglich sein, die Kräfteverteilung während der verschiedenen morphogenetischen Schritte in der Organogenese zu bestimmen und ihre Rolle zu analysieren.

Ausblick

Neue Techniken und Methoden erlauben vorher nie mögliche Einblicke. Durch computerunterstützte Bildanalyse und ständige Verbesserung der zeitlichen und räumlichen Auflösungen (insbesondere der Z-Achse) wird es möglich sein, die verschiedenen mechanischen Prozesse in der Zelle zu visualisieren und ihre molekularen Ursprünge und Regulationen zu verstehen. Das dadurch gewonnene Verständnis der Nanomechanik der Zelle wird wiederum besonders für Ingenieure und Physiker wertvoll sein, um neue Prinzipien und Werkzeuge zu entwickeln, die unbekannte Horizonte in der Nanotechnologie erleuchten werden.

Viola Vogel

Departement Materialwissenschaft der ETH Zürich

Yves Barral

Institut für Biochemie der ETH Zürich

Ruth Kroschewski

Institut für Biochemie der ETH Zürich

Literatur

- Baneux, G., L. Baugh, and V. Vogel. 2002.** Fibronectin extension and unfolding within cell matrix fibrils controlled by cytoskeletal tension. *Proc Natl Acad Sci USA.* 99:5139–43.
- Craig, D., M. Gao, K. Schulten, and V. Vogel. 2004.** Structural insights into how the MIDAS ion stabilizes integrin binding to an RGD peptide under force. *Structure (Camb).* 12:2049–58.
- Liakopoulos, D., J. Kusch, S. Grava, J. Vogel, and Y. Barral. 2003.** Asymmetric loading of Karg onto spindle poles and microtubules ensures proper spindle alignment. *Cell.* 112:561–74.
- Zeng, D., A. Ferrari, J. Ulmer, A. Veligodskiy, P. Fischer, Y. Ventikos, J. Spatz, D. Poulidakos, and R. Kroschewski. 2005.** 3D modeling of mechanical forces in the extra-cellular matrix during cystogenesis. Submitted.

HEIMTÜCKISCHE VIREN AUF LEBENDEN ZELLEN

IVO F. SBALZARINI, HELGE EWERS, ALICIA SMITH, ARI HELENIUS UND PETROS KOUMOUTSAKOS

Die Kombination von moderner Lichtmikroskopie und automatisierter computer-gestützter Bildverarbeitung ermöglicht es, die Bewegungen von Viren auf lebenden Zellen zu beobachten. Die systematische Analyse der Virusbewegungen unmittelbar nach dem Binden an die Zelloberfläche wird helfen, die frühen Schritte von Virusinfektionen besser zu verstehen. Besonders interessant sind dabei die von den Viren benutzten Mechanismen, um ins Innere der Zelle einzudringen.

Viren werden von Organismus zu Organismus übertragen. Um sich zu vermehren, müssen sie ihr Erbgut sowie Hilfsproteine ins Innere der Wirtszelle bringen. Die zahlreichen Methoden, welche die Viren dazu entwickelt haben, beruhen darauf, bereits vorhandene Mechanismen der Zelle für die eigenen Zwecke zu missbrauchen. Die in diesem Zusammenhang wichtigsten Prozesse sind das Eindringen durch die Zellmembran ins Innere der Zelle, sowie der motorgetriebene Transport entlang des Eisenbahn-Netzwerks der Zelle, der Mikrotubuli. Das Ziel der Viren: der Zellkern, in dem sie sich replizieren können.

Wie entstehen Infektionen?

Der Infektionsprozess beginnt mit dem Binden der Viren an die Aussenseite der Zellmembran (siehe auch Schlumberger et al., S. 26). Ankermoleküle auf der Oberfläche des Virus binden dabei nach dem Schlüssel-Schloss-Prinzip an bestimmte Proteine in der Zellmembran, die «Virus-Rezeptoren». Diese Rezeptoren haben im normalen Leben der Zelle eigentlich andere Aufgaben, werden aber vom Virus geschickt als Bindungsstellen missbraucht. Verschiedene Viren benutzen dabei verschiedene Rezeptoren. Art und Verteilung der Rezeptoren in den Zellen und Geweben eines Organismus bestimmen dadurch weitgehend, welche Zellen infiziert werden und wie die Viruserkrankung verläuft. Nach dem Binden an die Zellmembran müssen die Viren die Membran durchbrechen, um ihr Erbgut ins Innere der Zelle zu

bringen. Auch dazu sowie für den Transport im Zellinnern verlassen sich die Viren auf die bereits vorhandene Maschinerie der Zelle, die sie für ihre Zwecke «umprogrammieren».

Wie verhalten sich Viren auf der Zellmembran, bevor sie ins Innere der Zelle gelangen? Die Antwort auf diese Frage ist für kein Virus im Detail bekannt. Wir wissen jedoch, dass diese frühen Schritte im Infektionsprozess von grosser Wichtigkeit für die ganze Infektion sind. Die hierbei ablaufenden biochemischen Prozesse umfassen eine Vielzahl verschiedener Moleküle und lösen komplexe Abfolgen von Signalen aus, die dazu dienen, die Zellmechanismen für die Zwecke des Virus umzustellen.

Ursache von Darmkrebs

In unserem Projekt studieren wir die frühen Schritte der Bindung und Bewegung von Polyoma-Viren auf der Aussenseite der Membran lebender Zellen. Polyoma ist ein kleines (45 Nanometer Durchmesser) DNS-Virus, welches Tumore in der Ohrspeicheldrüse von Mäusen verursacht. Das menschliche Gegenstück des Virus ist verantwortlich für bestimmte Arten von Darmkrebs (siehe auch Norden/Barral, S. 29 und Rudin/Schubiger, S. 36). Die Abb. 1 zeigt einige dieser Viren unter dem Elektronenmikroskop. Die Viren gelangen über einen bestimmten Pfad ins Innere der Zelle. Dieser Pfad wurde erst kürzlich entdeckt, ist unabhängig von den bekannten klassischen Mechanismen und daher von grossem wissenschaftlichem Interesse. Poly-

oma-Viren sind Experten darin, den Pfad für ihre Zwecke zu missbrauchen. Die Beobachtung dieser Viren liefert fundamentale Informationen über die biochemischen Prozesse, welche für das Funktionieren des Pfades verantwortlich sind. Also: Wir benutzen das Virus als Beobachtungsinstrument für zelluläre Prozesse. So können wir nicht nur etwas über die Mechanismen von Virusinfektionen erfahren, sondern lernen gleichzeitig auch viel über die komplexen Prozesse, die innerhalb von Zellen ablaufen.

Künstliche Viren ohne Erbgut

Um die Probleme der Biosicherheit zu vermeiden, verwenden wir in unseren Untersuchungen nicht infektiöse Viren, sondern stellen die Proteine der Viruskapsel künstlich her und bauen daraus «leere» virusähnliche Partikel. Diese haben dieselbe Struktur wie das richtige Virus, enthalten aber kein Erbgut, was heisst, dass sie die Zelle nicht infizieren können. Das Verhalten solcher leeren «Viren» in den für uns interessanten frühen Bindungsschritten ist jedoch identisch mit jenem der richtigen Viren. Damit die Bewegungen der Viren unter dem Lichtmikroskop sichtbar werden, markieren wir die virusähnlichen Partikel mit fluoreszenten Farbstoffen.

Somit können die vielfältigen Wechselwirkungen der Viren auf der Zelloberfläche, unmittelbar nach dem Eindringen, beobachtet und analysiert werden. Um die Bewegungen der Teilchen in Echtzeit zu ver-

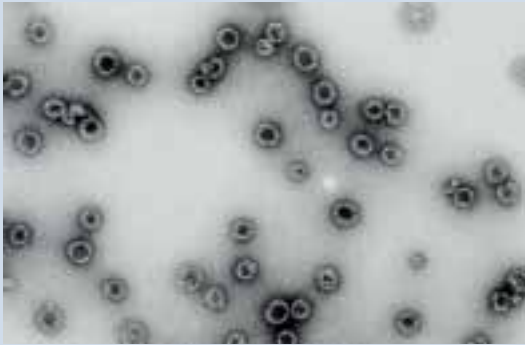


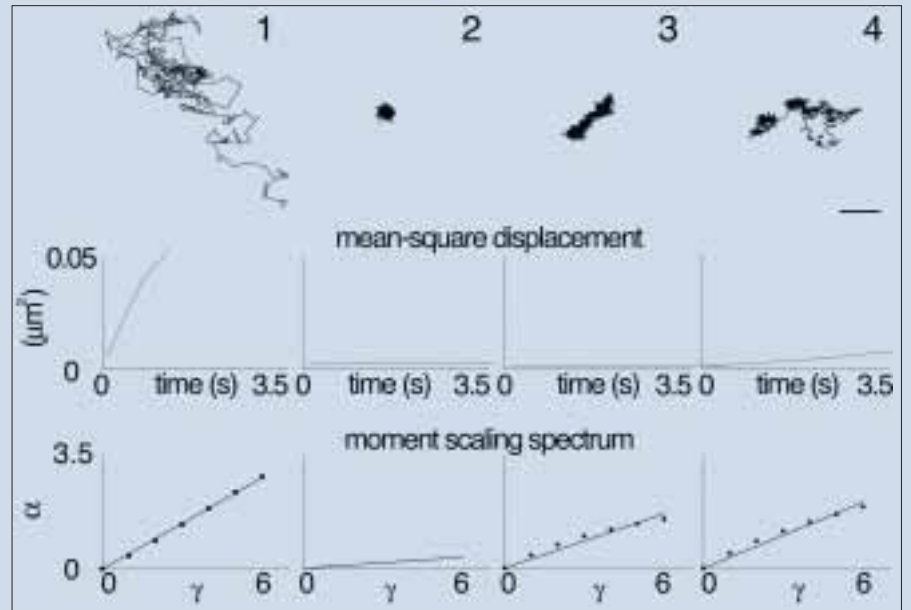
Abb. 1:
EINIGE POLYOMAVIRUS-ÄHNLICHE TEILCHEN unter dem Elektronenmikroskop bei 62000-facher Vergrößerung. Jedes Teilchen besteht aus einer Proteinkapsel von zirka 45 Nanometer Durchmesser und enthält alle Ankermoleküle, um an die Rezeptoren auf der Zelle binden zu können. Die Kapseln enthalten jedoch kein Erbgut und sind somit nicht infektiös.

Abb. 3:
BEISPIEL VON KLASSISCHER UND «MOMENT SCALING SPECTRUM»-ANALYSE VON VIRUSBEWEGUNGEN.

Die erste Zeile zeigt vier Bahnkurven, wie sie vom Computer aus den Videoaufnahmen extrahiert wurden. Es können vier verschiedene Arten von Bewegungen unterschieden werden: (1) freie Diffusion, (2) Beschränkung auf ein stillstehendes Gebiet, (3) Beschränkung auf ein sich bewegendes Gebiet, und (4) eine Mischung von 1-3. Die klassische «Mean Square Displacement»-Analyse dieser vier Beispiele ist in der zweiten Zeile dargestellt. Erst wenn die «Moment Scaling Spectrum»-Analyse hinzugenommen wird (dritte Zeile), ist es jedoch möglich, die vier verschiedenen Bewegungstypen zu unterscheiden.



Abb. 2:
FLUORESZENT MARKIERTE POLYOMAVIRUS-ÄHNLICHE TEILCHEN (helle Punkte) nach dem Binden an die Aussenseite der Zellmembran. Die vier Bilder zeigen denselben Bildausschnitt zu verschiedenen Zeitpunkten. Sie wurden mittels eines TIRF-Mikroskops bei 100-facher Vergrößerung aufgenommen. Die Positionen der einzelnen Punkte werden vom Computer vollautomatisch erfasst und ihre Bewegungen verfolgt.



folgen, benutzen wir moderne bildgebende Verfahren wie konfokale Mikroskopie und TIRF-Mikroskopie («Total Internal Reflection Fluorescence»). Die Abb. 2 zeigt eine kurze Zeitsequenz von typischen Bildern von Polyoma-ähnlichen Teilchen unter einem TIRF-Mikroskop. Die einzelnen fluoreszent markierten Viren erscheinen als helle Punkte vor dem dunklen Hintergrund der Aussenseite der Zellmembran. Auf diese Weise aufgenommene digitale Videos sind reich an Informationen über die Funktionsprinzipien und Strukturen der Pfade ins Innere von lebenden Zellen.

Schnelle Viren in langen Filmen...

Bevor die Informationen analysiert werden können, müssen die Bewegungen der Viren jedoch in Form von Bahnkurven aus den Videos extrahiert werden. Dieser Prozess heisst «Tracking» und spielt eine wichtige Rolle in Bewegungsanalysen in vielen Bereichen der Wissenschaft und Technik. Um

statistisch signifikante Analysen der Virusbewegungen durchführen zu können, müssen Tausende von Bahnkurven unter verschiedenen Bedingungen und chemischen Behandlungen der Zelle bestimmt werden. Die grosse Zahl von Beobachtungen ist nötig, um biochemische Modelle der Pfade ins Zellinnere aufstellen und testen zu können. Die schnellen Bewegungen der kleinen Virenteilchen erfordern zudem, die Videos mit mindestens 20 Bildern pro Sekunde aufzuzeichnen. Somit sind die resultierenden Filme mehrere Tausend Bilder lang.

...fordern «Tracking»-Programme heraus

Die riesigen Datenmengen müssen effizient und zuverlässig verarbeitet werden. Die Genauigkeit, mit welcher die Position eines Partikels in einem Bild bestimmt werden kann, muss dabei besser sein als die Grösse eines einzelnen Pixels des Bildes, und sie darf nur schwach vom Störrauschen im Bild abhängen.

Dies ist nur mittels vollautomatischer Verarbeitung im Computer zu bewältigen. Die Aufgabe des Computers besteht darin, die Positionen aller Viren in allen Bildern eines Videos zu bestimmen und diese Punkte über die einzelnen Bilder hinweg zu verbinden, d. h. zu bestimmen, welcher Punkt im nächsten Bild vom selben Virenteilchen stammt wie ein bestimmter Punkt im aktuellen Bild. Auf diese Weise können die Bewegungen aller Viren über die Zeit des Videos verfolgt werden.

Die riesigen Datenmengen und die benötigte Genauigkeit der Resultate sind eine Herausforderung für alle «Tracking»-Computerprogramme. Die Zusammenarbeit zwischen dem Computational Laboratory (CoLab) und dem Institut für Biochemie der ETH Zürich wurde teilweise dadurch motiviert, dass die bestehenden Programme den Bedürfnissen dieses Projekts nicht gerecht wurden. Die meisten dieser Programme benutzen Annahmen über die

Art der Bewegung, um ein effizientes Tracking-Verfahren zu konstruieren. Manche sind zwar sehr genau, aber zu rechenintensiv um sie auf grosse Datenmengen anzuwenden.

Die für dieses Projekt neu entwickelte Software benötigt keinerlei Annahmen über die Art der Bewegung, ist speziell schnell und robust gegen Bildrauschen. Das Computerprogramm ist effizient genug, um die Tausende von Bildern eines Videos innert weniger Sekunde auf einem normalen Bürocomputer zu verarbeiten. Die dabei erreichte Genauigkeit der Resultate ist vergleichbar mit sehr viel rechenintensiveren Methoden.

Vier Bewegungsarten

Die vollautomatische Bestimmung der Virusbewegungen aus den Videoaufnahmen stellt uns eine Fülle von Informationen zur Beschreibung und Analyse der Abläufe unter verschiedenen Bedingungen zur Verfügung. Die klassische Analyseverfahren für zweidimensionale Bewegungen basiert auf der Bestimmung von Transportgeschwindigkeiten und Diffusionskonstanten. In biologischen Systemen entsprechen die Bewegungen jedoch selten idealer Diffusion oder gerichteter Bewegung, sodass die klassischen Analyseverfahren erweitert werden müssen. Nach dem Binden an den

Rezeptor können vier verschiedene Arten von Bewegungen beobachtet werden: freie Diffusion, Beschränkung auf ein stillstehendes Gebiet, Beschränkung auf ein sich bewegendes Gebiet oder eine beliebige Mischung dieser drei. Die klassische Analyse kann nicht zwischen freier Diffusion und Beschränkung auf ein sich rasch bewegendes Gebiet unterscheiden. Ebenso sind stillstehende Teilchen nicht von solchen unterscheidbar, die auf ein sich sehr langsam bewegendes Gebiet beschränkt sind.

Um dieses Problem zu beheben, benutzen wir zur Beschreibung der Bewegungsprozesse eine Analyseverfahren aus der statistischen Mechanik. Diese «Moment Scaling Spectrum»-Methode betrachtet das ganze Spektrum der Dispersionskonstanten und nicht nur die Diffusionskonstante alleine. Sie liefert somit viel mehr Information über die Art der Bewegung. In Kombination mit der klassischen Analyseverfahren ist es nun möglich, alle Bewegungstypen eindeutig zu unterscheiden, wie in Abb. 3 anhand eines Beispiels dargestellt ist.

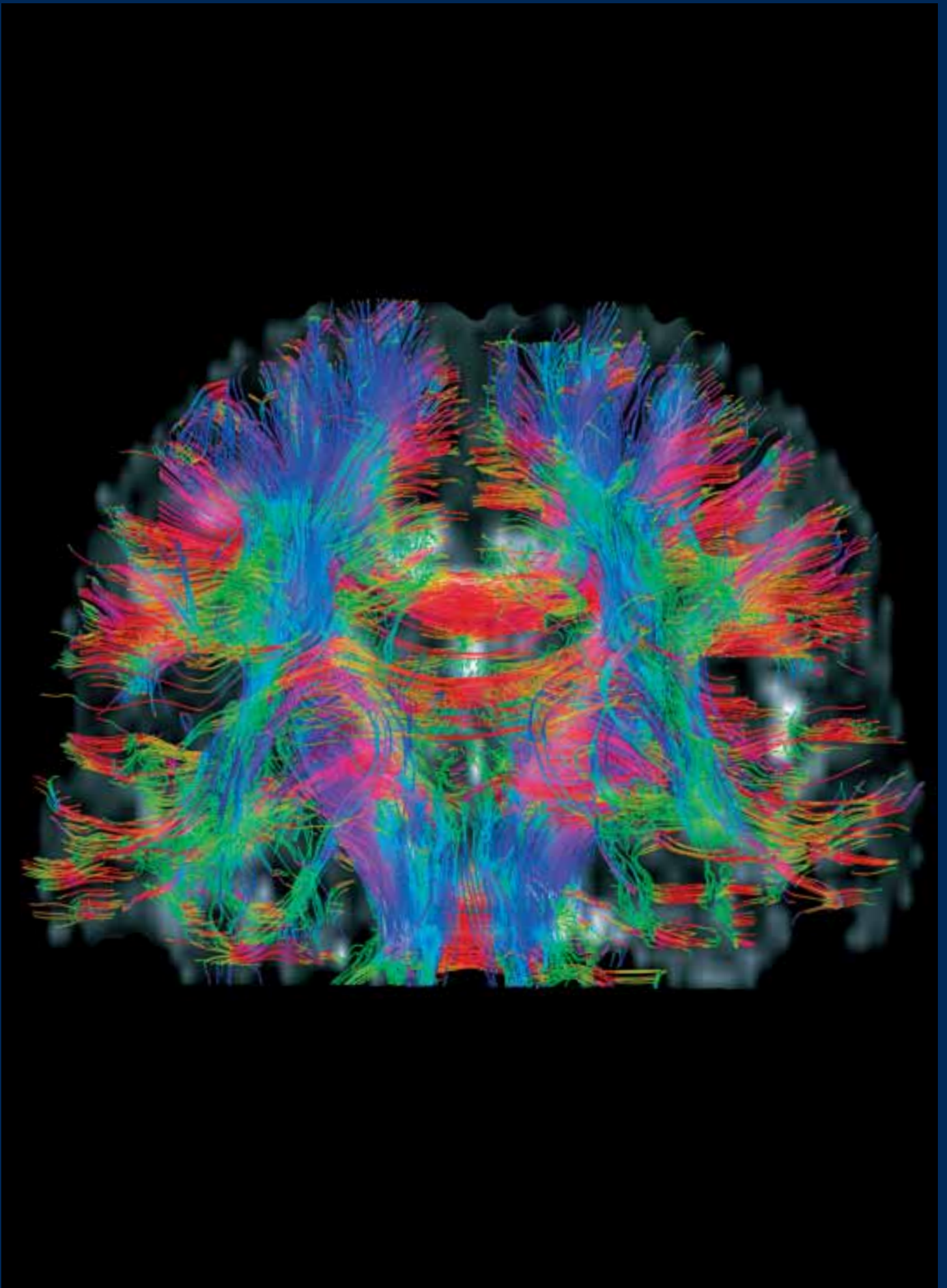
Biologen und Informatiker forschen zusammen

Die Fähigkeit, Virenbewegungen vollautomatisch klassifizieren zu können, ist ein wichtiger Bestandteil unserer Untersuchungen. Einerseits verunmöglicht die grosse Anzahl der Beobachtungen eine manuelle Auswertung, andererseits möchten wir jede Verzerrung der Resultate durch manuelle Auswahl und Klassifikation vermeiden. Dies ermöglicht es, mittels statistischer Verfahren auch kleinste Unterschiede festzustellen. In Kombination mit systematischen Manipulationen der Zellen mittels chemischer Behandlungen wird es nun möglich, die Bestandteile der molekularen Maschinerie des Eindringens in die Zelle zu identifizieren und ihr Zusammenspiel zu verstehen. Dieses Projekt hat Wissenschaftler aus Biologie und Computational Science in einer engen Kooperation zusammengeführt. Es steht beispielhaft dafür, wie die Entwicklung spezialisierter computerbasierter Verfahren mithelfen kann, herausfordernde Problemstellungen in der Biologie anzugehen, und die Grenzen der Forschung in beiden Disziplinen neu zu definieren.

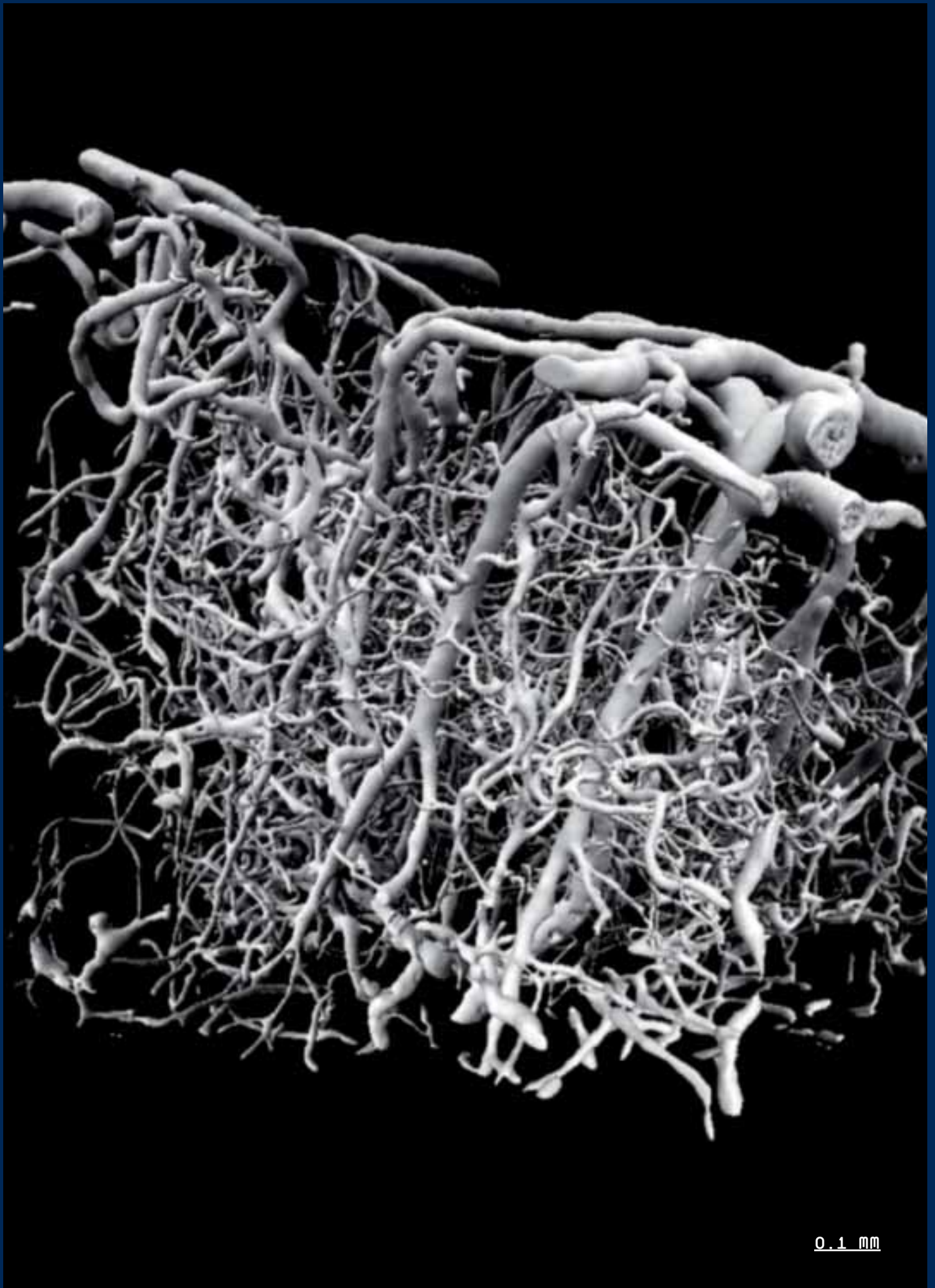
Ivo F. Sbalzarini¹, Helge Ewers, Alicia Smith, Ari Helenius² und Petros Koumoutsakos¹

¹ Computational Laboratory (CoLab) und

² Institut für Biochemie, ETHZ



Hirnschnitt, aufgezeichnet mit einem Diffusions-Tensor-MRI: Die Farben bezeichnen die Verlaufsrichtungen der Hirnfaserstrukturen; Blau: oben-unten; Rot: links-rechts; Grün: vorne-hinten. (Bild: Prof. Peter Bösiger, Thomas Järmann, Institut für Biomedizinische Technik) (siehe S. 64)



Dreidimensionale Darstellung eines ausgewählten Bereiches aus dem Hippocampus eines APP 23 tg-Maus-
gehirnes. (Bild: Stephan Heinzer, ETH Zürich). (siehe S. 60)

DIE GEBURT DER OPTISCHEN NANOSKOPIE

ANDREAS STEMME UND VAHID SANDOGHDAR

Visualisierung und Entdeckung vieler Prozesse und Wesen, wie Brownsche Bewegung, Bakterien, Zellteilung sowie zahlreiche andere biologische Ereignisse haben wir der Lichtmikroskopie zu verdanken. Doch diese Technik kommt an ihre Grenzen. Die Lösung lautet: optische Nanoskopie.

Was wir in der Umgangssprache «Licht» nennen, ist nur ein kleiner Bereich der elektromagnetischen Wellen, zu denen einerseits die so genannten Gamma- und Röntgenstrahlen und andererseits auch die Mikro- und Radiowellen zählen. Die Tatsache, dass Licht für das menschliche Auge sichtbar ist, räumt ihm einen ganz besonderen Platz ein, und das nicht nur in unserem alltäglichen Leben, sondern auch in den Naturwissenschaften. In der Tat kamen die ersten Hinweise auf die Grenzen der klassischen Physik und das Bedürfnis für die Quantentheorie aus optischen Experimenten. Das Lichtmikroskop ist ein anderes Beispiel für den enormen Einfluss des Lichtes auf die Naturwissenschaften.

Lichtmikroskopie: Die Auflösung bleibt Sorgenkind

Die Erfindung des einfachsten Mikroskops, der Lupe, kann man nicht zurückdatieren, aber Multilinsenmikroskope wurden erstmals am Ende des sechzehnten Jahrhunderts gebaut. Die Lichtmikroskopie verzeichnete einen wichtigen Fortschritt, als Ernst Abbe (1873) und Lord Rayleigh (1896) den Abbildungsprozess mit der Beugung von Lichtwellen verknüpften. Aufgrund dieses theoretischen Verständnisses konnten bessere Objektive hergestellt werden, deren Auflösung nur noch durch die Beugung des Lichts begrenzt war. Durch die Verwendung von grünem Licht und mit den besten Objektiven liegt diese Auflösungsgrenze für punktförmige Objekte bei 200 nm (Abb. 1). Kleinere Objekte lassen sich zwar noch sichtbar machen, sie werden aber nicht entsprechend ihrer wahren Grösse abgebildet, sondern erscheinen in der Grösse der Auflösungsgrenze. Diese fundamentale Eigenschaft von Lichtwellen begrenzte seit Abbe und Rayleigh für nahezu 70 Jahre die

Anwendungsmöglichkeiten der Lichtmikroskopie und brachte diese Technik auch fast in Vergessenheit.

Die Renaissance der Lichtmikroskopie in der Biologie begann im letzten Viertel des zwanzigsten Jahrhunderts durch die Verfügbarkeit von Lasern und den Einsatz von spektroskopischen Methoden. Durch gezieltes Markieren der zu untersuchenden Bereiche des Systems mit fluoreszierenden Molekülen konnte man verschiedene dynamische und statische biologische Prozesse sichtbar machen. Dieser Vorgang wurde vor etwa zehn Jahren durch die Entdeckung der verschiedenen Farbvarianten des «green fluorescent protein» (GFP), das sich in der Zelle genetisch exprimieren lässt, revolutioniert. Zugleich konnte die Fluoreszenzmikroskopie die Grenze ihrer Empfindlichkeit, nämlich die Detektion einzelner fluoreszierender Moleküle, erreichen.

Diese und andere junge Fortschritte der Nanowissenschaften haben den Anstoss gegeben, die Beschränkungen der Lichtmikroskopie, die über viele Jahrzehnte als allgemeingültig betrachtet wurden, gründlich zu hinterfragen.

Wie die Auflösungsgrenze überwunden werden kann, war eigentlich schon lange bekannt, nicht zuletzt durch die Arbeiten von Prof. Lukosz an der ETHZ in den Sechzigerjahren. Es erstaunt daher umso mehr, dass erst in den letzten 20 Jahren Techniken entwickelt wurden, welche die Auflösung von Lichtmikroskopen wirklich signifikant zu verbessern vermochten. Die neuen Techniken der Fluoreszenzmikroskopie haben unterschiedliche Ansätze für die optischen Untersuchungen biologischer Prozesse ermöglicht. Nachfolgend werden einige von ihnen präsentiert.

HELM: Eine «Erfindung» der ETH Zürich

Eine zentrale Idee in der modernen Lichtmikroskopie ist eine räumlich strukturierte Beleuchtung der Probe. Das bekannteste Beispiel dafür ist das konfokale Lichtmikroskop, bei dem die Probe mit einem fokussierten Lichtstrahl Punkt für Punkt abgetastet wird. Theoretisch lässt sich mit diesem weit verbreiteten Gerät die Auflösung lateral um einen Faktor 1,4 verbessern – in der Praxis fällt der Gewinn an Auflösung allerdings wesentlich kleiner aus. Die Stärke der konfokalen Mikroskope besteht darin, dass sie das Licht aus einer Fokusebene gezielt detektieren können: Dabei wird das Licht aus allen anderen Ebenen weggefiltert, was zu einer klareren Bildinformation führt. Wesentlich mehr Auflösung – momentan 100 nm in lateraler Richtung – erreicht man mit strukturierter Beleuchtung, die auch bei der HELM («Harmonic Excitation Light Microscopy»), die an der ETHZ entwickelt wurde, verwendet wird.

Bei diesem Verfahren wird die Probe mit einem zweidimensionalen Interferenzmuster beleuchtet, und es müssen fünf Bilder für verschiedene Positionen des Beleuchtungsmusters aufgenommen werden. Die Beleuchtung mit einem Interferenzmuster führt zu einer Frequenzmischung, die es ermöglicht, mit Hilfe eines konventionellen Weitfeld-Lichtmikroskops feinere Details zu übertragen. Das Abbild mit verbesserter Auflösung wird rechnerisch aus den fünf Bildern rekonstruiert (Abb. 2.).

STED-Mikroskopie: Hohe Beleuchtungsintensität mit gepulsten Lasern

Ein weiterer wichtiger Fortschritt kam von der Multiphoton-Fluoreszenzmikroskopie. Hier wird die Fluoreszenz der Probe über

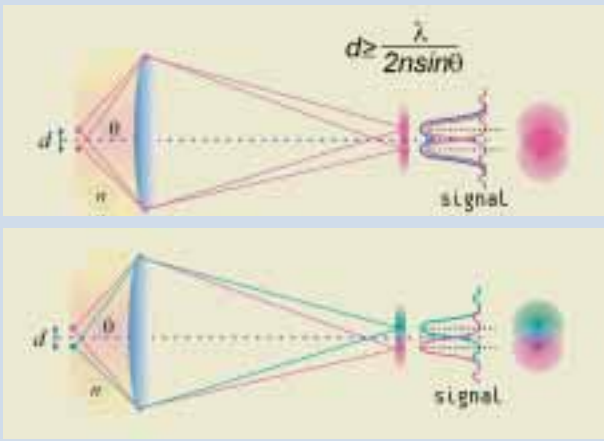


Abb. 1:
Zwei identische Punktquellen können nur dann aufgelöst werden, wenn ihr Abstand d grösser oder gleich ist $\lambda/2n \sin\theta$ wobei λ die Wellenlänge des Lichts und n der Brechungsindex des Mediums sind. Zwei unterscheidbare Punktquellen aber können beliebig genau lokalisiert (und daher aufgelöst) werden, weil das Zentrum der Abbildung jedes Objekts sehr genau bestimmt werden kann.

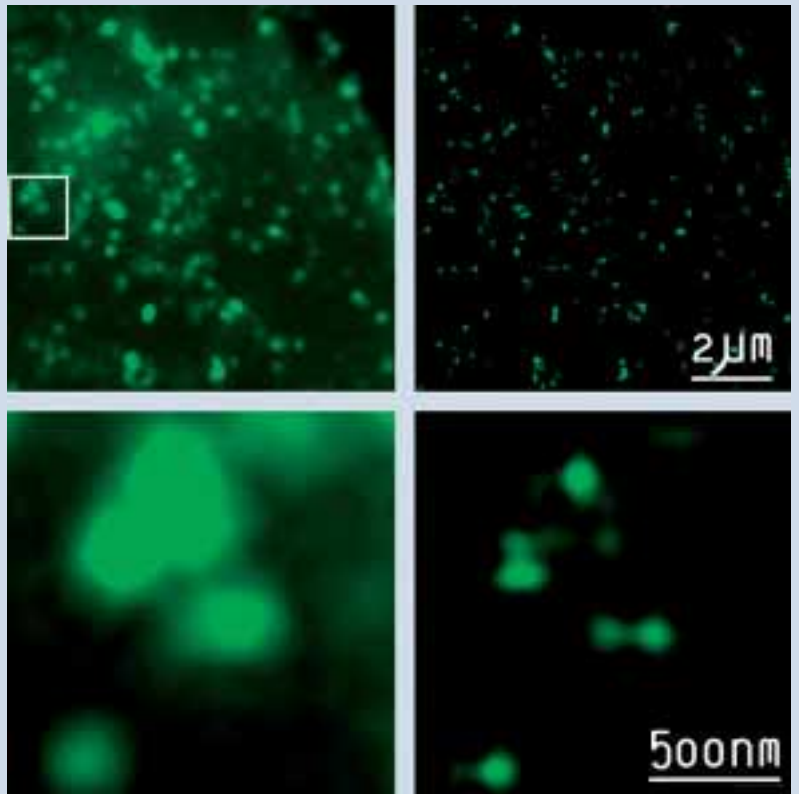


Abb. 2:
HeLa-Zellen mit Caveolin-1-GFP, abgebildet im konventionellen Lichtmikroskop (links) und mit Hilfe der HELM-Technik (rechts). Nanotechnology Group und Institut für Biochemie, ETH Zürich

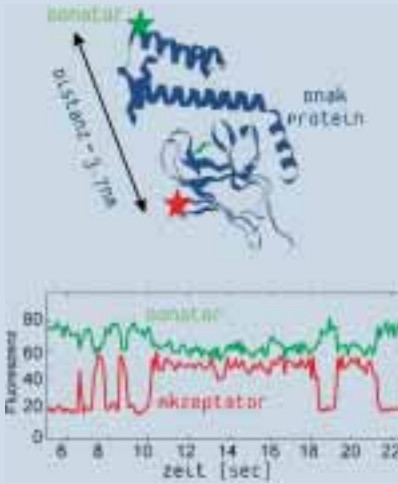


Abb. 3:
Ein Akzeptormolekül fluoresziert, wenn ein Donatormolekül sich innerhalb einiger weniger Nanometer von ihm entfernt befindet und ihm seine Energie überträgt. Anhand dieser Nahfeldwechselwirkung kann man die Konformationsänderung eines einzelnen Proteins untersuchen. Nano-Optics Group, ETH Zürich

einen nichtlinearen Prozess mit mehreren (typisch sind zwei oder drei) Photonen angeregt. Das heisst, die Probe wird mit der doppelten oder dreifachen Wellenlänge beleuchtet. Damit ein solcher Anregungsprozess überhaupt gelingt, muss die Beleuchtungsintensität extrem hoch sein, was mit gepulsten Lasern erreicht wird. Die Intensität der emittierten Fluoreszenz hängt von der zweiten bzw. dritten Potenz der Anregungsintensität ab, was zu einer Verkleinerung des Fokus führt. Daraus resultiert im Vergleich zur Anregungswellenlänge eine höhere Auflösung, vergleichbar mit der Auflösung der konventionellen Fluoreszenzmikroskopie. Die wirklichen Vorteile der Multiphoton-Mikroskopie liegen daher nicht in der Verbesserung der Auflösung, sondern vielmehr in der reduzierten Lichtstreuung in dicken Proben und der geringeren Ausbleichrate aufgrund der längeren Wellenlänge. Eine besonders viel versprechende Variante der Multiphotonen-Mikroskopie ist die so genannte STED- («Stimula-

ted Emission Depletion»)-Mikroskopie. Hier regt ein gepulster Laserstrahl zuerst die Farbstoffmoleküle an, und dann wird ein zweiter gepulster Laserstrahl ihre Fluoreszenz an manchen Stellen zurück zu dem Grundzustand stimulieren, so dass eine leicht verspätete Detektion nur die Fluoreszenz eines kleineren als des ursprünglich beleuchteten Bereichs sieht. Die effektive Grösse des fluoreszierenden Flecks hängt nur von der Intensität des zweiten Laserpulses ab, und daher kann die Auflösung dieser Technik im Prinzip beliebig verbessert werden.

Ein gemeinsames Ziel der oben erwähnten Methoden ist also die Minimierung des fluoreszierenden Bereichs, idealerweise bis zu der elementaren Fluoreszenzeinheit, das heisst bis zu einem einzelnen Molekül. Daher kamen die rasanten Fortschritte der Einzelmoleküldetektion in den Neunzigerjahren auch der Gruppe von Prof. U. Wild an der ETHZ sehr gelegen. Erstaunlicherweise haben mehrere dieser Einzelmolekül-

Experimente sich innerhalb kürzester Zeit in der biologischen Forschung etabliert. Zum Beispiel: Konformationsänderungen einzelner Proteine können routinemässig durch FRET (engl: Fluorescence Resonant Energy Transfer), Energietransfer zwischen einem Donator- und einem Akzeptor-Labelmolekül, beobachtet werden (Abb. 3). Diese werden gezielt gewählt, sodass das Akzeptormolekül nicht bei der Wellenlänge des Anregungslaserstrahls, sondern bei der Wellenlänge der Fluoreszenz des Donators absorbiert. Wenn der Abstand zwischen den beiden Farbstoffmolekülen kleiner als etwa 10 nm wird, kann die Energie vom Donator «strahlungslos» an den Akzeptor übertragen werden. Die Detektion der Akzeptorfluoreszenz ist daher ein Beweis für die Nähe der beiden Moleküle.

Moderne Laserspektroskopie

Junge Forschungsergebnisse haben gezeigt: Auch «molekulare Auflösung» sollte



NAHFELDMIKROSKOPIE

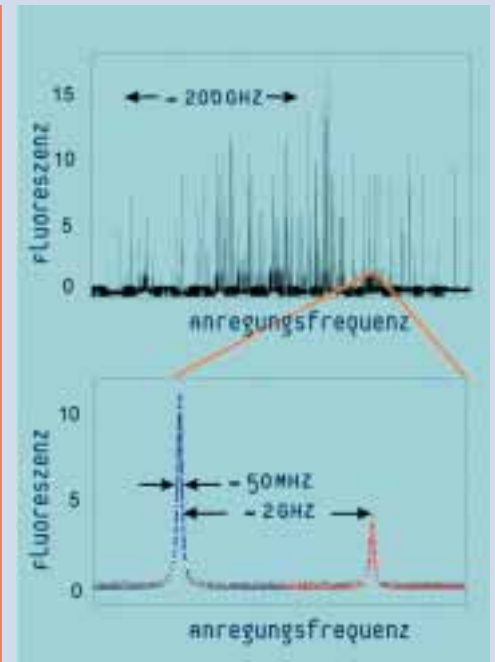
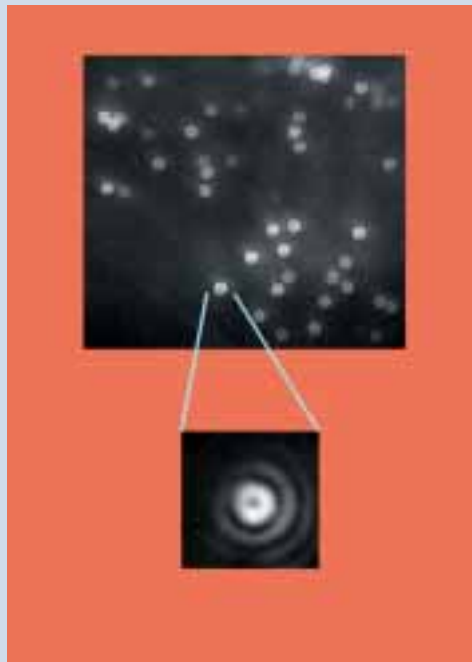
1984 zeigte Dieter Pohl und seine Kollegen von IBM Zürich, dass man die Beugungsgrenze der Lichtmikroskopie mit optischer Rastersondenmikroskopie (engl. Scanning Near Field Optical Microscopy (SNOM)) umgehen kann. Das Kernstück eines Nahfeldmikroskops ist eine metallisierte scharfe Glasspitze mit einer Öffnung von etwa 50–100 nm. Wenn der Laserstrahl, der an einem Ende in die Glasfaser gekoppelt wird, aus der kleinen Öffnung austritt, entstehen so genannte evaneszente Wellen. Wenn die Probe in einem Abstand von wenigen Nanometern vor der Sonde gerastert wird, werden die evaneszenten Wellen ins Fernfeld gestreut und dort detektiert. Die Auflösung dieser Methode ist nur durch die Grösse der Öffnung und ihren Abstand zur Probe bestimmt.

ROTES FELD:

Einzelne Moleküle können in einem optischen Mikroskop unter ambienten Bedingungen detektiert werden, wenn sie weit genug voneinander liegen. Jeder helle Punkt zeigt die Abbildung eines einzelnen Moleküls. Die Geometrie der Abbildung verrät die Orientierung des Moleküls: Hier implizieren die «Doughnuts», dass die Moleküle senkrecht zum Substrat stehen.

BLAUES FELD:

Bei tiefen Temperaturen ($T \sim -270 \text{ }^\circ\text{C}$) können auch die Moleküle, die nur wenige Nanometer voneinander entfernt sind, spektroskopisch identifiziert werden. Diese Art von Einzelmolekül-Detektion basiert auf der Tatsache, dass unterschiedliche Moleküle eine Umgebung leicht unterschiedlich erleben. Die Folge davon: eine leicht andere Absorptionswellenlänge bei Molekülen. Indem man die Wellenlänge eines schmalbandigen Lasers graduell variiert, lassen sich einzelne Moleküle «ansprechen». Nano-Optics Group, ETH Zürich



in der Lichtmikroskopie möglich sein. Obwohl die Realisierung dieses Ziels im Labor noch mit einigen Herausforderungen verbunden ist, ist das Prinzip sehr einfach. Die Kernidee ist in der Abb. 1 skizziert worden. Trotz der endlichen Grösse des Flecks eines Moleküls in einem konventionellen Mikroskop kann seine Position sehr genau bestimmt werden, wobei die Genauigkeit nur vom «Signal zu Rausch»-Verhältnis begrenzt wird. Wenn aber zwei Moleküle sehr nahe beieinander sind, kann mit Hilfe der konventionellen Mikroskopie nicht mehr identifiziert werden, von welchem Molekül das Fluoreszenzlicht ausgesendet wird, was zur rayleighschen Formulierung der Auflösungsgrenze führt.

Moderne Laserspektroskopie bietet hingegen mehrere Möglichkeiten, diese zwei Signale voneinander zu trennen. Insbesondere die Tieftemperatur-Spektroskopie bietet eine Lösung (siehe zweiter Infokasten), bei der die nominell identischen Moleküle eine leicht unterschiedliche Absorptionswellen-

länge bekommen und damit in der Detektion voneinander trennbar sind. An der ETHZ haben wir vor kurzem demonstriert, dass einzelne Moleküle, die nur wenige Nanometer voneinander entfernt sind, «aufgelöst» werden können.

Lichtmikroskop: vielseitig, unverzichtbar, preiswert

Obwohl keine einzige Mikroskopiemethode in der Lage ist, alle offenen Fragen zu beantworten, hat sich die Lichtmikroskopie als besonders vielseitig erwiesen. Verschiedene Eigenschaften haben das Lichtmikroskop zu einem unverzichtbaren Instrument für die Visualisierung von molekularen Vorgängen und Zusammenhängen in lebenden Zellen gemacht: Man braucht keine komplizierten Vakuumanlagen, um In-vivo-Untersuchungen durchführen zu können. Das sichtbare Licht beschädigt in der Regel biologische Stoffe nicht. Das Lichtmikroskop bietet den Zugang zu tieferen

Schichten von dreidimensionalen Proben. Letztlich sind optische Mikroskope auch relativ preiswert. Die Kombination von verschiedenen optischen Vorgängen, nanotechnologischen Fortschritten und gentechnischen Methoden hat neue Möglichkeiten zur Untersuchung von biologischen Netzwerken eröffnet. Aktuelle Fragestellungen, wie die der quantitativen Visualisierung der Wechselwirkungen und der räumlichen Anordnung der verschiedenen Proteine und Lipide, welche in Signal- und Transportprozesse involviert sind, können mit einer Auflösung von 100 nm – oder einer besseren – untersucht werden. Erfolgreich demonstriert wurden auch erste Schritte zur Realisierung einer molekularen Auflösung.

Andreas Stemmer
Nanotechnik, ETH Zürich

Vahid Sandoghdar
Laboratorium für Physikalische Chemie, Zürich



Falls Sie nach der Hochschule noch höher wollen.

Da Sie jetzt lange die Hochschule besucht haben, werden Sie Ihre beruflichen Ziele hoch stecken. Und damit Sie diese auch erreichen, helfen wir Ihnen kräftig. Ob als Hotshot oder Trainee: Steigen Sie am besten noch heute bei Swisscom ein. Bei der Nr. 1 der Telekommunikation. Sie erhalten das breiteste Angebot, wahlweise bei Swisscom Mobile, Swisscom Fixnet, Swisscom Solutions, Swisscom IT Services, Swisscom Innovations oder Bluewin – wir freuen uns auf Sie!

www.swisscom.com/getintouch

swisscom
■■■■■

MAKROMOLEKULARE MASCHINEN IN BEWEGUNG SICHTBAR MACHEN

TAKASHI ISHIKAWA

Die neuesten Entwicklungen der Genomik und der Strukturbiologie, besonders der Röntgen-Kristallographie und der kernmagnetischen Resonanzspektroskopie (NMR), haben es ermöglicht, die Struktur von biologischen Makromolekülen im Detail zu untersuchen. Aber ist es möglich, die Strukturen von biologischen Makromolekülen und deren Umwandlung in der Zelle oder in ähnlicher Umgebung während der Reaktionen, der Kraftgewinnung und der Signalleitung zu studieren? 3D-Kryo-Elektronenmikroskopie, insbesondere Einzelpartikelanalyse und Elektronentomographie, sind neu entwickelte Methoden, die diese Ansprüche erfüllen. Mit diesen Methoden kann man die Dynamik wie auch die Struktur von makromolekularen Maschinen in Zellen beschreiben.

Fast alle biologischen Erscheinungen in der Zelle sind aufeinanderfolgende chemische Reaktionen, die von so genannten makromolekularen Maschinen (hauptsächlich Proteinen und Nukleinsäuren) ausgeführt werden. Deshalb ist es wichtig, die Eigenschaften, das Verhalten und die Funktionen von makromolekularen Maschinen zu untersuchen, um die biologischen Phänomene für wissenschaftliche, industrielle oder medizinische Zwecke zu verstehen und zu kontrollieren. Nachdem die Sequenzen verschiedener Spezies mit dem Genomprojekt aufgeschlüsselt wurden, setzen die Naturwissenschaftler den Akzent auf den strukturellen Aspekt. Durch die Erkenntnis der molekularen Anordnung von Aminosäuren und Nukleotiden kann man einzelne Gruppen unterscheiden. Man kann auch die elektrischen Ladungen auf der Oberfläche des Moleküls sowie hydrophobe oder hydrophile Bereiche angeben, welche uns helfen, den Mechanismus zu verstehen, und so die Basis für die Entwicklung von neuen Medikamenten bilden.

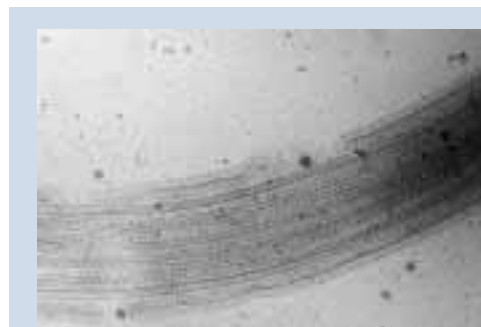
Mehr Interesse an der Struktur der Moleküle innerhalb der Zelle

Bei der Kristallographie und der NMR werden makromolekulare Maschinen gereinigt und entweder als Kristall oder in dichter Lösung untersucht. Nachdem die Struktur vieler Makromoleküle mit diesen Methoden aufgeklärt wurde, verlagerte sich unser

Interesse zu neuen Fragestellungen: Wie verhalten sich Moleküle in Zellen? Während biologischen Reaktionen treten sie in Wechselwirkung miteinander und bilden zuweilen komplizierte, dynamische und oft unbeständige Komplexe. Deshalb ist es schwierig, diese Strukturen mit den bisherigen Methoden *in vitro*, in nicht natürlicher Umgebung zu erfassen. Andererseits ermöglichte uns der Fortschritt der Lichtmikroskopie und der Nanotechnologie in letzter Zeit, Bewegungen und Reaktionen von makromolekularen Maschinen zu detektieren, und zwar sowohl *in vitro* als auch *in vivo*, d. h. in der Zelle in natürlicher Umgebung. Jetzt kann man beispielsweise eine einzelne Reaktion von ATP-Hydrolyse (allgemeine Energiequelle in biologischen Prozessen) beobachten und individuelle Moleküle manipulieren und deren Kraft messen. Dennoch verhindert das Auflösungslimit der Lichtmikroskopie, detaillierte Strukturen zu erkennen. Man braucht deshalb ein Verfahren, welches beide Ansprüche – ähnliche Umgebung wie in der Zelle und Hocharauflösung – erfüllt.

Beobachtung von makromolekularen Maschinen in verschiedenen Umgebungen: Kryo-Elektronenmikroskopie

Viele Faktoren kontrollieren biologische Reaktionen: pH, Salzkonzentration, Phosphate usw. Deshalb brauchen wir eine Technik, die für die Strukturanalyse von makromoleku-



KRYO-ELEKTRONENMIKROGRAPH VON EINER FLAGELLE

laren Maschinen in verschiedenen Lösungen verwendbar ist. In dieser Hinsicht ist die Kristallographie beschränkt. Im Gegensatz zur Röntgen-Kristallographie und zu NMR erzeugt das Elektronenmikroskop direkt Bilder und ist deshalb allgemein anwendbar.

Für die Transmissionselektronenmikroskopie müssen die Proben durchstrahlbar und vakuumtauglich sein. In der traditionellen Elektronenmikroskopie werden isolierte Makromoleküle mit Schwermetall kontrastiert und nach Lufttrocknung im Mikroskop abgebildet. Erst mit der Entwicklung der Kryo-Elektronenmikroskopie in den 80er-Jahren wurde es möglich, Makromoleküle ungefärbt und in physiologischer Umgebung abzubilden.

Bei dieser Methode wird eine Lösung von Makromolekülen in flüssigem Ethan



Abb. 1: BILD EINES HEUTIGEN ELEKTRONEN-MIKROSKOPES und eine schematische Darstellung, die zeigt, wie biologische Makromoleküle (orange) im amorphen Eis (weiss) abgebildet werden. Das Eis ist trägerfrei innerhalb eines Loches eines Kohleträgerfilmes (grau).

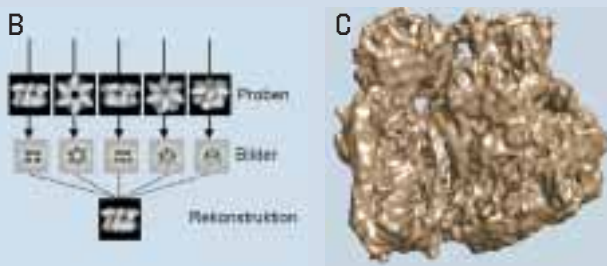
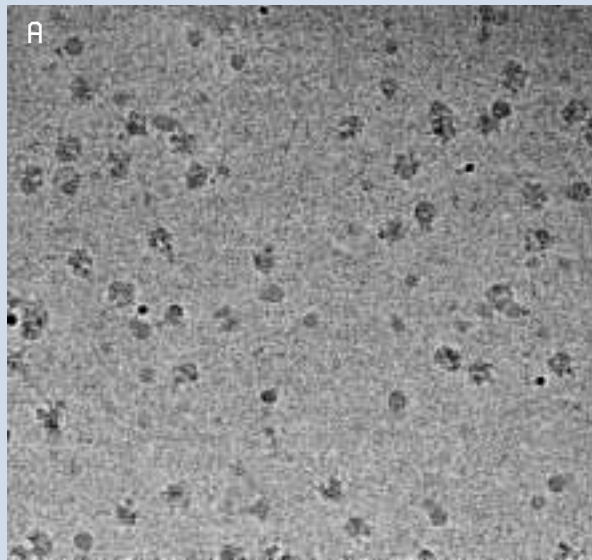


Abb. 2: EINZELPARTIKELANALYSE AM BEISPIEL VOM RIBOSOM. Tausende von Partikeln werden unkontrastiert abgebildet (A), in identische Projektionen aufgeteilt, gemittelt, und aus den verschiedenen Projektionen die 3D-Struktur berechnet (B). Abb. 2C zeigt das Modell eines Ribosoms. Mit freundlicher Genehmigung von Dr. Berger-Schaffitzel und Prof. Ban, Institut für Molekularbiologie und Biophysik, ETH Zürich.

schnell eingefroren und bei einer Temperatur unterhalb $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ abgebildet (Abb. 1). Weil die Probe schnell eingefroren wird, ist das die Proteine oder Nukleinsäuren umgebende Wasser amorph gefroren. Mit anderen Worten, es findet keine Strukturzerstörung durch Eiskristallbildung statt (Schema in Abb. 1).

Strukturauflösung von gigantischen Makromolekülen: Einzelpartikelanalyse

Doch wie kann man die dreidimensionale Struktur aus 2D-Kryo-Elektronenmikroskopie-Daten rekonstruieren? Das Ribosom ist ein typisches erfolgreiches Beispiel. Im Ribosom findet die Translation von Nukleinsäuren (mRNA) in Proteine auf der Grundlage des genetischen Codes statt. Weil das Ribosom eine extrem grosse makromolekulare Maschine ist (Molekulargewicht $\sim 2,5$ MDa) und aus verschiedenen Proteinen und Nukleinsäuren besteht, war die Bestimmung der Struktur mit der Röntgen-Strukturanalyse bislang unmöglich. Je grösser die Probe ist, desto schwieriger wird auch die Kristallisierung. Atomare Auflösung gelang bisher nur an Untereinheiten vom Ribosom. Die Methode, die hier weiterhelfen kann, ist die Einzelpartikelanalyse. Zuerst werden viele Bilder von Ribosomen in amorphem Eis auf Mikrographien aufgenommen (Abb. 2A). Anschlies-

send werden möglichst viele Einzelpartikel im Computer ausgeschnitten, nach identischen Projektionen klassiert und anschliessend gemittelt (Verbessern des Signal-zu-Rausch-Verhältnisses) (Abb. 2B). Aus den verschiedenen Projektionen kann schlussendlich die 3D-Struktur errechnet werden (Abb. 2C). Da man gleichzeitig die Orientierung und die Struktur des Objektes bestimmen muss und die Bilder allgemein verrauscht sind, ist die Einzelpartikelanalyse kompliziert und braucht aufwendige iterative Berechnungen. Man beginnt oft mit einem anfänglichen Modell, das weit von der wirklichen Struktur entfernt sein kann. Die rasanten Fortschritte von Hard- und Software (Rekonstruktions-Algorithmen) machen derartige Strukturaufklärungen innerhalb von Tagen möglich. In die 3D-Struktur des ganzen Ribosom-Komplexes können die mittels Röntgen-Kristallographie atomar aufgelösten Untereinheiten eingesetzt werden. Durch die Kombination von Elektronenmikroskopie und Kristallographie gelingt es somit, atomare Modelle ganzer Ribosomen zu bauen.

Strukturaufklärung bei Makromolekülen innerhalb der Zelle: Elektronentomographie

Nun bemühen sich Mikroskopisten weiter um die Strukturanalyse von Makromolekülen in natürlicher Umgebung, d. h. in

der Zelle. Die Räume in der Zelle sind ausserordentlich kompliziert und mit verschiedenen Makromolekülen angefüllt. Dabei ist die sicher vorhandene Ordnung kaum ersichtlich. Es ist notwendig, nicht nur den Charakter und die Struktur der verschiedenen makromolekularen Maschinen, sondern auch deren Positionen, Wechselwirkungen und Verbindungen aufzuklären. Derartige Fragestellungen können mit der Einzelpartikelanalyse nicht angegangen werden. Wir benötigen eine Methode, mit der biologische Objekte in ihrer ganzen Komplexität untersucht werden können. Dazu eignet sich die in den 90er-Jahren entwickelte Elektronentomographie. Mit der Elektronentomographie können einzelne makromolekulare Maschinen oder ganze Zellen dreidimensional rekonstruiert werden. Die dazu nötigen verschiedenen Projektionen werden durch schrittweises Kippen des Objektes ($\pm 70^{\circ}$) gewonnen (Abb. 3A).

Als Beispiel für eine elektronentomographische Rekonstruktion zeige ich die 3D-Struktur der Flagellen einer Grünalge (Chlamydomonas). Die Flagellen sind das Fortbewegungsorganell der Grünalge. Grundlage der Bewegung sind Biegebewegungen, die von ATP-Hydrolyse begleitet sind. In der Flagelle sind 9 Doppelmikrotubuli und 2 Zentraltubuli ähnlich wie eine Radspeiche angeordnet (Abb. 3B). Eine makromolekulare Maschine, Dynein genannt,

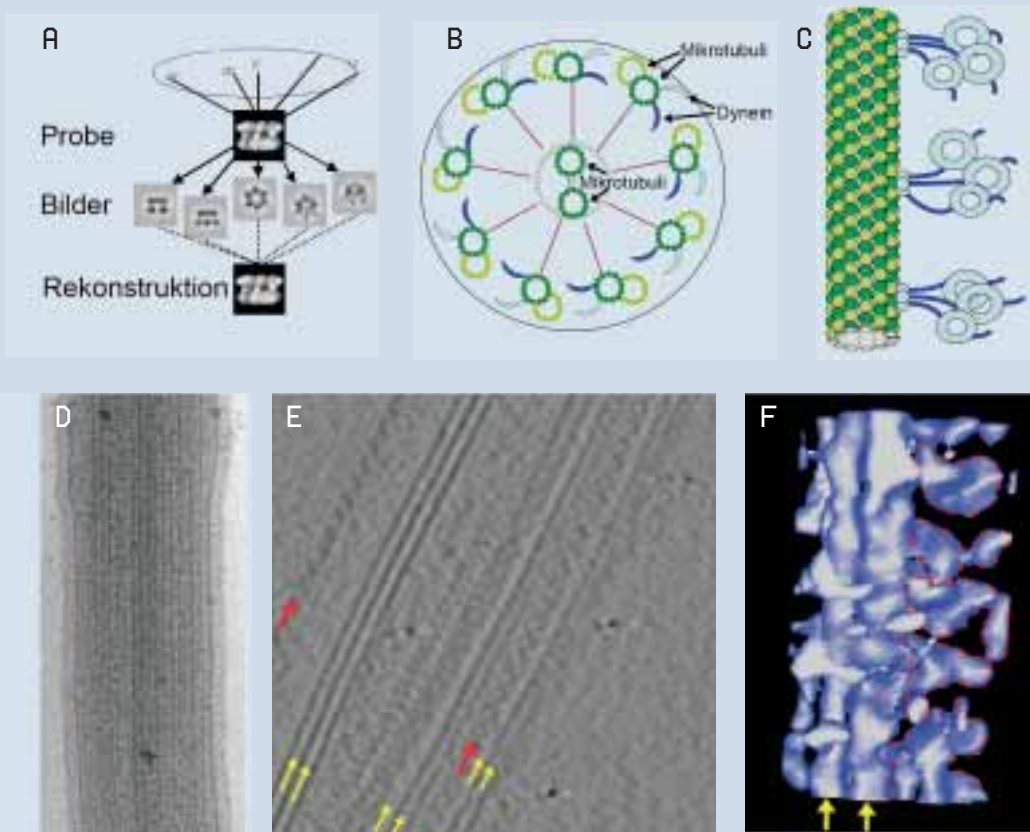


Abb. 3: ELEKTRONENTOMOGRAPHISCHE REKONSTRUKTION der Flagellen der Grünalge *Chlamydomonas*. (A) Schematische Darstellung der Elektronentomographie. (B) Querschnitt durch eine Flagelle. (C) Interaktion Dynein-Mikrotubuli. (D) Kryo-Elektronenmikrographie einer Flagelle. In Projektion sind die einzelnen Mikrotubuli nicht voneinander unterscheidbar, und das Dynein ist unsichtbar. (E) Längsschnitt durch das Kryo-Elektronentomogramm. Die gut sichtbaren Mikrotubuli sind mit gelben und Dyneinmoleküle mit roten Pfeilen markiert. (F) Das 3D-Modell zeigt die Verbindung zwischen Dynein und Mikrotubuli.

ist dabei in Wechselwirkung mit den Doppelmikrotubuli (Abb. 3C). Dynein ist ein Linearmotor. Mit ATP-Hydrolyse begleitet, läuft Dynein geradlinig dem Mikrotubuli entlang. Unbekannt ist, wie die eindimensionale Bewegung in Biegebewegung umgesetzt wird. Man kann das Problem nicht mittels Strukturaufklärung von Dynein alleine lösen. Es werden Strukturdaten vom Dynein-Mikrotubuli-Komplex benötigt. Auf dem Kryo-TEM-Bild (Abb. 3D) kann man Mikrotubuli entlang der Flagellenachse erkennen. Im Projektionsbild kann man nicht zwischen Doppelmikrotubuli und Zentraltubuli unterscheiden. Dynein ist unsichtbar. Klarheit schafft die tomographische 3D-Rekonstruktion. Dazu wurde die Probe im Strahl schrittweise gekippt und aus den verschiedenen Projektionen im Computer die 3D-Struktur errechnet. In einem Längsschnitt durch die 3D-Struktur (Abb. 3E) sind Mikrotubuli (gelbe Pfeile) und Dynein (rote Pfeile) deutlich sichtbar. In der 3D-Darstellung sieht man, wie die Dyneinmoleküle mit den Mikrotubuli verbunden sind (Abb. 3F).

Nicht konkurrieren, sondern zusammenarbeiten

Die Auflösung in der biologischen Elektronenmikroskopie ist durch die Strahlenempfindlichkeit (Strahlenschaden) und den geringen Eigenkontrast limitiert. Die beste bisher mit der Einzelpartikelanalyse von

nicht symmetrischen Partikeln erreichte Auflösung ist 7 Å. Damit können Sekundärstrukturen (Alpha-Helix und Beta-Faltblatt), aber noch keine einzelnen Aminosäuren aufgelöst werden. Mit Elektronentomographie kann man gegenwärtig eine Auflösung von etwa 50 Å erreichen. Wir brauchen weitere Fortschritte wie beispielsweise die Reduktion des Strahlenschadens, empfindlichere Bildaufzeichnungssysteme und bessere Rekonstruktions-Algorithmen. Gleichzeitig ist es wichtig, die mittels Kristallographie oder NMR gewonnenen atomaren Modelle mit den EM-Daten zu kombinieren, um unsere Kenntnisse in Richtung atomare Auflösung auszuweiten. Wie am Beispiel vom Ribosom gezeigt, gibt es viele grosse makromolekulare Maschinen, deren Gesamtstruktur noch unbekannt ist, aber von welchen verschiedene Untereinheiten schon atomar aufgelöst wurden.

Mit der Einzelpartikelanalyse und der Elektronentomographie kann man biologische Makromoleküle (makromolekulare Maschinen) in naturnaher Umgebung oder in Zellen beobachten. Es sind dies die Techniken, die Molekular- und Zellbiologie miteinander verbinden und die es ermöglichen, die Funktion von Makromolekülen in Zellen auf atomarer Ebene zu untersuchen.

Takashi Ishikawa
Departement Biologie der ETH Zürich

Forschungsinformationen

Unsere Arbeitsgruppe befasst sich mit der Strukturanalyse von ATPasen und Motorproteinen in Zellen. Von speziellem Interesse ist die Interaktion von Dynein mit Flagellen und die FoF1-ATP-Synthase in Chloroplasten. Ausserdem gibt es Zusammenarbeiten mit den Gruppen von Prof. Nenad Ban (Ribosom) und Prof. Tim Richmond (Chromatin). Beide Gruppen gehören zum Institut für Molekularbiologie und Biophysik.

Kontakt: Dr. Takashi Ishikawa
Tel. +41 (0)44 633 24 62
takashi.ishikawa@mol.biol.ethz.ch

Weitere Informationen:
www.mol.biol.ethz.ch/groups/ishikawa_group

MIT SYNCHROTRONLICHT DIE NANOWELT ERKUNDEN

RAFAEL ABELA, MARCO STAMPANONI, RALPH MÜLLER UND JOHANNES FRISO VAN DER VEEN

Eine der ersten Anwendungen der von Konrad Röntgen entdeckten X-Strahlen war die Durchleuchtung der Hand seiner Frau – ein Bild, das grosse Berühmtheit erlangen sollte. Damit war das Tor zur Entwicklung einer unerlässlichen Methode zur Bildgebung offen: Dies nicht nur in der Medizin, sondern auch in den Materialwissenschaften und der zerstörungsfreien Prüftechnik. Und heute? An der SLS kann man sogar eine Reise in die Nano-Welt unternehmen und somit grundlegende Fragen aus der Knochen-, Lungen- und Gehirnforschung beantworten.

Die Wechselwirkung von elektromagnetischer Strahlung – sei es sichtbares Licht, weiche oder harte Röntgenstrahlung – und Materie erlaubt uns die Anwendung verschiedener experimenteller Verfahren zur bildlichen Darstellung der Struktur einer Probe im zwei- oder dreidimensionalen Raum. Die direkteste Methode beruht wie bei Röntgens bahnbrechenden Experimenten auf der Absorption der elektromagnetischen Strahlung durch Materie. Aus den so gewonnenen zweidimensionalen Bildern können heutzutage mit Hilfe von aufwendigen Algorithmen dreidimensionale Darstellungen des inneren Aufbaus von biologischen Proben erzeugt werden (Tomographie). Eine Erweiterung dieser Methode beruht auf der Tatsache, dass die durch ein Objekt hindurchgehende kohärente Strahlung, im Vergleich zur ungestörten Strahlung, eine Phasenverschiebung erfährt. Durch die Überlagerung beider Wellen werden «Phasenkontrastbilder» erzeugt, die uns erlauben, auch schwach absorbierende biologische Gewebe und Materialien detailliert abzubilden.

Eine zweite, indirekte Methode beruht auf der Beugung des Lichtes an einzelnen hochgeordneten Strukturen. Die dadurch gewonnenen Beugungsmuster müssen mit Hilfe von geeigneten Fourier-Transformationen vom «reziproken» Raum in den «reellen» Raum überführt werden.

Das hervorragende Synchrotronlicht

Die hervorragenden Eigenschaften des Synchrotronlichtes ermöglichen die Entwicklung verschiedener Methoden zur Bildgebung mit einer hohen räumlichen Auflösung, die den Bereich von einigen Mikrometern bis zu einigen Nanometern ab-

deckt. Diese Methoden sind komplementär zu anderen bekannten Techniken wie der Lichtmikroskopie, der Elektronenmikroskopie oder der magnetischen Resonanzspektroskopie (siehe auch Ishikawa, S. 57).

Im Rahmen einer Kollaboration zwischen dem PSI, der EMPA und der ETH Zürich wurde in den letzten Jahren an der Synchrotron-Lichtquelle Schweiz (SLS) eine Mikrotomographieanlage mit höchster Auflösung aufgebaut. In den folgenden Abschnitten werden ausgewählte Forschungsbeiträge vorgestellt. Weiterhin sind Wissenschaftler an der SLS dabei, andere bildgebende Methoden zur Reife zu bringen, welche im zweiten Teil dieses Beitrags kurz vorgestellt werden.

Tomographie mit höchster Auflösung

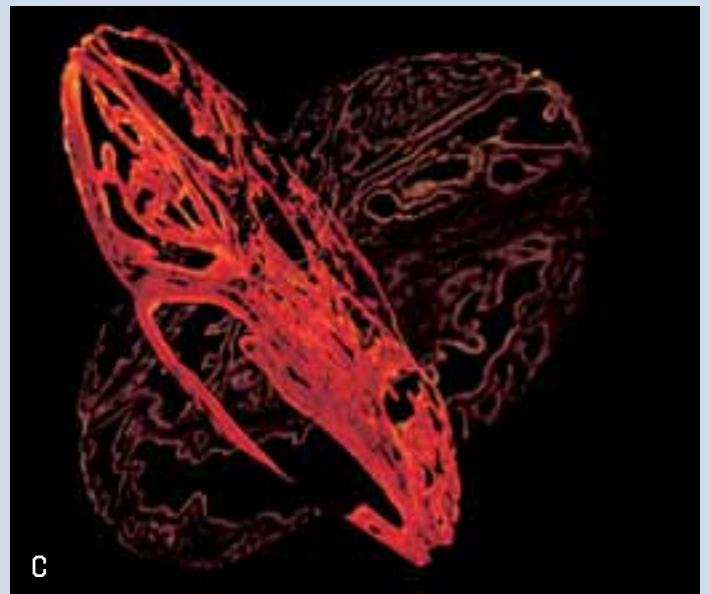
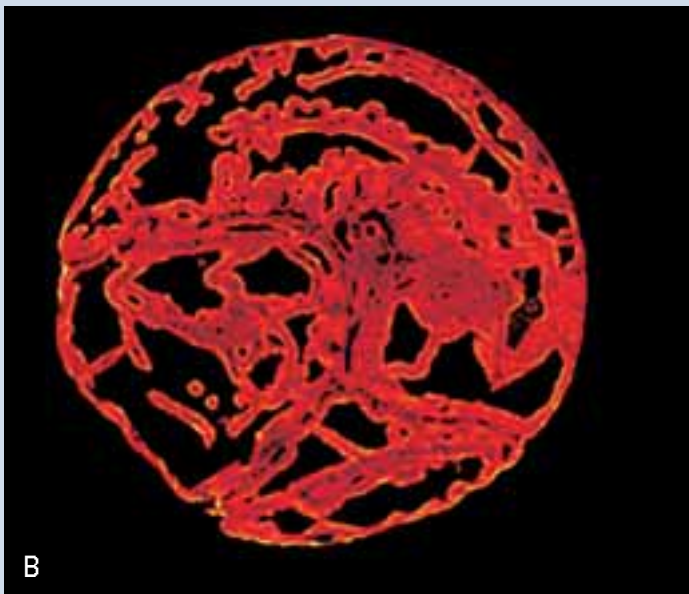
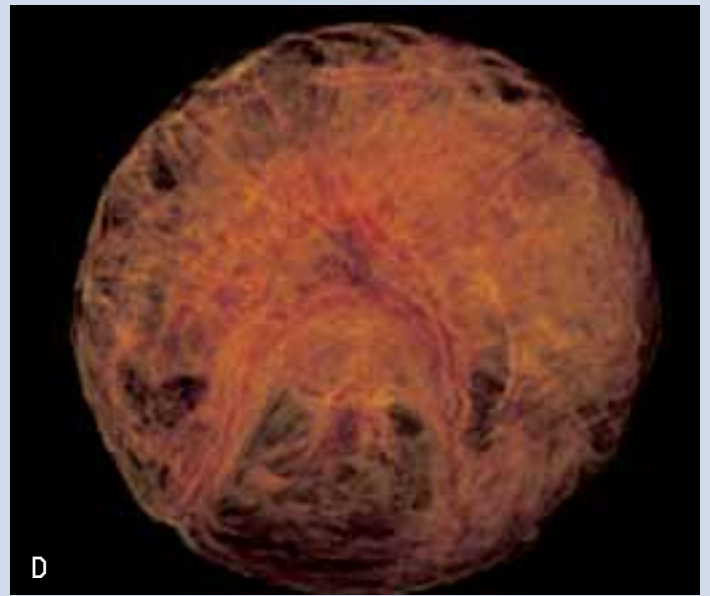
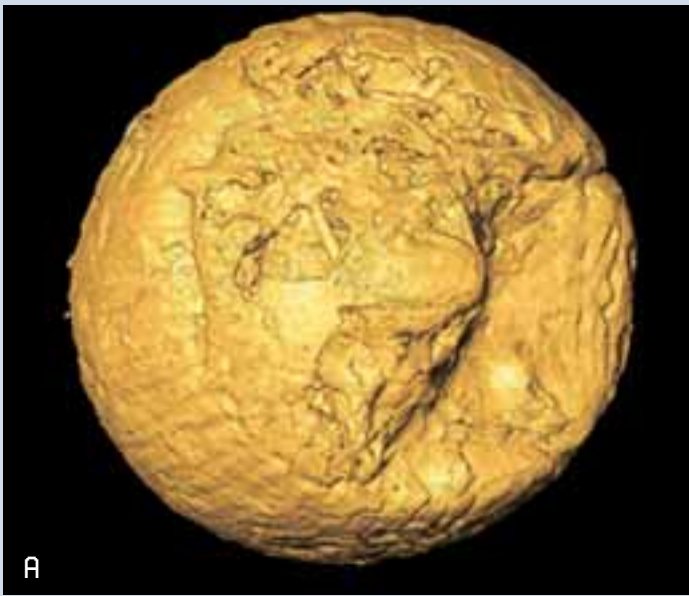
Synchrotronstrahlung (SR) zeichnet sich durch eine grosse Intensität, hohe Leuchtdichte (Brillanz) und ein gewisses Ausmass an Kohärenz aus. Angewandt in der Tomographie, ermöglicht die Synchrotronstrahlung eine räumliche Auflösung, die über eine Milliarde Mal besser ist als diejenige von konventionellen klinischen Geräten, und das alles bei bis zu tausendfach geringeren Belichtungszeiten als mit Strahlung von klassischen Röntgenröhren. Neben dem altbewährten Bildkontrast durch Röntgenabsorption erlaubt es die partielle Kohärenz der Synchrotronstrahlung, die phasenverschiebende Wirkung von Substanzen für die Erzeugung von Röntgenphasenkontrast zu nutzen. Das ist insbesondere zur Untersuchung medizinischer oder biologischer Proben wertvoll, da sie wegen ihrer Zusammensetzung aus überwiegend leichten Elementen im Absorptionssbild einen schwachen, aber im Phasen-

bild einen deutlichen Kontrast zeigen. Mit Hilfe von leistungsfähigen zweidimensionalen Detektoren und von computergestützten, ausgeklügelten Algorithmen erlaubt uns die synchrotronbasierte Mikrotomographie, volumetrische Informationen mit bisher unerreichter Genauigkeit zu gewinnen. Damit können, unter anderem, grundlegende Fragen in der Knochen-, Lungen- und Gehirnforschung beantwortet werden.

Wie und wann entstehen die Lungenbläschen?¹

Vor der Geburt entsteht der Bronchialbaum der Lunge durch fortlaufende Verzweigungen der zukünftigen Luftwege. Beim Menschen werden kurz vor und nach der Geburt die Lufträume, die an den Enden der Luftwege liegen, durch zusätzliche Wände (Alveolarsepten) unterteilt. Erst jetzt entstehen die Lungenbläschen (Alveolen) und damit der grösste Teil der Gasaustauschoberfläche. Nach der Bildung der Alveolen reifen die Alveolarsepten aus.

Nach diesem Ausreifen werden – wegen des bestehenden Paradigmas – keine neuen Alveolarsepten gebildet. Mit Hilfe von hochaufgelösten tomographischen Untersuchungen von Lungenbläschen und deren Kapillarnetzen konnten wir zeigen, dass zumindest in der Maus eine zweite, späte Phase der Lungenbläschenbildung existiert. Diese späte Alveolarisation wurde bis jetzt übersehen, da in 2D-Lungenschnitten die Lungenbläschen nicht eindeutig identifiziert werden können. Die späte Alveolarisation ist für die Heilung von degenerativen Lungenerkrankungen potenziell von grosser Bedeutung: Wenn ihre Reaktivierung gelingen sollte, dann könnten

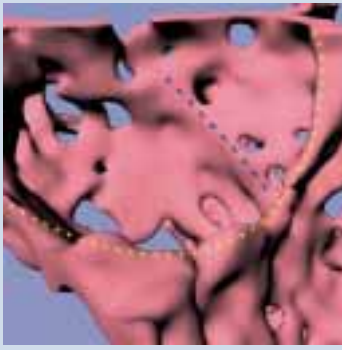


EMBRYO:

Mit Hilfe von Synchrotronlicht-Tomographie auf den Spuren des Urlebens: Dreidimensionale Darstellung eines 500 Mikrometer grossen Embryos aus der präkambrischen Epoche. Die Oberfläche sowie die projizierte Dichte sind in A) bzw. B) abgebildet. Bei C) und D) werden wichtige Informationen über die interne Struktur visualisiert. Mit freundlicher Genehmigung von P. Donoghue, University of Bristol UK.



Blick in die SLS-Halle



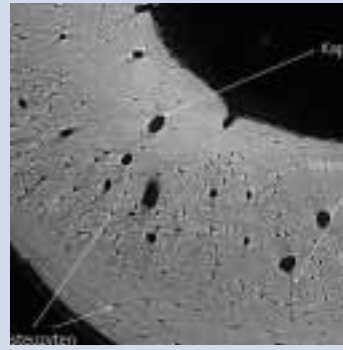
KAPILLARNETZ EINES LUNGENBLÄSCHENS
(Eingangsring mit einer gelben, gepunkteten Linie markiert) einer Maus: die Ausreifung der Alveolarsepten ist bereits abgeschlossen, und trotzdem können sich neue Septen aufrichten (blaue, gestrichelte Linie).

Bildnachweis: Johannes Schnitzny, Uni. Bern



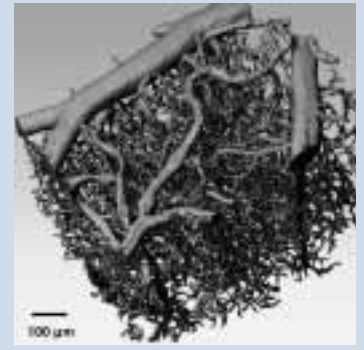
DREIDIMENSIONALE VISUALISIERUNG VON OSTEOZYTEN (Knochenzellen; gelb) und der Mikrovaskularisierung (Kapillaren, rot) des kortikalen Knochens im Oberschenkel der Maus.

Bildnachweis: Philipp Schneider, ETH Zürich



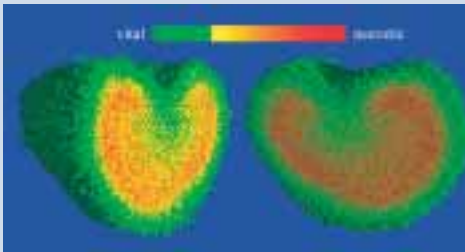
NANOTOMOGRAPHISCHE AUFNAHME eines kortikalen Mauseknochens.

Bildnachweis: Romain Voide, ETH Zürich



DREIDIMENSIONALE DARSTELLUNG eines ausgewählten Bereiches aus dem Hippocampus eines APP 23 tg-Mausgehirnes.

Bildnachweis: Stephan Heinzer, UNI/ETH Zürich



DER HISTOID (ZELLCLUSTER) aus mehreren 10000 HEK-293-(Human Embryonic Kidney)-Zellen hat einen Durchmesser von etwa 500 Mikrometern. Die spezielle Markierung der DNA/RNA ermöglicht die funktionelle Bildgebung im Absorptionskontrast. Man kann zwischen dem nekrotischen Kern (gelb bis rot) und der vitalen Schale (grün) unterscheiden.

B. Müller (ETH Zürich), P. Thurner (EMPA/ETH Zürich) und M. Riedel (ProBioGen AG Berlin).

krankheitsbedingte Verluste der Gasaustauschoberfläche regeneriert werden. Dieser Beitrag zum grundlegenden Verständnis der Lungenentwicklung wird langfristig zu einer verbesserten Therapie der verschiedensten Lungenerkrankungen führen.

Osteoporose – eine schleichende Krankheit²

Mit der rasanten Entwicklung in der Genomik und der molekularen Medizin ergibt sich ein grosser Bedarf für Verfahren der quantitativen Biologie. Eine Reihe von neuen Verfahren der mikrostrukturellen Bildgebung wurde in den letzten Jahren eingeführt. Diese Verfahren erlauben eine präzise phänotypische Charakterisierung von verschiedenen biologischen Modellsystemen, die sich genotypisch, also in ihrem Erbgut, unterscheiden. Synchrotronbasierte Tomographie-Verfahren ermöglichen heute die hierarchische Bildgebung und quantitative Analyse von biologischen Strukturen von verschiedenen normalen und pathologischen Zuständen des Gewebes; vom Organ bis hin zur einzelnen Zelle. Am Institut für Biomedizinische Technik der ETH und der Universität Zürich werden

diese Verfahren vor allem zur Erforschung des alters- und krankheitsbedingten Knochenverlusts, der Osteoporose, eingesetzt. Diese weltweite Krankheit, welche am häufigsten bei Frauen nach der Menopause und im hohen Alter auftritt, ist definiert als eine systemische Erkrankung des menschlichen Skeletts. Die Konsequenz aus diesen krankhaften Änderungen ist eine reduzierte Knochenstärke und ein damit einhergehendes erhöhtes Frakturrisiko. Mit Hilfe der Tomographiestation an der SLS kann nun der Einfluss kleinster Knochenstrukturen auf das Bruchverhalten des Knochens untersucht werden. Dabei können einzelne Zellen und Blutgefässe, welche tief in der Knochenmatrize sitzen, aber sehr wichtig für die mechanische Stabilität des Knochens sind, im Nanobereich gemessen und nichtdestruktiv quantifiziert werden. In einer aktuellen Studie konnte so zum ersten Mal gezeigt werden, dass Knochenarchitektur und Knochenstärke im Allgemeinen durch Gene auf verschiedenen Chromosomen beeinflusst werden und dass in verschiedenen Knochen des Skelettes verschiedene Genkombinationen zum Tragen kommen. Dies hat auch wichtige Implikationen für die Beurteilung des Frakturrisi-

kos beim Menschen, da rund 70% des Risikos für eine Osteoporose genetisch bedingt sind (siehe auch Boomsma et al., S. 39).

Gehirnforschung – warum entsteht Alzheimer?³

Als Alois Alzheimer die später von Emil Kräpplin nach ihm benannte Krankheit anhand der Patientin Auguste D. beschrieb, sind ihm bei der Autopsie vor allem die eigenartigen anatomischen Veränderungen im Hirn der Patientin aufgefallen (siehe auch Rudin et al., S. 23). Er hatte spekuliert, dass diese mit der klinisch aufgetretenen Demenz bei Auguste D. zusammenhängen müssen.

Trotz weltweit riesiger Aufwendungen, um die Alzheimer'sche Krankheit und verwandte Demenzen zu erforschen, ist man noch nicht zu einem grossen Durchbruch gekommen. Mit Hilfe modernster Technologien wurden minimale Veränderungen in der DNA gefunden, die fast hundertprozentig bei Menschen zur Krankheit führen. Basierend auf diesen Erkenntnissen hat Novartis mehrere Tiermodelle hergestellt, die als «tools» helfen, diese immer weiter verbreitete Krankheit zu erforschen und da-

durch neue Behandlungsansätze und Medikamente zu finden. Ein internationales Team, angeleitet durch Thomas Krucker (The Scripps Research Institute, La Jolla, und Novartis Biomedical Research Institute in Cambridge bei Boston) und in Zusammenarbeit mit Eric Meyer, Ralph Müller, Stefan Heinzer (Uni und ETH Zürich), Marco Stampanoni und Rafael Abela (PSI), verfolgt einen neuen Ansatz, der sich auf die Blutversorgung im Hirn konzentriert. Krucker vermutet, dass die für die Alzheimer'sche Krankheit typische Demenz schon vor der Entstehung von offensichtlichen Läsionen im Hirngewebe beginnt und auf lokale Durchblutungsstörungen zurückzuführen ist, welche vor allem bei den kleinsten Blutgefässen, den Kapillaren, zuerst auftreten. Diese lösen dann eine Kaskade aus, und es bilden sich grössere Infarkte im Kortex und Hippocampus. Beide Strukturen des Hirns sind für Prozesse verantwortlich, die dem Lernen und dem Gedächtnis zugrunde liegen. Die neu entwickelte Technologie kann Kapillaren in einem Maushirn abbilden. Mit Hilfe von verschiedenen Bildgebungsverfahren, wie zum Beispiel der Elektronenmikroskopie und der Mikrotomographie, wie sie nur an der SLS vorhanden ist, werden diese Veränderungen des vaskulären Systems aufgesucht, dreidimensional abgebildet und quantifiziert. Die bis jetzt vorhandenen Resultate zeigen, dass die Veränderungen mit ansteigendem Alter und Fortschritt der Krankheit in diesen genetisch manipulierten Tieren tatsächlich stattfinden (siehe auch Rudin et al., S. 23).

Neue Horizonte in der Mikroskopie

Die Abbildung der Strukturen von Zellkomponenten und deren topologischen Wechselwirkung sowie der dynamischen Vorgänge ist ein zentrales Forschungsziel in der modernen Zellbiologie. Neue experimentelle Techniken werden entwickelt und verfeinert, um biologische Proben in einer physiologischen Umgebung «in toto» zu untersuchen. Dabei spielen sowohl die konfokale Mikroskopie mit der Beschränkung der örtlichen Auflösung (ca. 200 nm) als auch die Elektronenmikroskopie, mit der Beschränkung des notwendigen Aufbaus der Probe in eine Ultrahochvakuum-Umgebung, eine entscheidende Rolle.

Es wird an verschiedenen Synchrotronstrahlungsquellen an einer Technik gearbeitet, die in der Lage sein soll, dreidimensionale Bilder von Zellkomplexen und zellulären Subeinheiten zu liefern mit einer Auflösung, welche nahe an jene der Elektronenmikroskopie kommt. Eine sehr at-

traktive Möglichkeit, die die Beschränkungen der konfokalen Lichtmikroskopie und der Elektronenmikroskopie überwindet, besteht in der Entwicklung von mikroskopischen Methoden im weichen Röntgenbereich, d. h. im so genannten «Wasserfenster», das von den Röntgenabsorptionskanten von Kohlenstoff (283 eV) und Sauerstoff (543 eV) begrenzt wird. Dabei wird der natürliche Absorptionskontrast von biologischen Materialien in einer wässrigen Umgebung ausgenutzt. Unter Nutzung der hohen Photonendichte der durchstimmbaren Synchrotronstrahlung werden verschiedenartige experimentelle Aufbauten entwickelt: Scanning Transmission Microscopy, Full-Field Transmission Microscopy und Fluorescence Microscopy.

An der SLS wird geplant, die «Full Field»-Version aufzubauen, um zelluläre Einheiten mit einer räumlichen Auflösung von 25 nm unter cryogenischen Bedingungen zu untersuchen. Die Auflösung wird erreicht mit Hilfe einer Objektivlinse hinter dem abzubildenden Objekt, die für Röntgenstrahlung ganz anders aussieht als die in der Optik altbekannte Glaslinse. Sie besteht aus einer Anordnung von immer kleiner werdenden konzentrischen Ringen aus Metall («Zonen»), die mit hoher Genauigkeit auf einem Siliziumnitridsubstrat angebracht sind. Die räumliche Auflösung, die man mit Röntgenbeugung an diesen Zonenplatten erreichen kann, wird wesentlich durch die Breite der äussersten Zone gegeben. Röntgenlinsen dieser Art werden im Labor für Mikro- und Nanotechnologie am PSI hergestellt, und es wird versucht, unter Nutzung von neuartigen Herstellungstechniken die Auflösung zu verbessern.

Ideal wäre es, Mikroskopie ganz ohne Linse zu betreiben. Dies ist unter Nutzung von kohärenter Röntgenbeugung machbar. Wegen des bekannten Phasenproblems ist es im Allgemeinen nicht möglich, die Struktur eines Objektes direkt aus einem Beugungsmuster zu bestimmen. Wenn allerdings ein kohärenter Strahl an ein nichtperiodisches Objekt einer bekannten Grösse gebeugt wird, kann man das Phasenproblem lösen und somit die Struktur direkt bestimmen. Die Auflösungsmitte wird wesentlich vom Strahlungsschaden bestimmt, aber ein Wert unter 15 nm sollte für biologische Materialien wohl erreichbar sein. Diese Methode für linsenlose Abbildung wird künftig an der SLS verfügbar sein.

Anlagen, die Synchrotronlicht erzeugen, sind nicht nur hervorragende Röntgenquellen, sie erzeugen auch Infrarotstrahlung bei

einer hohen Brillanz. Die Fourier-transformierte Spektromikroskopie im infraroten Bereich (FTIRSM) hat durch die Möglichkeit der zerstörungsfreien und simultanen Bestimmung der Morphologie und der chemischen Zusammensetzung von Zellen und Geweben grossen Anklang im biomedizinischen Bereich gefunden. Was dabei speziell interessiert: unter hoher Ortsauflösung verfolgen zu können, wie in lebenden Zellen die unterschiedlichen chemischen Moleküle in Wechselwirkung stehen und wie diese sich als Reaktion auf äussere Einflüsse verändern. Daher muss die Lebensfähigkeit der Zellen während der Messung gewährleistet sein. Von Vorteil ist dabei zudem, dass die Methode sehr schonend ist und auf der Beobachtung von charakteristischen, wohldefinierten Schwingungsmodi beruht. Daher kann auf die Verwendung von exogenen Farbstoffen oder fluoreszierenden Kontrastmitteln verzichtet werden. Wird als Infrarotlichtquelle Synchrotronlicht verwendet, steht zudem eine beugungsbegrenzte Lichtquelle mit sehr hoher Brillanz zur Verfügung. Dies resultiert in einer verbesserten (beugungsbegrenzten) Ortsauflösung und einem verbesserten Signal-Untergrund-Verhältnis. Somit können auch sehr kleine und/oder heterogene Proben untersucht werden.

Rafael Abela¹, Marco Stampanoni¹, Ralph Müller², Johannes Friso van der Veen¹

¹ Paul Scherrer Institut, 5232 Villigen, und D-phys, ETH Zürich

² IBT, ETHZ und UNIZH

¹Kontaktperson: J. Schittny, schittny@ana.unibe.ch)

² Kontaktperson: R. Müller, ralph.mueller@biomed.ee.ethz.ch

³ Kontaktperson: T. Krucker, thomas.krucker@novartis.com

VON DER ATOMAREN EBENE BIS ZUM GANZEN KÖRPER

KLAAS P. PRÜSSMANN, PETER BÖSIGER, MARKUS RUDIN, BEAT H. MEIER, CHRISTIAN DEGEN,
QIONG LIN, ANDREAS HUNKELER UND URBAN MEIER

Die NMR ist besonders prädestiniert für die Bildgebung biologischer Gebilde und lebender Organismen bis hin zum Menschen. Die aus der klassischen NMR-Spektroskopie abgeleitete Magnetresonanzbildgebung (Magnetic Resonance Imaging, MRI) ist heute eine Standardmethode für die Untersuchung der Struktur von Geweben und Organen in der Medizin. Diese Methode hat aber ein noch grösseres Potenzial: Durch gezielte Manipulationen des Resonanzeffekts kann eine Vielzahl weiterer Eigenschaften von Gewebe untersucht werden.

Die magnetische Resonanz der Atomkerne (Nuclear Magnetic Resonance, NMR) ist ein äusserst vielseitiger Mechanismus für die Abbildung chemischer, physikalischer und biologischer Systeme (in diesem Zusammenhang sind auch folgende Texte in diesem Heft zu beachten, die sich mit NMR in der Grundlagen- und in der medizinischen Forschung befassen: Brandner – S. 14; Rudin und Schubiger – S. 36; Boomsma et al., S. 39, sowie Ishikawa – S. 57). Von zentraler Bedeutung sind dabei zwei Charakteristika des zugrunde liegenden Effekts. Zum einen ist der Kernmagnetismus äusserst empfindlich für die physikalische und chemische Umgebung eines Kerns und dadurch ein Vermittler unterschiedlichster Informationen. Zum anderen sind der Kernmagnetismus und auch die übrigen magnetischen Wechselwirkungen in vielen Untersuchungsobjekten sehr schwach. Die magnetische Resonanz der Kerne kann daher sehr spezifisch ausgelöst und manipuliert werden, ohne das Objekt zu verändern oder zu beschädigen. Aus dem gleichen Grund gelangen Bildinformationen auch aus dreidimensionalen Gebilden häufig nahezu ungestört an die Oberfläche.

Abbildung von Organfunktionen: Herausforderung für die MRI-Technologie

Das Hauptaugenmerk der Arbeitsgruppe für MRI am Institut für Biomedizinische Technik gilt dabei den Funktionen der Körpergewebe. Deren Abbildung birgt erhebliche

Herausforderungen für die MRI-Technologie. Zum einen liegt die Leistung der verfügbaren Signale nur im Bereich einiger Nanowatt und funktionelle Information wird nur aus kleinen Veränderungen dieser an sich schon schwachen Signale gewonnen. Die Resonanzen müssen daher sorgfältig erzeugt und mit grösstmöglicher Sensitivität detektiert werden. Zum anderen ist die klassische MRI-Technik durch lange Aufnahmezeiten im Bereich einiger Sekunden bis Minuten pro Bild limitiert. Besonders kritisch sind diese Bedingungen für intrinsisch schwache funktionelle Kontraste und für bewegte Organe, wie etwa das schlagende Herz.

Zur Erhöhung der Sensitivität finden zunehmend Magnete mit sehr hohen Feldstärken Anwendung. Im Rahmen dieser Entwicklung wurde am Institut für Biomedizinische Technik im Jahr 2001 einer der weltweit ersten klinischen 3-Tesla-Magneten installiert. Die grösste Herausforderung bei der Erzeugung solcher hoher Feldstärken ist die erforderliche Homogenität des Magnetfeldes. Für die MR-Bildgebung darf die Feldstärke im Nutzvolumen um höchstens ein Millionstel (1 ppm) variieren.

Die räumliche Zuordnung der Resonanzsignale wird beim herkömmlichen MRI-Verfahren mit magnetischen Gradientenfeldern erreicht, die in rascher Folge hinzugeschaltet werden. Die Geschwindigkeit dieser Prozedur ist durch die Schaltvorgänge limitiert, denn zu rasche Änderungen des Magnetfeldes können die körpereigene Elek-

trophysiologie stören. Das Prinzip des relativ langsamen Gradientenverfahrens ist es, alle Bildinhalte in der zeitlichen Variation des Resonanzsignals zu kodieren. Damit steht aber für die Signalübertragung, vereinfacht gesagt, nur ein Signalkanal (die Zeit) zur Verfügung – mit langen Abbildungsdauern als Konsequenz.

SENSE-Technologie: Zehnfache Beschleunigung der Bildgebung

Um dennoch höhere Abbildungsgeschwindigkeiten zu erreichen, hat die Zürcher Arbeitsgruppe am IBT einen alternativen Weg beschritten. Mit einem an der ETH entwickelten Verfahren, der so genannten SENSE-Technologie, gelingt es, zwischen dem resonanten Quantensystem und der Empfangselektronik mehrere parallele Signalkanäle zu nutzen. Eine Vielzahl parallel betriebener Detektoren erschliesst dabei die räumlichen Freiheitsgrade der Elektrodynamik für die Datenübertragung und ermöglicht so eine bis zu zehnfache Beschleunigung der Bildgebung. Alternativ kann das SENSE-Verfahren auch zur Erhöhung der Auflösung, zur Unterdrückung von Abbildungsfehlern oder zur Reduktion der Lärmbelastung dienen. Die neue Technologie wurde gemeinsam mit dem Industriepartner der Arbeitsgruppe patentiert und wird heute weltweit vermarktet. Das so entstandene Produkt ist inzwischen in über 2000 Anlagen in Spitälern und Forschungseinrichtungen im Einsatz.

Geschwindigkeit und fortgeschrittene Akquisitionsstrategien sind besonders wichtig für Untersuchungen des menschlichen Herzens. Studiert werden hier neben der Morphologie vor allem die Bewegung und Pumpleistung des Herzmuskels, die Durchlässigkeit der Herzkranzgefäße, der Blutfluss in den abgehenden Gefäßen und der Energiestoffwechsel. Abb. 1 zeigt einige Bilder aus einem «Film», der die Herzbewegung darstellt. Mit Aufnahmezeiten von bis zu 40 Bildern pro Sekunde kann die Pumparbeit im Detail aufgelöst und analysiert werden. Eine aktuelle Entwicklung in diesem Bereich gilt derzeit der weiteren Verbesserung der räumlichen und zeitlichen Auflösung mit einem neuem Ansatz. Er basiert, ähnlich der Datenkompression in der Computerwelt, auf der Ausnutzung zeitlicher und räumlicher Korrelationen, die in der Herzdynamik natürlicherweise auftreten.

Mit MRI ins Gehirn blicken...

Eine zentrale Rolle spielt MRI auch im Bereich der Neurowissenschaften. Im Rahmen eines kürzlich etablierten UserLabs werden neu entwickelte Verfahren von Neurologen, Psychologen und Psychiatern für die klinische und die Grundlagenforschung genutzt. Das Interesse gilt dabei in erster Linie den Funktionen und der Verschaltung der verschiedenen Gehirnareale. Einblick in die Hirnaktivität gibt dabei der so genannte BOLD (Blood Oxygenation Level Dependent)-Effekt. Entscheidend ist dabei, dass der Blutfarbstoff Hämoglobin bei der Beladung mit Sauerstoff seine magnetischen Eigenschaften verändert. Eine erhöhte Aktivität der im Hirn tätigen Neuronen äußert sich deshalb bei spezialisierten MR-Verfahren in einer leichten Änderung der Signalantwort. Bei genügend schneller und sensi-

tiver Detektion erlaubt es dieser Mechanismus, die Arbeit des Gehirns bei spezifischen Reizen und kognitiven Aufgaben zu verfolgen.

...um die Richtung der Wasserdiffusion von Axonen zu bestimmen

Für die Erforschung der Verbindungen zwischen den Hirnarealen wird ein grundsätzlich anderer Ansatz verfolgt. Die Verbindungsstränge bestehen aus Bündeln von Nervenzellausläufern, den so genannten Axonen. Für die Magnetresonanz ist dabei die Diffusion des Wassers in diesen Bündeln wesentlich. Sie wird durch die Faserstruktur eingeschränkt und orientiert sich daher bevorzugt entlang der Axone. Mit MRI gelingt es, diese Vorzugsrichtung der Diffusion zu bestimmen und so den Verlauf der Hirnverbindungen zu rekonstruieren

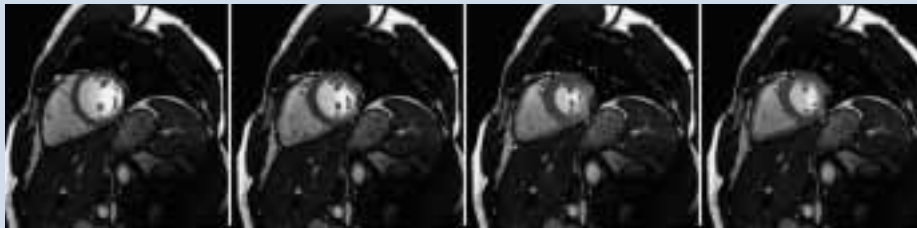


Abb. 1: Dynamische Bildgebung des Herzmuskels bei der Pumparbeit. Die kräftigere runde Herzkammer versorgt den Körper mit sauerstoffreichem Blut. Die schwächere Kammer pumpt verbrauchtes Blut in die Lunge. In den Kammern erkennt man kleine Muskelstränge, die zum Ventilapparat gehören.

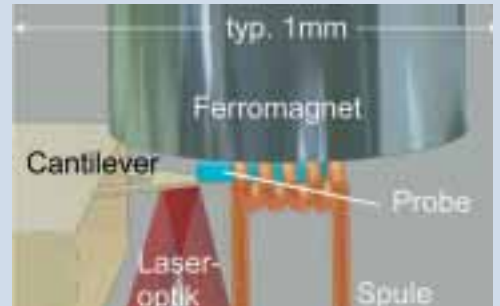


Abb. 3: Schema des NMR-Kraftmikroskops.

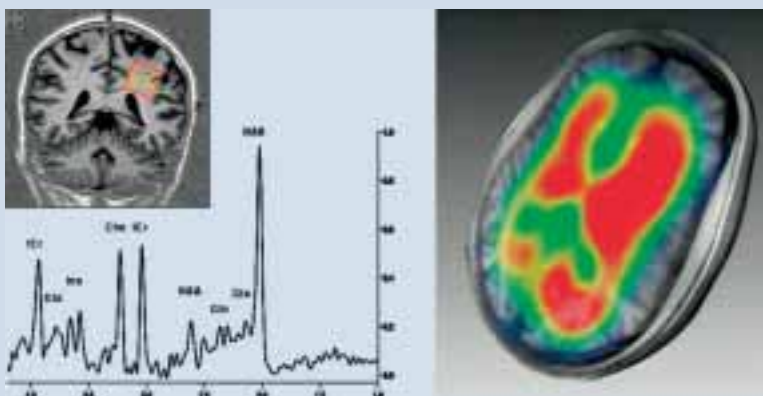


Abb. 2: Mit spektroskopischen MR-Verfahren kann die Biochemie des arbeitenden Gehirns studiert werden. Links: ein typisches Wasserstoffspektrum aus einem unbeschriebenen Hirnvolumen. Jede Linie des Spektrums gehört zu einem spezifischen Biomolekül. Rechts: die Verteilung einer einzelnen Substanz (hier N-Acetyl-Aspartat) kann auch räumlich aufgelöst in einer ganzen Schicht des Gehirns dargestellt werden.

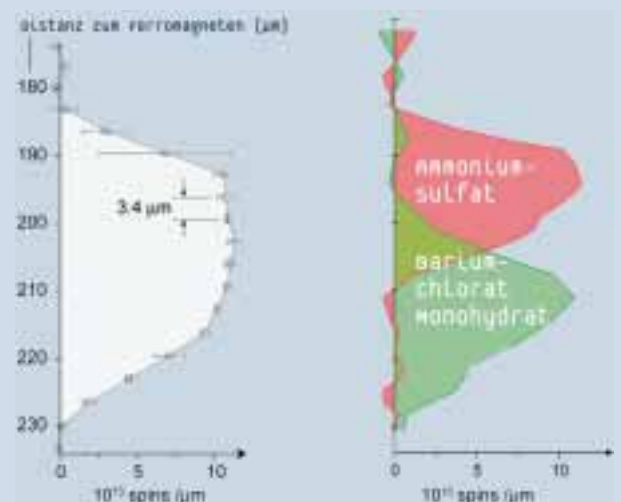


Abb. 4: Eindimensionales NMR-Kraftmikroskopisches Bild einer Probe aus Ammoniumsulfat und Barienchlorat-Monohydrat. Die linke Abbildung zeigt ein Bild der Protonendichte im Material. Die rechte Abbildung benutzt die unterschiedlichen NMR-Spektren der beiden Substanzen, um ein Bild mit chemischem Kontrast zu erhalten.

(Beispiele solcher Daten und ihrer Verarbeitung werden im Beitrag von Boomsma et al., S. 42, gezeigt).

Untersuchungen der Blutoxygenierung und der Diffusion beruhen auf der Magnetresonanz des Wasserstoffs im Wassermolekül, welches im Körper reichlich vorhanden ist. Der Wassergehalt beträgt je nach Gewebe zwischen 70 und 85%. Von Interesse sind neben Wasser auch zahlreiche organische Moleküle, die für spezifische Funktionen, z. B. in Stoffwechselprozessen oder bei der Signalübertragung im Nervensystem, eine Rolle spielen. Im Magnetresonanzsignal erkennt man diese Moleküle an charakteristischen Resonanzfrequenzen, die sich mit Hilfe spektroskopischer Verfahren auflösen lassen. Dieser Mechanismus hat das Potenzial, Einblicke in eine Vielzahl essentieller Prozesse im gesunden und kranken Gewebe zu eröffnen, wiederum in räumlich aufgelöster Form (Abb. 2). Das Verfahren wird allerdings dadurch erschwert, dass die massgeblichen Moleküle in sehr geringen Konzentrationen vorliegen (typischerweise 1/10 000 der Wasserkonzentration) und die Auflösung der spektralen Verteilung die Aufnahmezeit verlängert. Daher ist auch für diese spektroskopischen Verfahren die Erhöhung von Sensitivität und Geschwindigkeit der Schlüssel zur breiteren Anwendung.

Diese beiden Herausforderungen bilden einen Fokus der weiteren technischen und methodischen Entwicklung in Zürich. In einem nächsten Schritt wird im Winter 2005/2006 eine der weltweit ersten 7-Tesla-Anlagen für Humananwendungen aufgebaut. Theoretische und experimentelle Vorstudien haben ergeben, dass der Übergang zu dieser noch höheren Feldstärke einen überproportionalen Zuwachs an Sensitivität und zudem einen weiteren Geschwindigkeitsvorteil verspricht. Die praktische Nutzung dieses Potenzials muss sich allerdings auf umfangreiche technische Neuerungen stützen, insbesondere auf massiv parallele Instrumentierung und neue Methoden der Signalverarbeitung.

Einen zweiten Schwerpunkt bildet der Aufbau eines Labors für MRI in Kleintieren, in welchem die beschriebenen Verfahren durch so genannte molekulare Bildgebung ergänzt werden (siehe Beitrag zum Animal Imaging Center in diesem Heft). Bei diesem Ansatz werden massgeschneiderte Marker-substanzen eingesetzt, um spezifische molekulare Strukturen und Ereignisse im Körper selektiv abzubilden. Von besonderem Interesse sind hier z. B. molekulare Indika-

toren von Pathologien, die einerseits das grundlegende Verständnis des Krankheitsprozesses verbessern sollen und andererseits von diagnostischem Interesse sind, sowie die Charakterisierung von spontanen und induzierten Heilungs- und Reparaturprozessen. Dem konkreten Beispiel der Alzheimer-Krankheit widmet sich ein weiterer Beitrag im vorliegenden Heft.

Zukunft: MR-Mikroskopie im Nanometer-Massstab

Die Auflösung der MR-Bildgebung im Menschen liegt gegenwärtig im Bereich von 1 mm und kann unter günstigen Bedingungen bis zu etwa einem zehntel Millimeter gesteigert werden. In kleineren Objekten werden mit spezialisierten Anlagen sogar Auflösungen bis zu einigen Mikrometern erreicht. Eine weitere Verbesserung der Ortsauflösung scheitert mit den existierenden Verfahren jedoch an den fundamentalen Grenzen der Sensitivität. Bei der konventionellen Detektion der Magnetisierung mittels einer Radiofrequenzspule müssen etwa eine Billion (10^{12}) Kernspins in einem Volumenelement vorhanden sein, damit ihr Signal detektiert werden kann.

Um diese Empfindlichkeits-Grenze zu unterschreiten, müssen grundsätzlich andere Messverfahren entwickelt werden. Eine Möglichkeit wurde Anfang der 90er-Jahre von Sidles und Mitarbeitern vorgeschlagen: die Detektion der Kernmagnetisierung mittels eines modifizierten Kraftmikroskops (Abb. 3). Bei diesem Ansatz wird die Probe auf einen so genannten Cantilever montiert. Es handelt sich dabei um eine durch Mikrofabrikation hergestellte mechanische Biegefeder, vergleichbar mit einer verkleinerten Grammophonfeder, welche in einem starken Magnetfeldgradienten platziert wird. Durch Einstrahlung von Radiowellen kann die magnetische Kraft, welche auf den Cantilever wirkt, periodisch invertiert werden. Obwohl diese Kraft sehr klein ist, wird der Cantilever durch einen Resonanzeffekt in Schwingung versetzt, und diese mechanische Bewegung kann mittels eines Laserstrahls gemessen werden. Diese Detektionsmethode ist wesentlich empfindlicher als das herkömmliche Verfahren, und es ist durchaus möglich, dass in Zukunft damit einzelne Kernspins nachgewiesen werden können.

Am Laboratorium für Physikalische Chemie der ETH wurde ein NMR-Kraftmikroskop aufgebaut und eine Methode entwickelt, um mittels Kraftmikroskopie Kernreso-

nanzspektren in einem kleinen Volumenelement zu ermitteln. Da diese Spektren die chemische Zusammensetzung der Probe sehr genau charakterisieren, wird es möglich, mikroskopische Bilder mit «chemischem Kontrast» aufzunehmen. Als Beispiel werden in Abb. 4 eindimensionale NMR-kraftmikroskopische Bilder einer Probe gezeigt, die aus zwei verschiedenen chemischen Substanzen besteht. Die linke Seite der Abbildung zeigt ein Bild der Probe ohne Ausnutzung des chemischen Kontrasts. Das Bild rechts, mit chemischem Kontrast, unterscheidet klar die beiden Substanzen (Ammoniumsulfat und Bariumchlorat), da die dipolaren Spektren der beiden Komponenten sehr verschieden sind.

Diese neue Art der Mikroskopie soll es in Zukunft ermöglichen, detaillierte mikroskopische Bilder von Materialien und biologischen Objekten, z. B. Zellen, zu erzeugen. Neben präziser chemischer Information könnten diese Bilder räumliche Auflösungen im Nanometerbereich, also weit jenseits der heutigen Limitationen, liefern.

Klaas P. Prüssmann, Peter Bösigler und Markus Rudin

Institut für Biomedizinische Technik, ETH und Universität Zürich

Beat H. Meier, Christian Degen, Qiong Lin, Andreas Hunkeler und Urban Meier

Laboratorium für Physikalische Chemie, ETH Zürich

Literatur

Pruessmann, K.P., Weiger, M., Scheidegger, M.B., Boesiger, P. (1999) *Magn. Reson. Med.*, 42, 952–62.

Jaermann, T., Crelier, G., Pruessmann, et al. (2004) *Magn. Reson. Med.* 51, 230–36.

Wiesinger, F., van de Moortele, P.-F., Adriany, G., et al. (2004) *Magn. Reson. Med.* 52, 953–64.

Rudin, M., Weissleder, R. (2003) *Nat. Rev. Drug Discov.*, 2(2), 123–31.

Degen, C. L., Lin, Q., Hunkeler, A., Meier, U., Tomaselli, M. and Meier, B. H. (2005) *Phys. Rev. Lett.*, 94, 207601.

Rugar, D., Yannoni, C. S., and Sidles, J. A. (1992) *Nature*, 360, 563.

ETH VISIONEN – BEGEGNUNGEN MIT DER ZUKUNFT

Zahlreiche Veranstaltungen in Zürich und in verschiedenen Landesteilen bieten der Bevölkerung Gelegenheit, die ETH im Jahr ihres 150-Jahr-Jubiläums aus nächster Nähe kennen zu lernen. Über 200 000 Personen besuchten im Frühling die «Welten des Wissens». Nun wendet sich die ETH mit einer Schwerpunktwoche «ETH Visionen – Begegnungen mit der Zukunft» an Persönlichkeiten aus Politik, Wirtschaft, Wissenschaft und Gesellschaft.

Tag der Wirtschaft, Politik und Alumni – 17. November 2005

Während einer Woche im November wird das Hauptgebäude der ETH Zürich zum zentralen Ort der Begegnung mit der Zukunft. Hier möchte die ETH Zürich gemeinsam mit ihren Gästen im Rahmen von Symposien, Diskussionen und Workshops einen Prozess des Nachdenkens in Gang setzen, der auch nach dem Jubiläumsjahr weitergeht. Es geht um den Beitrag der ETH Zürich für den Bildungsplatz Schweiz und für die Welt der Zukunft.

Unter dieser gemeinsamen Klammer ist jeder Tag einem besonderen Thema gewidmet: Am 17. November 2005 beispielsweise setzen sich Persönlichkeiten aus Wirtschaft, Politik und ETH Zürich mit langfristigen gesellschaftlichen Entwicklungen und deren Auswirkungen auf die ETH Zürich auseinander. Grundlage für diese Positionsbezüge ist ein Thesenpapier, das von Vertretern aus Wirtschaft, Politik, Alumni und der ETH-Schulleitung erarbeitet wurde. Diskutieren Sie mit!

Der Anlass beginnt um 9 Uhr mit der Begrüssung von Dr. Pius Baschera, CEO Hilti-Gruppe. Am Vormittag sprechen der amerikanische Zukunftsforscher Jerome C. Glenn, der Vizepräsident von Singapur, Dr. Tony Tan Keng Yam, Nationalrätin Dr. Barbara Haering, der Verwaltungsratspräsident und CEO der Ciba Spezialitätenchemie AG, Dr. Armin Meyer, und Prof. Olaf Kübler, Präsident der ETH Zürich. Künstlerische Intermezzi runden die Ausführungen ab. Am Nachmittag findet eine Podiumsdiskussion unter der Leitung von Dr. Iwan Rickenbacher statt. Anschliessend spricht Bundesrat Joseph Deiss.

Anmeldungen und weitere Informationen unter www.150jahre.ethz.ch. Für Fragen: wirtschaft-politik-alumni@150jahre.ethz.ch.

Weitere Themen der ETH Visionen

Auch diese Tage sollten Sie sich vormerken:

Tag der Lehre – 14. November 2005

Studierende und Dozierende entwickeln gemeinsam Visionen für die ETH von morgen, ein Marktplatz zeigt die interessantesten E-Learning-Projekte der ETH und vieles mehr.

Tag der Forschung – 15. November 2005

Wozu Forschung und Innovation? Welche Ansprüche stellt die Gesellschaft an die Forschung? Wer legt die Forschungsthemen fest? Antworten auf diese Fragen geben Forschende sowie Wissenschaftspolitikerinnen aus der Schweiz, Deutschland, Griechenland, Portugal, Singapur und den USA.

Tag der Chancengleichheit – 16. November 2005

«Work-Life-Balance» – was versteht man darunter? Was bietet die ETH bereits heute? Was kann sie von anderen lernen? Ausstellung und Podiumsdiskussion.

Tag der Nobelpreisträger – 16. November 2005

Der Tag der Nobelpreisträger bringt junge Forschende in direkten Kontakt mit berühmten Wissenschaftlern.

Tag der Universitäten – 18. November 2005

«Sharing Knowledge with Global Partners.» An diesem internationalen Symposium möchte die ETH mit Partnern aus aller Welt eine gemeinsame Vision für die internationalisierte Hochschule entwickeln.

www.150jahre.ethz.ch

ETH Visionen auf einen Blick:

Montag, 14. November 2005:	Tag der Lehre
Dienstag, 15. November 2005:	Tag der Forschung
Mittwoch, 16. November 2005:	Tag der Chancengleichheit
Mittwoch, 16. November 2005:	Tag der Nobelpreisträger
Donnerstag, 17. November 2005:	Tag der Wirtschaft, Politik und Alumni
Freitag, 18. November 2005:	Tag der Universitäten

Alle Veranstaltungen finden im ETH Hauptgebäude statt:

ETH Zürich
Rämistr. 101
8092 Zürich

Anmeldung und detaillierte Informationen: www.150jahre.ethz.ch

EIN FERRARI FÜR DIE BILDAUSWERTUNG

IM GESPRÄCH

Marius Messerli hat als Doktorand ein Programm für die Bildanalyse von lichtmikroskopischen Aufnahmen entwickelt. Heute behauptet er sich mit seiner Firma «Bitplane» als Anbieter von interaktiver Bildverarbeitungssoftware erfolgreich auf dem internationalen Markt. Der enge Kontakt zu Hochschulen hilft ihm, die Bedürfnisse der Kunden richtig einzuschätzen.

Herr Messerli, Sie befassen sich beruflich intensiv mit Lichtmikroskopie. Was fasziniert Sie an dieser Technik?

Die Lichtmikroskopie hatte in der Biologie stets eine grosse Bedeutung, auch wenn ihr Stellenwert im Laufe der Zeit nicht immer gleich hoch war. Als ich in den frühen Achtzigerjahren zu studieren begann, galt die Lichtmikroskopie eher als beschreibende Wissenschaft. In den folgenden Jahren änderte sich dies dank der Digitalisierung. Die Lichtmikroskopie erlebte einen Aufschwung. Man stiess in den dreidimensionalen Bereich vor und erkannte, dass man mit dieser Methode nun ganz neuartige Aufnahmen machen kann.

Hat sich dieser Aufschwung fortgesetzt?

Ja, nicht zuletzt weil man in der Genetik sehr grosse Fortschritte erzielt hat. Es ist heute zum Beispiel verbreitet, mutante Mäuse herzustellen. Viele dieser Tiere haben aber gar keinen Phänotyp, man sieht ihnen also nicht an, dass sie genetisch verändert wurden. Mit Hilfe der Lichtmikroskopie kann man relativ einfach prüfen, ob sich diese Tiere so wie erwartet von normalen Mäusen unterscheiden.

War es für Sie schon immer ein Traum, eine eigene Firma zu haben?

Nein, eigentlich nicht. Während des Studiums interessierte ich mich vor allem für die Forschung. Ich merkte dann, dass es an unserem Institut bei der Lichtmikroskopie Bedürfnisse in Bezug auf die Bildauswertung gab. Man hatte keine Software, um die Daten sauber zu analysieren. Ich war der einzige, der eine Affinität dazu hatte, und entwickelte für diese Aufgabe ein Programm. Ich versuchte zuerst, eine Firma zu finden, die sich für die Weiterentwicklung der Soft-



ware interessiert. Dies gelang aber nicht. Der entscheidende Impuls, eine Firma zu gründen, kam dann von meinem damaligen Partner.

Welchen Sektor bearbeiten Sie genau?

Unser Grobthema ist die Interpretation der Daten. In den Anfängen ging es vor allem um visuelle Informationen. Die Leute wollten einfach anschauen, was sie aufgenommen haben. Danach kam die Messung dazu. Unsere Stärke ist, dass wir den visuellen Bereich von Anfang an mit dem quantitativen Bereich verknüpft haben. Das heisst, wir haben nie einem Kunden eine Tabelle ohne Bild gezeigt. Und umgekehrt haben wir auch stets zu den Objekten, die wir darstellen, quantitative Informationen geliefert.

Wie behaupten Sie sich als kleine Firma gegen die grossen Konkurrenten?

Am Anfang waren wir alleine auf dem Markt, das war wichtig. Wenn man der Erste ist, hat man einen grossen Vorteil. Ich sage immer: Bei einem Ferrari regt sich niemand auf, wenn die Heizung nicht richtig funktioniert. So war es auch bei unserem Produkt. Es hatte ein paar herausragende Eigenschaften, aber auch viele Fehler. Die Kunden haben das akzeptiert, weil es keine Alternative gab. Nachdem klar wurde, dass in unserem Gebiet ein Markt besteht, wurden auch andere Firmen aktiv. Für uns ist entscheidend, dass wir in unserem Bereich eine kompetitive Grösse haben. Wir haben nie Materialwissenschaftler beliefert, wir haben nie medizinische Anwendungen gemacht, sondern wir haben uns auf den

schnell wachsenden Life-Science-Markt beschränkt. Und dort wiederum konzentrieren wir uns auf die interaktive Bildanalyse. Es gibt links und rechts davon extrem viel, was man machen könnte. Aber darauf verzichten wir bewusst.

Wie viele Mitarbeiter beschäftigen Sie?

Wir sind inzwischen 14 Leute. Vier davon arbeiten fest in der Entwicklung. Ab und zu haben wir auch Studierende der ETH, die bei uns ihre Semesterarbeiten machen. Zentral ist für mich, dass unsere Mitarbeiter sehr gut qualifiziert sind. In der Softwareentwicklung macht der Unterschied zwischen einem mittelmässigen und einem guten Team einen Faktor 5 bis 10 aus. Wenn ich also vier Topleute habe, dann machen die gleichviel wie vierzig mittelmässige Leute!

Sie haben in zahlreichen Ländern Vertretungen.

Unsere Philosophie war stets, dass wir die ganze Welt beliefern wollen. Das hat zwar gewisse Nachteile – man verzettelt sich leicht und hat hohe Overhead-Kosten –, aber es hat auch einige Vorteile. Unter anderem hat man keine Berührungängste, wenn man in neue Märkte geht. Am Anfang hatten wir in den USA nur jemand, der Teilzeit für uns arbeitete. Heute haben wir dort eine Niederlassung mit drei Leuten. In den letzten Jahren versuchen wir zudem, den indirekten Vertrieb zu stärken.

Warum arbeiten Sie eng mit Hochschulen zusammen?

Als ich meine Firma gründete, hatte ich viele Ideen. Dank meiner Dissertation kannte ich die Geräte und wusste, was sie leisten können. Fünf Jahre lang musste ich nicht fragen, was die Kunden brauchen. Doch irgendwann geht das nicht mehr. Deshalb begannen wir gezielt, unsere High-end-Kunden in den Entwicklungsprozess einzubinden. Softwareentwicklung ist ein langfristiger Prozess, das geht drei bis fünf Jahre. Ich muss also heute wissen, was die Kunden in drei Jahren von mir erwarten.

Die Kooperation mit der ETH ist für Sie also sehr wichtig?

Ja, vor allem seit die Lichtmikroskopie an der ETH wieder an Stellenwert gewonnen hat. Kürzlich wurde ein neues Lichtmikroskopiezentrum gegründet. Dort gibt es

sehr engagierte Leute. Wir arbeiten auch mit anderen Forschungsinstitutionen zusammen, mit dem MIT etwa oder dem Caltec.

Sie konnten bereits kurz nach der Firmen- gründung einen Grossauftrag akquirieren. Wie wirkte sich dies auf die Firmenent- wicklung aus?

Auf der einen Seite war dieser Auftrag für uns natürlich sehr lukrativ, und wir konnten so gewisse Strukturen schaffen. Auf der anderen Seite war er auch eine grosse Belastung. Er zwang uns zu überlegen, was wir überhaupt machen wollen. Wir haben die Firma dann aufgeteilt. Ich entschied mich, Standardprodukte zu entwickeln. An dieser strategischen Entscheidung halte ich bis heute fest. Im Softwarebusiness ist die Grenze zwischen Entwicklung und Dienstleistung fließend, und deshalb kann man als Technologiefirma schnell abgelenkt werden.

Wie sehen Sie eigentlich die weitere Ent- wicklung der Bildverarbeitung?

Ein Trend ist sicher, dass die Bildbearbeitung nicht mehr alleine durch den Menschen vorgenommen wird. Die Entwicklung geht in Richtung vollautomatische Analyse. Man hat ein Messgerät, und die Software wertet in einem ersten Schritt dann die Daten selbst aus. Als Anwender muss man sich also nicht mehr jedes einzelne Bild anschauen, sondern nur noch die wichtigen.

Die Datenmengen werden also gewaltig ansteigen?

Ja, deshalb wird auch der Bereich Bildmanagement immer wichtiger. Allerdings entwickelt sich dieser Sektor viel langsamer, als ich dachte. Das Ganze funktioniert nur, wenn man eine intelligente Software hat, die gewisse Vornotationen macht. Wenn ich alle Daten manuell eingeben muss, dann ist das ein enormer Aufwand. Die Software sollte am besten selbst herausfinden, was man aufgenommen hat, und sie sollte selbst die Aufnahmeparameter registrieren.

Dann gibt es auch auf der Geräteseite interessante Entwicklungen. Heute besteht zwischen der Lichtmikroskopie und der Elektronenmikroskopie immer noch ein grosser Graben. Die Lichtmikroskopie erreicht heute eine Auflösung von ungefähr 200 Nanometern. Die neuen Geräte wer-

den die Auflösung markant verbessern. Das wird noch einmal eine Fülle an Daten geben, die man analysieren kann.

Gibt es in der Lichtmikroskopie nicht ein- fach physikalische Grenzen, die man nicht überwinden kann?

Die klassischen Auflösungsgrenzen werden schon heute klar durchbrochen. Es ist durchaus denkbar, dass man mit der Lichtmikroskopie in den Bereich von 20 bis 50 Nanometern vorstossen wird.

Interview: Felix Würsten

Zur Person

Marius Messerli, Jahrgang 1964, studierte an der ETH Zürich Biologie und promovierte 1993 am zellbiologischen Institut der ETH Zürich. Parallel zu seiner Doktorarbeit schrieb er ein Programm für die Bildauswertung in der Lichtmikroskopie.

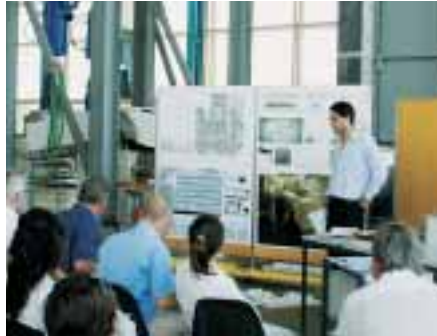
1992 gründete er zusammen mit zwei Partnern die Firma «Bitplane», welche Software für die Bildanalyse und interaktive Visualisierung im Life-Science-Bereich entwickelt.

Nach einem rasanten Start wurde die Firma 1997 umgebaut. Die beiden Partner verliessen das Unternehmen, und Marius Messerli wurde Mehrheitsaktionär. Im Oktober 2000 wurde das Aktionariat erweitert, als die Venture-Capital-Firma «Endeavour» sich am Unternehmen beteiligte. Heute beschäftigt Bitplane insgesamt 14 Mitarbeiter und ist in allen wichtigen Märkten der Welt präsent.

DIE ALUMNI-LOUNGE WIRD KONKRET

Einen neuen Treffpunkt auf dem Höggerberg, das möchte die Alumni-Vereinigung der ETH Zürich zum 150-Jahr-Jubiläum schenken. Die Ehemaligen wollen einen Ort schaffen, an dem sich die Menschen gerne treffen – sei es, um gemütlich Kaffee zu trinken, gemeinsame Projekte zu besprechen oder Kontakte zu knüpfen, sei es aber auch, um an speziellen Anlässen teilzunehmen.

Als Partner für das Vorhaben konnten die Alumni Gregor Eichinger gewinnen. Der Wiener, seit letztem Jahr Assistenzprofessor für Gestaltung und Entwurf an der ETH Zürich, gilt als ausgewiesener Fachmann für solche Aufgaben, hat er doch zusammen mit seinem Architekturbüro «Eichinger oder Knechtel» selbst diverse Trendlokale entworfen. Im Rahmen einer Semesterarbeit haben Studierende der Professur Eichinger nun Entwürfe für die geplante Alumni-Lounge erarbeitet. Diese stellten sie Mitte Juni einer Expertenjury vor.



Eichinger ist es ein Anliegen, dass sich die Studierenden nicht nur mit der Gestaltung des Raumes auseinandersetzen, sondern auch über Materialwahl und gastronomische Konzepte nachdenken. Um der Vielseitigkeit der Aufgabe gerecht zu werden, hat Eichinger namhafte Gäste eingeladen, die Projekte zu begleiten und kritisch zu beurteilen.

Bevor sich die Studierenden an die Planungsarbeit machten, setzten sie sich vor Ort intensiv mit der Thematik auseinander.

Sie besuchten dazu in Zürich verschiedene Trendlokale, die sie kritisch unter die Lupe nahmen. Basierend auf den gewonnenen Erkenntnissen entwickelten sie dann ihre Ideen, wie der neue Alumni-Treffpunkt aussehen könnte.

Die ETH Alumni Vereinigung wird das Projekt nun anhand der Entwürfe der Studierenden konkretisieren. Gleichzeitig wird die Ehemaligen-Vereinigung auch ihre Fundraising-Aktivitäten intensivieren – denn schliesslich soll das Projekt ja durch Spenden der Ehemaligen finanziert werden.

Felix Würsten

ETH Alumni

Vereinigung der Absolventinnen und Absolventen der ETH Zürich, ETH Zentrum, 8092 Zürich, Tel. 01/632 51 00, Fax 01/632 13 29, info@alumni.ethz.ch, www.alumni.ethz.ch

STEHEN SIE HEUTE WO SIE WOLLEN?



Profitieren Sie ab heute von wertvollen und ausbildungsgerechten Angeboten zur erfolgreichen Gestaltung Ihrer beruflichen Karriere.

- Job Services
- Networking Events
- Fachgruppen
- On-line Alumni Verzeichnis
- Lebenslange E-mail Adresse
- In Verbindung bleiben

DAMIT SIE MORGEN DORT STEHEN WO SIE HEUTE WOLLEN:

www.jobservices.ethz.ch

ETH Alumni
gut verbunden



Und was ist
typisch schweizerisch
an der Post?

„Sie ist zuverlässig,
pünktlich und vielleicht
etwas pingelig.“

Auch morgen für Sie da.

DIE POST 

Audi **Swiss** Service Package

3 Jahre / 100'000 km Reparatur und Service

Vorsprung durch Technik www.audi.ch

**Verführerisch, auch im Preis.
Jetzt einsteigen.**

A3



**Der Audi A3.
Realisieren Sie Ihren Traum.**

Beim sportlich-athletischen Audi A3 Dreitürer profitieren Sie jetzt von attraktiven Ausstattungspaketen – zum Beispiel zusätzlichem Komfort mit 30% Ersparnis – und einmaligen Leasingkonditionen. Mehr beim Audi-Händler.

**25 Jahre quattro®.
Überlegene Sicherheit.**



Audi A3 1.9 TDI: Normverbrauch: Gesamt 4,9 l/100 km. CO₂-Emissionen: Gesamt 132 g/km. CO₂-Mittelwert aller in der Schweiz angebotenen Fahrzeugmodelle: 200 g/km. Energieeffizienz-Kategorie A.