

STRÅLENDE GALDESYRER

Med et nyudviklet radioaktivt sporstof er det for første gang blevet muligt at studere galdesyrrers naturlige cirkulation mellem lever og tarm ved hjælp af PET-skanning.

Metoden vil øge vores forståelse for, hvordan cirkulationen af galdesyrrer påvirkes af sygdomme og forventes at blive et værktøj i udvikling af ny medicin.

Forfatteren



Kim Frisch er seniorforsker ved Nuklearmedicinsk Afdeling & PET-Center ved Aarhus Universitetshospital, hvor han forsker i udvikling og anvendelse af sporstoffer til PET-skanning af leverens funktioner.

E-mail: frisch@pet.auh.dk eller kimfrisc@rm.dk
www.liver.dk

Positron emission tomografi (PET) er en tredimensionel skanningsteknik, hvormed fysiologiske og biokemiske processer kan visualiseres og måles i levende dyr og mennesker. Teknikken er baseret på måling af henfaldet af et injiceret radioaktivt sporstof, der er designet til at følge den proces, man ønsker at studere. Herved opnås data (billeder) af sporstoffets fordeling i kroppen, som kan bruge til at finde ud af, hvordan processen fungerer og, særligt, hvordan den ikke fungerer i tilfælde af sygdom. Ved Nuklearmedicinsk Afdeling & PET-Center på Aarhus Universitetshospital har vi for nyligt i samarbejde med forskere ved Centre for Advanced Imaging ved University of Queensland i Brisbane, Australien udviklet et nyt sporstof til PET af galdesyrrers naturlige cirkulation mellem lever og tarm. På sigt forventes det nye sporstof at blive et værktøj til studier af medikamenters og sygdommes påvirkning af denne cirkulationsproces, der er afgørende for at galdesyrrerne kan



Typisk PET/CT-skanner til mennesker og større forsøgsdyr så som grise. Foto: Shutterstock.

udføre deres normale funktioner og for at undgå deres potentielt skadelige effekt.

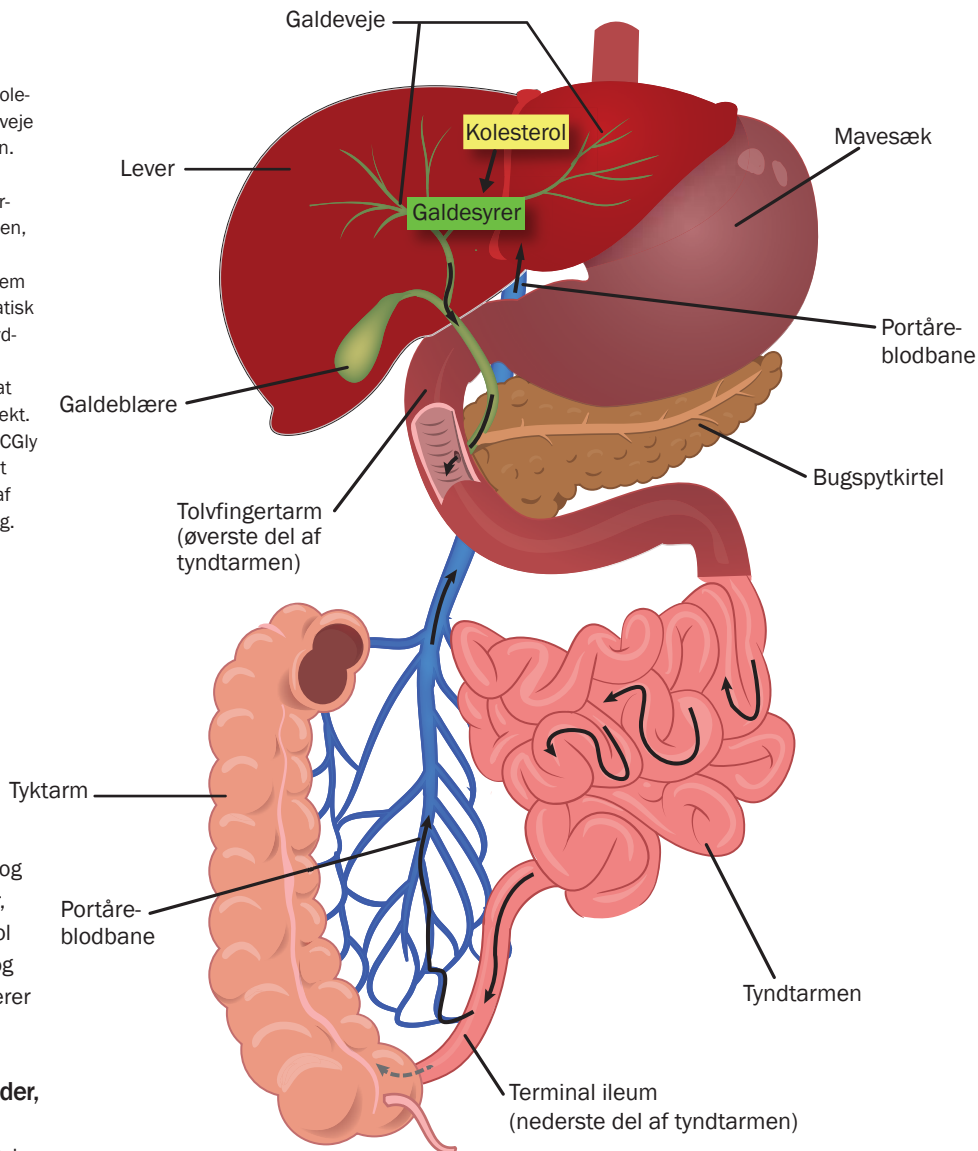
Galdesyrrer

Galde er en gulgrøn væske, der produceres af leveren, opbevares i galdeblæren, og som efter indtagelse af et måltid udskilles til tyndtarmen. I tyndtarmen opløser galden fedtopløselige næringsstoffer, blandt andet fedtsyrer og de fedtopløselige vitaminer A, D, E og K, der er indtaget med føden, og øger deres optag gennem tarmvæggen. Galden opløser også uønskede fedtopløselige affaldsstoffer, såsom bilirubin (nedbrydningsproduktet af hæmoglobin), tungmetaller og fedtopløselige nedbrydningsprodukter af

medicin og sørger hermed for deres udskillelse med afføringen. Galdens fedtopløsende effekt skyldes et højt indhold af galdesyrrer hvis kemiske struktur gør, at de kan danne såkaldte miceller med de fedtopløselige stoffer på samme måde som et opvaskemiddel opløser fedtresten under opvasken. Galdesyrrer dannes i leverceller ud fra kolesterol og udskilles i galden,

der løber i såkaldte galdeveje. For enden af tyndtarmen genoptages mere end 90 % af galdesyrrerne og sendes tilbage til leveren, hvor de igen udskilles i galden. Denne cirkulation af galdesyrrer mellem lever og tyndtarm kaldes enterohepatisk recirkulation og sker 6 – 10 gange dagligt i mennesker. Genoptaget af galdesyrrer i tyndtarmen (cirka 30 mmol/dag) overstiger langt biosyntesen af galdesyrrer i leveren (0,5 – 1 mmol/dag), og således er en velfungerende recirkulation af galdesyrrer af stor betydning for optagelsen af fedtopløselige næringsstoffer fra føde og for afgiftning af kroppen. Dertil kommer, at galdesyrrer fungerer som signalstoffer (hormoner), der blandt andet

Galdesyrene dannes i leveren ud fra kolesterol og udskilles herefter via galdeveje ud i galden og videre ud i tyndtarmen. For enden af tyndtarmen (terminal ileum) optages galdesyrene og returneres til leveren via portåre-blodbanen, hvorefter de igen udskilles i galden. Denne cirkulation af galdesyrene mellem lever og tyndtarm kaldes enterohepatisk recirkulation og er af afgørende betydning for, at galdesyrene kan udføre deres fysiologiske funktioner og for at undgå deres potentielt skadelige effekt. Med det nyudviklede sporstof ^{18}F -FBCGly er det for første gang blevet muligt at visualisere og måle recirkulationen af galdesyrene ved hjælp af PET-skanning.



regulerer deres egen optagelse og udskillelse i lever- og tarm-celler, deres egen syntese fra kolesterol samt omsætningen af glukose og triglycerider, alt imens de cirkulerer mellem lever og tarm.

Galdesyrene kan give leverskader, diarré og tyktarmskræft

Normalt er koncentrationen af galdesyrene i leverceller lav (i størrelsesordenen $\mu\text{mol/L}$), mens den er høj (mmol/L) i galdeveje, galdeblære og tyndtarm; et forhold der opretholdes under galdesyrenes recirkulation. Hvis galden imidlertid ikke kan flyde frit fra leveren, en tilstand der medicinsk betegnes kolestase, begynder galdesyrene at ophobes i levercellerne. En sådan situation kan eksempelvis opstå, hvis galdevejene er beskadigede eller betændte på grund af sygdom. Galdesyrene kan til en vis grad selv rette op på en begyndende celleophobning ved at opregulere deres udskillelse fra levercellerne og nedregulere deres optag til cellerne. Hvis kolestasen er vedvarende, vil koncentrationen af galdesyrene i levercellerne dog nå et niveau, hvor galdesyrene på grund af deres fedtopløsende effekt gør skade på cellernes indre komponenter og på cellevægge, hvilket får cellerne til at undergå ukontrol-

leret (nekrotisk) eller kontrolleret (apoptotisk) celledød. I sidste ende giver dette leverskader, som kan kræve kompliceret og risikofyldt levertransplantation.

Galdesyrene kan også gøre skade i tarmen, hvis deres recirkulation ikke er opretholdt. Hvis galdesyrene ikke kan optages i tyndtarmen, ender store mængde galdesyrene i tyktarmen, hvor de normalt er at finde i lav koncentration ($\leq 1 \text{ mmol/L}$). Dette kan forekomme ved betændelse i tyndtarmen, eller hvis enden af tyndtarmen er fjernet operativt, for eksempel i forbindelse med behandling af tarmkræft. En øget koncentration af galdesyrene i tyktarmen forårsager svær diarré, der er socialt hæmmende, men som dog kan behandles med stoffer, der binder galdesyrene. Nyere forskning

tyder imidlertid på, at galdesyrene også er involveret i udviklingen af tyktarmskræft, som i skrivende stund er den tredje mest udbredte form for cancer på verdensplan. Recirkulationen af galdesyrene er altså vigtig, ikke kun for at galdesyrene kan udføre deres normale funktioner, men også for at undgå en række galdesyrene-relaterede skader på kroppens organer.

PET-skanning af galdesyrene i leveren

Ved Aarhus Universitetshospital har vi tidligere udviklet et sporstof, der biologisk set opfører sig som den naturligt forekommende galdesyrene cholyglycin. Sporstoffet kaldes ^{11}C -cholylsarcosin og er mærket med den radioaktive isotop kulstof-11 (^{11}C). Efter intravenøs injektion af ^{11}C -cholyl-

Om Positron Emission Tomografi

Positron emission tomografi (PET) er en skanningsteknik, hvormed fysiologiske og biokemiske processer kan visualiseres og måles i levende forsøgsdyr og mennesker. Teknikken er baseret på injektion af en kemisk forbindelse mærket med en radioisotop (for eksempel kulstof-11 eller fluor-18), der henfalder ved udsendelse af en positron (β^+ ; anti-partiklen til elektronen). Forbindelsen injiceres i så små mængder (nanogram til mikrogram), at den ingen farmakologisk effekt har, men blot følger en ønsket fysiologisk eller biokemisk proces. Derfor betegnes forbindelsen som et sporstof. Inde i kroppen når den udsendte positron kun at bevæge sig nogle få millimeter, inden den tilintetgøres (annihilerer) ved kollision med en elektron (e^-) i det omkringliggende væv. Herved udsendes to fotoner 180° i hver sin retning og hver med en energi på 511 keV (kiloelektronvolt).

Uden for kroppen opfanges fotonerne af et PET-kamera, der består af en ring af krystaller (10.000 – 40.000 krystaller alt afhængig af kamera-modellen). Krystallerne er designet til at afgive et lysglimt, når de rammes af 511-keV fotoner. Lysglimtet omdannes efterfølgende til et elektrisk signal, der kan registreres og bearbejdes af en computer. Når to krystaller opfanger fotoner samtidig (med nanosekunders mellemrum), kan fotonerne siges at stamme fra samme tilintetgørelses-

sarcosin kan man med PET følge optaget af sporstoffet i leveren og dets udskillelse i galden. Særligt vigtigt er det, at man kan følge ophobningen af sporstoffet i leveren på patienter med kolestase og sågar kan skelne mellem graden af kolestase ved at måle den nedsatte udskillelse af ^{11}C -cholylsarcosin i galdevejene i forhold til raske personer. Ved at PET-skane patienter med ^{11}C -cholylsarcosin fås en bedre forståelse for, hvilken

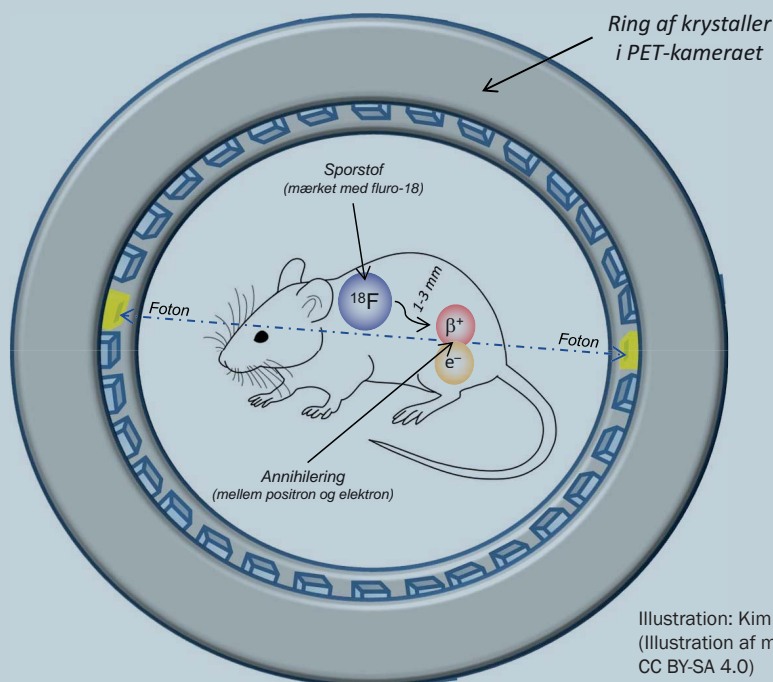


Illustration: Kim Frisch
(Illustration af mus:
CC BY-SA 4.0)

proces, som har fundet sted på en ret linje mellem de to krystaller. Ved at registrere alle sådanne tilfælde 360° rundt i ringen af krystaller og ved at bevæge PET-kameraet langs forsøgsdyrets (eller personens) krop, kan det med millimeters præcision bestemmes, hvor i kroppen sporstoffet befinder sig på et givent tidspunkt.

Da PET-kameraet kun kan "se" de udsendte fotoner, er en PET-skanner oftest kombineret med en CT- eller MR-skanner (CT = computer-tomografi, MR = magnetisk resonans), der giver anatomiske billeder af forsøgsdyret (eller

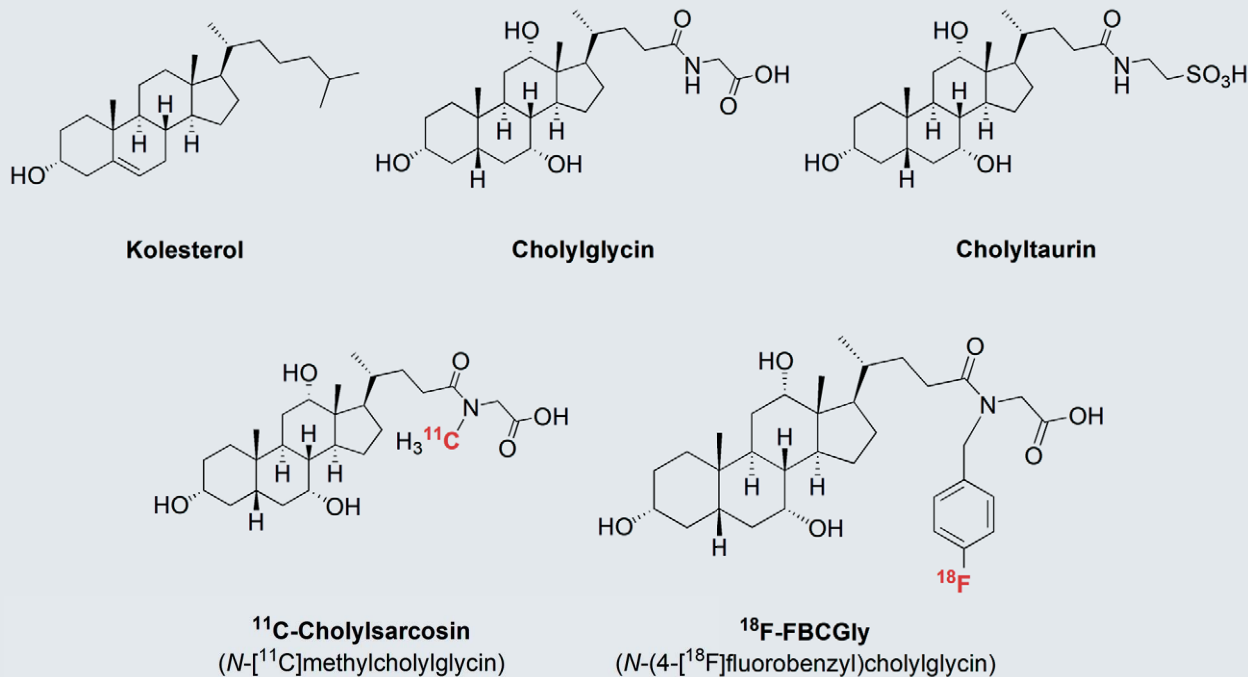
personen). Ud fra den samlede information optaget med skanneren kan der dannes billeder af sporstoffets bevægelse over tid og i tre dimensioner, og dets radioaktivitetskoncentration kan bestemmes i de enkelte organer. PET/CT og PET/MR anvendes i dag hyppigt inden for medicinsk forskning og i klinisk udredning af patienter på sygehuse. Det mest anvendte sporstof på verdensplan er 2- ^{18}F fluoro-2-deoxy-D-glucose, der er en fluor-18 mærket analog af glukose, som kan bruges til visualisering af kræftceller, da disse har et øget forbrug af glukose sammenlignet med raske celler.

effekt forskellige leversygdomme har på leverens normale udskillelse af galdezyrer. Det kan i sidste ende give en bedre behandling af disse patienter.

Et nyt sporstof har set dagens lys

Selvom cholylsarcosin recirkulerer på lige fod med naturlige galdezyrer, så er den kulstof-11-mærkede version, ^{11}C -cholylsarcosin, ikke velegnet som sporstof til PET af

denne proces. Det skyldes, at den radioaktive halveringstid for kulstof-11, det vil sige den tid det tager halvdelen af en given mængde kulstof-11 radioisotoper at henfalde, kun er cirka 20 minutter. Tidsskalaen for galdezyrernes recirkulation er til sammenligning 3 til 4 timer i mennesker. Inden ^{11}C -cholylsarcosin når at recirkulere, er stort set alle kulstof-11 radioisotoperne altså henfaldet, og sporstoffet er hermed "usynligt" for PET-kameraet. Derfor



Galdesyrrer er en hovedbestanddel af galde og dannes i leveren ud fra kolesterol via 16 enzym-katalyserede reaktioner. Cholyglycin og cholyltaurin er to almindelige galdesyrrer i galde fra mennesker (og mange andre dyr). ¹¹C-cholylsarcosin og ¹⁸F-FBCGly er begge afledt af cholyglycin og mærket med henholdsvis kulstof-11 og fluor-18, så de kan bruges som sporstoffer til PET.

har vi ved Aarhus Universitetshospital i samarbejde med forskere ved University of Queensland i Brisbane, Australien, udviklet et nyt sporstof, der som ¹¹C-cholylsarcosin er afledt af cholyglycin, men som er mærket med den radioaktive isotop fluor-18 (¹⁸F). Fluor-18 henfalder som kulstof-11 ved udsendelse af en positron, men med en passende lang halveringstid, cirka 2 timer, i forhold til tidsskalaen for galdesyrrernes recirkulation.

Det nye sporstof kaldes i korthed ¹⁸F-FBCGly, der dækker over det lidet mundrette N-(4-[¹⁸F]fluorobenzyl)cholyglycin. Foreløbige forsøg i rotter har vist, at ¹⁸F-FBCGly er et særdeles lovende sporstof til PET af galdesyrrernes cirkulation mellem lever og tarm. Efter injektion optages ¹⁸F-FBCGly i løbet af få minutter af leveren og udskilles i galden, og allerede efter 5 minutter er sporstoffet nået ud i tolvfingertarmen. Cirka 20 minutter efter injektion er alt ¹⁸F-FBCGly væk fra lever og galdeveje og er nu ude i tyndtarmen. Dette forløb svarer fuldstændigt til det, der tidligere er observeret for

vores "gamle sporstof" ¹¹C-cholylsarcosin. Til forskel fra ¹¹C-cholylsarcosin kan recirkulationen af ¹⁸F-FBCGly dog også måles. Denne ses som en stigning i radioaktivitetskoncentrationen af ¹⁸F-FBCGly i lever og galdeveje cirka 45 minutter efter injektion af sporstoffet (det er forventeligt, at recirkulationen sker hurtigere i rotter end i mennesker).

Et værktøj i udviklingen af nye lægemidler

Den enterohepatiske recirkulation har været kendt i adskillige årtier; ikke kun for galdesyrrer men også for flere lægemidler. Det er dog først med udviklingen af ¹⁸F-FBCGly, at det er blevet muligt at undersøge denne proces med PET. En generel fordel ved at bruge PET-teknikken er, at man kan foretage målinger i levende organismer uden kirurgiske indgreb, som ellers kan påvirke den proces, man ønsker at undersøge. Med PET foretages målingerne blot ved at registrere den ioniserende stråling, der udsendes fra det injicerede radioaktive sporstof. Eksempelvis bestemmes recirkulationstiden for ¹⁸F-FBCGly med PET til

cirka 45 minutter, mens den uden PET bestemmes til cirka 2 timer i rotter. Forskellen skyldes, at målingen uden PET kræver udtagning af galde-prøver fra et kateter, lagt i rottens galdevej, som uundgåeligt påvirker flowet af galde fra leveren og hermed recirkulationstiden af ¹⁸F-FBCGly.

På sigt forventer vi, at PET med ¹⁸F-FBCGly kan finde anvendelse som værktøj i udviklingen af nye medikamenter. Ofte tester man nyudviklede medikamenter i isolerede leverceller (*in vitro*) for blandt andet at sikre, at de ikke blokerer udskillelsen af galdesyrrer, der kan gøre skade på leveren som beskrevet ovenfor. En sådan test garanterer dog ikke, at et medikament ikke har en negativ effekt på galdesyre-udskillelsen i den levende organisme (*in vivo*), da ikke alle celfunktioner forbliver intakte, når cellerne er isolerede. Vi har PET-skannet rotter med ¹⁸F-FBCGly, der samtidig har fået stoffet rifampicin; et antibiotikum, der anvendes mod tuberkulose, men som har den bivirkning, at det hæmmer udskillelsen af galde-

Yderligere læsning

Frisch & Hofmann. Biliary secretion. In: Keiding S, Sørensen M, eds. Functional Molecular Imaging in Hepatology. Sharjah, UAE: Bentham Science Publishers; 2012:49–75. e-bog, der kan hentes gratis via www.liver.dk

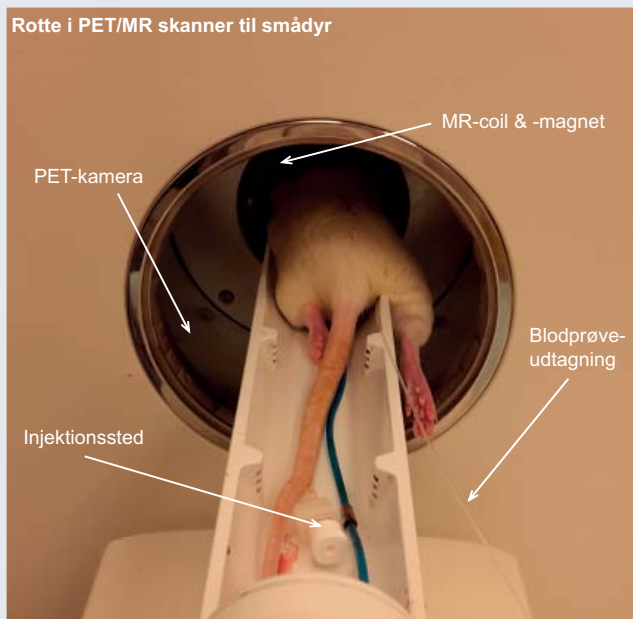
Frisch & Alstrup. Galde-salte på godt og ondt. Dyr lægen 2018;4:42–46. <http://dyrlaegen.nu/>

Westh A. Gennembrud på verdensplan. Udforsk 2013;1. halvår:8–9. www.auh.dk/siteassets/forskning/filer/udforsk1_2013.pdf.

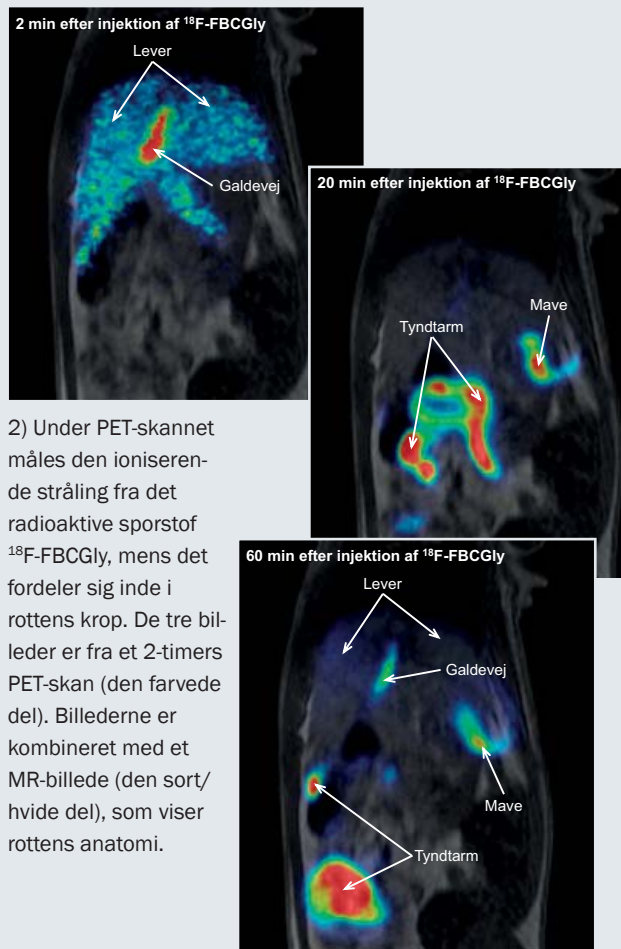
Frisch et al. [N-Methyl-¹¹C] cholylsarcosine, a novel bile acid tracer for PET/CT of hepatic excretory function: radiosynthesis and proof-of-concept studies in pigs. J Nucl Med 2012;53:772–778.

Frisch et al. N-(4-[¹⁸F] fluorobenzyl)cholyglycine, a novel tracer for PET of enterohepatic circulation of bile acids: radiosynthesis and proof-of-concept studies in rats. Nucl Med Biol 2018;61:56–62.

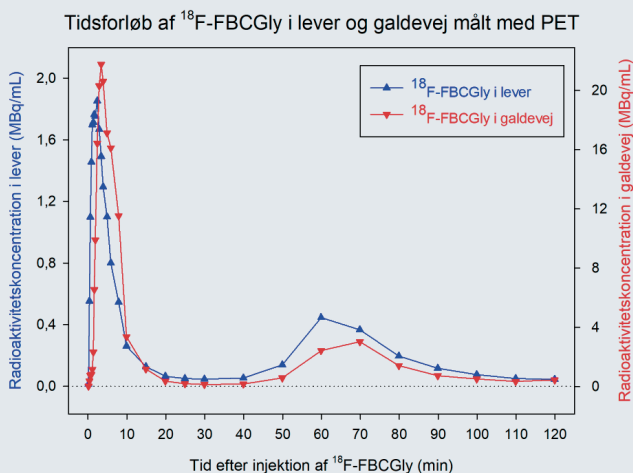
PET/MR skanning af rotte med ^{18}F -FBCGly



1) Den bedøvede rotte placeres i PET/MR skanneren. Rotten MR-skannes, hvorefter sporstoffet ^{18}F -FBCGly injiceres i en blodåre i rottens hale og PET-skannet startes. Eventuelle blodprøver udtages under skanningen fra en blodåre i rottens lår.



2) Under PET-skannet måles den ioniserende stråling fra det radioaktive sporstof ^{18}F -FBCGly, mens det fordeler sig inde i rottens krop. De tre billeder er fra et 2-timers PET-skan (den farvede del). Billederne er kombineret med et MR-billede (den sort/hvide del), som viser rottens anatomi.



3) Ud fra PET-billederne kan tidsforløbet af radioaktivitetskoncentrationen (MBq/mL) af ^{18}F -FBCGly måles i de enkelte organer igennem hele PET/MR skannet. Nedenfor er tidsforløbet vist for lever (blå kurve) og galdevej (rød kurve) i rotten. Den anden top i kurverne skyldes recirkulationen af ^{18}F -FBCGly fra tyndtarmen tilbage til leveren. Kurverne kan blandt andet bruges til måling af sporstoffets recirkulationstid og til at udvikle fysiologiske modeller for optagelsen og udskillelsen af ^{18}F -FBCGly i lever- og tarmceller.

syrer fra leverceller og ud i galden. PET-skanningerne har vist, at galdeudskillelsen af ^{18}F -FBCGly i levende rotter hæmmes, hvilket stemmer overens med den observerede effekt af rifampicin i isolerede celler.

Der er således potentiale for, at *in vivo* PET-undersøgelser med ^{18}F -FBCGly kan bruges til at bekræfte (eller afkræfte) resultater fra *in vitro*-undersøgelser af kendte

eller nye medikamenters effekt på udskillelsen af galdesyre fra lever til galde.

Vi har også vist, at både udskillelsen af ^{18}F -FBCGly fra leveren og sporstoffets recirkulation fra tyndtarmen hæmmes af den naturlige galdesyre cholytaurin. I fremtiden vil det være interessant at undersøge, hvordan andre stoffer påvirker optagelsen af ^{18}F -FBCGly i tarmen.

Som beskrevet ovenfor resulterer et hæmmet optag af galdesyre i tyndtarmen i en øget udskillelse af galdesyre til tyktarmen, hvor de potentielt kan medvirke til udvikling af tyktarmskræft. Ny forskning har dog vist, at en hæmmet recirkulation af galdesyre fra tyndtarmen tilbage til leveren også kan have en fordelagtig effekt på visse leversygdomme og på type 2 diabetes. ■