

뇌 저산소증 영상

전남대학교 의과대학 핵의학교실
송호천

Brain Hypoxia Imaging

Ho-Chun Song, M.D. Ph.D.

Department of Nuclear Medicine, Chonnam National University Medical School, Gwangju, Korea

The measurement of pathologically low levels of tissue pO_2 is an important diagnostic goal for determining the prognosis of many clinically important diseases including cardiovascular insufficiency, stroke and cancer. The target tissues nowadays have mostly been tumors or the myocardium, with less attention centered on the brain. Radiolabelled nitroimidazole or derivatives may be useful in identifying the hypoxic cells in cerebrovascular disease or traumatic brain injury, and hypoxic-ischemic encephalopathy. In acute stroke, the target of therapy is the severely hypoxic but salvageable tissue. ^{18}F -MISO PET and ^{99m}Tc -EC-metronidazole SPECT in patients with acute ischemic stroke identified hypoxic tissues and ischemic penumbra, and predicted its outcome. A study using ^{123}I -HAZA in patient with closed head injury detected the hypoxic tissues after head injury. Up till now these radiopharmaceuticals have drawbacks due to its relatively low concentration with hypoxic tissues associated with/without low blood-brain barrier permeability and the necessity to wait a long time to achieve acceptable target to background ratios for imaging in acute ischemic stroke. It is needed to develop new hypoxic marker exhibiting more rapid localization in the hypoxic region in the brain. And then, the hypoxic brain imaging with imidazoles or non-imidazoles may be very useful in detecting the hypoxic tissues, determining therapeutic strategies and developing therapeutic drugs in several neurological disease, especially, in acute ischemic stroke. (Nucl Med Mol Imaging 2007;41(2):91-96)

Key Words : Hypoxia, Nitroimidazole, Ischemic penumbra

서 론

저산소증은 세포나 조직 내 O_2 농도가 무산소증과 정상 수준 사이에 있는 대사상태로 정의할 수 있다. 조직 내에 병적으로 낮은 pO_2 정도를 측정하는 것은 종양, 허혈성 심질환과 뇌중풍 등에서 치료방침을 결정하거나 예후를 평가하는데 매우 중요한 의미를 갖는다. 이미다졸(imidazole)계나 비이미다졸(non-imidazole)계의 저산소증 영상물질이 소개되면서 이를 이용한 임상연구가 진행되고 있고, 대부분이 종양 내 저산소 조직을 찾거나 이를 방사선치료에 적용한 연구가 증가하고 있다. 허혈성 심질환이나 뇌중풍에서 저산소증 영상 연구는 많지 않으나 이 환자가 많을 뿐만 아니라 계속 증

가하고 있는 현실을 고려하면 이에 대한 연구 또한 필요한 실정이다.

본 종설에서는 저산소증과 관련된 신경질환, 특히 뇌중풍에서 허혈성 반음영(ischemic penumbra)을 찾는데 사용되는 방사성의약품, 동물실험과 임상연구 현황, 그리고 향후 연구되어야 할 점을 중심으로 정리하고자 한다.

방사성의약품과 섭취기전

세포나 조직 내 저산소증을 영상화하는데 사용되는 방사성의약품은 SPECT나 PET 표지 핵종으로 나뉘나,¹⁾ 기본적으로 화학적 구조에 의해 이미다졸(imidazole)계와 비이미다졸(non-imidazole)계로 구분할 수 있다. 현재까지 연구되고 있는 저산소증 방사성의약품은 대부분이 이미다졸계이며, PET의 보급이 확대됨으로써 ^{18}F 이나 $^{60/62/64}Cu$ 로 표지할 수 있는 방사성의약품에 대한 개발과 연구가 활발히 진행되고 있다. 이미다졸계의 대표적인 유도체는 Fig. 1과 같이, 2-nitroimidazole (azomycin), metronidazole, misonidazole,

- Received: 2007. 4. 17. • Accepted: 2007. 4. 20.
- Address for reprints: Ho-Chun Song, M.D., Ph.D., Department of Nuclear Medicine, Chonnam National University Medical School, Gwangju, Korea. #8 Hak-dong, Dong-gu, Gwangju 501-757, Korea
Tel: 82-62-220-5642, Fax: 82-62-223-1666
E-mail: songhc@jnu.ac.kr

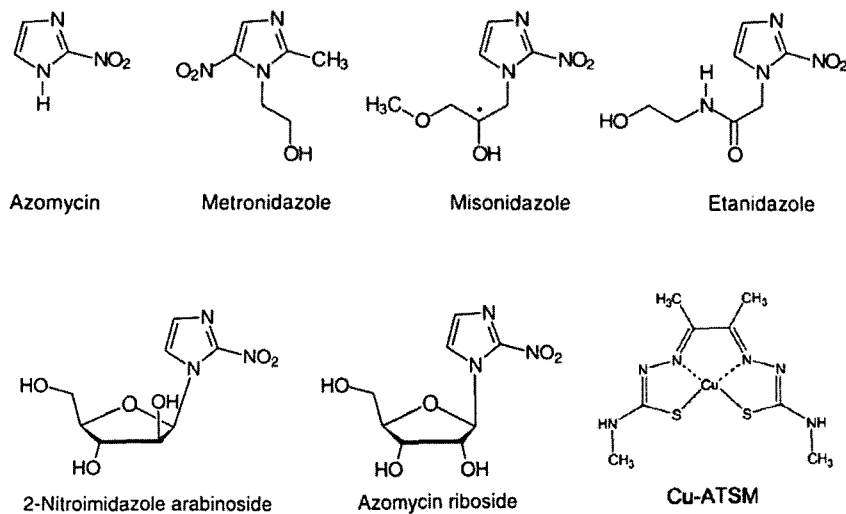


Fig. 1. Chemical Structures of Pharmacologically Active Nitroimidazoles, Nitroimidazole Nucleosides and Analogs.

etanidazole이 있다. 2-Nitroimidazole의 주된 문제점으로 지적되는 낮은 물 용해성을 높이기 위해 당 등을 결합시킨 2-nitroimidazole과 그 유사체인 azomycin riboside와 azomycin arabinoside가 있다.²⁾ 급성 허혈성 뇌중풍에서 가장 많이 사용된 ¹⁸F-fluoromisonidazole (FMISO)도 misonidazole에 불화시킨 것이다.³⁾ 이 FMISO는 저산소 세포 내 저류가 낮고, 혈중 청소율에 따른 병소 대 배후방사능의 비가 낮아 주사후 영상까지 2시간이상 기다려야 하는 단점이 있다. 저자들이 사용한 ^{99m}Tc-ethylene dicysteine metronidazole (EC-MN)은⁴⁾ metronidazole을 EC로 서로 연결한 화합물이며, EF5 [2-(2-nitro-1-[H]-imidazol-1-yl)-N-(2,2,3,3,3-pentafluoropropyl)-acetamide]는⁵⁾ etanidazole의 pentafluorinated derivative이다. Non-imidazole계는 BMS-181321 [TcO(PnAO-1-(2-nitroimidazole)]⁶⁾에서 2-nitroimidazole를 제거하여 만든 것이 ^{99m}Tc-HL91 (4, 9-diaza-3, 3, 10, 10-tetramethyl-dodecan-2, 11-dione dioxime)⁷⁾이고, 또 다른 변형은 nitroimidazole 성분을 chelate ring의 6번 위치로 이동시키고 5번 위치의 CH₂군에 산소원자로 대체시킨 것이 BRU 59 21 (BMS194796)이다.⁸⁾ 방사성구리를 용출하는 발생기 장치와 함께 합성된 ⁶⁴Cu-diacetyl-bis(N(4)-methylthiosemicarbazone (⁶⁴Cu-ATSM)⁹⁾ 또한 현재 중앙 내 저산소 조직을 영상화하는데 많이 사용하고 있는 비이미다졸계 화합물이다.(Fig. 1)

저산소증 영상에서 가장 많이 사용되고 있는 2-nitroimidazole은 살아있는 세포에 들어가면 단일 전자 환원이 일어나서 반응할 수 있는 형태를 형성한다. 이 분자는 산소가

정상 수준으로 있는 세포에서는 다시 산화되어 세포 외로 나가나, 저산소 세포나 조직의 낮은 산소 농도로 이 분자를 효과적으로 재산화하는데 경쟁할 수 없어 계속해서 환원이 일어나서 세포 내 여러 성분과 연관되어 비가역적으로 세포 내에 저류된다.¹⁰⁾

동물실험

동물실험에서 저산소증 영상제제의 섭취와 병리소견과 일치 여부나 재관류 후 저산소 조직의 변화를 관찰하여 nitroimidazole이 뇌 저산소증 영상물질로 적절한지를 평가하였다. Di Rocco 등⁶⁾이 시행한 중대뇌동맥 폐쇄 쥐모델에서 ^{99m}Tc-BMS-181321을 이용한 자가방사선상 연구에서 혈액뇌장벽이 손상되기 전에 급성 허혈성 뇌조직에 섭취되었고, ^{99m}Tc-BMS-181321의 초기 섭취는 뇌혈류에 의존하고 지연성 저류는 조직의 생존능과 관련이 있음을 관찰하였다. ¹⁸F-FMISO를 이용한 다른 연구¹¹⁾에서도 1시간째 증가된 섭취를 보이다가 5시간 이후에 경색 중심부의 경계를 따라 더 감소된 섭취를 보이고, 24 시간째는 경색이 매우 커지면서 매우 경미한 ¹⁸F-FMISO 섭취만 보였다. 재관류화와 관련하여, Takasawa 등의 연구¹²⁾에서도 폐쇄된 뇌영역에서 현저한 ¹⁸F-FMISO 섭취를 보인 후 조직학적으로 광범위한 괴사소견을 보인 48시간째는 ¹⁸F-FMISO 섭취는 없었다. 뇌혈관 폐쇄 초기에 뇌중풍 영역에서 ¹⁸F-FMISO 섭취를 보이나 조기에 재관류화가 되거나 뇌조직이 괴사가 발생한 후에는 ¹⁸F-FMISO 섭취가 없었다. Spratt 등¹³⁾도 FMISO는 조직

Table 1. Clinical Studies with Hypoxic Agents in Neurological Disease

Authors	Year	Patients	Disease	Tracer	Time from symptom to injection (doses)	Acquisition time after injection
Read et al ³⁾	1998	15	AIS	¹⁸ F-FMISO	6 hours-10 days (0.05 mCi/kg)	> 2 hours
Hirano et al ²⁴⁾	1999	6	ICH	¹⁸ F-FMISO	24-43 hours (0.05 mCi/kg)	> 2 hours
Vinjamuri et al ²⁵⁾	1999	1	TBI	¹²³ I-IAZA	6 months (185 MBq)	5-6 hours
Read et al ¹⁸⁾	2000	24	AIS	¹⁸ F-FMISO	4-51 hours, (0.05 mCi/kg)	2-4 hours
Markus et al ²²⁾	2002	12	AIS	¹⁸ F-FMISO	n.a (0.05 mCi/kg)	2 hours
Song et al ⁴⁾	2003	8	AIS	^{99m} Tc-EC-MN	6-14 days (1110 MBq)	2 hours
Markus et al ²¹⁾	2003	19	AIS	¹⁸ F-FMISO	< 48 hours (0.05 mCi/kg)	2 hours
Markus et al ²⁰⁾	2004	33	AIS	¹⁸ F-FMISO	< 48 hours (0.05 mCi/kg)	2 hours
Falcao et al ¹⁹⁾	2004	27	AIS	¹⁸ F-FMISO	3-48 hours (0.05 mCi/kg)	2 hours
Markus et al ²³⁾	2004	33	AIS	¹⁸ F-FMISO	< 48 hours (0.05 mCi/kg)	2 hours

AIS, acute ischemic stroke; TBI, Traumatic brain injury; ICH, intracerebral hemorrhage; FMISO, fluoromisoimidazole; EC-MN, ethylenedicysteine metronidazole; IAZA, ¹²³I-iodoazomycin arabinoside; n.a, not available

내 오래 저류되고 24시간째 조직학적 소견과 잘 일치되었고, 효과적인 재관류 후에는 FMISO 섭취가 없음을 보고하였다. 이러한 소견은 뇌중풍환자에서 ¹⁸F-FMISO 양성소견은 진행중인 저산소증임을 암시하였다. Hoffman 등¹⁴⁾은 게르빌 루스쥐(gerbil) 뇌중풍 모델에서 [³H]misonidazole 섭취 정도와 6-9시간째 뇌중풍 중증도와 잘 일치하였고, 조직학적으로 형태학적 변화없이 동측에 광범위한 급성 허혈성 변화와 함께 현미경 자동방사선상 동측 대뇌반구에서 미만성으로 [³H]misonidazole 섭취를 보였다. 더 나아가 Lythgoe 등¹⁵⁾은 2시간 동안 중대뇌동맥을 막은 쥐모델에서 ^{99m}Tc-HMPAO와 ¹²⁵I-iodoazomycin arabinoside (¹²⁵I-IAZA), 두 방사성의약품을 이용한 자가방사선상에서 3가지 소견, 즉 저산소증 표지자의 섭취가 없으나 뇌관류가 약간 감소된 부족관류(misery perfusion) 영역, 중증도의 뇌관류 감소와 함께 IAZA 섭취를 보이는 저산소증 영역과 심한 뇌관류 결손이 있으나 IAZA 저류가 없는 뇌경색 영역을 관찰하였다. IAZA와 HMPAO의 두 방사성의약품을 사용함으로써 경색 반음영부를 부족관류와 저산소증, 두 영역으로 구분할 수 있다고 하였다.

출생전후 저산소증-허혈(perinatal hypoxia-ischemia)에

대한 핵의학적 방법을 이용한 직접적인 연구는 없지만, Bergeron 등¹⁶⁾의 연구에 의하면, EF5로 출생전후 저산소증-허혈후 발생하는 뇌조직 내 산소 결핍 정도를 영상화할 수 있었고, 세포 내 EF5 결합 여부가 저산소증-허혈로 오는 뇌손상 후 국소적 세포 취약성(cellular vulnerability)이나 산화환원상태(redox state)의 유용한 표지자로 사용할 수 있음을 제시하였다. 중앙 내 저산소 조직을 영상화하는데 이미 사용되고 있는 ¹⁸F-EF5^{6,17)}로 저산소-허혈뇌병증(hypoxia-ischemic encephalopathy)에 대한 병리생리학적 연구가 가능하고, 임상에 유용하게 적용할 수 있을 것으로 생각된다.

임상연구

지금까지 보고된 임상연구는 ^{99m}Tc-EC-MN을 이용한 Song 등의 연구⁴⁾를 제외하면, 모두 ¹⁸F-FMISO PET 연구이고, 대부분 호주의 멜버른대학을 중심으로 이루어졌으며, 뇌중풍에서 이루어졌던 임상연구는 Table 1에 정리하였다. Read 등³⁾은 ¹⁸F-FMISO으로 허혈-저산소증을 보이나 생존 가능성이 있는 조직이 있는 지, 있다면 발병 후 언제까지 유지되는 지에 대한 연구에서 뇌중풍 발생 48시간 내에 검사한

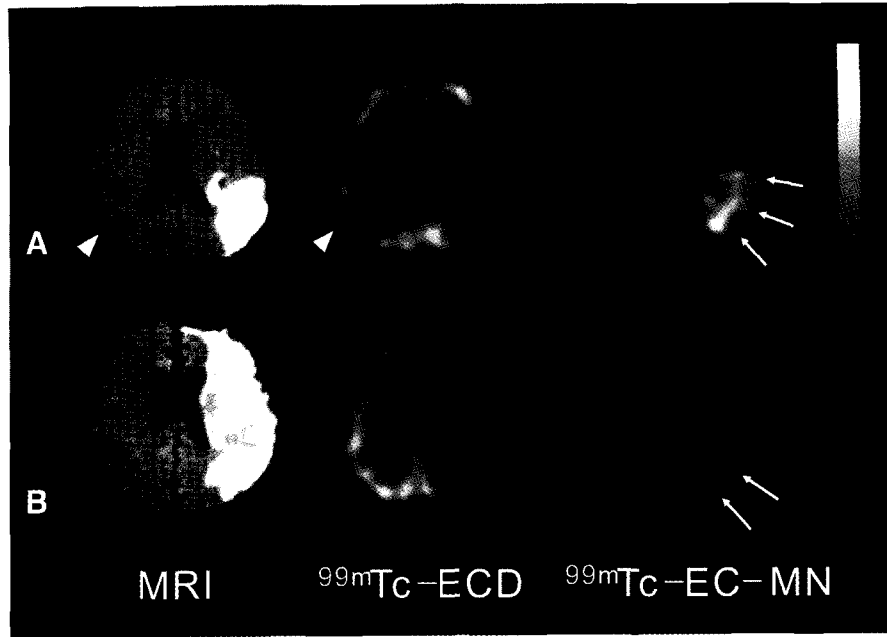


Fig. 2. Two patients demonstrated large infarction areas on DW MRI and ^{99m}Tc-ECD brain SPECT. Patient 7 (A) showed an area of good uptake of ^{99m}Tc-EC-MN (white arrow) and had a 1-month NIHSS score of 1, despite the presence of an old infarction in the right parietal lobe (arrowhead) that showed no uptake of ^{99m}Tc-EC-MN. Patient 5 (B), on the other hand, showed an area of poor uptake of ^{99m}Tc-EC-MN (white arrow) and had a 1-month NIHSS score of 15. ^{99m}Tc-EC-MN indicated ^{99m}Tc-ethylenedicysteine-metronidazole.

13명 중 9명에서 저산소 조직이 관찰되었고, 그 분포는 경색 주위를 따라 분포하였다. 그러나 6-11일에 시행한 8명에서는 ¹⁸F-FMISO 섭취를 관찰할 수 없었고, 급성기와 아급성기에 두 번 검사한 환자 모두에서 48시간 내에서만 관찰되었으나 아급성기(6-11일)에는 섭취를 보이지 않아 이는 급성기에 국한되어 저산소증 조직이 있음을 암시하였다. Read 등의 다른 연구¹⁸⁾에서 51시간 내에 시행한 검사에서 62.5%(15/24명)에서 FMISO 섭취를 보였고 시간이 지남에 따라 저산소 조직의 양도 감소되었다. 뇌 CT의 경색과 비교하였을 때 전체 저산소 조직의 45%는 생존하였고, 나머지 55%는 경색조직이었다. 경색 발생 후 90일까지 관찰한 결과, 초기에 발생된 병변 대부분은 경색으로 진행되었다. 따라서 저산소 조직을 조기에 찾아 이를 회복시킴으로써 경색크기를 감소시키고 임상예후도 호전시킬 수 있음을 제시하였다. ^{99m}Tc-EC-MN을 이용한 저자가 시행한 연구⁴⁾에서는 Read 등^{3,18)}의 결과와 다른 소견을 관찰할 수 있었다. 뇌경색 발생 후 아급성기(6-14일)에도 저산소 조직의 양에서 차이가 있었지만 모든 환자에서 EC-MN 섭취가 있었고, ^{99m}Tc-ECD 뇌관류 SPECT로 계산한 경색 용적 중 저산소 조직은 평균 24.5 28.1%를 차지하였다. 그러나 저산소 조직 용적은 임상 예후 지표를 예측할 수는 없었다.(Fig. 2).

Falcao 등¹⁹⁾은 급성 뇌경색 환자에서 백질과 회백질 내에

서 생긴 경색부위에서 ¹⁸F-MISO로 생존 가능한 조직이 있는 지, 이것이 어떤 변화를 보이는 지를 연구하였는데 FMISO섭취로 분석한 결과 백질에서 더 많은 생존 가능한 조직이 있었다(41.4% vs. 23.6%, p < 0.05). 그러나 장기적으로 관찰한 결과 생존한 조직은 백질이나 회백질에서 비슷하여, 백질과 회백질에서 생긴 경색에 대한 다른 치료를 고려해야 한다는 점을 알 수 있었다. Markus 등²⁰⁾은 뇌경색 발생 후 효과적인 치료방침에 미치는 요인, 즉 저산소 조직이 생존 가능성과 이와 관련된 예후에 미치는 영향을 알아보려고 48시간 내 시행한 ¹⁸F-MISO PET 결과에 의하면 대상환자 66명 중 33명에서 저산소 조직이 관찰되었고, 전체 경색 용적 중 20%이상의 저산소 조직은 12시간 이전에 60%이었으나 12시간 이후에 16%로 감소되었다. 저산소 조직이 생존함에 따라 신경학적 예후가 향상됨을 관찰하였고, 저산소 조직의 생존여부가 예후와 관련 있음을 시사하였다. Markus 등²¹⁾은 각 시기별로 뇌경색 부위에서 저산소 조직 용적을 백분율로 표시해 주는 지도인 반음영 영상(penumbragrams)을 적용한 결과, 경색 발생 6시간 이내에서는 경색 중심부에서 가장 높은 저산소 조직 용적을 보였고 그 이후 경색 가장자리나 바깥 부위에서 관찰되었다. 따라서 경색은 경색 중심부에서 시작하여 바깥쪽으로 확장된다는 병태생리학적 의미를 확인하였다. 급성 뇌경색 환자의 ¹⁸F-FMISO PET영상을 더

객관적으로 섭취 정도를 분석하기 위해 통계적 파라메트릭 매핑(statistical parametric mapping)을 사용하거나²²⁾ 허혈 반응영부의 공간적 범위를 지도화하기 위해 반응영 영상(penumbrogram)을 적용하기도 하였다.²³⁾

뇌내출혈(intracerebral hemorrhage) 환자에서 증상이 발생된 24-43시간 후 시행한 ¹⁸F-FMISO PET 영상에서 뇌내출혈 부위나 그 주위 조직에서 저산소증 소견은 관찰되지 않아 뇌내출혈에서는 저산소증과 관련이 없는 것으로 보고 치료할 때 저산소증을 크게 고려하지 않아도 됨을 알 수 있었다.²⁴⁾ 외상성 뇌 손상(traumatic brain injury)에 대한 뇌저산소영상은 1례가 보고되었다.²⁵⁾ 이 증례에서 두부외상 후 약 6개월째 인지기능 이상을 보였으나 뇌 관류 SPECT와 MRI에서 이상 소견을 보이지 않았으나 ¹²³I-IAZA의 섭취를 보이는 저산소 뇌조직이 관찰되었다. 이에 대한 충분한 연구가 필요하겠지만, 외상성 뇌 손상에서 혈전이나 뇌혈관 손상 등으로 뇌관류 감소로 인해 저산소증을 보일 수 있어 이에 대한 향후 더 많은 연구가 필요하겠다.

위에서 살펴본 것과 같이 뇌 저산소영상에 사용되는 방사성의약품은 더 해결해야 할 몇 가지 단점을 가지고 있다. 그 단점으로 저산소 세포나 조직 내에서 상대적으로 낮은 농도를 보인다는 점, 느린 혈중 청소율과 높은 배후방사능으로 더 좋은 영상을 얻기 위해서는 2시간-4시간 정도 긴 시간이 필요한 점이다. 예를 들면, FMISO는 혈액뇌장벽 투과성이 낮기 때문에 뇌영상을 얻는데 어려움이 있다.²⁶⁾ 이러한 FMISO의 단점을 보완하기 위해 여러 방사성의약품 개발 연구가 진행되고 있고, Yamamoto 등²⁷⁾은 4-bromo-1-(3-fluoropropyl)-2-nitroimidazole (4-BrFPN)을 개발하여 FMISO와 비교한 결과 뇌세포 내 더 저류를 한다고 하였다. 앞으로 급성 허혈성뇌중풍에서 허혈성 반응영의 진단 목적으로 사용하기 위해서는 혈액뇌장벽 투과성이 높고, 혈중 청소율이 매우 빨라서 응급실에서도 30분 이내에 촬영이 가능한 방사성의약품 개발이 필요한 실정이다.

결 론

병적으로 낮은 pO₂를 보이는 저산소 조직을 영상화하는 것은 종양, 허혈성 심질환과 뇌중풍 등의 치료나 예후를 평가하는데 매우 중요하다. 최근 저산소증 영상의 연구 대상이 주로 종양에 치중되어 있으나 뇌혈관성질환, 저산소-허혈뇌병증, 외상성 뇌 손상이나 기타 저산소증과 관련된 신경질환에서 저산소 세포나 조직을 찾는 것도 병태생리 연구나 치료 등에서 매우 중요한 의미를 갖는다. 급성뇌중풍에서 심한 저산소증이나 회복 가능한 뇌조직을 평가하는 것이 치료나 예

후 평가에 주요 목표이고, 이에 대한 임상연구는 많지 않지만, 급성 뇌중풍환자에서 ¹⁸F-MISO나 ^{99m}Tc-EC-MN으로 저산소 조직이나 허혈성 반응영을 찾고, 그 예후를 평가하는데 유용하다고 보고되고 있다. 이외에 외상성 두부손상 환자에서 ¹²³I-IAZA가 섭취되는 저산소 조직이 관찰되기도 하였다. 아직까지 이러한 저산소영상제에 낮은 혈관뇌장벽 투과성으로 세포 내 저류되는 양이 작고 혈중 청소율이 낮아 빠른 시간 내에 영상을 얻기가 힘든 단점이 있다. 앞으로 이러한 단점을 극복하여 아주 빠른 시간 내 선명한 영상을 얻을 수 있다면 급성 뇌중풍환자에서 허혈성 반응영을 찾거나, 다른 신경질환의 병태생리 연구, 이에 따른 치료방침 결정, 더 나아가 이와 관련된 치료법을 개발하는데 크게 도움이 될 것으로 기대된다.

References

1. Chapman JD, Schneider RF, Urbain JL, Hanks GE. Single-photon emission computed tomography and positron-emission tomography assays for tissue oxygenation. *Semin Radiat Oncol* 2001;11:47-57
2. Muller CE. Basic Chemistry of 2-Nitroimidazoles (Azomycin derivatives). In: Machulla H-J, editors. *Imaging of Hypoxia Tracer Developments*. 1st ed. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers; 1999. p. 47-59.
3. Read SJ, Hirano T, Abbott DF, Sachinidis JI, Tochon-Danguy HJ, Chan JG, et al. Identifying hypoxic tissue after acute ischemic stroke using PET and ¹⁸F-fluoromisonidazole. *Neurology* 1998;51:1617-21.
4. Song HC, Bom HS, Cho KH, Kim BC, Seo JJ, Kim CG, et al. Prognostication of recovery in patients with acute ischemic stroke through the use of brain SPECT with Technetium-99m-labeled metronidazole. *Stroke* 2003;34:982-6.
5. Ziemer LS, Evans SM, Kachur AV, Shuman AL, Cardi CA, Jenkins WT, et al. Noninvasive imaging of tumor hypoxia in rats using the 2-nitroimidazole ¹⁸F-EF5. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2003;30:259-66.
6. Di Rocco RJ, Kuczynski BL, Pirro JP, Bauer A, Linder KE, Ramalingam K, et al. Imaging ischemic tissue at risk of infarction during stroke. *J Cereb Blood Flow Metab* 1993;13:755-62.
7. Cook GJ, Houston S, Barrington SF, Fogelman I. Technetium-99m-labeled HL91 to identify tumor hypoxia: correlation with fluorine-18-FDG. *J Nucl Med* 1998;39:99-103.
8. Hoebbers FJ, Janssen HL, Olmos AV, Sprong D, Nunn AD, Balm AJ, et al. Phase I study to identify tumour hypoxia in patients with head and neck cancer using technetium-99m BRU 59-21. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2002;29:1206-11.
9. Lewis J, Laforest R, Buettner T, Song S, Fujibayashi Y, Connett J, et al. Copper-64-diacetyl-bis(N4-methylthiosemicarbazone): An agent for radiotherapy. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001;98:1206-11.
10. Nunn A, Linder K, Strauss HW. Nitroimidazoles and imaging hypoxia. *Eur J Nucl Med* 1995;22:265-80.
11. Saita K, Chen M, Spratt NJ, Porritt MJ, Liberatore GT, Read SJ, et al. Imaging the ischemic penumbra with ¹⁸F-fluoromisonidazole in a rat model of ischemic stroke. *Stroke* 2004;35:975-80.
12. Takasawa M, Beech JS, Fryer TD, Hong YT, Hughes JL, Igase K,

- Jones PS, et al. Imaging of brain hypoxia in permanent and temporary middle cerebral artery occlusion in the rat using ¹⁸F-fluoromisonidazole and positron emission tomography: a pilot study. *J Cereb Blood Flow Metab* 2007;27:679-89.
13. Spratt NJ, Ackerman U, Tochon-Danguy HJ, Donnan GA, Howells DW. Characterization of fluoromisonidazole binding in stroke. *Stroke* 2006;37:1862-7.
 14. Hoffman JM, Rasey JS, Spence AM, Shaw DW, Krohn KA. Binding of the hypoxia tracer [³H]misonidazole in cerebral ischemia. *Stroke* 1987;18:168-76.
 15. Lythgoe MF, Williams SR, Wiebe LI, McEwan AJ, Gordon I. Autoradiographic imaging of cerebral ischaemia using a combination of blood flow and hypoxic markers in an animal model. *Eur J Nucl Med* 1997;24:16-20.
 16. Bergeron M, Evans SM, Sharp FR, Koch CJ, Lord EM, Ferriero DM. Detection of hypoxic cells with the 2-nitroimidazole, EF5, correlates with early redox changes in rat brain after perinatal hypoxia-ischemia. *Neuroscience* 1999;89:1357-66.
 17. Evans SM, Kachur AV, Shiue CY, Hustinx R, Jenkins WT, Shive GG, et al. Noninvasive detection of tumor hypoxia using the 2-nitroimidazole [¹⁸F]EF1. *J Nucl Med* 2000;41:327-36.
 18. Read SJ, Hirano T, Abbott DF, Markus R, Sachinidis JI, Tochon-Danguy HJ, et al. The fate of hypoxic tissue on ¹⁸F-fluoromisonidazole positron emission tomography after ischemic stroke. *Ann Neurol* 2000;48:228-35.
 19. Falcao AL, Reutens DC, Markus R, Koga M, Read SJ, Tochon-Danguy H, et al. The resistance to ischemia of white and gray matter after stroke. *Ann Neurol* 2004;56:695-701.
 20. Markus R, Reutens DC, Kazui S, Read S, Wright P, Pearce DC, et al. Hypoxic tissue in ischaemic stroke: persistence and clinical consequences of spontaneous survival. *Brain* 2004;127:1427-36.
 21. Markus R, Reutens DC, Kazui S, Read S, Wright P, Chambers BR, et al. Topography and temporal evolution of hypoxic viable tissue identified by ¹⁸F-fluoromisonidazole positron emission tomography in humans after ischemic stroke. *Stroke* 2003;34:2646-52.
 22. Markus R, Donnan GA, Kazui S, Read S, Hirano T, Scott AM, et al. Statistical parametric mapping of hypoxic tissue identified by [¹⁸F]fluoromisonidazole and positron emission tomography following acute ischemic stroke. *Neuroimage* 2002;16:425-33.
 23. Markus R, Donnan G, Kazui S, Read S, Reutens D. Penumbra topography in human stroke: methodology and validation of the 'Penumbrogram'. *Neuroimage* 2004;21:1252-9.
 24. Hirano T, Read SJ, Abbott DF, Sachinidis JI, Tochon-Danguy HJ, Egan GF, et al. No evidence of hypoxic tissue on ¹⁸F-fluoromisonidazole PET after intracerebral hemorrhage. *Neurology* 1999;53:2179-82.
 25. Vinjamuri S, O'Driscoll K, Maltby P, McEwan AJ, Wiebe LI, Critchley M. Identification of hypoxic regions in traumatic brain injury. *Clin Nucl Med* 1999;24:891-2.
 26. Mathias CJ, Welch MJ, Kilbourn MR, Jerabek PA, Patrick TB, Raichle ME, et al. Radiolabeled hypoxic cell sensitizers: tracers for assessment of ischemia. *Life Sci* 1987;41:199-206.
 27. Yamamoto F, Aoki M, Furusawa Y, Ando K, Kuwabara Y, Masuda K, et al. Synthesis and evaluation of 4-bromo-1-(3-[¹⁸F]fluoropropyl)-2-nitroimidazole with a low energy LUMO orbital designed as brain hypoxia-targeting imaging agent. *Biol Pharm Bull* 2002;25:616-21.