

Radiologische Klinik
Abteilung für Diagnostische und Interventionelle Radiologie
Direktor Univ.-Prof. Dr. med. A. Bücken, M.Sc.
Fachbereich 2 (Klinische Medizin)
der Universität des Saarlandes
Homburg / Saar

Vergleich der experimentellen Kontrastmittel P792 und P846
gegenüber Gd-DOTA hinsichtlich Kontrastmittelanreicherung und
Kontrast-zu-Rausch-Verhältnis bei experimentell erzeugten
Hirngliomen in Ratten mittels MRT bei 3 T.

DISSERTATION ZUR ERLANGUNG DES GRADES

EINES DOKTORS DER MEDIZIN

der medizinischen Fakultät der

Universität des Saarlandes

2010

vorgelegt von
Hellmut Andreas Schürholz
geb.: 4.2.1981 in Tübingen

1 Inhaltsverzeichnis

1 Inhaltsverzeichnis	2
2 Abkürzungen	4
3 Zusammenfassung	6
4 Abstract	8
5 Einleitung	10
5.1. Fragestellung	10
5.2. Grundlagen der Magnetresonanztomographie	10
5.2.1 T ₁ -Relaxationszeit	12
5.2.2 T ₂ -Relaxationszeit	12
5.2.3 MR-Bildgebung bei höheren Feldstärken	13
5.3 Kontrastmittel in der Magnetresonanztomographie	15
5.3.1 Geschichte und Wirkungsmechanismus paramagnetischer Substanzen	16
5.3.2 Extrazelluläre Kontrastmittel	17
5.3.3 Intravasale Kontrastmittel	18
5.4 Hirntumoren	19
5.4.1 Klassifikation der Hirntumoren	19
5.4.2 Auszug aus der WHO-Klassifikation	20
5.5 Bildgebung des Gehirns	21
6 Material und Methodik	
6.1 Experimentelles Hirntumormodell	22
6.2 Versuchsaufbau	23
6.3 Narkoseführung	24

6.4 Experimentelle Magnetresonanztomographie	25
6.4.1 MR-Tomograph und 4-Kanal-Empfängerspule	25
6.4.2 Sequenz-Protokoll	27
6.4.3 Auswertung	27
6.4.4 Verwendete Kontrastmittel	29
7 Ergebnisse	32
7.1 Gruppe Gd-DOTA versus P846	35
7.1.1 SNR	35
7.1.2 LE	36
7.1.3 CNR	37
7.1.4 MR-Bilder	38
7.2 Gruppe Gd-DOTA versus P792	39
7.2.1 SNR	39
7.2.2 LE	40
7.2.3 CNR	41
7.2.4 MR-Bilder	42
8 Diskussion	43
9 Aus der Arbeit hervorgegangene Publikationen	48
10 Literaturverzeichnis	49
11 Danksagung	56
12 Curriculum vitae	57

2 Abkürzungen

AG	Aktiengesellschaft
BPA	Blood Pool Agent
°C	Grad Celsius
CNR	Kontrast-zu-Rausch Verhältnis
CT	Computertomographie
E. coli	Escherichia coli
FFT	Fast Fourier Transformation
FiD	Free induction decay, freier Induktionszerfall
FOV	Field of View, Bildausschnitt
FSE	Fast Spin Echo
GRE	Gradientenechosequenz
Gd	Gadolinium
GE	General Electrics
h	Stunde
HE	Hämatoxylin-Eosin Färbemethode
IACUC	Institutional Animal Care and Use Committee
kDa	Kilodalton
kg	Kilogramm
KG	Körpergewicht
KM	Kontrastmittel
LD 50	mittlere letale Dosis
LDA	Low Diffusible Agent
LE	Lesion Enhancement, Kontrastmittelaufnahme
mg	Milligramm
MHz	Megahertz
min	Minute
ml	Milliliter
mm ³	Kubikmillimeter
mmol	Millimol
MR	Magnetresonanz
MRT	Magnetresonanztomographie
ms	Millisekunden
MW	Molekulargewicht
µl	Mikroliter
nm	Nanometer
NSF	Nephrogene systemische Fibrose
RCBPA	Rapid Clearance Blood Pool Agent

ROI	Region of Interest
SD	Standardabweichung
SAR	Spezifische Absorptionsrate
sec	Sekunde
SI	Signalintensität
SNR	Signal-zu-Rausch Verhältnis
T	Tesla
T1w	T1-gewichtete Sequenz
TA	Akquisitionszeit
Tab	Tabelle
TE	Echozeit
TI	Inversionszeit
TR	Repetitionszeit
TSE	Turbospinechosequenz
TX	Texas
VEGF	vascular endothelial growth factor
vs	versus
W	Watt
WHO	World Health Organization
ZNS	Zentralnervensystem

3 Zusammenfassung

Ziel der Studie war der Vergleich der beiden experimentellen Kontrastmittel (KM) P792 und P846 gegenüber Gd-DOTA hinsichtlich Kontrastmittelanreicherung (lesion enhancement, LE) und Kontrast-zu-Rausch-Verhältnis (contrast-to-noise ratio, CNR) bei experimentell erzeugten Gliomen in Ratten mittels MRT bei 3 T (Tesla).

Zwei Gruppen zu je zehn Versuchstieren mit experimentell erzeugten Gliomen wurden zweimal mittels MRT untersucht. In einer Gruppe wurden jeweils P792 und Gd-DOTA, in der anderen P846 und Gd-DOTA verwendet. Die Gruppenzugehörigkeit und Reihenfolge der Kontrastmittelinjektion wurde randomisiert. Das Zeitintervall zwischen den beiden Kontrastmittelinjektionen betrug mindestens 24 h und höchstens 72 h, um vor der nächsten Untersuchung eine ausreichende Ausscheidung des zuvor verwendeten Kontrastmittels zu gewährleisten, andererseits aber das zwischenzeitliche Wachstum der Tumoren so gering wie möglich zu halten. P792 (Gadomelitol, Vistarem®, Guerbet) und P846 (Guerbet Research) sind makromolekulare Kontrastmittel mit hoher Relaxivität ohne Proteinbindung. Bei Gd-DOTA handelt es sich um einen extrazellulären Gd-Komplex.

T1-gewichtete Gradientenecho-Sequenzen (TR/TE 200/7,38 ms, $\alpha=90^\circ$, TA: 1:42 min:sec, Voxelgröße: 0,2x0,2x2,0 mm³, FOV= 40 mm, Matrix: 256x256) wurden vor und an 5 aufeinander folgenden Zeitpunkten nach Kontrastmittelapplikation mittels einer speziellen 4-Kanal Tierspule (RAPID MR International, LLC, Columbus, Ohio, USA) akquiriert. Aufgrund der unterschiedlichen Relaxivitäten wurde die applizierte Dosis für die entsprechenden Kontrastmittel angepasst (Gd-DOTA: 0,1 / P792: 0,05 / P846: 0,025 mmol/kg KG). Mittels Region-of-Interest (ROI)-Analyse wurden SNR, CNR und LE bestimmt. Zur sicheren Diagnose der Gliome wurden die Gehirne der Tiere abschließend histopathologisch untersucht. P792 zeigte signifikant weniger CNR und LE als Gd-DOTA für alle Untersuchungszeitpunkte ($P < 0,03$). Demgegenüber wurde bei P846 eine vergleichbare und prolongierte Kontrastmittelaufnahme (LE) und CNR ohne signifikante Unterschiede gegenüber Gd-DOTA beobachtet ($P > 0,05$).

Aufgrund des signifikant geringeren LE und CNR für P792 lässt sich schlussfolgern, dass es bei diesem intravaskulären Kontrastmittel zu keinem relevanten Übertritt über die geschädigte Blut-Hirn-Schranke kommt. P846 jedoch zeigt vergleichbare Werte hinsichtlich LE und CNR im Vergleich zu Gd-DOTA, was auf einen Übertritt durch die Blut-Hirn-Schranke schließen lässt, der am ehesten auf dem geringeren Molekulargewicht und der geringeren Größe im Vergleich zu P792 beruht. Dabei wurde bei P846, aufgrund der hohen Relaxivität, nur ein Viertel der Dosis gegenüber Gd-DOTA verwendet. Das bedeutet, dass bei vergleichbaren Kontrasteigenschaften mit P846 die applizierte Gadoliniumdosis um den Faktor 4 reduziert werden kann. Bei einem potenziell klinischen Einsatz könnte P846 dazu beitragen, die Gesamtgadoliniumdosis im Patienten zu reduzieren.

4 Abstract

The aim of this study was to compare lesion enhancement (LE) and contrast-to-noise ratio (CNR) properties of two macromolecular contrast agents with high relaxivities (P792 and P846) with a standard extracellular Gd-chelate (Gd-DOTA) in a rat brain glioma model using MRI at a field strength of 3 Tesla.

Two groups of nine rats with experimentally induced brain glioma were evaluated by MRI at two different time points. One group received P792 and Gd-DOTA, the other group received P846 and Gd-DOTA. Splitting into groups and the order of contrast agent injection were randomized. The time between injections was at least 24 hours, assuring sufficient clearance of the first applied agent from the tumor before the next examination, but less than 72 h to avoid tumor growth during the time interval. P792 (Gadomelitol, Guerbet, France) and P846 (a new compound from Guerbet Research) are macromolecular and high relaxivity contrast agents with no protein binding, and were compared with the extracellular agent Gd-DOTA (Dotarem, Guerbet, France).

T1-weighted gradient echo sequences (TR/TE 200/7.38 ms, flip angle = 90°, acquisition time 1:42 minutes:sec, voxel size 0.2 x 0.2 x 2.0 mm³, FOV = 40 mm, acquisition matrix: 256 x 256) were acquired before and at 5 consecutive time points after each intravenous contrast injection in identical slice orientation, using a dedicated 4-channel head array animal coil (RAPID MR International, LLC, Columbus, Ohio, USA). Contrast agent doses were adjusted according to the different relaxivities of the 3 agents (Gd-DOTA: 0.1 / P792: 0.05 / P846: 0.025 mmol/kg body weight). SNR, CNR and LE were evaluated using region-of-interest (ROI) analysis. After completion of the imaging studies, a veterinary histopathologist confirmed the presence of a glioma in each rat.

P792 showed significantly less CNR and LE as compared to Gd-DOTA at all examination time points ($P < 0.03$). In contrast, P846 provided comparable and prolonged CNR and LE at all time points without statistically significant differences ($P > 0.05$) compared to Gd-DOTA.

The decreased LE and CNR of the intravascular compound P792 suggests that it does not show marked extravasation from tumor neocapillaries and does not significantly cross the disrupted blood-brain-barrier in this rat tumor model, most likely based on the higher molecular weight as compared to Gd-DOTA. In distinction, P846 showed comparable enhancement properties compared to Gd-DOTA, suggesting that the intermediate size of the molecule allows sufficient crossing of the blood-brain-barrier and the tumor neocapillaries. At the same time the administered dose of P846 was reduced by a factor of four while providing comparable contrast properties as the standard extracellular complex. This may result in a marked reduction of the total administered Gadolinium dose in the potential use of this complex under clinical conditions.

5 Einleitung

5.1 Fragestellung

Ziel der Studie war der Vergleich der beiden experimentellen KM P792 und P846 gegenüber Gd-DOTA hinsichtlich Kontrastmittelanreicherung (Lesion Enhancement, LE) und Kontrast-zu-Rausch-Verhältnis (CNR) bei experimentell erzeugten Hirngliomen in Ratten mittels MRT bei 3 T.

5.2 Grundlagen der Magnetresonanztomographie

Elemente unterscheiden sich in Anzahl der Protonen, Neutronen und Elektronen und damit auch in ihren physikalischen Eigenschaften. Elemente mit gerader Anzahl von Protonen und Elektronen haben keine bis kaum magnetische Eigenschaften, da sich ihre magnetischen Momente (Dipolmomente) in entgegengesetzter Richtung ausrichten und sich dadurch aufheben.

Elemente mit ungerader Anzahl von Protonen oder mit ungepaarten Elektronen haben ein Dipolmoment und können zur Magnetresonanzbildgebung verwendet werden (z.B. ^1H , ^{13}C , ^{19}F , ^{23}Na , ^{31}P). Wegen seines starken Dipolmomentes und seiner Häufigkeit im menschlichen Körper wird das ^1H -Atom bevorzugt für die Bildgebung bei der MRT verwendet.

Atome mit ungerader Kernladungszahl rotieren mit einer bestimmten Frequenz um die eigene Achse, sie besitzen einen Spin. In einem externen Magnetfeld B_0 richten sich die Dipolmomente entlang der Magnetfeldachse aus und rotieren zusätzlich mit einer bestimmten Frequenz, der sogenannten Larmorfrequenz (Gleichung 1), um die Achse des externen Magnetfeldes. Diese Rotation wird Präzession genannt und ist abhängig von der Feldstärke des Magnetfeldes in der sich das Atom befindet. Die Dipolmomente haben dabei die Möglichkeit, sich entweder parallel oder antiparallel zu B_0 auszurichten, wobei die parallele Ausrichtung dem niedrigeren und stärker

besetzten Energieniveau entspricht und die antiparallele Ausrichtung dem instabileren, weniger besetzten Energieniveau. Die Differenz der Besetzung der Energieniveaus, also die Netto- oder Longitudinalmagnetisierung, ist abhängig von der Feldstärke B_0 und kann, sobald sie von der Achse des Hauptfeldes abweicht, gemessen werden.

$$\omega = \gamma \times B_0$$

ω : Präzessionsfrequenz (in MHz)

γ : gyromagnetisches Verhältnis
(für Protonen 42,5 MHz/T)

B_0 : Stärke des externen Magnetfeldes
(in T)

Gleichung 1: Larmor-Gleichung

Durch Einstrahlen eines Hochfrequenzimpulses mit der Larmorfrequenz kann die bestehende Longitudinalmagnetisierung von B_0 ausgelenkt werden. Der Auslenkwinkel oder Flipwinkel ist dabei abhängig von der Dauer des Impulses. Die Kerne werden nun aus der Longitudinalachse in die Transversalebene umgelenkt (transversal zu B_0). Die Longitudinalmagnetisierung nimmt dadurch ab und eine Transversalmagnetisierung entsteht, die messbar ist. Nach Abschalten des Hochfrequenzimpulses desynchronisieren oder dephasieren die angeregten Kerne zunehmend, die Transversalmagnetisierung nimmt ab und die Longitudinalmagnetisierung wieder zu. Dabei geben die Kerne, die durch den Impuls auf das energetisch höhere Niveau gehoben wurden, ein Signal ab, was auch als freier Induktionszerfall (Free Induction Decay, FID) bezeichnet wird. Dieser FID bzw. Echos von diesem FID werden über Empfangsspulen aufgezeichnet und mit Hilfe des schnellen Fourier-Transformationsalgorithmus (FFT) in seine Bestandteile zerlegt und zur Bilderzeugung verwendet.

5.2.1 T1-Relaxation:

Die T1-Zeit ist eine gewebespezifische, feldstärkenabhängige Zeitkonstante, die angibt, nach welcher Zeit die Longitudinalmagnetisierung nach Auslenkung durch einen 90°-Impuls wieder 63% des Maximalwertes erreicht hat. Sie ist davon abhängig, wie gut die angeregten Protonen ihre überschüssige Energie an ihre Umgebung oder das „Gitter“ abgeben können, in dem sie sich befinden. Die T1-Relaxation wird deswegen auch als „Spin-Gitter-Relaxation“ bezeichnet. Da Wassermoleküle eine hohe Eigenbewegung aufweisen, kann auf sie relativ schlecht Energie übertragen werden, ihre T1-Zeit ist demzufolge lang. Demgegenüber hat Fettgewebe aufgrund der Größe und Struktur seiner Moleküle eine geringere Eigenbewegung, kann dadurch besser die Energie der Protonen an das Gitter abgeben und ist deshalb durch eine kürzere T1-Zeit gekennzeichnet.

5.2.2 T2-Relaxation:

Die T2-Zeit ist ebenfalls feldstärke- und gewebeabhängig und beschreibt die Zeit, in der die Transversalmagnetisierung auf 37% des Anfangswertes nach Auslenkung abgenommen hat. Die Abnahme der Transversalmagnetisierung ist Folge des Verlustes der Phasenkohärenz aufgrund kleinster Inhomogenitäten des Magnetfeldes, die sowohl durch benachbarte Kerne und deren eigene magnetische Momente als auch durch lokale Störungen des statischen Hauptmagnetfeldes B_0 hervorgerufen werden. Die T2-Relaxation wird auch „Spin-Spin-Relaxation“ genannt. In homogenen, frei beweglichen Flüssigkeiten bleibt die Transversalmagnetisierung dadurch länger erhalten als in Feststoffen oder visköseren Systemen. Deswegen hat Wasser im Vergleich zu Fettgewebe eine längere T2-Zeit und dadurch höhere Signalintensität im T2-gewichteten Bild. Unabhängig vom untersuchten System ist die T2-Zeit immer kürzer als die T1-Zeit, die Transversalmagnetisierung nimmt also schneller ab als die Longitudinalmagnetisierung wieder zunimmt.

5.2.3 MR-Bildgebung bei höheren Feldstärken

Vergrößert man die Feldstärke des äußeren Magnetfelds B_0 , so verringert sich die Besetzung des höheren der beiden möglichen Energieniveaus (antiparallel zu B_0) und die Energiedifferenz zwischen beiden Energieniveaus nimmt zu. Dies resultiert in einer linearen Zunahme der Anzahl der Protonen, die angeregt werden können. Jedes Proton präzediert mit einer ebenfalls linear von der Feldstärke abhängigen Frequenz und gibt damit nach Anregung eine größere Energiemenge an das umgebende Gitter ab. Dadurch kommt es zur Zunahme der Longitudinalmagnetisierung und zu einer theoretischen Vervierfachung des damit messbaren Signals bei Verdoppelung der Feldstärke. Da aber auch das Rauschen linear mit der Feldstärke zunimmt, steigt das SNR ungefähr linear mit der Feldstärke [Crooks et al., 1984]. Mehrere Studien mit dem auch von uns verwendeten Tiermodell zeigten einen SNR-Gewinn von bis zu 90% bei 3 T verglichen mit 1,5 T bei identischen T1w Turbospinechosequenzen (TSE) [Biswas et al., 2005 und Runge et al. 2006].

Der aus der höheren Feldstärke resultierende Signalgewinn kann auf verschiedene Arten zur Verbesserung der Bildgebung verwendet werden. Bei gleicher Messzeit kann die räumliche Auflösung deutlich verbessert werden. Demgegenüber kann bei gleichbleibender Auflösung die Akquisitionszeit der Sequenzen deutlich verkürzt werden [Edelstein et al., 1986].

Ein Hauptproblem der Zunahme der Feldstärke ist die größere Menge an Energie, die durch die Anregungs- oder Auslenkpulse in den Körper gelangt. Solche Hochfrequenzfelder interagieren mit dem Körper und ein Teil ihrer Energie wird im Körper zu Wärme umgewandelt. Bei der Abschätzung von Wärmeeffekten wird die spezifische Absorptionsrate (SAR, in W/kg) zu Hilfe genommen. Mit ihr kann die Energie, die pro Zeiteinheit an ein Kilogramm Gewebe abgegeben wird, gemessen werden. Die für den klinischen Gebrauch gültigen SAR-Leitlinien versuchen, die Erwärmung durch Radiofrequenzimpulse gleich welchen Gewebes bis auf maximal 1°C zu limitieren (US-Departement of Health and Human Services, 1998). Für die meisten Sequenzen im klinischen Gebrauch ergeben sich keine SAR-Einschränkungen.

Bei sehr energieintensiven Sequenzen wie z.B. schnellen T1w Turbo-Spinecho-Sequenz (fast spin echo, FSE) [Frayne et al., 2003] oder der MR-Angiographie mit Magnetisierungstransfer [Thomas et al., 2002] können die SAR-Grenzwerte bei 3 T leicht überschritten werden und machen deshalb eine Anpassung der Untersuchungsprotokolle durch zusätzliche Pausen oder Reduzierung des Flipwinkels nötig.

Zusätzliche Aspekte, die bei der Bildgebung mit 3 T berücksichtigt werden müssen, sind:

- Ein höherer akustischer Geräuschpegel durch schnellere und stärkere Gradienten [Ravicz et al., 2000].
- Ein größeres Ausmaß der chemischen Verschiebung (Chemical Shift) an Grenzflächen zwischen Wasser und Fett, das mit einer höheren Bandbreite der Frequenzkodierung auf Kosten der SNR reduziert werden kann [Frayne et al., 2003].
- Der Anstieg der T1-Zeit (und damit ein Abfall der T1-Relaxationsrate $R1 = 1/T1$) für die meisten Gewebe muss bei fast gleichbleibenden Werten für T2 und R2 bei der Wahl der geeigneten TE, TR und TI berücksichtigt werden [Wansapura et al., 1999].
- Die Verstärkung der Suszeptibilitätsartefakte und Verkürzung der T2*-Zeit, die v.a. bei Gradientenechosequenzen (GRE) als Signalauslöschungen zu sehen sind, aber bei der Diagnostik von Blutungen und Blutabbauprodukten von Nutzen sein können [Delano et al., 2006].
- Der oft fehlende Nachweis der MR-Kompatibilität und Sicherheit vieler Implantate bei einer Feldstärke von 3 T gegenüber Feldstärken $\leq 1,5$ T [Shellock 2002].

5.3 Kontrastmittel in der MRT

In den bildgebenden Verfahren, die auf Röntgenstrahlung basieren, werden barium- oder jodhaltige KM verwendet, die die Röntgenstrahlung absorbieren und dadurch indirekt auf dem Röntgenfilm sichtbar werden. In der MRT sind die verwendeten KM nicht direkt sichtbar, sondern sie beeinflussen die Relaxationsraten der in der Umgebung des KMs vorhandenen Protonen.

Mehrere Parameter haben Einfluss auf das Kontrastverhalten in der MRT:

- Die Protonendichte
- Die Relaxationszeiten
- Die magnetische Suszeptibilität, also die Fähigkeit einer Substanz oder eines Materials durch ein äußeres Magnetfeld magnetisiert zu werden

Da es schwierig ist, den Wassergehalt, respektive die Protonendichte eines Gewebes zu verändern, beeinflussen die MR-Kontrastmittel die magnetischen Eigenschaften wie Relaxationszeit [Van Dijk et al., 1997] und Suszeptibilität [Villringer et al., 1988]. Grundsätzlich werden diamagnetische, paramagnetische, superparamagnetische und ferromagnetische Substanzen unterschieden [Caravan et al., 2004]. Diamagnetische Substanzen haben eine negative Suszeptibilität, paramagnetische Substanzen eine schwach positive und superparamagnetische eine um 2-3 Potenzen stärkere Suszeptibilität als paramagnetische Substanzen. Ferromagnetische Substanzen besitzen eine stark positive Suszeptibilität.

In der MRT werden am häufigsten paramagnetische Kontrastmittel verwendet, deren molekularer Aufbau auf Gd-Chelaten basiert.

5.3.1 Geschichte und Wirkungsmechanismus paramagnetischer Substanzen

Paramagnetische Substanzen sind definiert als Elemente, die mindestens ein ungepaartes Elektron in der Atomhülle bzw. eine ungerade Anzahl von Hüllelektronen besitzen. Dadurch ist die Ladung in diesen Elementen ungleich verteilt und es bildet sich ein elektromagnetisches Dipolmoment aus, das die Energieabgabe der angeregten Protonen an das umliegende Gitter (T1-Relaxation) und in geringerem Maße auch an die umgebenden Protonen (T2-Relaxation) beschleunigt. Die Größe der Moleküle spielt dabei eine entscheidende Rolle. Je größer ein Molekül ist, desto langsamer ist seine Eigenrotation. Je mehr also die Rotation des Molekül-Proton-Komplexes mit der Larmorfrequenz der Protonen korreliert, desto effizienter werden die Protonen der Umgebung relaxiert [Solomon 1955 und Bloembergen 1957]. Die durch die KM erzielte Verkürzung der T1-Relaxationszeit führt zu einem Signalanstieg und, abhängig von der Umgebungssignalintensität, auch zu erhöhten Bildkontrasten. Lauterbur et al. (1978) gelang es mithilfe paramagnetischer Substanzen (Mangansalz) verschiedene Gewebe dank ihrer unterschiedlichen Relaxationsraten voneinander zu differenzieren. Die erste kontrastmittelunterstützte MR-Studie am Menschen wurde von Young et al. (1981) durchgeführt, indem Eisenchlorid zur Darstellung des Gastrointestinaltraktes verwendet wurde. Das diagnostische Potential von gadoliniumhaltigem KM konnte zum ersten Mal von Carr et al. (1984) demonstriert werden, indem Patienten mit Hirntumoren Gd-DTPA (Gadolinium III komplexiert mit Diethylentriaminpentaessigsäure) intravenös verabreicht wurde und eine Kontrastmittelanreicherung im Bereich der durch die Tumoren geschädigten Blut-Hirn-Schranke nachgewiesen werden konnte. Gd-DTPA wurde 1988 als erstes KM für die Magnetresonanztomographie unter dem Namen Magnevist® (Schering AG, Deutschland) zugelassen.

Zusammengefasst beeinflussen paramagnetische Substanzen die Signalintensität wie folgt:

- Die überwiegende Verkürzung der T1-Relaxation führt zur einer Zunahme der Signalintensität, die - abhängig von der Signalintensität in der Umgebung und somit auch der angewendeten MR-Sequenz - einen erhöhtem Bildkontrast und eine verbesserte Ortsauflösung bewirken kann
- Verbesserte Kontrast- und Ortsauflösung können bei geeigneter Fragestellung zu mehr diagnostischer Bildinformation führen
- Die Gesamtuntersuchungszeit bei T1-gewichteten Spin-Echo-Sequenzen wird verkürzt

[Niendorf und Balzer, 1997]

5.3.2 Extrazelluläre Kontrastmittel

Die meisten zugelassenen MR-Kontrastmittel zählen zu den sogenannten extrazellulären KM und haben sehr ähnliche Eigenschaften: Sie sind hydrophil, haben ähnliche Relaxivitäten und sind sehr stabile Komplexe [Kimura et al., 2005 und Frenzel et al., 2008]. Durch ihre geringe molekulare Größe treten sie rasch in das Interstitium über, können aber die gesunde Blut-Hirn-Schranke nicht überwinden. Diese Substanzen zeigen ähnliche in vivo Verteilung [Kirchin et al., 2003], können aber aufgrund einer vorübergehenden Bindung an Albumin unterschiedliche Kontrasteigenschaften besitzen [Cavagna et al., 1997]. Die Ausscheidung erfolgt meist unverändert über die Nieren. Gewebe mit erhöhtem interstitiellem Volumen wie z.B. Tumoren oder Entzündungsareale reichern vermehrt KM an und liefern dadurch mehr Signal [Brasch et al. 1984]. Neben der zerebralen Bildgebung werden diese KM auch zur funktionellen Darstellung der Nieren, zur Angiographie und in Kombination mit schnellen Akquisitionstechniken auch zur Perfusionsbildgebung verwendet [Caravan et al. 2004].

5.3.3 Intravasale Kontrastmittel (Blood Pool Agents)

Ein großer Nachteil der extrazellulären KM bei der Angiographie ist der schnelle Austritt aus dem Gefäßsystem, der die Darstellung des arteriellen Gefäßsystems meist nur in der ersten Passage des KM-Bolus erlaubt. Verschiedene Ansätze versuchen dieses Problem zu umgehen: Durch Bindung an Proteine (z.B. MS-325) oder durch Vergrößerung der Seitenketten des Chelators (z.B. P792) können diese Substanzen das Gefäßsystem nur schwer verlassen. Sie verbleiben also in höherer Konzentration im Blut und ermöglichen dadurch auch spätere Aufnahmen, z.B. die Darstellung der Gleichgewichtsphase (equilibrium phase oder steady-state phase) und nach digitaler Subtraktion auch die Darstellung des venösen Gefäßsystems. Durch das größere Molekulargewicht werden höhere Relaxivitäten erzielt, die eine Dosisreduktion dieser Substanzen erlauben.

Eine andere Möglichkeit stellt die Verwendung von kleinen Eisenoxidteilchen (SPIO, superparamagnetic iron oxide, z.B. SHU 555 A, Resovist®, Schering AG, Berlin, Germany) dar. Sie sind klein genug, um nicht vom retikuloendothelialen System aufgenommen zu werden, aber zu groß, um die Blutgefäße verlassen zu können. Durch ihre guten T1-Relaxivitäten eignen sie sich ebenfalls zur Darstellung des Gefäßsystems auch bei höheren Feldstärken [Reimer P, Allkemper T et al. 1999].

5.4 Hirntumoren

5.4.1 Klassifikation der Hirntumoren

1956 wurde durch einen Beschluss des Exekutivkomitees der World Health Organization (WHO) die Ausarbeitung einer internationalen Klassifikation der Tumoren des Menschen initiiert. Ziel war es, eine weltweit anwendbare und akzeptierte Klassifikation und Graduierung von Tumoren zu etablieren, um mit definierten histopathologischen und klinischen Diagnosekriterien epidemiologische und klinische Studien über Institutions- und Ländergrenzen hinaus durchführen und miteinander vergleichen zu können.

Die erste Ausgabe einer histologischen Einteilung von Tumoren des Nervensystems wurde 1979 von der WHO veröffentlicht [Zülch, 1979]. Weitere Editionen folgten 1993 [Kleihues et al., 1993] und 2000 [Kleihues und Cavenee, 2000]. Seit 2000 beinhaltet die Klassifikation zusätzlich kurz gefasste Abschnitte über die Genetik, Epidemiologie, klinische Symptome, Bildgebung und Prognose der jeweiligen Tumoren. Die aktuelle Klassifikation stammt aus dem Jahre 2007 und hat hinsichtlich der histopathologischen Einteilung keine wesentlichen Änderungen erfahren, allerdings wurden einige seltene Entitäten bzw. prognostisch relevante Varianten bekannter Hirntumoren zusätzlich in die Liste aufgenommen [Louis et al., 2007]. Alle vier Auflagen sind durch Übereinkunft internationaler Arbeitsgruppen renommierter Pathologen und Genetiker entstanden.

Das sogenannte „Grading“, also die Abstufung der Tumoren untereinander (bei der WHO von I - IV) ist ein Mittel, das biologische Verhalten von Tumoren vorherzusagen und somit auch die Entscheidung für oder gegen bestimmte Therapien wie Bestrahlung oder Chemotherapie zu treffen. Es handelt sich somit um eine horizontale Malignitätsskala, die die Überlebenschancen ganz unterschiedlicher Tumorarten miteinander vergleicht. Eine Ausnahme bildet das Grading der astrozytären Gliome, die in einer vertikalen Skala, also einer genauen histopathologischen Abstufung innerhalb einer Tumorart definiert sind.

Hier entspricht WHO Grad I dem pilozytischen Astrozytom, Grad II dem diffusen Astrozytom mit mittleren Überlebensraten nach Diagnosestellung von mehr als 5 Jahren und Grad III dem anaplastischen Astrozytom mit einem mittleren Überleben von 2-5 Jahren. Grad IV entspricht dem Glioblastoma multiforme, das gekennzeichnet ist durch schnelles Wachstum, hohe Zellularität mit Ödembildung sowie häufig Nekrosen und Einblutungen. Üblicherweise treten Glioblastome im Alter zwischen 45 und 60 Jahren auf und stellen mit 12% - 15% aller intrakraniellen Neoplasien bzw. mit 50% - 60% der astrozytischen Tumoren die häufigste Form der Gliome dar. Die Überlebenszeit beträgt in der Regel weniger als ein Jahr nach Diagnosestellung [Kleihues et al., 2000].

5.4.2 Auszug aus der WHO-Klassifikation der Tumoren des ZNS (2007)

Neuroepitheliale Tumoren

<u>Astrozytäre Tumoren</u>	<u>WHO-Grad</u>
Pilozytisches Astrozytom	I
Pilomyxoides Astrozytom	II
Subependymales Riesenzellastrozytom	I
Pleomorphes Xanthoastrozytom	II
Diffuses Astrozytom	II
Fibrilläres Astrozytom	II
Protoplasmatisches Astrozytom	II
Gemistozytäres Astrozytom	II
Anaplastisches Astrozytom	III
Glioblastom	IV
Riesenzellglioblastom	IV
Gliosarkom	IV
Gliomatosis cerebri	III

Tabelle 1: Auszug aus der WHO-Klassifikation der ZNS-Tumoren 2007

5.5 Bildgebung des Gehirns

Als bildgebende Techniken für die Untersuchung des Gehirns stehen sowohl die Computertomographie (CT) als auch die MRT zur Verfügung. Die Vorteile der CT liegen dabei eindeutig in der Verfügbarkeit, der Untersuchungsdauer und den geringeren Kosten. Durch ihre hohe Sensitivität im Nachweis akuter intrakranieller Blutungen kommt die CT vor allem in der Notfalldiagnostik des Schädel-Hirn-Traumas und des Schlaganfalls zum Einsatz.

Die Vorteile der MRT bestehen in der Möglichkeit, Schichten in jeder beliebigen Raumrichtung, vor allem aber in angepasst axialen, koronaren und sagittalen Ebenen anfertigen zu können. Zudem besticht die MRT durch einen deutlich verbesserten Weichteilkontrast und durch eine deutlich bessere Verträglichkeit der verwendeten KM gegenüber der CT. Bereits frühe Stadien von Hirninfarkten [Pykett et al. 1983], Infektionen oder Tumoren [Felix et al. 1985] können mit der MRT früher als mit der CT nachgewiesen werden. Vergleichende Studien zeigten eine größere Sensitivität der MR-Bildgebung beim Auffinden intrazerebraler Raumforderungen im Vergleich zur CT [Brant-Zawadzki et al. 1983 und Bradley et al. 1984]. Insbesondere die Verwendung von intravenös appliziertem, Gd-haltigem KM ermöglicht eine verbesserte Abgrenzung zwischen Tumor, vasogenem Ödem und umgebendem Hirngewebe [Claussen et al. 1985 und Runge et al. 1985a]. Zusätzliche Informationen über die Charakteristika der Läsion können weitere Untersuchungen wie z.B. Diffusions- und Perfusionsbildgebung oder die MR-Spektroskopie liefern [Ricci PE et al. 2001, Mechtler L 2009, Price SJ 2010].

Die primären Ziele der diagnostischen Bildgebung bei vermuteten Hirnläsionen sind diese zu detektieren, ihre anatomische Lokalisation und Größe zu bestimmen, sie näher zu charakterisieren, um eine Reihe möglicher Differentialdiagnosen einzugrenzen oder idealerweise die genaue Diagnose zu stellen.

6 Material und Methodik

6.1 Experimentelles Hirntumormodell

Experimentelle Hirntumormodelle finden in der Erforschung sowohl der molekularbiologischen Eigenschaften als auch der mikroskopischen und makroskopischen Anatomie von Tumoren weite Verbreitung. Aufgrund deutlicher Abweichungen in der Genexpression, die zu Unterschieden in Proliferationsraten, Wachstumsmustern und der Gefäßversorgung der Tumoren führen, sind Versuchsergebnisse aus diesen Modellen nicht ohne weiteres auf den Menschen übertragbar [Sibenaller et al. 2005]. Trotz allem ist insbesondere auf dem Feld der diagnostischen Bildgebung, speziell der kontrastmittelunterstützten MR-Bildgebung, die Verwendung von Hirntumormodellen an Ratten allgemein anerkannt. In den letzten Jahren wurden zahlreiche Studien mit diesem nachfolgend näher erläuterten Modell durchgeführt [Le Duc et al. 2004, Biswas et al. 2005, Fan et al. 2005, Runge et al. 2006, Wintersperger et al. 2007].

Das in unserer Studie verwendete experimentelle Hirntumormodell an Ratten geht ursprünglich auf die von Benda et al. (1968) entwickelte C6-Zelllinie in Ratten zurück und wurde später mehrfach modifiziert. Benda et al. (1971) gelang es durch Injektion von N-Nitrosomethylharnstoff in Ratten Hirntumoren zu induzieren und daraus eine stabile Zelllinie zu isolieren, die histologisch menschlichen Glioblastomen ähnelt. Kobayashi et al. (1980) veränderten das Modell dahingehend, dass ein definiertes Volumen an Tumorzellen (10 μ l) stereotaktisch in definierte Hirnregionen injiziert wurde und damit wesentlich besser reproduzier- und miteinander vergleichbare Tumoren entstanden. Um Tumorzellen histologisch nachweisen zu können, wurde die Zellreihe mit dem aus E. Coli stammenden Reportergen LacZ mittels retroviralen Vektoren infiziert. Dieses Gen kodiert das Enzym β -Galactosidase, das mittels histochemischer Färbung die Identifikation einzelner Tumorzellen erlaubt [Shimohama et al. 1989 und Lin et al. 1990]. Eine weitere Verbesserung hinsichtlich Tumorimplantation und Reproduzierbarkeit konnte mit der dauerhaften stereotaktischen Implantation einer Kanüle in das Gehirn der zu untersuchenden Ratten erreicht werden [Morreale et al. 1993].

6.2 Versuchsaufbau

Die Versuche wurden im Rahmen eines dreimonatigen Forschungsaufenthaltes in der radiologischen Abteilung Scott & White Clinic and Hospital, Temple, Texas, USA unter der Leitung von Val Runge durchgeführt. Die Studie war vom IACUC (Institutional Animal Care and Use Committee) zugelassen.

Die Versuchsgruppen in Form zweier randomisierter Kohorten bestanden aus jeweils zehn weiblichen CDF Fisher 344 Ratten (Charles River Laboratories Inc., Wilmington, MA, USA), in deren Gehirn zuvor bereits stereotaktisch jeweils eine Kanüle im Bereich des parieto-temporalen linken Kortex implantiert wurde. Für den Hirntumor wurden C-6/LacZ Gliomazellen (ATCC, Manassas, Virginia, USA) *in vitro* in Dulbecco's Modified Eagle's Medium kultiviert und in einer definierten Konzentration von 10^8 Zellen/ml und einem definierten Injektionsvolumen von 10 μ L (entsprechend 10^6 Zellen) durch die Kanüle appliziert. Die Tiere wurden während allen Prozeduren wie Injektion der Tumorzellen oder Legen der Venenverweilkanüle durch Inhalationsnarkose mit Isofluran betäubt. Die zur Bildgebung und anschließenden Auswertung nötige Tumorgroße war nach ungefähr zwei Wochen erreicht. Die Zugehörigkeit zu einer der beiden Gruppen und die Reihenfolge der KM-Applikation wurden randomisiert. Jedes Tier erhielt an zwei aufeinander folgenden Untersuchungsterminen eines der beiden KM, wobei eine Pause von mindestens 24 h eingehalten wurde, um die vollständige Ausscheidung des vorherigen KMs zu gewährleisten. Unmittelbar nach der Untersuchung mit dem zweiten KM wurden die Tiere durch intramuskuläre Injektion einer Überdosis von 10% Pentobarbitallösung getötet und anschließend in flüssigem Stickstoff kryofixiert. Nach Dekapitation der Ratten wurden die Gehirne mit 10%iger Formalinlösung fixiert und zur anschließenden histopathologischen Untersuchung an einen Veterinärpathologen übersandt. Nach Einbettung in Paraffin erfolgte die Anfertigung von Schnitten in drei verschiedenen anatomischen Regionen und zwar auf Höhe des Chiasma opticum, der Corpora mammillaria und im Übergang Pons-Cerebellum. Nach Färbung mit Hämatoxylin-Eosin (HE) wurden die Präparate auf das Vorhandensein und die Größe des Glioblastoms untersucht und das Vorhandensein von Gliomen bei allen untersuchten Tieren bestätigt.

6.3 Narkoseführung

Vor der Bildgebung erfolgte die Betäubung der Tiere durch Inhalation eines Gemisches aus Isoflurangas und Sauerstoff. Nachfolgend wurden 0,07 ml einer Mischung aus 10 mg Ketamin, 1 mg Xylazin und 0,1 mg Azepromazin pro ml intramuskulär in den Hinterlauf der Tiere injiziert. Die Applikation der Kontrastmittel erfolgte über eine Venenverweilkanüle in der Schwanzvene der Tiere.

6.4 Experimentelle Magnetresonanztomographie

6.4.1 Magnetresonanztomograph und 4-Kanal Tierspule

Die MRT-Untersuchungen wurden mit einem 3 Tesla MAGNETOM Tim Trio Kernspintomographen (Siemens AG, Healthcare Sector, Erlangen, Deutschland) in der Scott&White Klinik in Temple, TX, USA) durchgeführt (Abb. 1). Als Empfangsgerät wurde eine speziell für Kopfuntersuchungen an kleinen Tieren gefertigte 4-Kanal-Empfänger-Oberflächenspule (RAPID MR International, LLC, Columbus, Ohio, USA) verwendet (Abb. 2).

Für die Bildgebung wurden die Tiere in Bauchlage positioniert und die Oberflächenspule vorsichtig auf dem Kopf der Ratten fixiert. Besondere Aufmerksamkeit bei der Lagerung galt der Verhinderung einer Atemwegsobstruktion (Abb. 3). Zur Vermeidung von Hypothermie während der Untersuchung waren die Tiere mit einem trockenen Tuch abgedeckt



Abb. 1: Siemens Magnetom TIM Trio

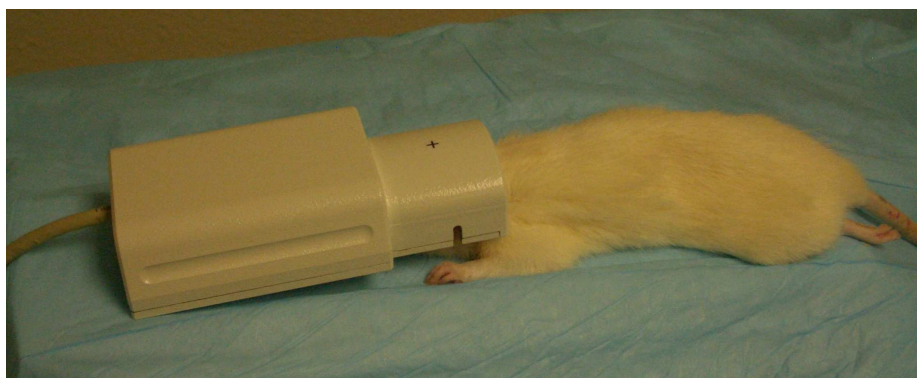


Abb. 2: Rapid MR 4 Kanal Tierspule mit Fischer CDF 344 Versuchstier



Abb. 3: Versuchstier in Bauchlage mit Tierspule und Venenverweilkanüle.

Nach Korrektur der Inhomogenitäten des Magnetfelds (Shimming) erfolgte die Durchführung einer Planungssequenz (Scout), mittels derer die Hauptsequenz in koronarer Schichtführung an die Kanüle angepasst wurde. Jeweils vor der Gabe eines der KM wurden zwei identische Nativ-Sequenzen für die Berechnung der Mittelungsdatensätze (mean average) und der Subtraktionsdatensätze akquiriert. Danach erfolgte die Kontrastmittelgabe mit fünf konsekutiven Bildakquisitionen jeweils 1, 3, 5, 7 und 9 min nach Applikation des KMs.

6.4.2 Sequenz-Protokoll

Für alle Scans wurde eine T1w-Gradientenechosequenz mit den folgenden Parametern benutzt:

TR: 200 ms	TE: 7,38 ms
Flipwinkel: 90°	Akquisitionszeit: 1:42 min
FOV: 40 mm	Akquisitionsmatrix: 256 x 256
Voxelgröße: 0,2 x 0,2 x 2,0 mm ³	

6.4.3 Auswertung

Die gewonnenen Bilddatensätze wurden zur weiteren Bearbeitung und Auswertung auf eine Leonardo-Workstation (SIEMENS Leonardo, SIEMENS AG, Healthcare Sector, Erlangen, Deutschland) transferiert, auf der das Signal-zu-Rausch-Verhältnis (SNR), Kontrast-zu-Rausch-Verhältnis (CNR) und die KM-Anreicherung im Tumor (Lesion Enhancement, LE) durch Region-of-Interest (ROI) Analyse ermittelt wurden. Die ROI's wurden in allen aufgenommenen Sequenzen vor und nach KM-Gabe und zu allen Messzeitpunkten an identischer anatomischer Position im Tumor und im gesunden Hirngewebe platziert und damit die jeweiligen Signalintensitäten (SI) in diesen Arealen gemessen. Da bei der verwendeten Spule mit zunehmendem räumlichem Abstand zu den einzelnen Spulenelementen ein nicht linearer Signalabfall zu verzeichnen war, fertigten wir für die Ermittlung der Signalintensitäten im Tumor und Hirnparenchym sowie des Hintergrundrauschens in diesen Regionen zwei identische Sequenzen vor KM-Gabe an. Aus diesen wurden Mittelungsdatensätze und Subtraktionsdatensätze erstellt. Aus den Mittelungsdatensätzen wurden die Signalintensitäten für Tumor und gesundes Hirnparenchym errechnet. Das Hintergrundrauschen wurde aus der Standardabweichung der ROI's in den Subtraktionsdatensätzen im Tumor und gesundem Hirnparenchym ermittelt [Reeder et al., 2005].

Die ermittelten Parameter wurden wie folgt definiert:

$$SNR_{brain,t} = \frac{SI_{brain,t}}{\sqrt{2} \cdot SD_{subtract}} \quad (1)$$

$$SNR_{tumor,t} = \frac{SI_{tumor,t}}{\sqrt{2} \cdot SD_{subtract}} \quad (2)$$

$$CNR_t = \frac{SI_{tumor,post,t} - SI_{brain,post,t}}{\sqrt{2} \cdot SD_{subtract,mean}} \quad (3)$$

$$LE = \frac{SI_{tumor,post,t} - SI_{tumor,pre}}{\sqrt{2} \cdot SD_{subtract}} \quad (4)$$

$SI_{tumor,t}$ = Signalintensität des Tumors zum Zeitpunkt t (vor oder nach KM-Gabe)

$SI_{brain,t}$ = Signalintensität des gesunden Hirnparenchyms zum Zeitpunkt t
(vor oder nach KM-Gabe)

$SD_{subtract}$ = Standardabweichung der Subtraktionsdatensätze vor KM-Gabe, definiert als Hintergrundrauschen

6.4.4 Verwendete Kontrastmittel

In dieser Arbeit wurden drei verschiedene Gd-haltige KM der Firma GUERBET (Aulnay-sous-Bois, Frankreich) miteinander verglichen. Die physikalisch-chemischen Eigenschaften der drei verschiedenen Verbindungen sind in Tabelle 2 nachfolgend aufgelistet.

Gd-DOTA (Dotarem®)

Gd-DOTA ist ein ionisches, makrozyklisches KM, in dem ein Gadoliniumion mit 1,4,7,10-Tetraazacyclododecan-1,4,7,10-tetraessigsäure (DOTA), einem Liganden mit acht Bindungsstellen, komplexiert ist (Abb. 4). Es zählt zu den extrazellulären, unspezifischen, niedermolekularen KM, die sich in der initialen Perfusionsphase im Intravasalraum verteilen, rasch in den Extrazellulärraum extrazerebraler Gewebe übertreten, die intakte Blut-Hirn-Schranke nicht überschreiten und keine nennenswerte Proteinbindung besitzen. Gd-DOTA wird schnell und unverändert renal ausgeschieden. Es zeichnet sich bei vergleichbarer Relaxivität und Verteilung im Organismus gegenüber GD-DTPA durch eine um fünf Zehnerpotenzen höhere In-vitro-Stabilität und eine um 93% höhere mittlere letale Dosis (LD50) aus [Bousquet et al., 1988]. Es ist seit 1989 in Europa zugelassen und wird als sehr sicheres, nebenwirkungsarmes KM mit hohem diagnostischen Nutzen angesehen [Herborn et al., 2006]. Wir benutzten Gd-DOTA als Referenzsubstanz mit der in der klinischen Anwendung üblichen Dosierung von 0,1 mmol/kg Körpergewicht.

P792 (Gadomelitrol, Vistarem®)

P792 ist ein experimentelles KM, bestehend aus einem monomeren makromolekularen organischen Gd-Chelatkomplex, der sich von Gd-DOTA ableitet und mit großen hydrophilen Seitengruppen versehen ist, die die Bioverträglichkeit gewährleisten [Port et al. 2001a] (Abb. 4). Das Molekulargewicht beträgt ungefähr 6,5 kDa, der mittlere Moleküldurchmesser ist mit 5,05 nm etwa fünfmal so groß wie der Durchmesser von Gd-DOTA (0,9 nm). Durch die molekulare Größe ist der Übertritt durch ungeschädigtes Endothel stark eingeschränkt, das Verteilungsvolumen bleibt also größtenteils auf den Intravasalraum beschränkt [Gaillard et al. 2002]. P792 zeigt

keine Proteinbindung, wird ebenfalls glomerulär frei filtriert und fast ausschließlich renal eliminiert [Port et al. 2001b]. Aufgrund dieser Eigenschaften zählt es zu den intravasalen KM mit schneller Ausscheidung (RCBPA, rapid clearance blood pool agent). Die Toxizität ist geringer als die der unspezifischen KM. Durch die hohe Relaxivität und das pharmakokinetische Profil sind die Hauptanwendungsbereiche von P792 in der Angiographie [Corot et al. 2003 und Herborn et al. 2007], der myokardialen Perfusion [Dewey et al. 2004 und Peukert et al. 2007] und der Permeabilitätsbildgebung bei Tumoren zu sehen [Su et al., 1998]. Durch die uneingeschränkte glomeruläre Filtration ohne tubuläre Sekretion oder Resorption bei vernachlässigbarer Diffusion in das Interstitium eignet sich P792 auch zur kontrastmittelunterstützten funktionellen Bildgebung der Nieren [Mandry et al. 2005]. Die Dosierung von P792 wurde an die T1-Relaxivität von Gd-DOTA angepasst und betrug 0,05 mmol/kg KG.

P846:

Diese Substanz stellt eine neue Verbindung mittleren Molekulargewichts mit hoher Relaxivität bei 3 T dar. Sie besteht ebenfalls aus einem Gd-Ion pro Molekül, das von einem makrozyklischen dreiarmigen Chelator umgeben ist und durch glomeruläre Filtration schnell aus dem Blut und Körper entfernt wird [Peldschus et al., 2008] (Abb. 4). Die hohe Relaxivität ist nicht auf die Bindung an Albumin im Serum zurückzuführen, sondern basiert auf einer Veränderung des Gadolinium-Kerns und den speziellen Seitenketten des Komplexes. Im Vergleich zu konventionellen extrazellulären KM wie z.B. Gd-DOTA besitzt P846 eine eher geringe Diffusions- oder Konvektionsrate durch das vaskuläre Endothel, verbleibt länger im Interstitium und ermöglicht längere Zeitfenster zur Bildakquisition [Jacquier et al. 2008]. Deshalb wird P846 auch als gering diffundierendes KM (LDA, low diffusible agent) einer Untergruppe der intravasalen KM, klassifiziert. Mögliche Anwendungsgebiete sind die Angiographie [Peldschus et al. 2008], Perfusionsbildgebung und Permeabilitätsbildgebung bei Tumoren [Heilmann et al. 2009] sowie die Bildgebung bei Myokardinfarkt [Jacquier et al. 2008a und 2008b]. Aufgrund der hohen Relaxivität von P846 wurde die Dosierung um den Faktor 4 auf 0,025 mmol/kg KG reduziert.

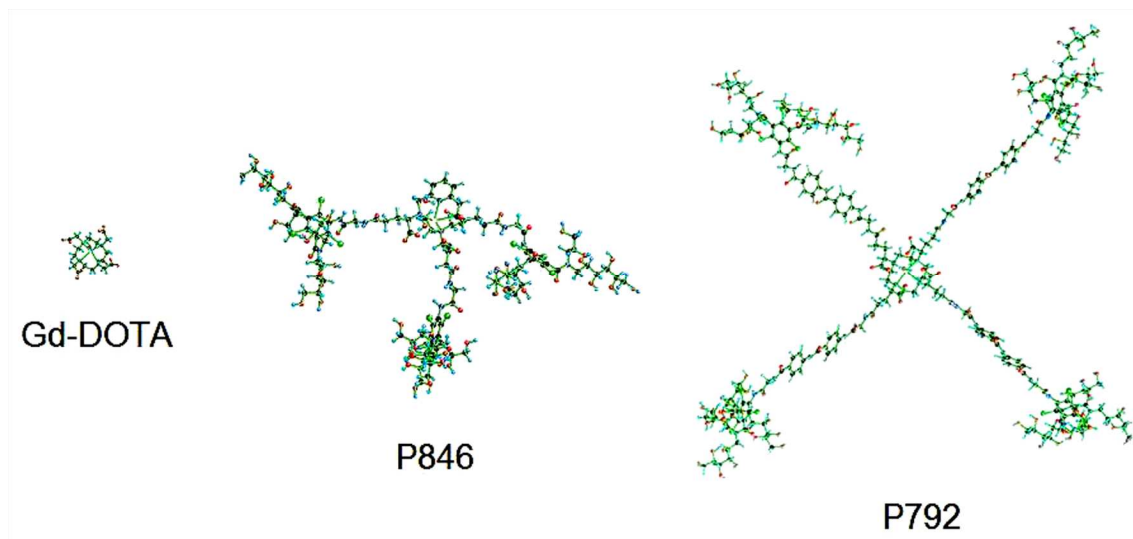


Abb.4: Molekülstrukturen der verwendeten Kontrastmittel

	MW (kDa)	Gd Ionen	r1/r2 (1.5 T)	r1/r2 (3 T)	T _{1/2} α (min)	T _{1/2} β (min)
Gd-DOTA	0,6	1	3,5/4,2 mM ⁻¹ •s ⁻¹	3,4/4,2 mM ⁻¹ •s ⁻¹	2,8 min	26 min
P846	3,5	1	32/41 mM ⁻¹ •s ⁻¹	24/34 mM ⁻¹ •s ⁻¹	7,5 min	51 min
P792	6,5	1	27/68 mM ⁻¹ •s ⁻¹	12/68 mM ⁻¹ •s ⁻¹	4 min	32 min

MW (Molekulargewicht); r1 und r2 (r1 und r2 Relaxivitäten, 37°C, 4% menschliches Albuminserum); T_{1/2} α/β (min) Halbwertszeit in Ratten

Tabelle 2: Chemisch-physikalische Eigenschaften der verwendeten Kontrastmittel

7 Ergebnisse

In beiden Gruppen verstarb je ein Versuchstier vor Abschluss aller Untersuchungen, am ehesten aufgrund eines übermäßigen Tumorwachstums. Bei jeweils 9 Tieren pro Gruppe konnten die Untersuchungen und anschließenden Messungen mit beiden KM erfolgreich durchgeführt werden. Der Veterinärpathologe bestätigte das Vorhandensein von Gliomen in allen untersuchten Gehirnen bei nur geringer bis mäßiger Tumornekrose. Die nachfolgenden Abbildungen (Abb. 5-8) der histologischen Aufarbeitung eines der Versuchstiere zeigen eine nicht nekrotisierende Tumordinfiltration der linken Hemisphäre ohne Mittellinienüberschreitung. Der zentrale Defekt entspricht der implantierten Kanüle.

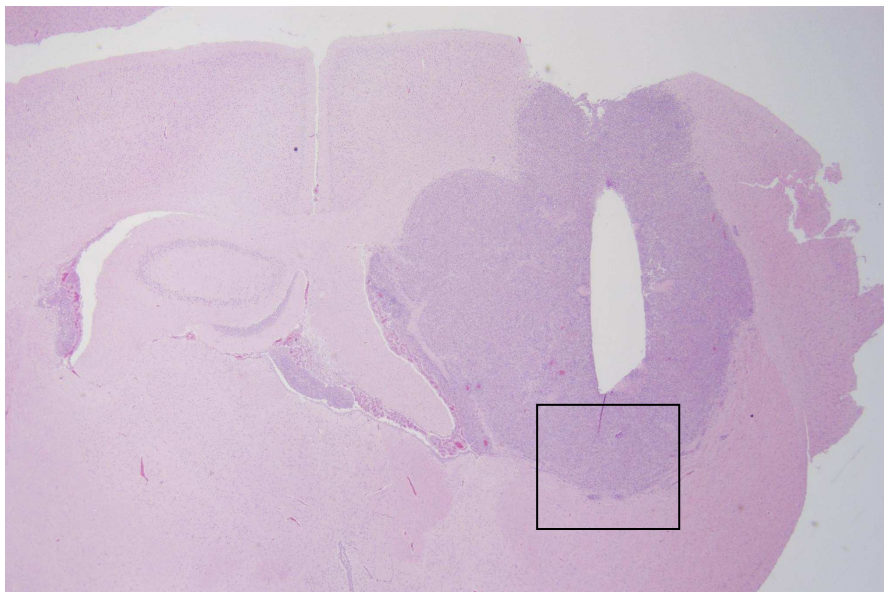


Abb. 5: Schnitt in Höhe der Kanüle, HE-Färbung, 2fache Vergrößerung. Die folgenden Abbildungen zeigen weitere Vergrößerungen des oben markierten Ausschnitts.

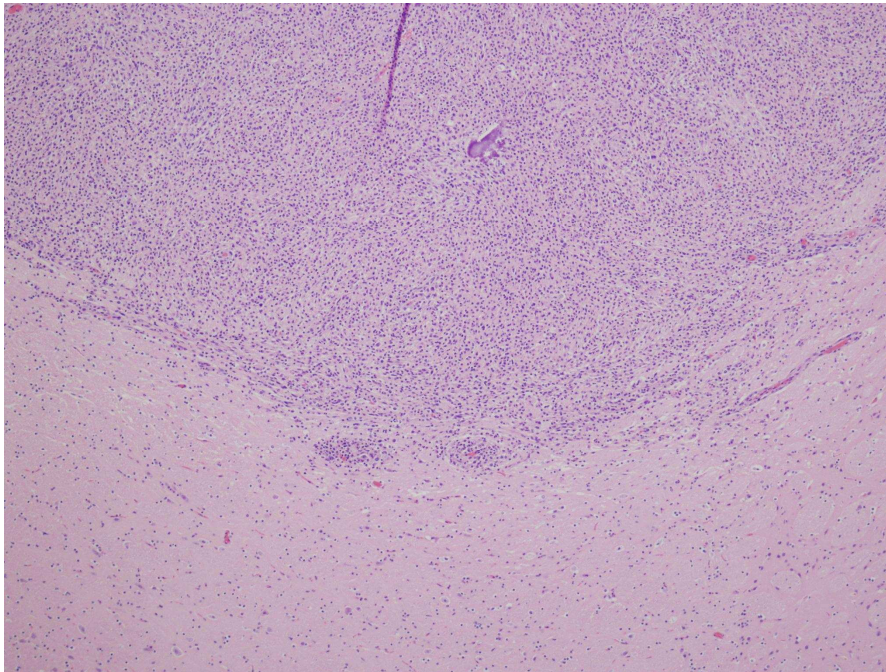


Abb. 6: 10fache Vergrößerung der basalen Tumoranteile aus Abb. 5

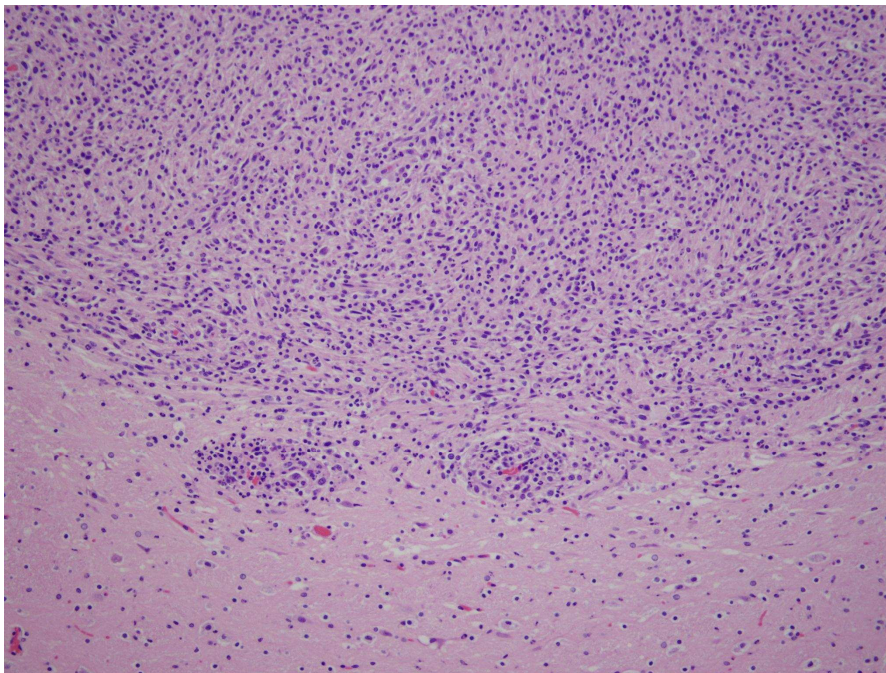


Abb. 7: 20fache Vergrößerung

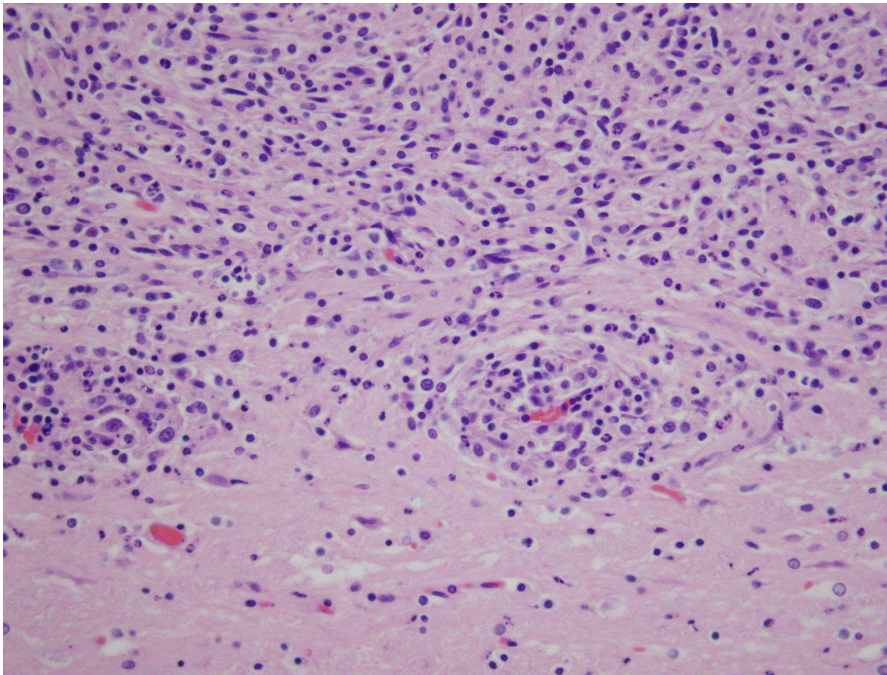


Abb. 8: 40fache Vergrößerung

7.1 Gruppe Gd-DOTA versus P846

7.1.1 Signal-zu-Rausch Verhältnis (SNR):

Bei der SNR-Ermittlung im Tumor zeigten beide KM ein signifikant höheres Signal-zu-Rausch-Verhältnis im Vergleich zu den Aufnahmen vor KM-Gabe und im Vergleich zum normalen Hirngewebe nach KM-Applikation.

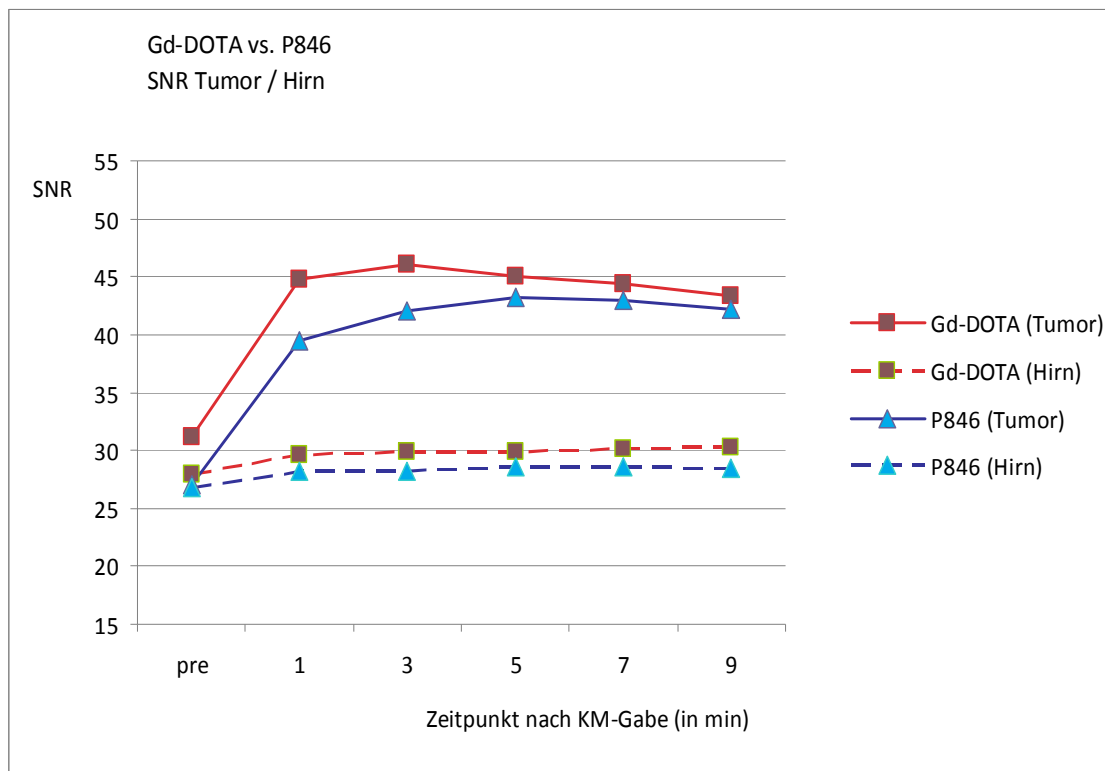


Abb. 9: Graphische Darstellung der SNR der Gruppe Gd-DOTA vs. P846

		SNR pre	1	3	5	7	9
Läsion	Gd-DOTA	31,2 (±10,4)	44,7 (±10,6)	46,1 (±11,2)	45,1 (±11,6)	44,3 (±11,7)	43,4 (±11,9)
	P846	27,0 (±7,8)	39,5 (±11,5)	42,0 (±11,2)	43,2 (±11,5)	42,9 (±11,3)	42,2 (±11,3)
Hirn	Gd-DOTA	27,9 (±9,2)	29,7 (±9,1)	29,9 (±8,9)	29,8 (±8,8)	30,1 (±8,9)	30,2 (±9,1)
	P846	26,7 (±8,1)	28,2 (±8,9)	28,2 (±8,5)	28,6 (±8,5)	28,6 (±8,5)	28,4 (±8,5)

Tabelle 3: SNR-Messwerte der Gruppe Gd-DOTA vs. P846

7.1.2 Kontrastmittelanreicherung (Lesion Enhancement, LE):

Der Vergleich der Kontrastmittelanreicherung im Tumor (LE) ergab zu keinem der Messzeitpunkte signifikante Unterschiede zwischen Gd-DOTA und P846 ($P > 0.05$). Zu erwähnen ist ein nicht signifikanter, aber konstanter Abfall des LE bei Gd-DOTA ab der 5. Minute, der auch in der Gruppe Gd-DOTA vs. P792 zu sehen war (s. Tabelle).

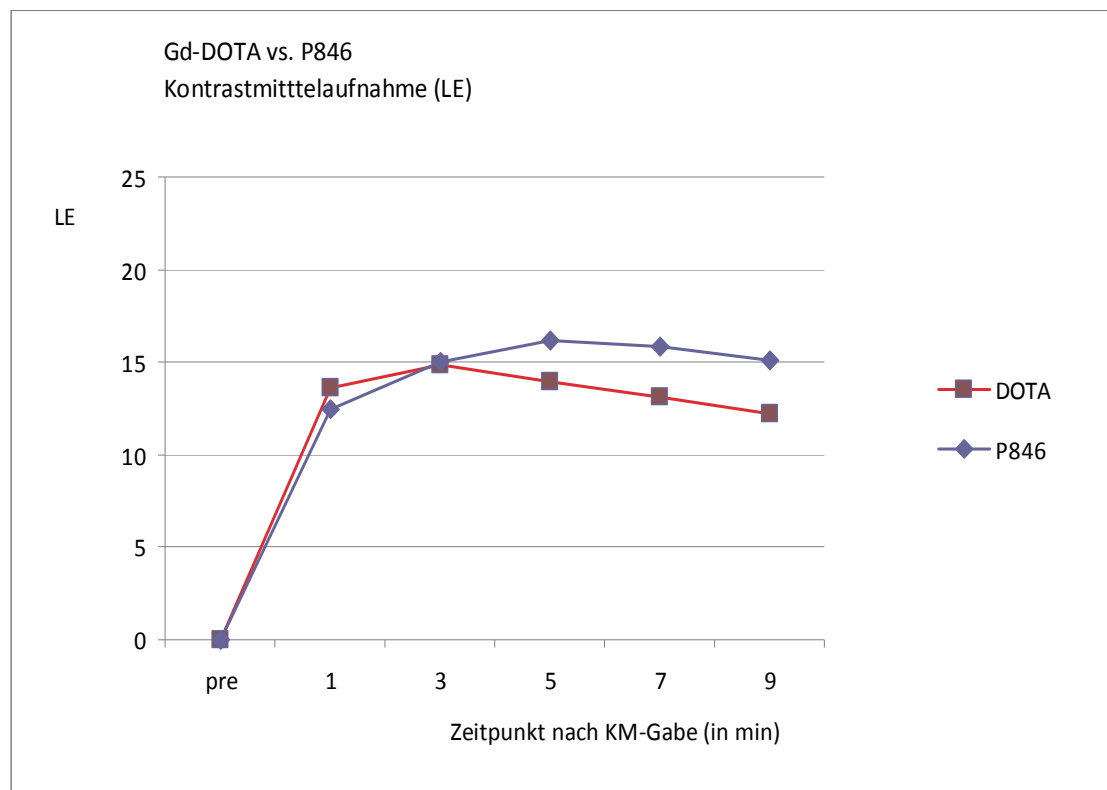


Abb. 10: Graphische Darstellung der LE der Gruppe Gd-DOTA vs. P846

Zeit (min)	pre	1	3	5	7	9
Gd-Dota	0	13,6 (±6,1)	14,9 (±5,6)	13,9 (±5,0)	13,2 (±4,6)	12,2 (±4,2)
P846	0	12,5 (±6,7)	14,9 (±6,6)	16,2 (±6,9)	15,9 (±6,3)	15,1 (±5,8)
<i>P</i>	-	0,46	0,95	0,12	0,11	0,11

Tabelle 4: Messwerte der LE der Gruppe Gd-DOTA vs. P846

7.1.3 Kontrast-zu-Rausch-Verhältnis (CNR):

Auch bei der Berechnung des Kontrast-zu-Rausch-Verhältnisses (CNR) zeigten sich zu keinem Zeitpunkt signifikante Unterschiede zwischen Gd-DOTA und P846. Der schon bei der SNR- und LE-Messung vorhandene leichte nicht signifikante Abfall der Werte nach drei Minuten bei Gd-DOTA konnte auch bei der CNR-Messung beobachtet werden.

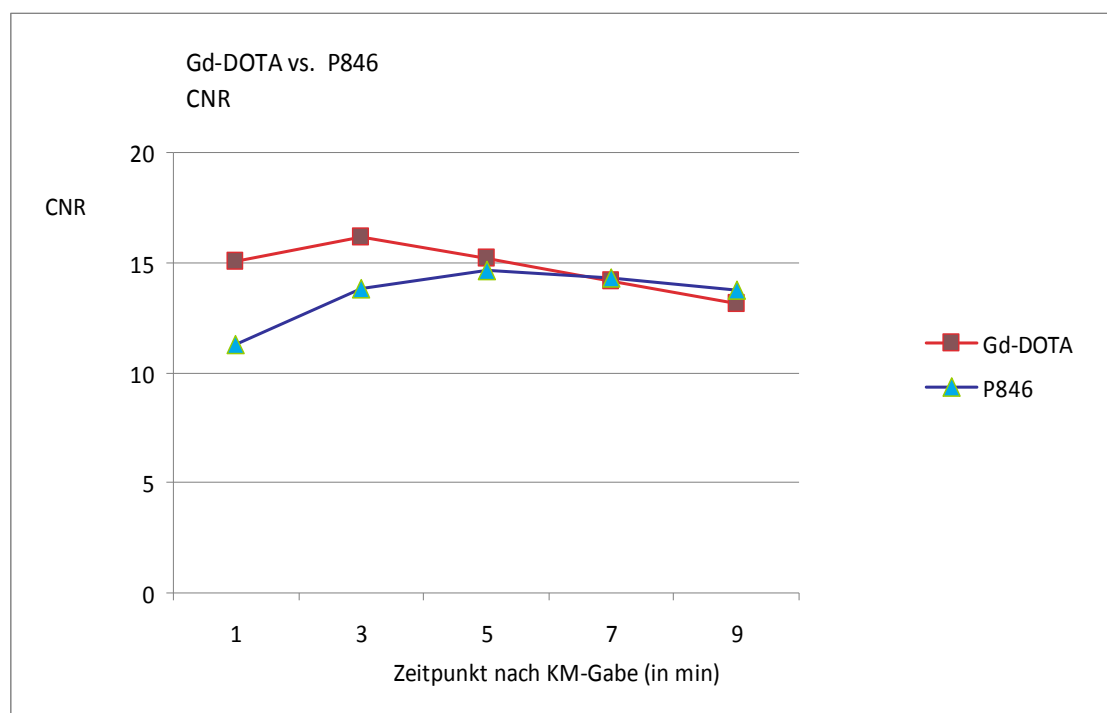


Abb. 11: Graphische Darstellung des CNR der Gruppe Gd-DOTA vs. P846

Zeit (min)	1	3	5	7	9
Gd-Dota	15,1 (±7,6)	16,2 (±7,2)	15,2 (±6,4)	14,2 (±6,1)	13,1 (±5,8)
P846	11,3 (±4,9)	13,8 (±5,0)	14,6 (±5,9)	14,3 (±5,6)	13,7 (±5,6)
<i>P</i>	<i>0,08</i>	<i>0,24</i>	<i>0,79</i>	<i>0,95</i>	<i>0,81</i>

Tabelle 5: Messwerte des CNR der Gruppe Gd-DOTA vs. P846

7.1.4 MR-Bilder Gruppe Gd-DOTA vs. P846

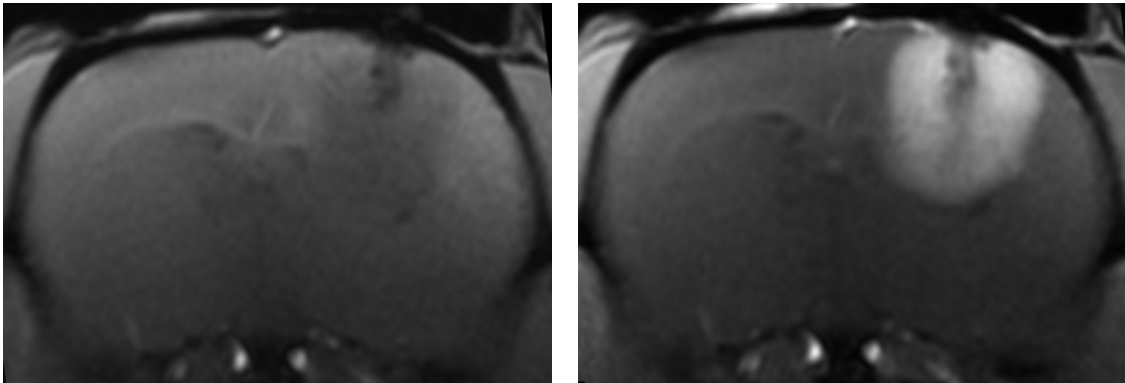


Abb. 12: Gruppe Gd-DOTA vs. P846 vor sowie 7min nach Applikation von Gd-DOTA.

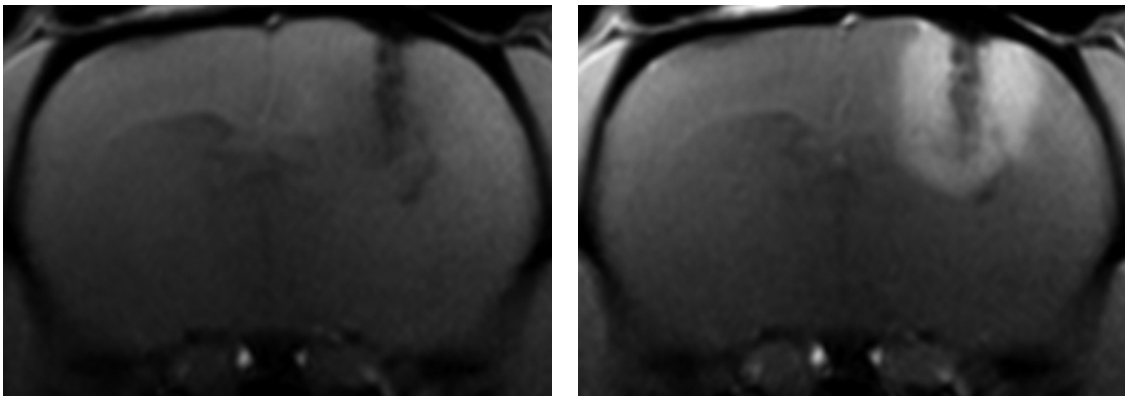


Abb. 13: Gleiches Versuchstier wie in Abb. 12 vor sowie 7 min nach Applikation von P846.

7.2 Gruppe Gd-DOTA versus P792

7.2.1 Signal-zu-Rausch Verhältnis (SNR):

Die SNR-Messungen für Gd-DOTA in dieser Gruppe ergaben vergleichbare Ergebnisse und einen ähnlichen Signalabfall wie in der Gruppe Gd-DOTA vs. P846. Auch mit P792 zeigte sich ein signifikanter Anstieg des SNR im Tumor im Vergleich zu den nativen Aufnahmen und im Vergleich zum normalen Hirngewebe nach Applikation des KM. Die SNR-Werte im Tumor nahmen jedoch für P792 bis zum letzten Messzeitpunkt nach neun Minuten leicht zu. Im direkten Vergleich von Gd-DOTA und P792 ergab sich aber für P792 eine zu allen Messzeitpunkten signifikant geringeres SNR.

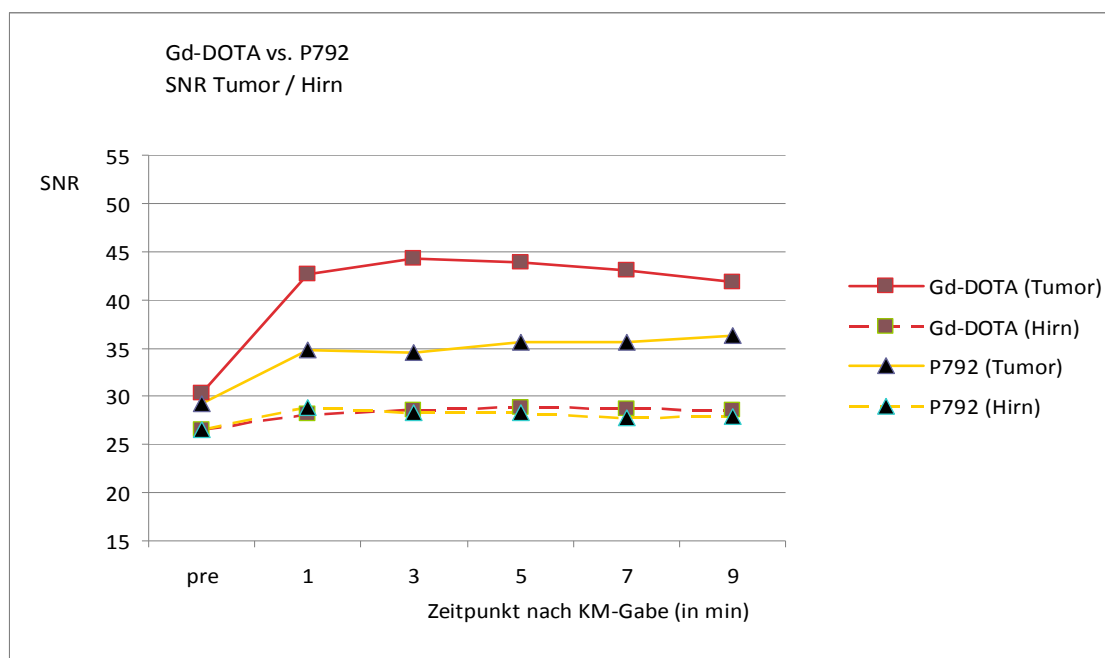


Abb. 14: Graphische Darstellung der SNR der Gruppe Gd-DOTA vs. P792

		SNR pre	1	3	5	7	9
Läsion	Gd-DOTA	30,4 (±9,9)	42,6 (±10,8)	44,3 (±11,2)	43,9 (±11,5)	43,0 (±11,4)	41,9 (±11,4)
	P792	29,2 (±10,8)	34,7 (±13,7)	34,5 (±12,5)	35,7 (±12,9)	35,6 (±12,4)	36,3 (±12,5)
Hirn	Gd-DOTA	26,5 (±7,6)	28,2 (±7,6)	28,6 (±7,5)	28,8 (±7,4)	28,7 (±7,4)	28,5 (±7,5)
	P792	26,5 (±9,5)	28,9 (±11,6)	28,3 (±10,5)	28,2 (±10,6)	27,7 (±9,8)	27,8 (±9,6)

Tabelle 6: Messwerte der SNR der Gruppe Gd-DOTA vs. P792

7.2.2 Kontrastmittelanreicherung (Lesion Enhancement, LE):

Nach Applikation von P792 konnte über den gesamten Messzeitraum eine langsame Zunahme der Kontrastmittelanreicherung im Tumor beobachtet werden, die jedoch signifikant geringer als die Kontrastmittelanreicherung mit Gd-DOTA ausfiel ($P \leq 0,03$ für alle Zeitpunkte).

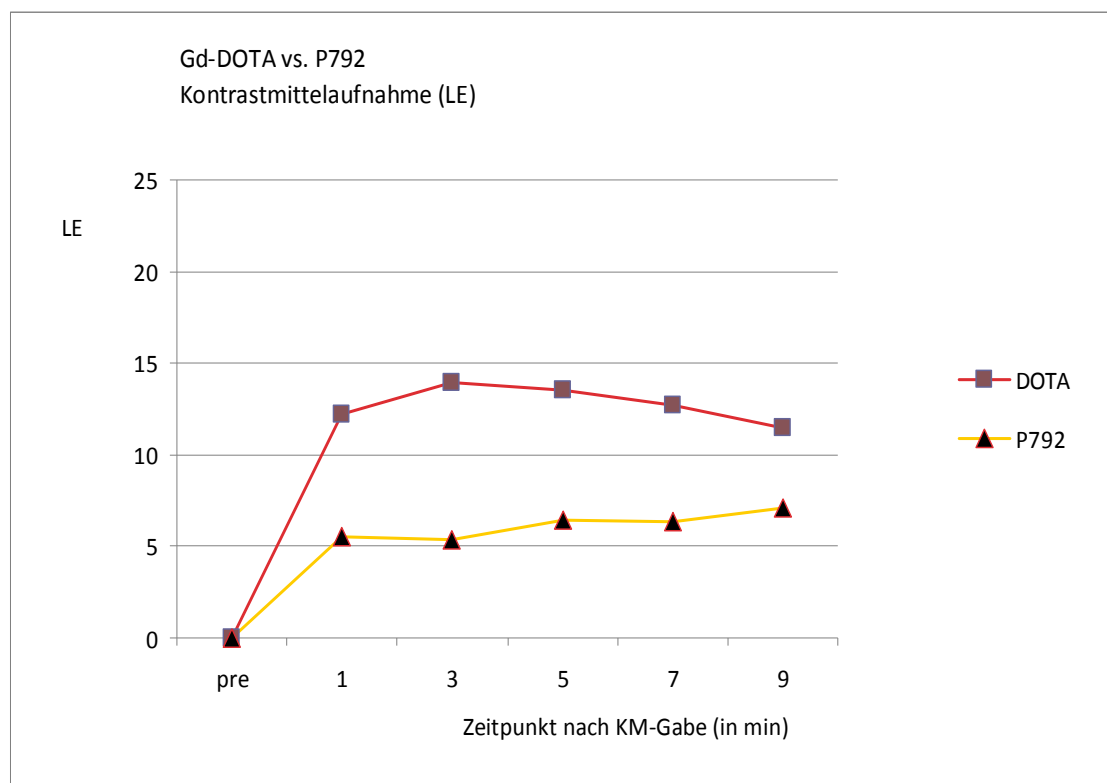


Abb. 15: Graphische Darstellung der LE der Gruppe Gd-DOTA vs. P792

Zeit (min)	pre	1	3	5	7	9
Gd-Dota	0	12,2 (±5,0)	13,9 (±4,4)	13,5 (±4,0)	12,7 (±3,5)	11,5 (±2,7)
P792	0	5,5 (±6,6)	5,3 (±4,5)	6,4 (±5,3)	6,4 (±4,3)	7,1 (±4,6)
<i>P</i>	-	0,03	<0,01	<0,01	<0,01	0,02

Tabelle 7: Messwerte der LE der Gruppe Gd-DOTA vs. P792

7.2.3 Kontrast-zu-Rausch-Verhältnis (CNR):

Auch bei der CNR-Bestimmung ergab sich mit P792 eine kontinuierliche Zunahme der CNR-Werte über den Messzeitraum. Trotz des nach 5 Minuten bereits beginnenden leichten CNR-Abfalls für Gd-DOTA zeigten sich signifikant niedrigere CNR-Werte für Vistarem (P792) zu allen Messzeitpunkten ($P \leq 0,03$).

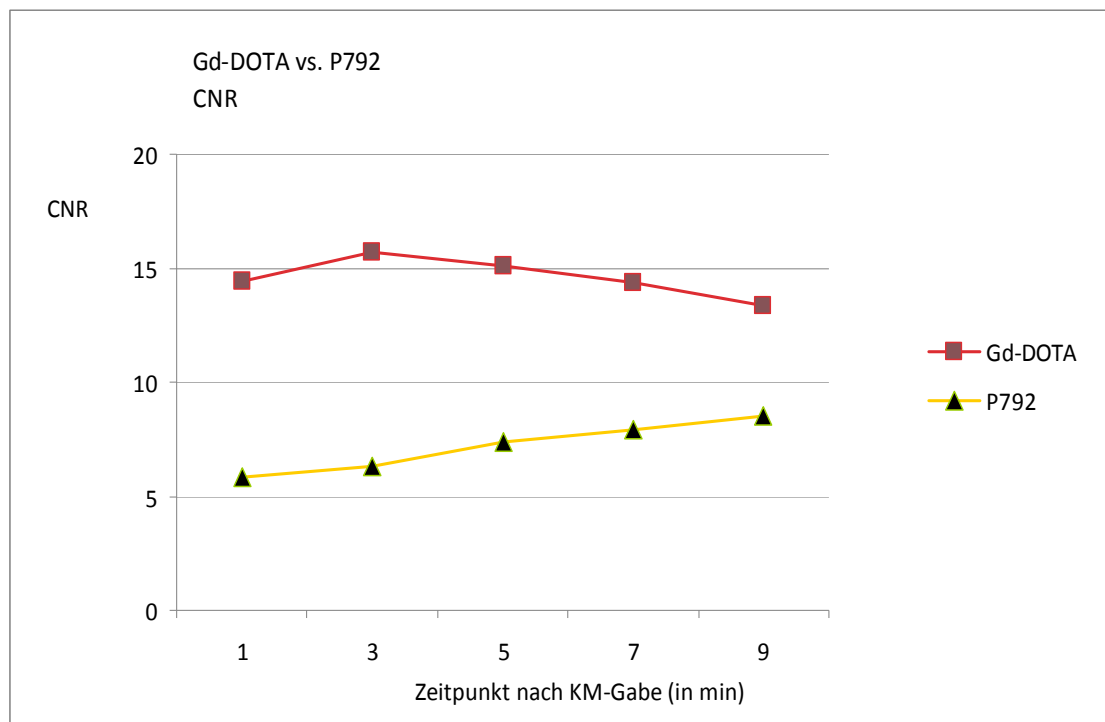


Abb. 16: Graphische Darstellung des CNR der Gruppe Gd-DOTA vs. P792

Zeit (min)	1	3	5	7	9
Gd-Dota	14,4 (±7,4)	15,7 (±6,8)	15,1 (±6,1)	14,3 (±5,9)	13,4 (±5,7)
P792	5,9 (±3,8)	6,3 (±3,4)	7,4 (±3,6)	7,9 (±3,8)	8,5 (±4,3)
<i>P</i>	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	0,03

Tabelle 8: Messwerte des CNR der Gruppe Gd-DOTA vs. P792

7.2.4 MR-Bilder der Gruppe Gd-DOTA vs. P792:

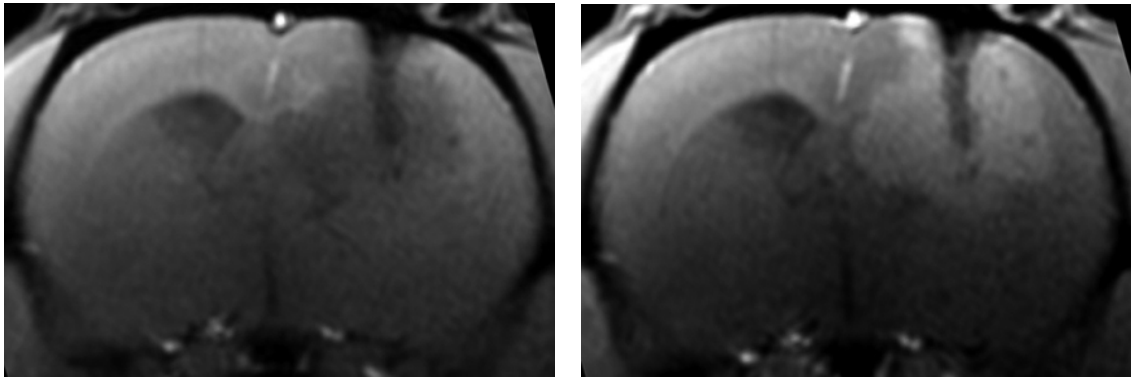


Abb. 17: Gruppe Gd-DOTA vs. P792 vor sowie 7 min nach Gd-DOTA Applikation.

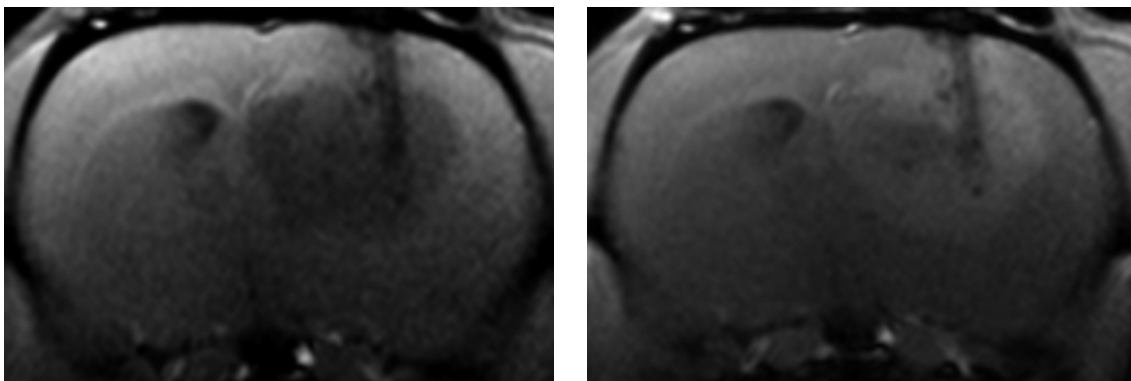


Abb. 18: Gleiches Versuchstier wie in Abb. 14 vor sowie 7 min nach P792 Applikation.

8 Diskussion

Die Blut-Hirn-Schranke ist eine physiologische Barriere zwischen Blutkreislauf und dem Zentralnervensystem, gebildet durch Astrozyten, Perizyten und den Endothelzellen der Kapillaren. Sie dient dazu die Milieubedingungen des Gehirns konstant aufrechtzuerhalten und von denen des Blutes abzugrenzen. So können hydrophile Substanzen die gesunde Blut-Hirn-Schranke kaum oder gar nicht überwinden [Bart et al., 2000].

In Hirntumoren und dem angrenzenden Hirngewebe kommt es zu einer Reihe von komplexen pathophysiologischen Veränderungen, die zum Verlust der Eigenschaften der Blut-Hirn-Schranke führen [Seitz et al. 1987 und Groothuis et al. 1991]. Elektronenmikroskopisch konnte in hochmalignen Astrozytomen nachgewiesen werden, dass sich die „tight junctions“ zwischen den Endothelzellen öffnen und dies zur vermehrten Ödembildung führt [Long 1970 und Nir et al. 1986]. Die vermehrte Sekretion des vaskulären endothelialen Wachstumsfaktors (VEGF) stimuliert die Angiogenese, vermindert die Expression des „tight junction“- Proteins Occludin und erhöht dadurch die Durchlässigkeit der Endothelzellen (Liebner et al. 2000). Durch die vermehrte Fensterung der Tumorkapillaren und den Zusammenbruch der interendothelialen „tight junctions“ im umgebenden Hirngewebe können wasserlösliche Moleküle vom Intravasalraum in das Interstitium des Tumors gelangen [Ostrowitzki et al. 1998]. Diese Veränderungen macht man sich bei der kontrastmittelunterstützten MR-Bildgebung von Hirntumoren zu Nutze, da es durch sie zur vermehrten Anreicherung von Gadoliniumchelaten im Tumor im Vergleich zum gesunden Hirngewebe kommt [Runge et al. 1985b]. Dies geschieht sowohl durch freie Diffusion als auch durch transendothelialen Transport [Fonchy et al. 2001]. Die Permeabilität des Endothels ist aber abhängig vom interstitiellen Druck und von Ladung, Aufbau, Größe und Lipophilie des diffundierenden Moleküls [Schmiedl et al. 1992]. Die unterschiedlichen Eigenschaften verschiedener zur MR-Bildgebung von Hirntumoren eingesetzter KM können so zu unterschiedlichen Anreicherungsverhalten führen.

Grundsätzlich können drei Hauptgruppen von KM in der Magnetresonanztomografie unterschieden werden:

1. Unspezifische KM mit extrazellulärer Verteilung, die seit Ende der 80er Jahre klinische Anwendung finden [Gaillard et al., 2001]
2. Gewebespezifische KM, die entweder durch passiven oder aktiven Transport in den Intrazellulärraum gelangen. Beispiele hierfür sind superparamagnetische Eisenoxide (SPIO, USPIO), die von den Zellen des retikuloendothelialen Systems aufgenommen werden oder Gd- und Mn-Chelate, die von Hepatozyten aufgenommen und z.T. auch biliär ausgeschieden werden. [Gaillard et al., 2001]
3. Intravasale KM (Blood-pool agents), die aufgrund ihrer molekularen Größe und ihrer chemischen Eigenschaften das Gefäßsystem kaum oder gar nicht verlassen können. Sie besitzen entweder Gadolinium oder Eisen als Zentralatom. Bis heute ist nur ein Präparat zum klinischen Gebrauch zugelassen, und dies nur in Europa (Gadofosveset, Vasovist®, Bayer Schering Pharma, Deutschland). [Gaillard et al., 2001]

Zur MR-Bildgebung von Hirntumoren mit KM werden hohe Kontraste in T1w-Sequenzen benötigt, die auf mehrere Arten erzielt werden können. Eine Möglichkeit besteht darin, die o.g. extrazellulären, niedrigmolekularen KM wie z.B. Gd-DTPA oder Gd-DOTA zu verwenden. Diese Verbindungen verteilen sich schnell im Extrazellulärraum und reichern sich somit auch im Tumor an, besitzen aber sowohl bei niedrigen als auch bei hohen Feldstärken recht geringe Relaxivitäten. Dadurch benötigt man zur Darstellung von Hirntumoren relativ hohe Dosen (0,1 - 0,2 mmol/kg KG). Eine andere Möglichkeit, einen hohen Kontrast zwischen pathologischem und normalem Gewebe zu erreichen, ist die Verwendung von KM, die hohe Relaxivitäten besitzen.

Diese Verbindungen können aber aufgrund ihres meist hohen Molekulargewichtes nur in geringerem Ausmaß das Gefäßsystem verlassen und reichern somit auch weniger im Tumor an. Um diese Schwierigkeiten zu überwinden, wurde nach einer Verbindung gesucht, die hohe Relaxivität bei niedrigen und hohen Feldstärken besitzt und gleichzeitig durch intermediäres Molekulargewicht einen ausreichenden Austritt in das Interstitium und damit Anreicherung im Tumor gewährleistet.

In unserer Studie untersuchten wir das Verhalten hinsichtlich LE und CNR eines intermediären KMs hoher Relaxivität ohne Proteinbindung (P846) und eines makromolekularen, intravasalen KMs (P792) mit ebenfalls hoher Relaxivität und verglichen die Ergebnisse jeweils mit einem extrazellulären, niedermolekularen KM (Gd-DOTA) als Referenzsubstanz.

P792 zeigte signifikant weniger CNR und LE in den Tumoren im Vergleich zur Referenzsubstanz Gd-DOTA. Dies bestätigt die Ergebnisse früherer Untersuchungen [Robert et al., 2002]. Die verminderte Anreicherung von P792 in den Gliomen kann mit der begrenzten Diffusionsmöglichkeit der makromolekularen Substanz aus dem Gefäßsystem erklärt werden. Dennoch konnte ein langsamer Anstieg von CNR und LE mit P792 während der Untersuchungszeit beobachtet werden, der wohl auf einer langen Zirkulationszeit der Substanz im Blutkreislauf beruht und dadurch zu einem verspäteten, aber anhaltenden Übertritt durch das veränderte Endothel der Mikrogefäße des Tumors in das Interstitium führt. Das längere Verbleiben von P792 im Blutkreislauf im Vergleich zu Gd-DOTA erlaubt die Akquisition von hochauflösenden diagnostischen Bildern auch in der Gleichgewichtsphase der MR- Angiographie. Das verlängerte Zeitfenster der Bildakquisition wurde in einigen tierexperimentellen Studien z.B. zur Detektion von Lungenembolien [Keilholz et al. 2009] oder zur besseren Darstellung von Perfusion und Myokardnekrosen [Peukert et al. 2007] genutzt.

Im Gegensatz dazu zeigte Gd-DOTA ein schnelles und starkes Anreichern in Tumoren. Dies beruht auf dem geringeren Molekulargewicht und -volumen von Gd-DOTA, das zu einer schnellen Diffusion des KMs vom Intravasalraum ins Interstitium führt [Robert et al., 2002].

Der frühe Abfall von LE und CNR mit Gd-DOTA gegenüber den anderen beiden Kontrastmitteln P792 und P846 kann durch eine nichtselektive Wiederaufnahme der niedermolekularen Substanz in das Gefäßsystem und eine rasche Ausscheidung über glomeruläre Filtration erklärt werden.

Im Vergleich zu P792 zeigte P846 an allen Messzeitpunkten ein signifikant höheres CNR und LE, während der Vergleich P846 mit Gd-DOTA ein ähnliches Anreicherungsverhalten ohne signifikante Unterschiede ergab. Obwohl P846 als eine Verbindung mit geringen Diffusionseigenschaften definiert ist, scheint es die geschädigte Blut-Hirn-Schranke in deutlich größerem Maße überwinden zu können als P792, was auf das geringere Molekulargewicht von P846 (3,5 kDa) im Vergleich zu P792 (6,5 kDa) zurückzuführen sein könnte. Darüberhinaus erleichtern möglicherweise Unterschiede in der dreidimensionalen Struktur die Diffusion von P846 aus dem Intravasalraum in das Interstitium des Tumors. Obwohl die Dosierung der KM an deren unterschiedliche Relaxivitäten angepasst wurde, können die hohen r_1 -Werte von P846 bei 1,5 T und 3 T (siehe Tab. 2) zusätzlichen Einfluss auf die höhere messbare Signalintensität von P846 im Vergleich zu P792 haben. Durch den verminderten Abfall der r_1 -Werte bei 3 T von P846 verglichen mit anderen makromolekularen KM ist vom theoretischen Aspekt her P846 für MR-Anwendungen bei hohen Feldstärken besonders geeignet [Zhou et al., 2004].

Während die LE-Werte von Gd-DOTA während des Untersuchungszeitraums von 9 Minuten bereits zurückgingen, blieb für P846 die Anreicherung im Tumor länger bestehen, was mit einer verminderten Wiederaufnahme des Kontrastmittels aufgrund seines größeren Molekulargewichts im Vergleich zu Gd-DOTA erklärt werden kann.

Ein weiterer günstiger Nebeneffekt der hohen Relaxivität von P846 ist die Möglichkeit, die applizierte Gadoliniumdosis zu reduzieren. In unserer Studie erzielten wir mit einer Dosierung von 0,025 mmol/kg KG P846 vergleichbare CNR und LE-Werte wie mit Gd-DOTA bei einer viermal höheren Dosierung von 0,1 mmol/kg KG. Jacquier et al. [2008b] reduzierten in ihrem Myokardinfarktmodell an Ratten die applizierte Dosis von P846 um den Faktor 2 im Vergleich zu Gd-DOTA, Peldschus et al. [2008] verwendeten nur ein Viertel der Gd-DOTA Dosis in ihrer Angiographie-Studie an Hasen und

erreichten vergleichbare Kontraste wie mit Gd-DOTA. Diese Ergebnisse gewinnen im Zusammenhang mit der nephrogenen systemischen Fibrose (NSF) noch an Bedeutung, da das Auftreten dieser Krankheit in engem Zusammenhang mit der Verabreichung von gadoliniumhaltigen KM zu stehen scheint [Broome 2008]. Seit der Erstbeschreibung der NSF im Jahre 2000, früher auch fibrosierende Dermopathie genannt, wurden 335 Fälle an das NSF-Register gemeldet [Cowper 2010]. Ein wichtiger pathogenetischer Faktor ist die Stabilität des Gadoliniumkomplexes: Moleküle wie das lineare, nicht-ionische Gadodiamid (Omniscan, GE Healthcare, USA) neigen eher zu spontaner Dissoziation und Transmetallisation mit endogenen Ionen. Die Freisetzung und Ablagerung von Gd^{3+} im Gewebe kann dann zur Ausbildung der Fibrose führen [Morcos 2007]. Doch nicht nur die Stabilität des Komplexes allein, sondern auch die kumulative Gesamtdosis an Gadolinium spielt für das Auftreten von NSF eine wichtige Rolle [Collidge et al., 2007]. Unter der Voraussetzung, dass das Gd-DOTA-Derivat P846 eine ähnliche kinetische und thermische Stabilität besitzt wie Gd-DOTA selbst [Port et al., 2008] würde die Verwendung von P846 eine Dosisreduktion um den Faktor 4 bei gleichbleibenden Kontrasteigenschaften erlauben.

Dies würde bei einem potenziellen klinischen Einsatz des KMs in der Zukunft zu einer deutlichen Einsparung der applizierten Gadoliniumdosis pro kontrastmittelverstärkter MRT-Untersuchung führen.

Zusammenfassend zeigt das intravaskuläre KM P792 in diesem Hirntumormodell in Ratten bei einer Feldstärke von 3 T signifikant weniger LE und CNR als das extrazelluläre KM Gd-DOTA und das makromolekulare KM P846, was vermuten lässt, dass es bei P792 zu einem deutlich geringeren Übertritt über die geschädigte Blut-Hirn-Schranke kommt. Mit P846 jedoch erzielten wir vergleichbare Werte hinsichtlich LE und CNR im Vergleich zu Gd-DOTA, wobei aber nur ein Viertel der Gd-Dosis verwendet wurde. P846 kann somit als ein geeignetes MR-Kontrastmittel für die Detektion von Hirngliomen angesehen werden, da es vergleichbare Anreicherungseigenschaften wie die konventionellen extrazellulären KM besitzt. Darüber hinaus könnte sich P846 aufgrund der verlängerten Signalanreicherung potenziell als ein nützliches KM für MR-Untersuchungen mit längeren Akquisitionszeiten, z.B. MR-gesteuerte Interventionen, erweisen.

9 Aus der Arbeit hervorgegangene Publikationen

Originalarbeit:

Fries P, Runge VM, Bücken A, Schürholz H, Reith W, Robert P, Jackson C, Lanz T, Schneider G.

Brain tumor enhancement in magnetic resonance imaging at 3 tesla: intraindividual comparison of two high relaxivity macromolecular contrast media with a standard extracellular Gd-chelate in a rat brain tumor model.
Invest Radiol. 2009 44 (4):200-206

Wissenschaftliches, elektronisches Poster:

P. Fries, V. M. Runge, H. Schürholz, P. Robert, C. Jackson, T. Lanz, A. Bücken, G. Schneider

Brain tumor enhancement in magnetic resonance imaging at 3 Tesla – intraindividual comparison of two high relaxivity macromolecular contrast media with a standard extracellular Gd-chelate in a rat brain tumor model.
ESMRMB 2008 (02. – 04.10.08, Valencia, Spanien)

Wissenschaftlicher Vortrag:

P. Fries, V.M. Runge, H. Schürholz, P. Robert, C. Jackson, T. Lanz, A. Bücken, G. Schneider

Vergleich zweier makromolekularer Kontrastmittel hoher Relaxivität mit einem extrazellulären Gd-Chelat bei experimentellen Hirntumoren in Ratten mittels MRT bei 3 T.
Deutscher Röntgenkongress 2009 (20. - 23.05.2009 Berlin)

10 Literaturliste

Bart J, Groen HJM, Hendrikse NH et al. (2000) The blood-brain barrier and oncology: new insights into function and modulation. *Cancer Treat Rev* 26:449-462

Benda P, Lightbody J, Sato G, Levine L, Sweet W (1968) Differentiated rat glial cell strain in tissue culture. *Science* 161:370-371

Benda P, Someda K, Messer J, Sweet WH (1971) Morphological and immunochemical studies of rat glial tumors and clonal strains propagated in culture. *J Neurosurg* 34:310-323

Biswas J, Nelson CB, Runge VM, et al. (2005) Brain tumor enhancement in magnetic resonance imaging: comparison of signal-to-noise ratio (SNR) and contrast-to-noise ratio (CNR) at 1.5 versus 3 Tesla. *Invest Radiol* 40:792-797

Bloembergen N (1957) Proton relaxation times in paramagnetic solutions. *J Chem Phys* 27:527

Bousquet JC, Saini S, Stark DD et al. (1988) Gd-DOTA: Characterization of a new paramagnetic complex. *Radiology* 166:693-698

Bradley WG, Waluch V, Yadley RA et al. (1984) Comparison of CT and MR in 400 patients with suspected disease of the brain and cervical spinal canal. *Radiology* 152:695-702

Brant-Zawadzki M, Davis PL, Crooks LE et al. (1983) NMR demonstration of cerebral abnormalities: Comparison with CT. *Am J Roentgenol* 140:847-854

Brasch RC, Weinmann HJ, Wesbey GE (1984) Contrast enhanced NMR imaging: animal studies using gadolinium-DTPA complex. *Am J Roentgenol* 142:625-630

Broome DR (2008) Nephrogenic systemic fibrosis associated with gadolinium based contrast agents: a summary of the medical literature reporting. *Eur J Radiol* 66:230-234

Caravan P, Lauffer RB (2004) Contrast agents: Basic Principles. In: Edelman RR, Hesselink JR, Zlatkin MB, Cruess JV (eds): *Clinical Magnetic Resonance Imaging*, Elsevier, Philadelphia, USA.

Carr DH, Brown J, Bydder GM et al. (1984) Intravenous chelated gadolinium as a contrast agent in NMR imaging of cerebral tumors. *Lancet* 1:484-486

- Cavagna FM, Maggioni F, Castelli PM et al. (1997) Gadolinium chelates with weak binding to serum proteins. A new class of high-efficiency, general purpose contrast agents for magnetic resonance imaging. *Invest Radiol* 32:780-796
- Claussen C, Laniado M, Schörner W et al. (1985) Gadolinium-DTPA in MR imaging of glioblastomas and intracranial metastases. *AJNR Am J Neuroradiol* 6:669-674
- Collidge TA, Thomson PC, Mark PB et al. (2007) Gadolinium-enhanced MR imaging and nephrogenic systemic fibrosis: retrospective study of a renal replacement therapy cohort. *Radiology* 245:168-175
- Corot C, Violas XV, Robert P et al. (2003) Comparison of Different Types of Blood Pool Agents (P792, MS325, USPIO) in an Rabbit MR Angiography-like Protocol. *Invest Radiol* 38:311-319
- Cowper SE (2009) Nephrogenic Fibrosing Dermopathy [NFD/NSF Website]. 2001-2010. Available at <http://www.icnfd.org> Stand 29/05/2010
- Crooks LE, Arakawa W, Hoenninger J et al. (1984) Magnetic Resonance Imaging: Effects of Magnetoc Field Strength. *Radiology* 151:127-133
- Delano MC, Fisher C (2006) 3 T Imaging of the brain. *Magn Reson Imaging Clin N Am* 14:77-88
- Dewey M, Kaufels N, Laule M et al. (2004) Magnetic resonance imaging of myocardial perfusion and viability using a blood pool contrast agent. *Invest Radiol* 39:498-505
- Edelstein WA, Glover GH, Hardy CJ et al. (1986) The intrinsic signal-to-noise ratio in NMR imaging. *Magn Reson Med* 3:604-618
- Fan G, Zang P, Jing F et al. (2005) Usefulness of diffusion/perfusion-weighted MRI in rat gliomas: correlation with histopathology. *Acad Radiol* 12:640-651
- Felix R, Schörner W, Laniado M, Niendorf HP et al. (1985) Brain tumors: MR imaging with gadolinium-DTPA. *Radiology* 156:681-688
- Fonchy E, Lahrech H, François-Joubert A et al. (2001) A new Gadolinium-based contrast agent for magnetic resonance imaging of brain tumors: Kinetic study on a C6 rat glioma model. *J Magn Reson Imaging* 14:97-105
- Frayne R, Goodyear BG, Dickhoff P et al. (2003) Magnetic Resonance Imaging at 3 Tesla: Challenges and Advantages in Clinical Neurological Imaging. *Invest Radiol* 38:385-402
- Frenzel T, Lengsfeld P, Schirmer H et al. (2008) Stability of gadolinium-based magnetic resonance imaging contrast agents in human serum at 37 degrees C. *Invest Radiol* 43:817-828

- Gaillard S, Kubiak C, Stolz C et al. (2001) Safety and pharmacokinetics of P792, a new Blood-Pool Agent: Results of clinical testing in nonpatient volunteers. *Invest Radiol* 37:161-166
- Groothuis DR, Vriesendorp FJ, Kupfer B et al. (1991) Quantitative measurements of capillary transport in human brain tumors by computed tomography. *Ann Neurol* 30:581-588
- Heilmann M, Vautier J, Robert P, Volk A (2009) In vitro setup to study permeability characteristics of contrast agents by MRI. *Contrast Media Mol Imaging* 4:66-72
- Herborn CU, Honold E, Wolf M et al. (2006) Clinical safety and diagnostic value of the Gadolinium chelate Gadoterate Meglumine (Gd-DOTA). *Invest Radiol* 42:58-62
- Herborn CU, Watkins DM, Baumann S et al. (2007) Contrast-Enhanced Magnetic Resonance Angiography. P792 Blood Pool Agent versus Gd-DOTA in Rabbits at 3.0 T versus 1.5 T. *Invest Radiol* 42:622-628
- Jacquier A, Wendland M, Do L et al. (2008a) MR imaging assessment of the kinetics of P846, a new gadolinium-based MR contrast medium, in ischemically injured myocardium. *Contrast Media Mol Imaging* 3:112-119
- Jacquier A, Bucknor M, Do L et al. (2008b) P846, a new gadolinium-based low diffusion magnetic resonance contrast agent, in characterizing occlusive infarcts, reperfused ischemic myocardium and reperfused infarcts in rats. *MAGMA* 21:207-218
- Keilholz SD, Bozlar U, Fujiwara N et al. (2009) MR Diagnosis of a Pulmonary Embolism: Comparison of P792 and Gd-DOTA for First-Pass Perfusion MRI and Contrast-Enhanced 3D MRA in a Rabbit Model. *Korean J Radiol* 10:447-454
- Kimura J, Ishiguchi T, Matsuda J et al. (2005) Human comparative study of zinc and copper excretion via urine after administration of magnetic resonance imaging contrast agents. *Radiat Med* 23:322-326
- Kirchin MA, Runge VM (2003) Contrast agents for magnetic resonance imaging: safety update. *Top Magn Reson Imaging* 14:426-435
- Kleihues P, Burger PC, Scheithauer BW (eds) (1993) Histological typing of tumours of the central nervous system. World Health Organization international histological classification of tumours. Springer, Heidelberg.
- Kleihues P, Cavenee WK (eds) (2000) World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and genetics of tumours of the nervous system. IARC Press, Lyon.
- Kobayashi N, Allen N, Clendenon NR, Ko LW (1980) An improved rat-brain tumor model. *J Neurosurg* 53:808-815

Lauterbur PC, Mendonca Dias MH, Rudin AM (1978) Augmentation of tissue water proton spin-lattice relaxation rates by in vivo addition of paramagnetic ions. In: Dutton PO, Leigh J, Scarpa A (eds): *Frontiers of Biological Energetics*. Academic Press, New York, pp 752-759

Le Duc G, Corde S, Charvet AM, et al. (2004) In vivo measurement of gadolinium concentration in a rat glioma model by monochromatic quantitative computed tomography: comparison between gadopentetate dimeglumine and gadobutrol. *Invest Radiol* 39:385-393

Liebner S, Fischmann A, Rascher G et al. (2000) Claudin-1 and claudin-5 expression and tight junction morphology are altered in blood vessels of human glioblastoma multiforme. *Acta Neuropathol* 100:323-331

Lin WC, Pretlow TP, Pretlow TG, Culp LA (1990) Bacterial lacZ gene as a highly sensitive marker to detect micrometastasis formation during tumor progression. *Cancer Res* 50:2808-2817

Long DM (1970) Capillary ultrastructure and the blood brain barrier in human malignant brain tumors. *J Neurosurg* 32:127-144

Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD, Cavenee WK (eds) (2007) *WHO classification of tumours of the central nervous system*. IARC, Lyon.

Mandry D, Pedersen M, Odille F et al. (2005) Renal Functional Contrast-Enhanced Magnetic Resonance Imaging. Evaluation of a New Rapid-Clearance Blood Pool Agent (P792) in Sprague-Dawley Rats. *Invest Radiol* 40:295-305

Mechtler L (2009) Neuroimaging in Neuro-Oncology. *Neurol Clin* 27:171-201

Morcos SK (2007) Nephrogenic systemic fibrosis following the administration of extracellular gadolinium based contrast agents: is the stability of the contrast agent molecule an important factor in the pathogenesis of this condition? *Br J Radiol* 80:73-76

Morreale VM, Herman BH, Der-Minassian V et al. (1993) A brain-tumor model utilizing stereotactic implantation of a permanent cannula. *J Neurosurg* 78:959-965

Niendorf HP, Balzer T (1997) Grundlagen der MRT und MRS. In: Reiser M, Semmler W (eds): *Magnetresonanztomographie, 2. Auflage*, Springer Verlag

Nir I, Kohn S, Doron Y, Israel O, Front D (1986) Quantitative analysis of tight junctions and the uptake of ^{99m}Tc in human gliomas. *Cancer Invest* 4:519-524

- Ostrowitzki S, Fick J, Roberts TP, et al. (1998) Comparison of gadopentetate dimeglumine and albumin-(Gd-DTPA)₃₀ for microvessel characterization in an intracranial glioma model. *J Magn Reson Imaging* 8:799-806
- Peldschus K, Hamdorf M, Robert P et al. (2008) Contrast-enhanced magnetic resonance angiography: evaluation of the high relaxivity low diffusible gadolinium-based contrast agent P846 in comparison with gadoterate meglumine in rabbits at 1,5 Tesla and 3,0 Tesla. *Invest Radiol* 43:837-842
- Peukert D, Kaufels N, Laule D et al. (2007) Improved evaluation of myocardial perfusion and viability with the magnetic resonance blood pool contrast agent P792 in a nonreperfused porcine infarction model. *Invest Radiol* 42:248-255
- Port M, Corot C, Rousseaux O et al. (2001a) P792: a rapid clearance blood pool agent for magnetic resonance imaging: preliminary results. *MAGMA* 12:121-127
- Port M, Corot C, Raynal I et al. (2001b) Physicochemical and biological evaluation of P792, a rapid clearance blood pool agent for magnetic resonance imaging. *Invest Radiol* 36:445-454
- Port M, Idée JM, Medina C et al. (2008) Efficiency, thermodynamic and kinetic stability of marketed gadolinium chelates and their possible clinical consequences: a critical review. *Biometals* 21:469-490
- Price SJ (2010) Advances in imaging low-grade gliomas. *Adv Tech Stand Neurosurg* 35:1-34
- Pykett IL, Buonanno FS, Brady TJ, et al. (1983) True three-dimensional nuclear magnetic resonance neuro-imaging in ischemic stroke: Correlation of NMR, X-ray, CT, and pathology. *Stroke* 14:173-177
- Ravicz ME, Melcher JR, Kiang NY. (2000) Acoustic noise during functional magnetic resonance imaging. *J Acoust Soc Am* 108:1683-1696
- Reeder SB, Wintersperger BJ, Dietrich O et al. (2005) Practical approaches to the evaluation of signal-to-noise ratio performance with parallel imaging: application with cardiac imaging and a 32-channel cardiac coil. *Magn Reson Med* 54:748-754
- Reimer P, Allkemper T, Matuszewski L, Balzer T (1999) Contrast-enhanced 3D-MRA of the upper abdomen with a bolus-injectable SPIO (SH U 555 A). *J Magn Reson Imaging* 10:65-71
- Ricci PE, Dungan DH (2001) Imaging of Low- and Intermediate-Grade Gliomas. *Semin Radiat Oncol* 11:103-112

Robert P, Santus R, Violas X et al. (2002) Comparison of the tumoral biodistribution of P792, a rapid clearance blood pool agent and Gd-DOTA in a C6 glioma cerebral tumor model in rats. *Acad Radiol* 9:521-524

Runge VM, Schoerner W, Niendorf HP et al. (1985a) Initial clinical evaluation of gadolinium DTPA for contrast-enhanced magnetic resonance imaging. *Magn Reson Imaging* 3:27-35

Runge VM, Clanton JA, Price AC, et al. (1985b) The use of Gd DTPA as a perfusion agent and marker of blood-brain barrier disruption. *Magn Reson Imaging* 3:43-55

Runge VM, Biswas J, Wintersperger BJ, et al. (2006) The efficacy of gadobenate dimeglumine (Gd-BOPTA) at 3 Tesla in brain magnetic resonance imaging: comparison to 1.5 Tesla and a standard gadolinium chelate using a rat brain tumor model. *Invest Radiol* 41:244–248

Schmiedl U, Kenney J, Maravilla KR et al. (1992) Kinetics of pathologic blood-brain-barrier permeability in an astrocytic glioma using contrast-enhanced MR. *Am J Neuroradiol* 13:5-14

Seitz RJ, Wechsler W (1987) Immunohistochemical demonstration of serum proteins in human cerebral gliomas. *Acta Neuropathol* 73:145-152

Shellock F (2002) Biomedical implants and devices: Assessment of magnetic field interactions with a 3.0-tesla MR system. *J Magn Reson Imaging* 16:721-32

Shimohama S, Rosenberg MB, Fagan AM et al. (1989) Grafting genetically modified cells into the rat brain: characteristics of E.coli β -galactosidase as a reporter gene. *Mol Brain Res* 5: 271-278

Sibenaller ZA, Etame AB, Ali MM et al. (2005) Genetic characterization of commonly used glioma cell lines in the rat animal model system. *Neurosurg Focus* 19:E1

Solomon I (1955) Relaxation processes in a system of two spins. *Phys Rev* 99:559-565

Su MY, Mühler A, Lao X et al. (1998) Tumor characterization with dynamic contrast enhanced MRI using MR contrast agents of various molecular weights. *Magn Reson Med* 39:259-269

Thomas SD, Al-Kwafi O, Emery DJ et al. (2002) Application of magnetization transfer at 3.0 T in three-dimensional time-of-flight magnetic resonance angiography of the intracranial arteries. *J Magn Reson Imaging* 15:479-483

US Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Devices and Radiological Health (1998) Guidance for the submission of premarket notifications for magnetic resonance diagnostic devices. Washington, DC, USA.

Van Dijk P, Sijens PE, Schmitz PIM, Oudkerk M (1997) Gd-enhanced MR imaging of brain metastases: contrast as a function of dose and lesion size. *Magn Reson Imaging* 15:535-541

Villringer A, Rosen BR, Belliveau JW et al. (1988) Dynamic imaging with lanthanide chelates in normal brain: contrast due to susceptibility effects. *Magn Reson Med* 6:164-174

Wansapura JP, Holland SK, Dunn RS et al. (1999) NMR relaxation times in the human brain at 3.0 tesla. *J Magn Reson Imaging* 9:531-538

Wintersperger BJ, Runge VM, Biswas J, et al. (2007) Brain tumor enhancement in MR imaging at 3 Tesla: comparison of SNR and CNR gain using TSE and GRE techniques. *Invest Radiol* 42:558-563

Young IR, Clarke GJ, Bailes DR (1981) Enhancement of relaxation rate with paramagnetic contrast agents in NMR imaging. *J Comput Tomogr* 5:543-547

Zhou X, Caravan P, Clarkson RB et al. (2004) On the philosophy of optimizing contrast agents. An analysis of ¹H NMRD profiles and ESR lineshapes of the Gd(III) complex MS-325+HAS. *J Magn Reson* 167:147-160

Zülch KJ (ed) (1979) *Histological typing of tumours of the central nervous system.* World Health Organization, Genf.

11 Danksagung

Herrn Prof. Dr. Arno Bücken danke ich für die Vergabe des Themas sowie für die Ermöglichung des Forschungsaufenthaltes in der Scott&White Clinic and Hospital in Temple/Texas, USA, in dessen Rahmen die Experimente der vorliegenden Arbeit durchgeführt wurden.

Herrn Prof. Dr. Val Runge danke ich für die Möglichkeit, dass ich unter seiner Leitung in Texas bei diesen und anderen Experimenten mitwirken durfte.

Herrn PD Dr. Dr. Günther Schneider danke ich für das Wecken meines Interesses am Fach Radiologie sowie die Ermöglichung des Aufenthaltes in Texas.

Herrn Dr. Peter Fries danke ich für die gute Zusammenarbeit und Freundschaft während unseres gemeinsamen Forschungsaufenthaltes in Texas und nachfolgend bei der Betreuung der Doktorarbeit.

Frau Shannon Baumann und Jill Gendron danke ich für die tatkräftige praktische Unterstützung bei der Betreuung der Tiere sowie beim Durchführen der kernspintomographischen Messungen.

12 Curriculum vitae

Persönliche Daten:

Name: Hellmut Andreas Schürholz
Anschrift: Poststr. 14a
66424 Homburg/Saar
Telefon: 0177-8956305
Email: hellmut.schuerholz@googlemail.com
Geburtstag/Ort: 04.02.1981 in Tübingen, Deutschland
Familienstand: ledig

Schulische Ausbildung:

1987-2000 Grundschule in Hohenhaslach (Ba-Wü)
Gymnasium mit Abitur (1,6) in Bietigheim-Bissingen (Ba-Wü)

Zivildienst:

2000-2001 ASB Ulm, häusliche Pflege und individuelle
Schwerstbehindertenbetreuung
2001-2002 Ferienjobs bei Daimler Chrysler und Rucksackreisen nach Mittel- und
Südamerika, Irland und Indonesien

Studium:

seit 2002 Immatrikulation für Humanmedizin in Homburg/Saar
2 Monate Krankenpflegepraktikum in Ayacucho/Peru 2003
2004-2005 Physikum (2,0), anschließend 2 Semester Erasmus-Aufenthalt in
Lausanne/Schweiz
2005-2007 Klinisches Studium in Homburg/Saar
2007 3 Monate Forschungsaufenthalt am Scott&White Clinic and Hospital,
Texas A&M University Health Science Center, Temple/TX, USA
2008-2009 PJ 1. Tertiär Chirurgie Regionalspital Surselva, Ilanz, CH
2. Tertiär Radiologie Uniklinik Homburg, Deutschland
3. Tertiär Innere Medizin Uniklinik Homburg, Deutschland
Examen am 19.05.2009 mit 3,0 bestanden.

Beruf:

Nov. 2009 Assistenzarzt in der Abteilung für Radiodiagnostik, Uniklinik Homburg

Homburg, den 30.05.2010

Hellmut Andreas Schürholz