

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 makromolekularer, experimenteller Kontrastmittel gegenüber
niedermolekularer, klinischer Kontrastmittel zur Anwendung im Ultrahochfeld-MRT
bei experimentell erzeugten Lebermetastasen des kolorektalen Karzinoms

DISSERTATION ZUR ERLANGUNG DES GRADES

EINES DOKTORS DER MEDIZIN

der medizinischen Fakultät der

Universität des Saarlandes

2015

Vorgelegt von

Denise Morr

geb. am: 07.09.1982 in Neustadt am Rügenberge

1 Inhaltsverzeichnis

1	Inhaltsverzeichnis	2
2	Abkürzungsverzeichnis	5
3	Zusammenfassung	8
4	Abstract	10
5	Einleitung	12
5.1	Fragestellung	12
5.2	Grundlagen der Magnetresonanztomographie	13
5.2.1	T1-Relaxationszeit	15
5.2.2	T2-Relaxationszeit	16
5.2.3	T2*-Relaxationszeit	16
5.2.4	Kontrastmittel in der Magnetresonanztomographie	17
5.2.5	Mechanismen der Signalsteigerung durch Kontrastmittel (Enhancement)	19
5.3	Magnetresonanztomographie der Leber	20
5.3.1	Magnetresonanztomographie von Lebermetastasen des kolorektalen Karzinoms	22
5.4	Ultrahochfeld-Magnetresonanztomographie	23
6	Material und Methodik	25
6.1	Magnetresonanztomograph und Software	25
6.1.1	Versuchsaufbau	26
6.2	Versuchstiere	26
6.2.1	Narkose	27
6.2.2	Operation	28

6.3	Verwendete Kontrastmittel	29
6.4	Extrazelluläre, klinische Kontrastmittel	29
6.4.1	Kontrastmittel Gd-DOTA (Gadotersäure-Meglumin)	29
6.4.2	Kontrastmittel Gd-DTPA (Gadopentetatsäure-Dimeglumin)	30
6.5	Makromolekulare, experimentelle Kontrastmittel.....	31
6.5.1	Kontrastmittel AGuIX.....	31
6.5.2	Kontrastmittel P846.....	33
6.6	Magnetresonanztomographiesequenzen	34
6.6.1	T2-gewichtete TurboRARE (Turbo-Rapid-Acquisition-with-Relaxation-Enhancement).....	35
6.6.2	T1-gewichtete IG-FLASH (IntraGate-Fast-Low-Angle-Shot) nativ und nach Kontrastmittelgabe	35
6.7	Auswertung	36
7	Ergebnisse.....	38
7.1	Gruppe Gd-DOTA im Vergleich zu AGuIX.....	39
7.1.1	Signal-zu-Rausch-Verhältnis der Leber	39
7.1.2	Signal-zu-Rausch-Verhältnis des Tumors.....	40
7.1.3	Kontrast-zu-Rausch-Verhältnis	41
7.1.4	Läsionsenhancement.....	42
7.1.5	Magnetresonanztomographie-Bilder	43
7.2	Gruppe Gd-DTPA im Vergleich zu P846	44
7.2.1	Signal-zu-Rausch-Verhältnis der Leber	44
7.2.2	Signal-zu-Rausch-Verhältnis des Tumors.....	45
7.2.3	Kontrast-zu-Rausch-Verhältnis	46
7.2.4	Läsionsenhancement.....	47
7.2.5	Magnetresonanztomographie-Bilder	48

8	Diskussion	49
8.1	Schlussfolgerung.....	54
9	Literaturverzeichnis.....	55
10	Aus der Arbeit hervorgegangene Publikationen	62
11	Danksagung.....	65

2 Abkürzungsverzeichnis

µl	Mikroliter
AG	Aktiengesellschaft
° C	Grad Celsius
cm	Zentimeter
CNR	Contrast-to-noise-Ratio = Kontrast-zu-Rausch-Verhältnis
Da	Dalton
FA	Flip Angle = Flip-Winkel
FNH	Fokale noduläre Hyperplasie
FOV	Field of View
Gd-DOTA	Gadotersäure-Meglumin
Gd-DTPA	Gadopentetatsäure-Dimeglumin
GRE	Gradientenecho
h	Stunde
HASTE	Half-Fourier acquisition single shot turbo spin echo
HF	Hochfrequenz
HWZ	Halbwertszeit
IG-FLASH	IntraGate-Fast-Low-Angle-Shot
kDa	Kilodalton
kg	Kilogramm
KG	Körpergewicht
KM	Kontrastmittel
LE	Lesion Enhancement = Läsionsenhancement
min	Minute
mg	Milligramm

MHz	Megahertz
ml	Milliliter
mm	Millimeter
mmol	Millimol
MR	Magnetresonanz
MRT	Magnetresonanztomographie
ms	Millisekunden
mT	Millitesla
MW	Molecular Weight = Molekülmasse
nm	Nanometer
ns	Nanosekunde
NSF	Nephrogene systemische Fibrose
R	Relaxivität
RES	Retikuloendotheliales System
ROI	Region of Interest = Interessierende Region
s	Sekunde
SD	Standard deviation = Standardabweichung
SAR	Specific Absorption Rate
SNR	Signal-to-noise-ratio = Signal-zu-Rausch-Verhältnis
SRP	Small rigid platform
SPIO	Superparamagnetische Eisenoxide
T	Tesla
T1w	T1-gewichtet
T2w	T2-gewichtet
TA	Akquisitionszeit
TE	Echozeit

TurboRARE	Turbo-Rapid Acquisition with Relaxation Enhancement
TR	Repetitionszeit
TSE	Turbo-Spin-Echo

3 Zusammenfassung

Ziel der Arbeit war der Vergleich von makromolekularen, experimentellen Kontrastmitteln mit niedermolekularen, extrazellulären Kontrastmitteln in der Magnetresonanztomographie bei 9,4 Tesla. Dabei wurden das experimentelle Gadoliniumtragende Nanopartikel-Kontrastmittel AGuIX gegenüber dem klinischen Kontrastmittel Gd-DOTA und das makromolekulare Kontrastmittel P846 mit dem klinischen Kontrastmittel Gd-DTPA in Bezug auf das Signal-zu-Rausch-Verhältnis, Kontrast-zu-Rausch-Verhältnis und die Kontrastmittelanreicherung bei experimentell erzeugten Lebermetastasen des kolorektalen Karzinoms in Ratten untersucht.

In der Gruppe AGuIX im Vergleich zu Gd-DOTA wurden 12 WAG-Ratten, in der Gruppe P846 zu Gd-DTPA 10 WAG-Ratten mit experimentell erzeugten kolorektalen Metastasen in der Leber 14 Tage nach Zellimplantation in einem Ultrahochfeld-Magnetresonanztomographen untersucht. Jedem Versuchstier wurden dabei intraindividuell beide Kontrastmittel in gewichtsadaptierter Dosierung intravenös für die jeweilige MRT-Untersuchung verabreicht, wobei zwischen zwei Experimenten jeweils ein zeitlicher Abstand von zwei Tagen eingehalten wurde, um Interferenzen zu vermeiden.

Bei der MRT-Untersuchung erfolgte die Akquisition T1-gewichteter FLASH-Sequenzen mittels retrospektivem Selbstgating (IntraGate, TR / TE = 45 / 2,5 ms, FA = 45°, TA = 1:23 min, FOV = 5,0 x 5,0 cm², Schichtdicke = 1 mm, Matrix = 256 x 256) vor und nach der Kontrastmittelinjektion an 10 aufeinander folgenden Zeitpunkten mithilfe einer 16-Kanal-Volumenspule.

Mittels Region-of-Interest (ROI) Messungen wurden die Signalintensitäten der Leber und des Tumors erfasst und konsekutiv das Signal-zu-Rausch-Verhältnis (SNR), Kontrast-zu-Rausch-Verhältnis (CNR) und das Läsionsenhancement (LE) berechnet. Die statistische Auswertung wurde mittels gepaartem t-Test und Wilcoxon Rangsummentest ($p < 0,05$) durchgeführt. Durch die histopathologische Untersuchung konnte das Vorliegen von kolorektalen Lebermetastasen in allen Tieren bestätigt werden.

Das experimentelle Nanopartikel-Kontrastmittel AGuIX zeigte signifikant höhere Werte für das SNR des Lebergewebes und des Tumors, sowie signifikant höhere

Werte für CNR und LE im Vergleich zu dem Referenzkontrastmittel Gd-DOTA. Somit ergibt sich, dass AGuIX signifikant bessere Kontrasteigenschaften als Gd-DOTA bei gleicher Gd-Dosis bei einer Feldstärke von 9,4 T besitzt. Zu erklären ist dieses Ergebnis aufgrund der Molekülstruktur von AGuIX, die eine bessere Interaktion mit Wasserstoffprotonen erlaubt und somit eine höhere Relaxivität bedingt. Sowohl AGuIX als auch Gd-DOTA zeigten eine ähnliche Kinetik mit einer frühen maximalen Signalintensitätssteigerung mit darauffolgender Auswaschphase ohne die Entwicklung eines Plateaus.

Das makromolekulare Kontrastmittel P846 erzielte im Vergleich zu dem klinischen Kontrastmittel Gd-DTPA signifikant höhere Werte für das SNR von Leber und Tumor, CNR und LE bei 9,4 T. Die Molekülgröße des experimentellen Kontrastmittels P846 verringert dessen Eigenrotationsgeschwindigkeit und verbessert somit die Interaktion mit Wasserstoffprotonen. Die Kinetik beider Kontrastmittel zeigte sich vergleichbar mit einer frühen starken Anreicherung und folgendem kontinuierlichen Auswaschen.

Unsere Untersuchungen konnten zeigen, dass durch den Einsatz makromolekularer Kontrastmittel eine signifikant höhere Signalsteigerung bei MRT-Untersuchungen im Ultrahochfeld erreicht werden können. Dies kann potenziell zu einer besseren Detektierbarkeit pathologischer Veränderungen beitragen.

4 Abstract

The aim of this study was to compare experimental, macromolecular contrast agents with low-molecular, extracellular contrast agents for magnet resonance imaging at 9.4 Tesla. The gadolinium-labeled nanoparticle AGuIX was compared to the clinical contrast agent Gd-DOTA and, in a further setting, the macromolecular contrast agent P846 with the clinical contrast agent Gd-DTPA in regard to signal-to-noise ratio, contrast-to-noise ratio and lesion enhancement in rats with experimentally induced hepatic colorectal cancer metastases.

12 WAG-rats were included for the comparison of AGuIX with Gd-DOTA and 10 WAG-rats for the comparison of P846 with Gd-DTPA. All animals received an intrahepatic injection of colon cancer cells in order to induce a focal hepatic metastasis. 14 days after tumor induction all animals were subjected to MRI using an ultrahigh field animal scanner. Each animal received intraindividually both contrast agents with a time interval of two days between the two experiments to avoid interference between the two substances.

We acquired T1-weighted retrospectively self-gated FLASH sequences (IntraGate TR / TE = 45 / 2.5 ms, flip angle = 45°, TA = 1:23 min, FOV = 5.0 x 5.0 mm², slice thickness = 1 mm, matrix = 256 x 256) before and at 10 consecutive time points after contrast injection using a 16-channel volume coil.

Based on region of interest (ROI) measurements the signal intensities of the liver and the tumor were recorded and signal to noise ratio (SNR), contrast to noise ratio (CNR) and lesion enhancement (LE) were calculated. Statistical analyses included paired t-test and Wilcoxon matched-pairs signed-rank test ($p < 0.05$) where appropriate. Histopathologic evaluation showed the presence of metastases in all animals.

The nanoparticle-based contrast agent AGuIX showed significantly higher SNR of the liver tissue and the tumor, as well as significant higher values of CNR and LE compared to the reference contrast agent Gd-DOTA. Thus, AGuIX has significantly better contrast properties as Gd-DOTA for the same doses of applied gadolinium at a field strength of 9.4 T. This superior enhancement of AGuIX is based on the molecule structure of the nanoparticle allowing for an improved interaction with hydrogen

protons, which subsequently results in a higher relaxivity. Both AGuIX and Gd-DOTA showed similar kinetics with an early peak enhancement followed by a continuous washout without a plateau.

The macromolecular contrast agent P846 demonstrated significantly higher values for SNR of the liver and tumor, CNR and LE as compared to Gd-DOTA. The increased molecular mass and size of P846 reduces molecular tumbling rate and subsequently leads to a better interaction with hydrogen protons resulting in a higher relaxivity. Kinetics of both contrast agents demonstrated similar characteristics with an early peak enhancement followed by a continuous washout.

The results of our study showed that macromolecular contrast agents may significantly improve enhancement in ultrahigh field MRI. This may contribute to lesion conspicuity and potentially, may allow for a better sensitivity to detect focal liver lesions.

5 Einleitung

5.1 Fragestellung

In den letzten Jahren hat sich das Gebiet der Magnetresonanztomographie (MRT) bei einer Feldstärke über 3 Tesla rasant entwickelt. Ein verbessertes Signal-zu-Rausch-Verhältnis (SNR) und damit eine schnellere Akquisition und eine bessere Ortsauflösung machen die MRT bei höheren Feldstärken zu einem interessanten Gebiet der radiologischen und experimentellen Bildgebung. Eine Schwierigkeit bei der Ultrahochfeld-MRT besteht jedoch in der Kontrastmittel-unterstützten Bildgebung. Mit zunehmenden Feldstärken zeigt sich eine Abnahme der R1-Relaxivität der klinisch genutzten Kontrastmittel, was zu einem verringerten Signal und somit potenziell zu einer schlechteren Aussagekraft über eventuelle Pathologien führt.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war der Vergleich von makromolekularer, experimenteller Kontrastmittel gegenüber niedermolekularer, klinischer Kontrastmittel in Ratten mit experimentell erzeugten Lebermetastasen des kolorektalen Karzinoms mittels Messungen im MRT bei 9,4 Tesla hinsichtlich:

1. Signal-zu-Rausch-Verhältnis der Leber
2. Signal-zu-Rausch-Verhältnis des Tumors
3. Kontrast-zu-Rausch-Verhältnis (CNR) zwischen Tumor und Leber
4. Kontrastmittelanreicherung der Tumoren, bzw. Läsionsenhancement (LE).

5.2 Grundlagen der Magnetresonanztomographie

Bei der klinischen MRT werden Wasserstoffprotonen zur Bildgebung herangezogen. Ein Wasserstoffatom besteht jeweils aus einem Proton, das den Kern des Atoms bildet und einem Elektron, das sich um den Kern bewegt und die Hülle bildet. Die Protonen haben eine positive Ladung und besitzen als Grundeigenschaft einen sogenannten Spin. Der Spin ist ein Drehimpuls, der immer anwesend ist und eine konstante Stärke besitzt. Er wird durch elektromagnetische Wellen beeinflusst und kann seinerseits durch Änderung seines Orientierungsvektors Spannungen in einer Empfangsspule induzieren [Weishaupt et al., 2009]. Nach Einbringung in ein Magnetfeld kommt es zur Ausrichtung der Spins, sie reagieren mit einer Ausweichbewegung, der sogenannten Präzessionsbewegung. Diese Bewegung folgt einer bestimmten Frequenz, die als Lamorfrequenz bezeichnet wird. Die Lamorfrequenz ist proportional zur Stärke des Magnetfeldes und kann mit der Lamorgleichung berechnet werden:

$$\omega_0 = \gamma_0 \cdot B_0$$

ω_0 = Lamorfrequenz in Megahertz [MHz]

γ_0 = Gyromagnetisches Verhältnis (Konstante, für Protonen $\gamma = 42,58$ MHz/T)

B_0 = Stärke des Magnetfeldes in Tesla [T]

Wenn das Spin-System in ein Magnetfeld eingebracht wird baut sich durch Addition der Magnetvektoren der einzelnen Spins eine Längsmagnetisierung M_z in Z-Richtung auf, die Atomkerne richten sich somit parallel zum äußeren Magnetfeld aus. Die Längsmagnetisierung ist umso stärker, je stärker das Magnetfeld ist. Die Spins haben die Möglichkeit, sich parallel oder antiparallel auszurichten. Da die parallele Ausrichtung energetisch günstiger ist richtet sich die Mehrheit der Spins parallel aus. So entsteht ein stabiles Spin-System.

Mit einem hochenergetischen Radiosender kann nun Energie in Form eines Hochfrequenzimpulses erzeugt und mit einer Antennenspule an das Spin-System übertragen werden. Der Hochfrequenzimpuls ist dabei gleich der Lamorfrequenz. So wird das Spin-System angeregt und es kommt zur Resonanz, das heißt, dass immer mehr Spins aus der Z-Richtung herauskippen. Zur gleichen Zeit läuft die Präzession

der Wasserstoffionen synchron. Mit einem Hochfrequenzimpuls der richtigen Leistung und Dauer kann nun eine definierte Auslenkung erreicht werden, beispielsweise ein 90° -Impuls: dabei wird die gesamte M_z -Magnetisierung in die XY-Ebene umgelenkt. Somit entsteht eine M_{xy} -Magnetisierung, die in der Empfangsspule eine Wechselspannung induziert. Es entsteht das MR-Signal. Je häufiger die Anregung mit anschließender Messung stattfindet, desto genauer können die ermittelten Messwerte in Bezug auf Auflösung und somit auf die Bildqualität berechnet werden.

Um die Ortskodierung zu ermöglichen, werden Gradientenspulen in X-, Y- und Z-Richtung benötigt. Gradienten sind eigenständige Magnetfelder, die das Hauptmagnetfeld überlagern. Die Gradientenspulen sorgen so für eine Inhomogenität des Magnetfeldes. Wäre das Magnetfeld homogen, hätten alle Spins die gleiche Larmorfrequenz und würden bei passender Frequenz gleichzeitig angeregt werden. Die Inhomogenität des Magnetfeldes gewährleistet, dass jede Schicht des untersuchten Körpers eine eigene Frequenz hat und somit einzeln durch Änderung des Radiofrequenzimpulses angeregt werden kann. Die Ortskodierung in einer Schicht wird in Y-Richtung mit einem Gradienten ermöglicht, der bewirkt, dass die Larmorfrequenz oben im MRT höher ist als unten. Es kommt zur Phasenverschiebung der Spins. Das heißt, dass die Spins nicht mit derselben Frequenz präzedieren. So kann jede Zeile der Schicht über die unterschiedliche Phase erkannt werden. Die Ortskodierung in Y-Richtung wird als Phasenkodierung bezeichnet. In X-Richtung folgt die Ortskodierung dem Prinzip der Frequenzverschiebung: ein Gradient bewirkt, dass die Stärke des Magnetfeldes von rechts nach links zunimmt, links die Larmorfrequenz der Spins also höher ist. Über die unterschiedlichen Frequenzen können die Spins lokalisiert werden. Diese Kodierung wird Frequenzkodierung genannt. Über eine mathematische Auswertung, die Fourier-Transformation, können aus einem Signal alle Frequenzen bestimmt werden. Die Fourier-Transformation bezieht die Messwerte aus einem speziellen Datenraum, dem K-Raum, der die Rohdaten zur Berechnung des MR-Bildes in Phasen- und Frequenzrichtung jeder Messung speichert. Um die Phasenaufteilung berechnen zu können, müssen die Sequenzen mehrmals mit unterschiedlichen Phasenkodierungen wiederholt werden. Mithilfe von Frequenz und Phase ist nun jedes Voxel (Volumenelement) zu identifizieren.

Die Bestandteile eines Magnetresonanztomographen sind also ein starker Magnet, Gradientenspulen in X-, Y- und Z-Richtung, ein Hochfrequenzsender und -empfänger, Computer zur Bedienung des Gerätes, sowie zur Berechnung und Rekonstruierung der Bilder und ggf. weitere Gerätschaften, wie z.B. ein EKG oder Atmungsmonitor zur Triggerung der Messungen um eventuelle Störfaktoren und Artefakte möglichst gering zu halten.

Weitere Parameter, die die MR-Bildqualität beeinflussen, sind die Repititionszeit (TR), die Echozeit (TE) und die Protonendichte des gemessenen Gewebes. TR ist die Zeit, die zwischen zwei aufeinanderfolgenden Anregungen derselben Schicht verstreicht. TE bezeichnet die Zeitspanne, die nach der Anregung bis zur Messung abläuft.

Das Signal-zu-Rausch-Verhältnis (SNR) ist ein Maß für die Wechselwirkung des MR-Signals und des sogenannten Bildrauschens und somit ein Parameter zur Beurteilung der Bildqualität. Es ist definiert als Verhältnis des Signalmittelwerts einer bestimmten Bildregion (Region-of-Interest (ROI)) zu dessen Standardabweichung [Firbank et al., 1999]. Das Bildrauschen entsteht beispielsweise durch Inhomogenitäten des Magnetfeldes des MRT-Gerätes, durch Störungen der Signaltransduktion des Gerätes oder durch willkürliche oder unwillkürliche Bewegungen des untersuchten Körpers. Bei der MR-Bildgebung ist das Ziel ein möglichst hohes SNR zu erzielen. Zudem eignet sich das SNR als Messparameter, um verschiedene MRT-Sequenzen bzw. kontrastmittelverstärkte Bildeffekte im MRT zu vergleichen.

5.2.1 T1-Relaxationszeit

Als T1-Relaxation wird die longitudinale Relaxation oder auch Spin-Gitter-Relaxation bezeichnet. In dieser Relaxationszeit kippt die M_{xy} -Magnetisierung zurück in die Z-Richtung. Dabei wird Energie an die Umgebung abgegeben.

Sie ist abhängig von der Stärke des äußeren Magnetfeldes B_0 und von der inneren Bewegung der Moleküle bzw. der Art des umgebenden Gewebes. Als T1-Relaxationszeit wird dabei die Zeit definiert, die nach einem 90° Anregungsimpuls

vergeht, bis die Longitudinalmagnetisierung wieder 63 % ihres Maximalwertes erreicht hat.

Um ein T1-gewichtetes (T1w) MR-Bild zu erhalten, werden die Geräteparameter TR und TE eher kurz gewählt (bei einer Feldstärke von 1,5 Tesla beispielsweise $TR < 600 \text{ ms}$ und $TE < 30 \text{ ms}$).

5.2.2 T2-Relaxationszeit

Die T2-Relaxationszeit beschreibt die transversale Relaxation und wird auch Spin-Spin-Relaxation genannt.

Unmittelbar nach ihrer Anregung befinden sich alle Spins in der XY-Ebene in einer synchronen Phase. Dies wird als Phasenkohärenz bezeichnet, wobei der Begriff Phase den Winkel der Präzession der Spins beschreibt. Mit der Zeit folgt die Spinbewegung unterschiedlichen Phasen, die Phasenkohärenz geht verloren. Der besagte Vorgang wird transversale Relaxation genannt. Dabei kommt es nicht zu Abgabe der Energie an die Umgebung, sondern zu einem Energieaustausch der Spins untereinander, daher die alternative Bezeichnung Spin-Spin-Relaxation.

Die T2-Relaxation ist unabhängig von der Stärke des äußeren Magnetfeldes B_0 , der Energieaustausch der Spins erfolgt durch lokale Magnetfeldänderung benachbarter Spins. Als T2-Relaxationszeit wird dabei die Zeit definiert, die nach einem 90° Anregungsimpuls vergeht, bis die Transversalmagnetisierung nur noch 37% ihres Ausgangswertes beträgt.

Für die Akquisition eines T2-gewichtetes MR-Bild (T2w) werden die Geräteparameter TR und TE eher lang gewählt (bei einer Feldstärke von 1,5 Tesla beispielsweise $TR > 1500 \text{ ms}$ und $TE > 60 \text{ ms}$).

5.2.3 T2*-Relaxationszeit

Die T2*-Relaxationszeit bezeichnet ebenso die transversale Relaxation, jedoch sind bei dieser Relaxation Inhomogenitäten des äußeren Magnetfeldes B_0 die Ursache für

den Verlust der Phasenkohärenz. Grund für diese Inhomogenitäten sind unter anderem der MR-Tomograph und das Gewebe der untersuchten Person, insbesondere im Bereich von Gewebegrenzflächen. Auch Substanzen wie beispielsweise Eisenpartikel können lokale magnetische Felder hervorrufen und somit Inhomogenitäten des äußeren Magnetfeldes B_0 bewirken. Die Beschleunigung der Dephasierung durch lokale Feldinhomogenitäten wird als Suszeptibilitätseffekt bezeichnet. Im Körper treten große Suszeptibilitätssprünge bei eisenhaltigen Geweben auf (z.B. in der Substantia nigra), an Gewebe-Luft-Übergängen (z.B. der phrenokardiale Winkel zwischen Herz und Lunge) oder in venösen Blutgefäßen [Ladd et Bock, 2013].

Bei Messung des T2-Zerfalls addiert sich die T2*-Relaxation zu der T2-Relaxation; der gemessene Zerfall wird als freier Induktionszerfall bezeichnet.

5.2.4 Kontrastmittel in der Magnetresonanztomographie

Die Kontrastmittel, die für die MRT genutzt werden, können über folgende Mechanismen die Signalintensität beeinflussen: Verkürzung der T1-, T2-, oder T2*-Relaxationszeiten, Veränderung der lokalen Magnetfeldhomogenität oder Verschiebung der Resonanzfrequenz.

Die Verkürzung der T1-Relaxation kommt durch einen schnelleren Energietransfer vom Protonenspin auf seine Umgebung durch das Kontrastmittel zustande. Dadurch kommt es zu einer schnelleren Relaxation der benachbarten Protonen und somit zu einem stärkeren, also hyperintenseren Signal in einer T1-gewichteten Messung. Ein weiterer Faktor ist die Wechselwirkung von ungepaarten Elektronenspins im Kontrastmittel und den benachbarten Wasserstoffionenkernen, die auch zu einer Verkürzung der T1-Relaxationszeit führt.

Kontrastmittel verkürzen ebenso die T2-Relaxation, indem die Spin-Spin-Effekte beschleunigt werden. Es kommt zu einer schnelleren Phaseninkohärenz. Somit kommt es auf T2-gewichteten Sequenzen zu einem geringeren Signal.

Als häufigster Vertreter der MR-Kontrastmittel sind Gadoliniumverbindungen zu nennen. Gadolinium ist ein Element, das zu den seltenen Erden gehört und aufgrund

von ungepaarten Elektronen paramagnetische Eigenschaften besitzt [Gerald et Laurent, 2008]. Das heißt, dass Gadolinium bei Einbringung in ein äußeres Magnetfeld davon beeinflusst wird und infolge dessen seine magnetische Anordnung danach ausrichtet solange es sich in diesem Magnetfeld befindet. In freier Form kann Gadolinium aufgrund seines nahezu identischen Moleküldurchmessers wie der des Kalziums schädlich wirken, da es Kalzium-Kanäle beeinflussen und blockieren und somit lebensnotwendige Prozesse wie z.B. die Muskelaktivität behindern kann. Um dies zu verhindern wird Gadolinium in seiner Nutzung als MR-Kontrastmittel an Chelat-Liganden gebunden. Zumeist fungieren positiv geladene Zuckermonomere als Chelate. Zusätzlich sind in den meisten Kontrastmittellösungen freie Chelat-Liganden (häufig Kalzium-Natrium-Komplexe) enthalten, die gegebenenfalls freies Gadolinium binden und somit die mögliche Gefahr für den Organismus sehr gering gehalten wird. In den Kontrastmittelverbindungen wird das Gadolinium mithilfe ionischer Bindungen an die negativ geladenen Säuregruppen und mittels Van-der-Waals-Kräften an Stickstoffelektronenpaare gebunden. Die Stabilität des Kontrastmittelkomplexes ist abhängig vom pH-Wert, seiner Struktureigenschaften und das ihn umgebende Milieu.

Der Begriff Relaxivität (R) bezeichnet die Wirkungsstärke eines MR-Kontrastmittels und gibt die Verkürzung der Relaxationszeit an. Sie definiert sich in

1. $R_1 = 1/T_1$ bzw.
2. $R_2 = 1/T_2$

bei einer Konzentration von 1 Mol pro Liter, einer Temperatur von 20° C und einer bestimmten Larmfrequenz je Feldstärke. Je höher die Relaxivität ist, desto ausgeprägter sind die Wechselwirkungen des Kontrastmittels mit den umliegenden Protonen. Die Relaxation der Protonen erfolgt schneller, also kann der Einfluss des Kontrastmittels ein stärkeres Signal bewirken.

Als extrazelluläre Kontrastmittel werden niedermolekulare, wasserlösliche Verbindungen bezeichnet, die sich nach intravenöser Gabe in den Blutgefäßen und im interstitiellen Raum verteilen. In der Klinik lassen sich damit die extrazellulären Kontrastmittel unter anderem für den Nachweis gut vaskularisierter Läsionen oder auch für die Darstellung der Gefäße einsetzen. Die optimale Voraussetzung für ihre Kontrasteigenschaften sind T1-gewichtete Sequenzen mit Fettsuppression.

Die extrazellulären Kontrastmittel zeigen pharmakokinetisch eine schnelle extrazelluläre Verteilung und werden renal eliminiert [Aime et Caravan, 2009]. Nach intravenöser Applikation folgt zunächst eine vaskuläre Frühphase. Nach 2,5 bis 5 Minuten ist der Konzentrationsausgleich zwischen dem vaskulären und interstitiellen Raum eingetreten. Diese Zeit entspricht der Verteilungshalbwertszeit. Über passive glomeruläre Filtration wird das Kontrastmittel praktisch unverändert ausgeschieden, die Plasma-Eliminations-Halbwertszeit beträgt bei Nierengesunden ca. 90 Minuten, nach 24 Stunden sind über 90 % des Kontrastmittels wieder ausgeschieden [Weishaupt et al., 2009].

Die intakte Blut-Hirn-Schranke wird von extrazellulären Kontrastmitteln nicht überschritten. Es findet im Zentralnervensystem nur eine vaskuläre Verteilung aufgrund der Hydrophilie des Kontrastmittels statt. So eignet es sich zum Nachweis unterbrochener Kapillarschranken im Zentralnervensystem.

5.2.5 Mechanismen der Signalsteigerung durch Kontrastmittel (Enhancement)

Der Begriff „Enhancement“ beschreibt die Steigerung der Signalintensität im MR-Bild unter Verwendung von Kontrastmittel und kann somit weitestgehend als Kontrastmittelanreicherung definiert werden.

Der Ablauf und die Stärke der Signalsteigerung durch Kontrastmittel werden von diversen Faktoren beeinflusst. Dazu ist zunächst die Interaktion des Gadoliniums mit den umgebenden Wasserstoffprotonen zu beachten. Dipol-Dipol Interaktionen zwischen den Spins des Protonenkerns und dem fluktuierenden Magnetfeld, das durch die Spins der ungepaarten Elektronen des paramagnetischen Gadoliniums entsteht, bedingen die paramagnetische Relaxation der Wasserprotonen [Rashid et al., 2012]. Das Gadolinium-Ion bewirkt Kräfte auf die umgebenden Wassermoleküle aus im Rahmen einer Solvatisierung, also einer Anordnung der Wassermoleküle als Lösungsmittel um das Gadolinium-Ion. Der entstandene Metallkomplex kann in separate unterschiedlich angeordnete Sphären eingeteilt werden: in die innere, zweite und äußere Sphäre [Caravan et al., 2009].

In der inneren Sphäre haben die Wassermoleküle die geringste Distanz und eine direkte Anordnung zu dem Gadolinium-Ion. In der zweiten Sphäre hydratisieren die Wassermoleküle mit einer kürzeren Verweildauer den Komplex als in der inneren Sphäre, jedoch ist ihre Verweilzeit länger als die durchschnittliche Translationsdiffusionszeit des umgebenden gelösten Wassers [Fries et al., 2014]. Beide Sphären haben gemeinsam, dass die in ihnen befindlichen Wassermoleküle in einer variierenden Geschwindigkeit mit den umgebenden gelösten Wassermolekülen einen Austausch betreiben. In der äußersten Sphäre herrscht eine geringere Ordnung als in der inneren und zweiten Sphäre. Hier findet vor allem eine freie Diffusion der Wassermoleküle als Interaktion mit dem Gadolinium-Ion statt [Caravan et al., 2009].

Der gesamte Ablauf der Relaxation kann als Summierung aller Interaktionen der Wasserprotonen mit dem Gadolinium-Ion in allen drei Sphären betrachtet werden [Fries et al., 2014].

5.3 Magnetresonanztomographie der Leber

Bei der Magnetresonanztomographie des Abdomens implizieren bestimmte anatomische und physiologische Begebenheiten spezielle Anforderungen an die Bildgebung. Durch die physiologische Herzaktivität, Atem- und Darmbewegungen der Untersuchungsperson kann es auf den MRT-Aufnahmen zu Artefakten kommen, die die Bildqualität und damit die diagnostische Aussagekraft einschränken. Daher haben sich für die MRT des Abdomens sehr schnelle Bildsequenzen durchgesetzt, die in Atemstillstand des Patienten akquiriert werden. Alternativ können auch spezielle Triggermechanismen dazu beitragen artefaktfreie Aufnahmen zu generieren [Bastati-Huber et al., 2011]. Des Weiteren haben sich Parallelbildgebungstechniken zur Sequenzbeschleunigung etabliert, mit denen sowohl atemgetriggerte als auch Atemanhalteverfahren möglich sind [Layer et Bohrer, 2007]. Basissequenzen des MRT-Protokolls der Leber sind sowohl T1-gewichtete Gradientenechosequenzen (GRE) als auch T2-gewichtete Turbo-Spin-Echo-Sequenzen (TSE). Weitere Informationen über mögliche Leberveränderungen liefern kontrastmittelverstärkte Sequenzen. Abhängig von der Fragestellung wird das MRT-

Protokoll durch zusätzlich fettgesättigte Sequenzen oder diffusionsgewichtete Sequenzen erweitert und angepasst.

In T1-gewichteten Akquisitionen stellt sich fibröses Gewebe hypointens dar, gibt also ein geringes Signal und ist somit auf dem berechneten Bild dunkel. Hyperintens hingegen erscheinen subakute Blutungen, Fett bzw. ein vermehrter Fettanteil der Leber im Sinne einer Steatosis hepatis oder eine erhöhte Proteinkonzentration des Gewebes. Eine fettsupprimierte Sequenz erlaubt damit eine genauere Differenzierung einer eventuellen hyperintensiven Auffälligkeit.

T2-gewichtete Sequenzen können auf einen erhöhten Flüssigkeitsanteil, beispielsweise im Sinne eines Ödems in akut entzündlichem Gewebe, hinweisen. Diese Veränderungen stellen sich typischerweise mit gesteigertem Signal, also als hyperintens auf T2-gewichteten Aufnahmen dar. Eine chronische, nicht-entzündliche Fibrose des Lebergewebes gibt in einer T2w-Sequenz ein hypointenses Signal. Ein noch geringeres Signal findet sich bei einem erhöhten Eisengehalt oder Abbauprodukten des Hämoglobins. T2- und diffusionsgewichtete Sequenzen werden verwendet, um zwischen Zysten und soliden Läsionen zu differenzieren [Breitenseher et al., 2015].

Als Kontrastmittel bei der MRT der Leber kommen je nach Fragestellung sowohl extrazelluläre Gadolinium-haltige Kontrastmittel als auch leberspezifische Kontrastmittel zum Einsatz. Extrazelluläre Kontrastmittel werden für dynamische Mehrschichtuntersuchungen mit schnellen T1-gewichteten GRE-Sequenzen, in sequenziellen Untersuchungen zum verbesserten Nachweis von Leberläsionen, aber auch zur näheren histologischen Charakterisierung eingesetzt [Layer et Bohrer, 2007]. Bei den leberspezifischen Kontrastmitteln unterscheiden sich zwei unterschiedliche Gruppen. Eine Gruppe bildet sich aus den hepatobiliären Kontrastmitteln und die andere Gruppe wird von den spezifischen Kontrastmitteln gebildet, die von dem retikuloendothelialen System (RES) aufgenommen werden.

Bei hepatobiliären Kontrastmitteln handelt es sich um Substanzen, die von den Hepatozyten aufgenommen und über einen aktiven Prozess in die Gallenwege ausgeschieden werden. Sie eignen sich somit zum einen für den Nachweis und die Differenzierung benigner oder maligner Tumoren hepatozellulären Ursprungs, wie beispielsweise Leberzell-Adenome, Regeneratknoten, eine fokale noduläre

Hyperplasie oder das hepatozelluläre Karzinom. Zum anderen eignen sich diese Kontrastmittel dazu, normales Lebergewebe von leberfremden Gewebe, sprich Metastasen, zu differenzieren. Es gibt sowohl auf Gadolinium- als auch auf Mangan-basierende hepatobiliäre Kontrastmittelverbindungen, wobei ihr kontrastverstärkender Effekt auf einer Verkürzung der T1-Relaxationszeit beruht.

Die RES-spezifischen Kontrastmittel bestehen aus superparamagnetischen Eisenoxiden (SPIO). Im Gegensatz zu den bisher besprochenen Kontrastmitteln senken sie im Wesentlichen die T2*-Relaxationszeit, was zu einer Absenkung des Signals auf T2-gewichteten Sequenzen führt. Daher werden diese Kontrastmittel mitunter auch als negative MR-Kontrastmittel bezeichnet. Die SPIO werden von den Makrophagen des RES phagozytiert [Ba-Ssalamah et al., 2004]. Dies erlaubt eine verbesserte Differenzierung von normalem Lebergewebe und Tumoren, die keine Anteile des RES enthalten.

5.3.1 Magnetresonanztomographie von Lebermetastasen des kolorektalen Karzinoms

Der venöse Abstrom des größten Teils des gastrointestinalen Traktes erfolgt über die Vena mesenterica superior und inferior und erreicht letztendlich über die Vena portae hepatis die Leber. Über hämatogene Ausbreitung findet sich hier häufig eine Metastasierung von Karzinomen des gastrointestinalen Traktes, so auch vom kolorektalen Karzinom. Bis zu 70 % der Patienten mit dieser Erkrankung entwickeln eine Metastasierung der Leber [Bipat et al., 2005].

Das exakte Wissen über die Anzahl, Größe und die regionale Verbreitung der Lebermetastasen ist unerlässlich, um ihre Resektabilität festzustellen [Coenegrachts et al., 2009]. Dies ist von entscheidender Bedeutung, da eine Resektion der Lebermetastasen des kolorektalen Karzinoms das Langzeitüberleben signifikant verbessert [Choti et al., 2002].

Die MRT ist ein sehr sensitives Verfahren bei Lebermetastasen des kolorektalen Karzinoms, die größer als 10 mm sind [Blyth et al., 2008]. Im Vergleich zur CT besteht bei der MRT-Bildgebung ebenso eine höhere Sensitivität von Metastasen,

die kleiner sind als 10 mm [Niekel et al., 2010]. Metaanalysen zeigten, dass die MR-Bildgebung zum Nachweis von Lebermetastasen des kolorektalen Karzinoms [Floriani et al., 2010] sowie zur Beurteilung der Metastasierung bei Patienten, die noch keine Therapie erhalten haben [Niekel et al., 2010], vorzuziehen ist.

Die kolorektalen hepatischen Metastasen zeigen typischerweise ein hypointenses Signal in T1w-Sequenzen, in T2w-Sequenzen dagegen eine mittlere bis hohe Signalintensität. Die längere Echozeit ($TE \geq 180$ ms) von T2w-Sequenzen eignet sich insbesondere für die Unterscheidung von zystischen und soliden Läsionen [Koh et al., 2008]. Lebermetastasen des kolorektalen Karzinoms zeigen im Gegensatz zu Zysten eine relativ unscharfe Berandung [Coenegrachts et al., 2009] und stellen sich in der Kontrastmitteldynamik typischerweise mit einem sogenannten Kokarden-Phänomen dar [Scheffel et al., 2012].

5.4 Ultrahochfeld-Magnetresonanztomographie

Von Ultrahochfeld-Magnetresonanztomographie spricht man bei der MRT ab einer Feldstärke über 3,0 Tesla. Seit 2002 ist eine MR-Feldstärke über 2,0 T für die Patientenversorgung erlaubt, davor bestand eine Limitierung bis 1,5 T [Springer et al., 2010]. Derzeit sind für die klinische Routinediagnostik MR-Tomographen bis 4 T zugelassen [International Electrotechnical Commission, 2010]. Die 7-T-MRT sind nicht als Medizinprodukt zugelassen, sondern erlauben nur Untersuchungen im Rahmen von Studien. Zur diagnostischen und therapeutischen Entscheidung dürfen nur Geräte bis 4 T dienen [Ladd et Bock, 2013].

Für die Verwendung eines stärkeren Magnetfeldes spricht, dass das erreichbare Signal-zu-Rausch-Verhältnis der Aufnahmen nahezu proportional zur Feldstärke steigt. Dieses verbesserte SNR der Aufnahmen kann dazu verwendet werden, die Bildakquisition zu beschleunigen oder es können Aufnahmen mit einer höheren Ortsauflösung bei gleicher Akquisitionszeit erzeugt werden [Runge et al., 2007].

Weitere Veränderungen, die die Ultrahochfeld-MRT mit sich bringt sind eine längere T1-Relaxationszeit von Gewebe in Relation zu einer Feldstärke von 1,5 T, wobei sich die T2- und T2*-Relaxationszeiten hingegen leicht verkürzen.

Eine bedeutende Limitation der Ultrahochfeld-MRT ist die mit den Hochfrequenz-Anregungsimpulsen auf das untersuchte Gewebe übertragene Energie. Die benötigte Stärke des Hochfrequenz-Impulses nimmt quadratisch zur Feldstärke zu [Umutlu et al., 2011], was zu Missempfindungen der Untersuchungsperson wie Faszikulationen und deutlicher Erwärmung führen kann. Die Schwellenwerte der Energieabsorption werden mittels der „Spezifischen Absorptionsrate (SAR)“ bestimmt. Sie werden in der Ultrahochfeld-MRT demnach rascher erreicht als bei niedrigeren Magnetfeldstärken. Das höchste Risiko der MRT in Bezug auf die SAR besteht in lokalen Verbrennungen [Kangarlu et al., 2004].

Bisher wurden von Arbeitnehmern und Patienten, die höheren Magnetfeldern ausgesetzt waren, verschiedene vorübergehende Nebenwirkungen festgestellt: Schwindel, Übelkeit, Magnetophosphene (Lichtblitze), Kopfschmerzen und ein metallischer Geschmack [Schenck, 2005].

Bei der kontrastmittelverstärkten MRT zeigt sich bei steigenden Feldstärken ein verminderter Wert vor allem der R1-Relaxivität bei in-vitro-Messungen der klinisch genutzten gadoliniumhaltigen Kontrastmittel in menschlichem Blutplasma [Rohrer et al., 2005] [Noebauer-Huhmann et al., 2010] als auch im Vollblut gelöst [Shen et al., 2015].

Des Weiteren nehmen Suszeptibilitätseffekte mit höheren Feldstärken zu. Gadolinium wird linear zur Magnetfeldstärke magnetisiert, was zur Folge hat, dass Suszeptibilitätseffekte von Gadolinium bei höheren Feldstärken ausgeprägter sind [Caravan et al., 2009].

6 Material und Methodik

6.1 Magnetresonanztomograph und Software

Die Messungen für diese Arbeit wurden mittels eines Magnetresonanztomographen Typ BioSpec 94/20 USR (Bruker, Ettlingen, Deutschland) durchgeführt. Die Magnetfeldstärke dieses Tomographen beträgt 9,4 Tesla, sie wird durch einen supraleitenden Elektromagneten erzeugt. Die benötigte Kühlung des Magneten erfolgt durch flüssiges Helium.



Abbildung 6.1: Magnetresonanztomograph der Firma Bruker, Typ BioSpec 94/20 USR.

Das Gerät verfügt über ein Gradientensystem vom Typ B-GA 12S2 (Bruker, Ettlingen, Deutschland). Die maximale Gradientenamplitude dieses Systems beträgt 440 mT/m. Der Quotient aus der maximalen Gradientenamplitude und der Gradientenanstiegszeit wird als „Slew Rate“ bezeichnet. Sie beläuft sich bei diesem Gradienten auf maximal 3440 T/m/s.

Zur Bedienung des MRT wurde die Software ParaVision 5.1 genutzt. Die Bearbeitung und Rekonstruktion der Bilddaten erfolgte mit der Software IntraGate®, die im Software-Paket ParaVision 5.1 enthalten ist.

6.1.1 Versuchsaufbau

Bei den Messungen im MRT wurde eine 16-Kanal Volumenspule genutzt, die sowohl die für die Messungen benötigte Radiofrequenzsignale sendete als auch empfing.

Die Tiere wurden in Bauchlage auf ein Wärmebett in die Lagerungsschale gelegt, um eine Unterkühlung während der Messungen zu vermeiden.

Zur Triggerung der Messungen wurde ein Drucksensor (Graseby infant respiration sensor, Smith Medical Germany, Grasbrunn, Deutschland) zwischen die abdominale Seite der Versuchstiere und der Lagerungsschale gelegt. Damit wurde die Atemfrequenz gemessen und mittels eines externen Computers und Software (PC-SAM32, Sa Instruments Inc., Stony Brook, NY, USA) überwacht, dargestellt und für die Triggerung einzelner MRT-Sequenzen genutzt.

6.2 Versuchstiere

In der Versuchsgruppe Gd-DOTA gegen AGuIX wurden zwölf, in der Gruppe Gd-DTPA im Vergleich zu P846 zehn weibliche Ratten des Stammes WAG-Rij (Wistar Albino Glaxo rats from Rijswijk) eingeschlossen. Die Ratten der Gruppe Gd-DOTA im Vergleich zu AGuIX hatten ein Gewicht von 152 ± 9 g (Mittelwert \pm Standardabweichung), die Tiere in der Gruppe Gd-DTPA gegen P846 165 ± 9 g. Alle

Versuchstiere wurden von der Firma Charles River Laboratories (Sulzfeld, Deutschland) bezogen.

Den Tieren standen jederzeit Wasser und Nahrung ad libitum zur Verfügung.

Nach der zweiten Untersuchung im MRT wurden die Tiere eingeschläfert. Die Lebern wurden für die histopathologische Untersuchung entnommen.

6.2.1 Narkose

Während der MRT-Untersuchungen und der Operationen wurden die Ratten mit dem volatilen Narkotikum Isofluran (AbbVie Deutschland GmbH & Co. KG, Ludwigshafen, Deutschland) betäubt. Zur Einleitung der Narkose wurden die Tiere zunächst in einer Induktionskammer einer Mischung aus 2 bis 4% Isofluran und 96 bis 98% Sauerstoff ausgesetzt. Die Flussrate des Narkotikums betrug 1 bis 3 l/min. Die Aufrechterhaltung der Narkose erfolgte über eine spezielle Maske, über die das volatile Narkosemittel mit einer Dosierung von 1-2% Isofluran und 98-99% Sauerstoff bei einer Flussrate von 1-2 l/min verabreicht wurde.

Die Tiefe der Narkose wurde mithilfe der Messung der Atemfrequenz überwacht. Dazu diente ebenso der zur Triggerung genutzte Drucksensor (Graseby infant respiration sensor, Smith Medical Germany, Grasbrunn, Deutschland) mit angeschlossenem externen Computer und dazugehöriger Software (PC-SAM32, Sa Instruments Inc., Stony Brook, NY, USA). Die Menge des Narkotikums Isofluran wurde dabei auf eine Atemfrequenz der Tiere von 30 bis 40 Atemzüge pro Minute angepasst.

Um neben der allgemeinen volatilen Narkose ebenso eine Analgesie während des operativen Eingriffes zu gewährleisten und die Gefahr einer Entzündungsreaktion nach der Operation zu minimieren, bekamen die Versuchstiere jeweils das nichtsteroidale Antiphlogistikum Carprofen (Rimadyl®, Pfizer GmbH, Berlin, Deutschland) in der Konzentration von 50 mg/ml und einer Dosierung von 5 mg/kg Körpergewicht (KG) subkutan injiziert.

6.2.2 Operation

Nach Einleitung der volatilen Narkose und Analgesie erfolgte ein Hautschnitt unterhalb des Sternums entlang der Medianlinie des Abdomens der Versuchstiere. Das Peritoneum wurde eröffnet, danach der linke Leberlappen aus dem Bauchraum freigelegt und mithilfe einer Mullkompressen manuell fixiert. Es folgte die Injektion der Suspension kolorektaler Zellen. Die Suspension enthielt 5×10^5 Tumorzellen in 50 μl Nährlösung PBS 17-517 (Lonza Inc., Walkersville, USA), die sich aus 1,440 mg/L KH_2PO_4 , 90,000 mg/L NaCl und 7,950 mg/L Na_2HPO_4 zusammensetzte. Die Zellvermehrung dieser Tumorzellen vom Stamm CC531 (Cell Lines Service GmbH, Heidelberg, Deutschland) fand im Zellkulturlabor des Instituts für Klinisch-Experimentelle Chirurgie (Universitätsklinikum des Saarlandes, Homburg, Deutschland) statt. Die Injektion wurde mit einer 27 G Nadel durchgeführt. Um Nachblutungen zu vermeiden erfolgte eine Kompression der Einstichstelle über einen Zeitraum von fünf Minuten. Die mediane Laparatomie wurde mittels einer fortlaufenden Naht verschlossen, dazu diente das Nahtmaterial Vicryl 4-0 von der Firma Johnson & Johnson GmbH (Norderstedt, Deutschland).

6.3 Verwendete Kontrastmittel

In dieser Arbeit wurden klinische, extrazelluläre Kontrastmittel mit experimentellen, makromolekularen Kontrastmitteln verglichen. Eine Übersicht der Eigenschaften dieser MR-Kontrastmittel ist in der Tabelle 1 dargestellt.

	Gd-DOTA	Gd-DTPA	AGuIX	P846
Molekulargewicht [Da]	560	550	8500	3500
Anzahl der Gadoliniumionen [-]	1	1	10	1
Hydrodynamischer Durchmesser [nm]	1	1	3	4
R1-Relaxivität bei 1,5 Tesla [mmol⁻¹s⁻¹]	3,6	3,9	11,4	32
R1-Relaxivität bei 9,4 Tesla [mmol⁻¹s⁻¹]	3,1	3,4	5,8	7,7

Tabelle 1: Übersicht der Eigenschaften der in dieser Arbeit verwendeten Kontrastmittel; Bedingungen der hier aufgezeigten Relaxivitäts-Werte: Temperatur 37 °C in 4 % humanem Albuminserum.

6.4 Extrazelluläre, klinische Kontrastmittel

6.4.1 Kontrastmittel Gd-DOTA (Gadotersäure-Meglumin)

Das extrazelluläre, paramagnetische, makrozyklische Kontrastmittel Gd-DOTA (Gadotersäure-Meglumin, Dotarem®, Guerbet, Aulnay-Sous-Bois, Frankreich) wurde in dieser Arbeit als Referenz- und Vergleichskontrastmittel zu dem experimentellen

Kontrastmittel AGulX verwendet. Es zeichnet sich durch ein geringes molekulares Gewicht (0,56 kDa), eine geringe Toxizität, eine hohe thermodynamische und kinetische Stabilität, eine rasche renale Elimination, eine schnelle extrazelluläre Verteilung und eine geringe Spezifität aus [Laurent et al., 2006]. Der Chelat-Ligand Meglummin in der Verbindung Gd-DOTA ist ein Zuckermonomer.

Gd-DOTA wirkt über die Verkürzung der T1-Relaxationszeit kontrastverstärkend.

Es ist zugelassen für Läsionen mit anormaler Blutbarriere oder Vaskularität der zerebralen und spinalen Bildgebung und ebenso für die Ganzkörper-Bildgebung [Herborn et al., 2007]. Ebenso besteht eine Zulassung für intraartikuläre Injektionen zur Bildgebung von Gelenken [Reimer et Vosshenrich, 2013].

Die Dosierung für die Messungen in diesem Versuchsaufbau betrug 0,1 mmol/kg KG. Dies entspricht der klinischen Dosierung für Menschen für eine Vielzahl von Fragestellungen.



Abbildung 6.2: Molekülstruktur des makrozyklischen Kontrastmittels Gd-DOTA (aus Fries et al. Brain Tumor Enhancement in Magnetic Resonance Imaging at 3 Tesla. Intraindividual Comparison of Two High Relaxivity Macromolecular Contrast Media With a Standard Gd-Chelate in a Rat Brain Tumor Model. Invest Radiol 2009; 44:201; mit freundlicher Genehmigung des Autors und des Verlages).

6.4.2 Kontrastmittel Gd-DTPA (Gadopentetsäure-Dimeglumin)

Gd-DTPA (Gadopentetsäure-Dimeglumin, Magnevist®, Bayer Schering AG, Berlin, Deutschland) ist ein extrazelluläres, offenkettiges Kontrastmittel und wurde in dieser Arbeit als Referenz zu dem makrozyklischen Kontrastmittel P846 benutzt. Ebenso wie Gd-DOTA hat es die Eigenschaften eines geringen molekularen Gewichtes (0,55 kDa), eine geringe Toxizität, eine hohe thermodynamische und kinetische Stabilität,

zeigt eine rasche renale Elimination, eine schnelle extrazelluläre Verteilung und eine geringe Spezifität [Laurent et al., 2006].

Die Wirkung als MR-Kontrastmittel von Gd-DTPA beruht auf einer Verkürzung der T1-Relaxationszeit.

Es ist für die intravenöse ZNS- und Ganzkörper-Bildgebung und für intraartikuläre Injektionen zur Gelenkdarstellung zugelassen [Reimer et Vosshenrich, 2013].

Das Kontrastmittel Gd-DTPA wurde in dieser Studie entsprechend der klinischen Dosierung von 0,1 mmol/kg KG verabreicht.

6.5 Makromolekulare, experimentelle Kontrastmittel

6.5.1 Kontrastmittel AGuIX

AGuIX ist ein Nanopartikel, der von einer Arbeitsgruppe der Universität Lyon entwickelt wurde (Institut Lumière Matière, Universität Claude Bernard Lyon 1, Frankreich). Im Herstellungsprozess werden mittels Fragmentation sogenannte „small rigid platforms (SRP)“ erzeugt, [Lux et al., 2011], die aus Polysiloxan (Silikon) bestehen. Die SRP bilden den Kern der Moleküle, an die jeweils zehn DOTA-Verbindungen über eine Amidbindung gebunden werden (siehe Abbildung 5.3). Die DOTA-Komplexe können verschiedene Verbindungen eingehen. Für die MR-Bildgebung können bis zu zehn Gadolinium-Ionen gebunden werden. Weitere Möglichkeiten bestehen zur Nutzung für nuklearmedizinische Untersuchungen mit Bindung von radioaktivem Indium-111 und für die Bildgebung mit nicht ionischen Strahlen durch die Bindung von Fluorophor [Fries et al., 2014]. Durch die Bindung von spezifischen Liganden ist es möglich, AGuIX zur sogenannten Theragnostik zu nutzen. Der Begriff Theragnostik bedeutet dabei, dass bestimmte Komplexe nicht nur für diagnostische Zwecke sondern auch gleichzeitig zu therapeutischen Zwecken angewendet werden kann. Im Fall von AGuIX konnte dabei in experimentellen Studien gezeigt werden, dass neben den kontrastgebenden Eigenschaften auch ein strahlensensibilisierender Effekt bei der Strahlentherapie experimenteller Hirngliome festzustellen ist [Le Duc et al., 2011].

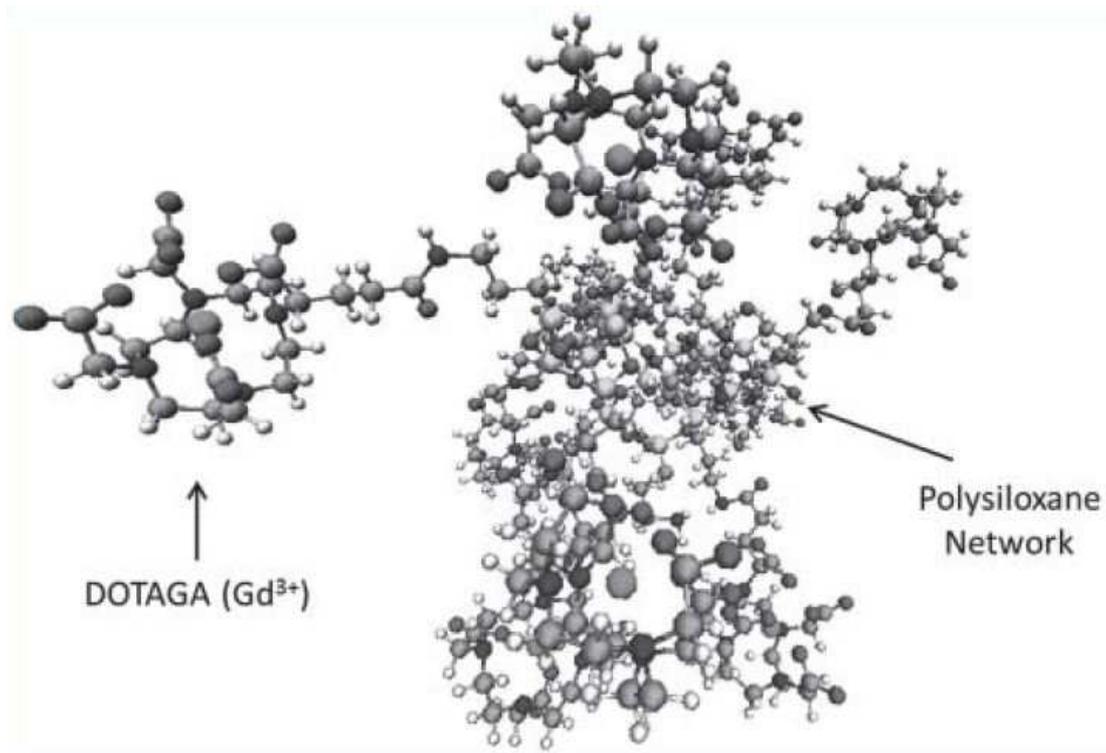


Abbildung 6.3: Dreidimensionale Darstellung des Kontrastmittels AGuIX; der Kern als wird aus Polysiloxan gebildet, an ihm sind zehn DOTA-Komplexe gebunden (aus Fries et al. Evaluation of a Gadolinium-based Nanoparticle (AGuIX) for contrast-enhanced MRI of the liver in a rat model of hepatic colorectal cancer metastases at 9.4 Tesla. Fortschr Röntgenstr 2015; doi 10.1055/s-0035-1553500; mit freundlicher Genehmigung des Autors und des Verlages).

Die Relaxivität von AGuIX bei 9,4 Tesla beträgt $5,8 \text{ mmol}^{-1}\text{s}^{-1}$. Das entspricht beinahe dem doppelten Wert der Relaxivität von Gd-DOTA bei dieser Feldstärke und ist durch die größere Trägheit der rigiden Struktur von AGuIX zu erklären [Lux et al., 2011].

Die Dosierung des AGuIX betrug bei den Akquisitionen im MRT $0,01 \text{ mmol/kg}$ Körpergewicht. Da in der genutzten Verbindung AGuIX zehn Gadolinium-Ionen gebunden sind, wurde die Kontrastmitteldosierung auf ein Zehntel des Referenzkontrastmittels Gd-DOTA, in dem je Verbindung ein Gadolinium-Ion enthalten ist, angepasst.

6.5.2 Kontrastmittel P846

Das experimentelle, makrozyklische Kontrastmittel P846 (Guerbet Research, Aulnay-Sous-Bois, Frankreich) hat ein mittleres Molekulargewicht von 3,5 kDa, ist hydrophil und wird renal mittels glomerulärer Filtration eliminiert. Pro Verbindung enthält P846 je ein Gadolinium-Ion.

P846 hat die Eigenschaft einer langsameren Diffusionsgeschwindigkeit aus dem Blut in das Interstitium als extrazelluläre Kontrastmittel [Jacquier, Wendland et al., 2008]. Die hohe Relaxivität beruht auf dem modifizierten Gadolinium-Kern mit den spezifischen, drei-armigen, makrozyklischen Seitenketten und ist nicht auf die Bindung an Albumin zurückzuführen [Peldschus et al., 2008]. Die Molekülgröße von P846 verringert die Rotationsrate des Moleküls, was die Interaktion mit Wasserstoffprotonen verbessert und folglich zu einer höheren Relaxivität führt [Jacquier, Bucknor et al., 2008].

Die Dosierung des Kontrastmittels P846 betrug 0,1 mmol/kg KG. Da in jedem P846-Molekül ein Gadolinium-Ion enthalten ist wurde die Dosierung gleich der des Referenzkontrastmittels Gd-DTPA gewählt.

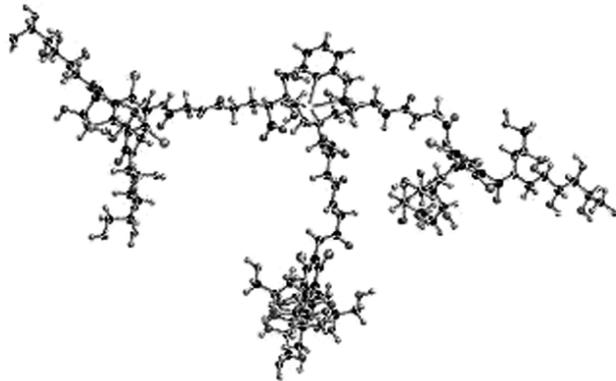


Abbildung 6.4: Molekülstruktur des Kontrastmittels P846 (aus Fries et al. Brain Tumor Enhancement in Magnetic Resonance Imaging at 3 Tesla. Intraindividual Comparison of Two High Relaxivity Macromolecular Contrast Media With a Standard Gd-Chelate in a Rat Brain Tumor Model. Invest Radiol 2009; 44:201; mit freundlicher Genehmigung des Autors und des Verlages).

6.6 Magnetresonanztomographiesequenzen

Die MRT-Untersuchungen erfolgten 14 Tage nach der Implantation der Tumorzellen. In der Gruppe Gd-DOTA im Vergleich zu AGuIX wurde für die erste Untersuchung das Referenzkontrastmittel Gd-DOTA verabreicht, da die Dauer der Ausscheidung des Nanokontrastmittels unklar war und eventuelle Beeinflussungen der Messwerte durch verlängerte Anreicherung von AGuIX vermieden werden sollten. Die Reihenfolge der Kontrastmittel Gd-DTPA und P846 erfolgte randomisiert. Nach weiteren 48 Stunden folgte die erneute MRT-Untersuchung mit entsprechend alternierenden Kontrastmitteln aus den jeweiligen Subgruppen.

Tabelle 2 gibt einen Überblick über die angewendeten MRT-Untersuchungstechniken.

	T2w Turbo-RARE	T1w IG-FLASH
TR [ms]	917	45
TE [ms]	27	2,5
Flip Angle [°]	90	45
Wiederholungen	3	5
FOV [mm²]	50x50	50x50
Matrix	256x256	256x256
Pixelgröße [µm²]	195x195	195x195
Schichtdicke [mm]	1	1

Tabelle 2: Übersicht der Parameter der Magnetresonanztomographiesequenzen.

6.6.1 T2-gewichtete TurboRARE (Turbo-Rapid-Acquisition-with-Relaxation-Enhancement)

Um die Lokalisation der hepatischen Metastasen des kolorektalen Karzinoms zu bestimmen wurden zunächst T2-gewichtete Sequenzen in axialer und sagittaler Schichtorientierung akquiriert. In dieser Bildgebung stellten sich die induzierten fokalen Leberläsionen typischerweise mit hyperintensem Signal gegenüber dem normalen Lebergewebe dar. Anhand dieser Aufnahmen wurden dann die Schichtführung und Schichtposition der T1-gewichteten Sequenzen geplant.

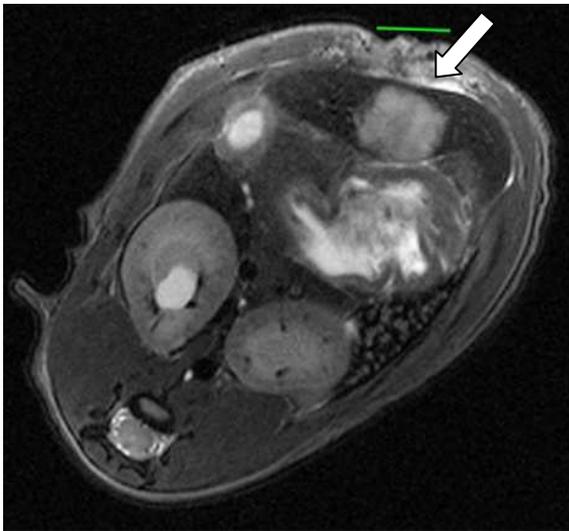


Abbildung 6.5: T2-gewichtete axiale Aufnahme. Der weiße Pfeil weist auf die Lebermetastase des kolorektalen Karzinoms. Der grüne Strich entspricht 1 cm.

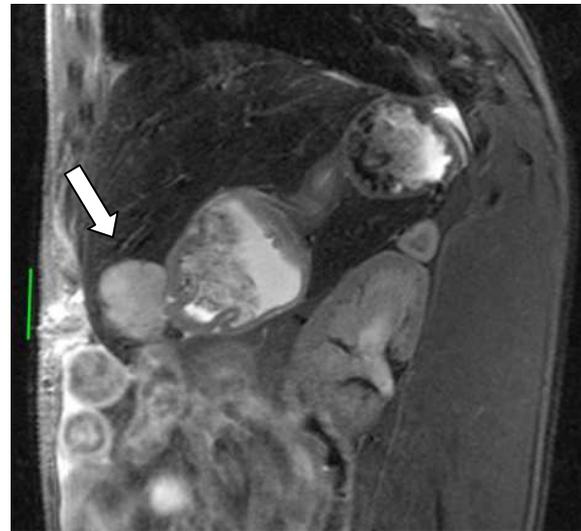


Abbildung 6.6: T2-gewichtete sagittale Aufnahme. Die Lebermetastase ist mit einem weißen Pfeil gekennzeichnet. Der grüne Strich entspricht 1 cm.

6.6.2 T1-gewichtete IG-FLASH (IntraGate-Fast-Low-Angle-Shot) nativ und nach Kontrastmittelgabe

Vor der Kontrastmittelgabe wurden zwei native T1-gewichtete Sequenzen in identischer axialer Schichtposition auf Höhe der Lebertumoren akquiriert und daraus

subtrahierte Datensätze erzeugt, die zur weiteren Kalkulation des Signal-zu-Rausch-Verhältnisses benötigt wurden.

Nach der Kontrastmittelgabe wurden diese T1-gewichteten Sequenzen im Abstand von 2 Minuten an zehn aufeinanderfolgenden Zeitpunkten mit den gleichen Parametern und an derselben Lokalisation wie die nativen Messungen wiederholt.

Die Akquisition der Sequenzen erfolgte mittels retrospektivem Selbstgating. Dazu wurde das erste Echo dieser Sequenz zur Erstellung eines Navigators verwendet. Dieser fungierte als Sättigerschicht und hatte eine Dicke von drei Millimetern. Die Platzierung erfolgte vier Millimeter oberhalb der Messschichten. In dieser Sättigerschicht konnten während der Atembewegungen Änderungen der Signalintensität während des Atemzyklus gemessen werden. Zur Bildrekonstruktion wurden nur Daten verwendet, die während der Expiration akquiriert wurden. So konnten Artefakte, die aufgrund der physiologischen Bewegung der Atmung entstehen, gering gehalten werden.

6.7 Auswertung

Die Auswertung des gewonnenen Bildmaterials erfolgte mithilfe der Software OsiriX (Pixmeo, Bernex, Schweiz). Mittels Region-of-Interest (ROI) Analyse wurden die Signalintensitäten im Leberparenchym und im Tumorgewebe bestimmt. Im Tumorgewebe wurde für die ROI eine repräsentative Stelle gewählt, die ein homogenes starkes Signal zeigte. Die definierten ROI im normalen Lebergewebe als auch für in den Tumorregionen wurden sowohl auf die nativen und subtrahierten Datensätze als auch auf alle Kontrastmittel-verstärkten Datensätze übertragen. Dabei wurde die Standardabweichung der Signalintensitäten der ROI in den subtrahierten Datensätzen als Wert des Rauschens in der entsprechenden Region angesehen.

Die Berechnung des SNR des Lebergewebes und des Tumors, das CNR und LE erfolgte nach folgenden Formeln:

$$SNR_{liver,t} = \frac{SI_{liver,t} \cdot \sqrt{2}}{SD_{subtract}}$$

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

$$CNR_t = SNR_{tumor,hypoenhanc.,t} - SNR_{liver,t}$$

$$LE_t = SNR_{tumor,hyperenhanc.,t} - SNR_{tumor,unenhanced}$$

Die statistische Auswertung erfolgte mit der Software GraphPad Prism Version 5.00 (GraphPad Software, San Diego, Kalifornien, USA). Zunächst wurde ein Test auf Normalverteilung durchgeführt. Dazu wurde der D'Agostino und Pearson-Test genutzt. Statistisch signifikante Unterschiede in SNR, CNR und LE zwischen den jeweiligen Kontrastmitteln wurden mit dem Wilcoxon-Rangsummentest oder dem gepaarten t-Test ausgewertet. Es wurde dabei festgelegt, dass $p < 0,05$ eine statistische Signifikanz beschreibt.

7 Ergebnisse

Die histopathologischen Untersuchungen der Leberpräparate bestätigten die Präsenz von Lebermetastasen des kolorektalen Karzinoms ohne Zeichen von Nekrose in allen Versuchstieren.

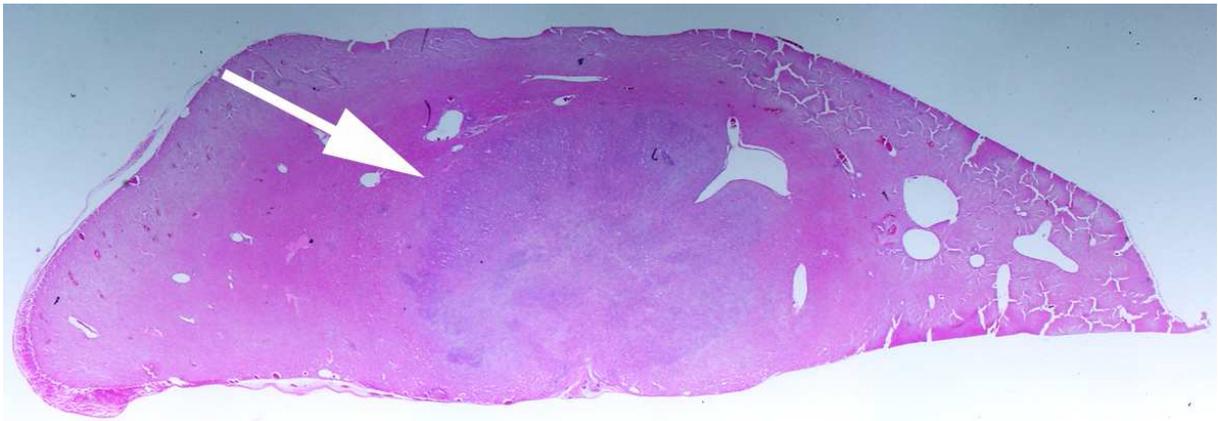


Abbildung 7.1: Histopathologisches Präparat der Leber in Hämatoxylin-Eosin-Färbung in 20-facher Vergrößerung; der Pfeil weist auf die kolorektale Metastase im linken Leberlappen (modifiziert übernommen aus Fries et al. Evaluation of a Gadolinium-based Nanoparticle (AGuIX) for contrast-enhanced MRI of the liver in a rat model of hepatic colorectal cancer metastases at 9.4 Tesla. Fortschr Röntgenstr 2015; doi 10.1055/s-0035-1553500; mit freundlicher Genehmigung des Autors und des Verlages).

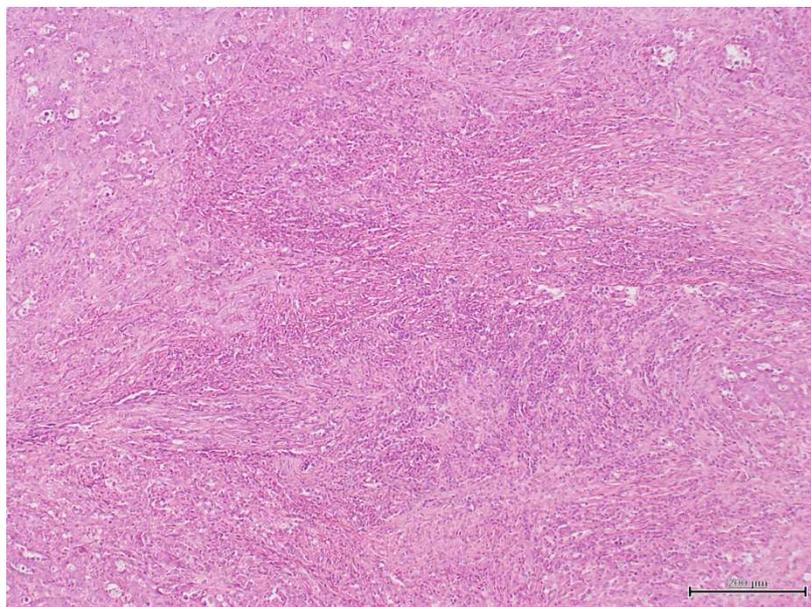


Abbildung 7.2: Histopathologisches Leberpräparat in Hämatoxylin-Eosin-Färbung in 100-facher Vergrößerung. Es sind Tumorzellverbände, fibrotisches Stroma und Infiltrationen mit Entzündungszellen zu sehen (modifiziert übernommen aus Fries et al. Evaluation of a Gadolinium-based Nanoparticle (AGuIX) for contrast-enhanced MRI of the liver in a rat model of hepatic colorectal cancer metastases at 9.4 Tesla. Fortschr Röntgenstr 2015; doi 10.1055/s-0035-1553500; mit freundlicher Genehmigung des Autors und des Verlages).

7.1 Gruppe Gd-DOTA im Vergleich zu AGuIX

7.1.1 Signal-zu-Rausch-Verhältnis der Leber

Das Lebergewebe zeigte ein signifikant höheres SNR (Mittelwert \pm Standardabweichung) nach Injektion von AGuIX ($28,2 \pm 2,6$) im Vergleich zu Gd-DOTA ($14,6 \pm 0,7$; $p < 0,001$).

Beide Kontrastmittel wiesen nach Injektion ein frühes Maximum der Signalsteigerung im Leberparenchym auf, wobei dieser Effekt für AGuIX deutlich ausgeprägter war. Im weiteren Zeitverlauf zeigt sich ein kontinuierlicher Abfall des SNR der Leber, was ein kontinuierliches Auswaschen des Kontrastmittels widerspiegelt.

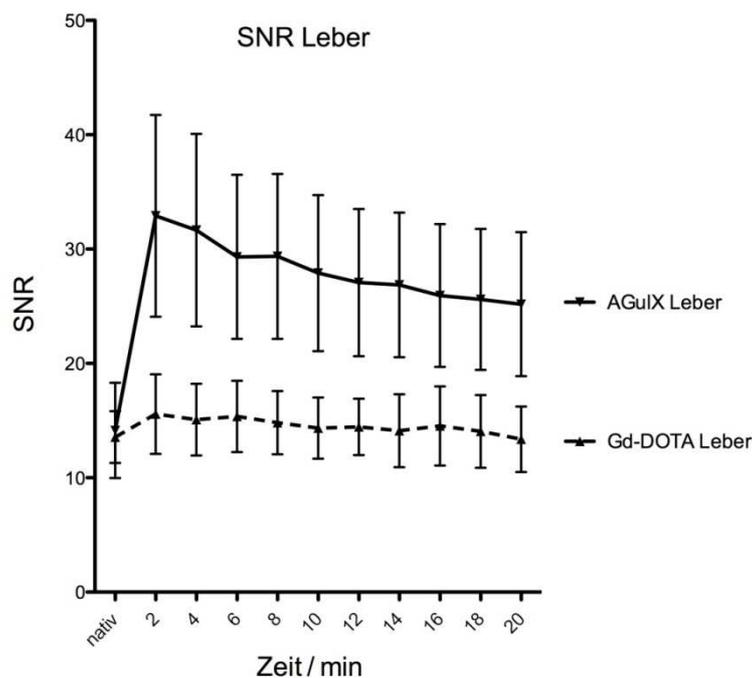


Abbildung 7.3: SNR der Leber über die Zeit nach Injektion der Kontrastmittel Gd-DOTA und AGuIX.

	Nativ	2 min	4 min	6 min	8 min	10 min	12 min	14 min	16 min	18 min	20 min
Gd-DOTA	13,6	15,6	15,1	15,4	14,8	14,4	14,5	14,1	14,5	14,1	13,4
AGuIX	14,1	32,9	31,7	29,3	29,4	27,9	27,1	26,9	25,9	25,6	25,2
p	0,65	< 0,001	< 0,002	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001

7.1.2 Signal-zu-Rausch-Verhältnis des Tumors

Das SNR des Tumorgewebes (Mittelwert \pm Standardabweichung) war unter Verwendung des Nanopartikel-Kontrastmittels AGuIX ($29,6 \pm 2,8$) signifikant höher im Vergleich zu dem Referenzkontrastmittel Gd-DOTA ($18,6 \pm 1,2$; $p < 0,001$).

Auch in diesen Messungen zeigten beide Kontrastmittel ein frühes Maximum der Signalsteigerung des Tumorgewebes unmittelbar nach der Injektion mit darauffolgendem kontinuierlichem Abfall des SNR ohne Plateauphase.

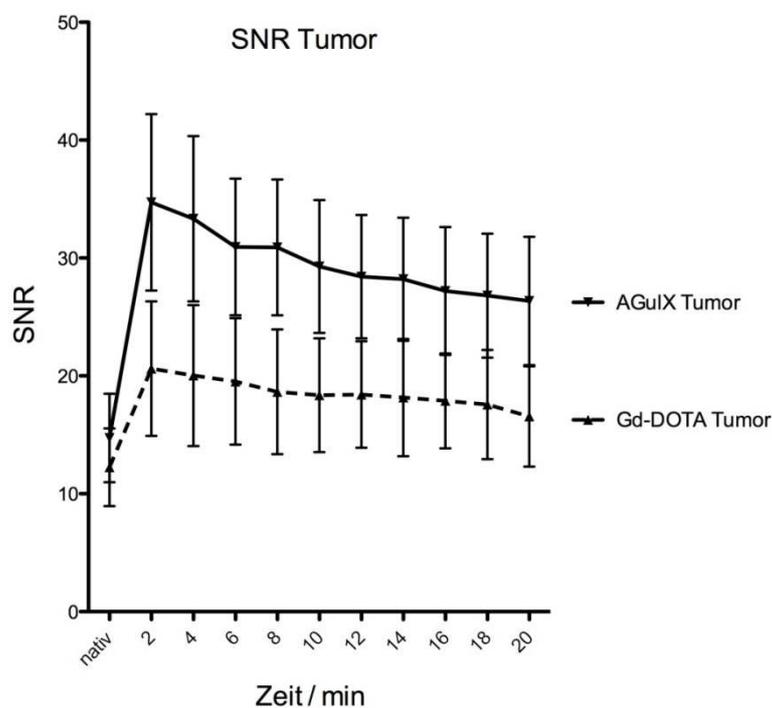


Abbildung 7.4: SNR des Tumors über die Zeit nach Injektion der Kontrastmittel Gd-DOTA und AGuIX.

	Nativ	2 min	4 min	6 min	8 min	10 min	12 min	14 min	16 min	18 min	20 min
Gd-DOTA	12,2	20,6	20,0	19,5	18,7	18,4	18,4	18,2	17,9	17,6	16,6
AGuIX	14,7	34,7	33,3	30,9	30,9	29,3	28,4	28,2	27,2	26,8	26,4
p	0,07	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001

7.1.3 Kontrast-zu-Rausch-Verhältnis

Das CNR (Mittelwert \pm Standardabweichung) zeigte für AGuIX ($6,5 \pm 1,2$) signifikant höhere Werte als für Gd-DOTA ($4,0 \pm 0,6$; $p < 0,001$).

Auch der zeitliche Verlauf des CNR wies ein Maximum unmittelbar nach der Kontrastmittelinjektion auf und fiel im Verlauf der gemessenen 20 Minuten stetig ab.

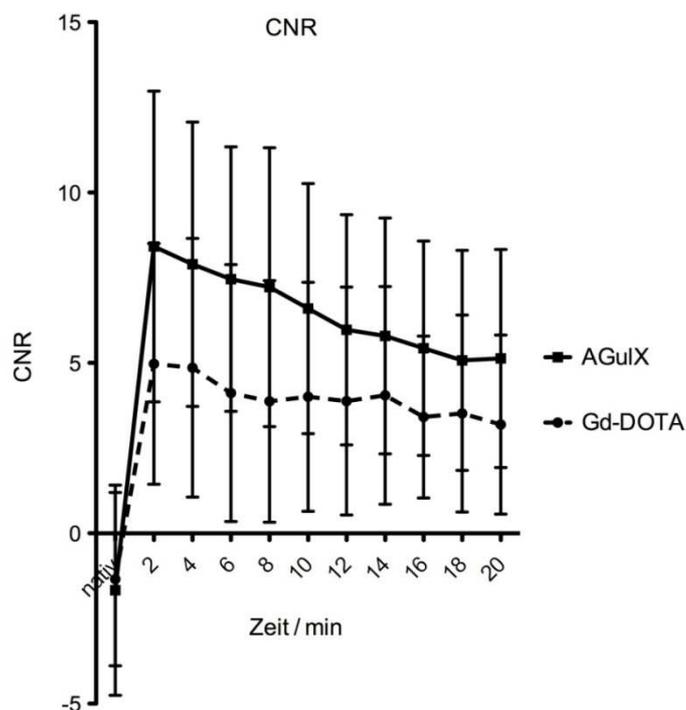


Abbildung 7.5: CNR über die Zeit nach Injektion der Kontrastmittel Gd-DOTA und AGuIX.

	Nativ	2 min	4 min	6 min	8 min	10 min	12 min	14 min	16 min	18 min	20 min
Gd-DOTA	-1,3	5,1	5,0	4,2	3,8	4,0	4,0	4,1	3,3	3,5	3,2
AGuIX	-1,3	8,9	8,3	8,0	7,8	7,0	6,5	6,3	5,8	5,5	5,7
p	0,97	0,01	0,001	0,002	0,003	0,004	0,01	0,01	0,008	0,03	0,01

7.1.4 Läsionsenhancement

Das LE (Mittelwert \pm Standardabweichung) war für AGuIX ($14,9 \pm 2,8$) signifikant höher als für Gd-DOTA ($3,8 \pm 0,7$; $p = 0,001$).

Analog zu den vorherigen Ergebnissen stellt sich auch hier ein frühes Maximum der Kontrastmittelanreicherung mit einem folgenden kontinuierlichen Auswaschen des Kontrastmittels über die gemessene Zeit dar. Auch hier war der Effekt mit AGuIX deutlich ausgeprägter als mit Gd-DOTA.

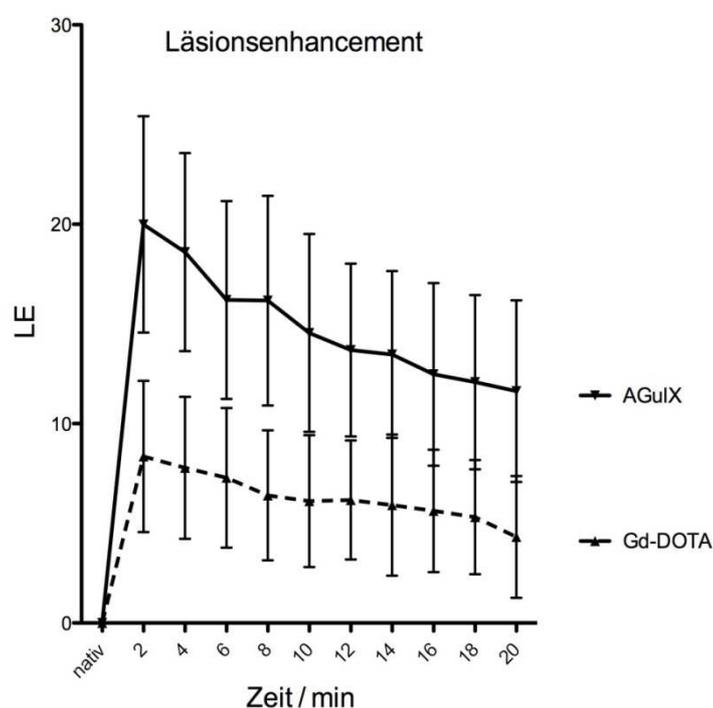


Abbildung 7.6: LE über die Zeit nach Injektion der Kontrastmittel Gd-DOTA und AGuIX.

	Nativ	2 min	4 min	6 min	8 min	10 min	12 min	14 min	16 min	18 min	20 min
Gd-DOTA	0	8,4	7,8	7,3	6,4	6,1	6,2	5,9	5,6	5,3	4,3
AGuIX	0	20,0	18,6	16,2	16,2	14,6	13,7	13,5	12,5	12,1	11,6
p	n.a.	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	0,002	0,003	< 0,001	0,002

7.1.5 Magnetresonanztomographie-Bilder

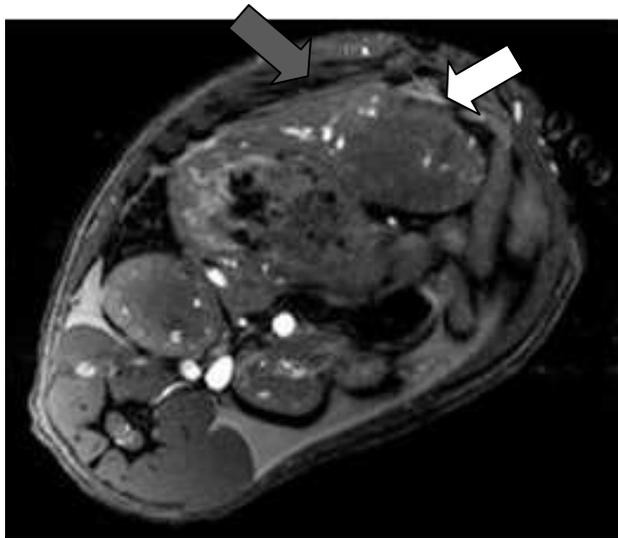


Abbildung 7.7: T1-gewichtete axiale Aufnahme der Lebermetastase (weißer Pfeil) und des gesunden Lebergewebes (grauer Pfeil) vor Kontrastmittelgabe.

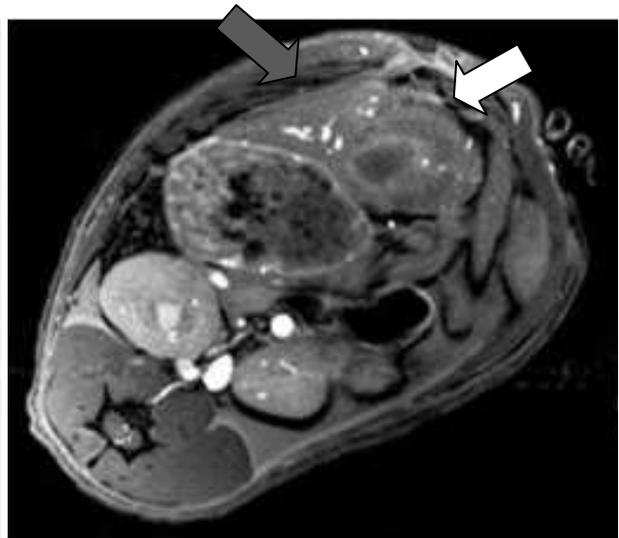


Abbildung 7.8: Axiale T1-gewichtete Aufnahme nach Injektion des Kontrastmittels Gd-DOTA (0,1 mmol/kg Körpergewicht). Die Signalintensität des Tumors (weißer Pfeil) sowie des Leberparenchyms (grauer Pfeil) steigt nach Kontrastmittelgabe gering an.

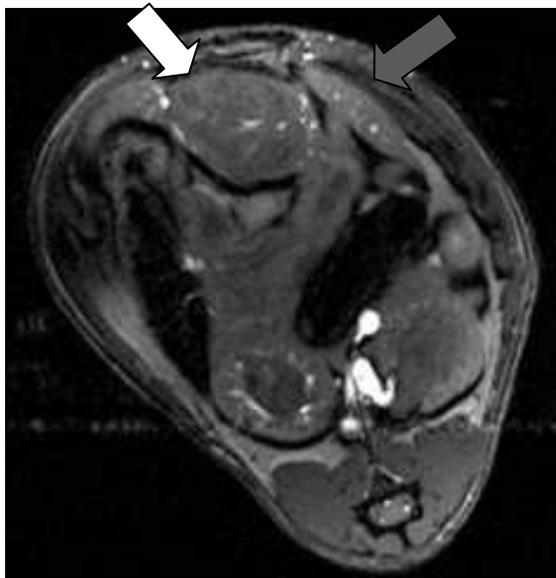


Abbildung 7.9: T1-gewichtete axiale Aufnahme der Metastase des kolorektalen Karzinoms (weißer Pfeil) und des Leberparenchyms (grauer Pfeil) vor Kontrastmittelgabe.



Abbildung 7.10: T1-gewichtete axiale Aufnahme nach Injektion von 0,01 mmol/kg Körpergewicht AGuX. Im Vergleich zu der Akquisition mit Gd-DOTA zeigt sich eine stärkere Signalintensität der Leber (grauer Pfeil) und des Tumors (weißer Pfeil).

7.2 Gruppe Gd-DTPA im Vergleich zu P846

7.2.1 Signal-zu-Rausch-Verhältnis der Leber

Das SNR des Lebergewebes (Mittelwert \pm Standardabweichung) zeigte für das experimentelle Kontrastmittel P846 ($24,0 \pm 1,6$) signifikant höhere Werte im Vergleich zu Gd-DTPA ($16,9 \pm 1,1$; $p < 0,001$).

Beide Kontrastmittel zeigten eine ähnliche Kinetik des SNR des Lebergewebes mit einem frühen Anstieg nach der Gabe des jeweiligen Kontrastmittels und einem stetigen Abfall des SNR.

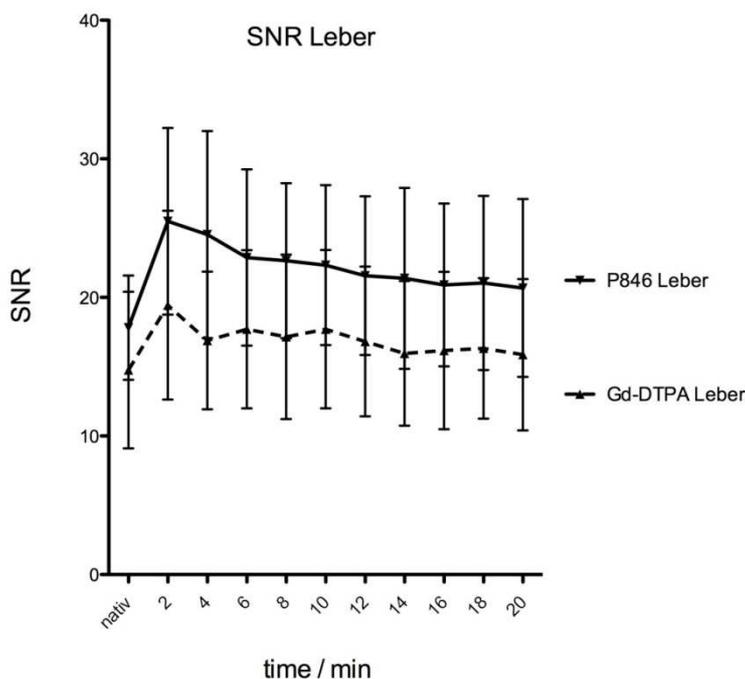


Abbildung 7.11: SNR des Lebergewebes über die Zeit nach Injektion der Kontrastmittel Gd-DTPA und P846.

	Nativ	2 min	4 min	6 min	8 min	10 min	12 min	14 min	16 min	18 min	20 min
Gd-DTPA	14,8	19,4	16,9	17,7	17,2	17,7	16,8	16,0	16,2	16,3	15,9
P846	17,8	25,5	24,5	22,9	22,7	22,3	21,6	21,4	20,1	21,0	20,7
p	0,08	0,014	0,003	0,013	0,007	0,014	0,01	0,002	0,044	0,032	0,039

7.2.2 Signal-zu-Rausch-Verhältnis des Tumors

Ebenso das SNR des Tumorgewebes (Mittelwert \pm Standardabweichung) war mit dem Kontrastmittel P846 ($36,2 \pm 2,1$) signifikant höher im Vergleich zu Gd-DTPA ($23,0 \pm 1,8$; $p < 0,001$).

Das SNR des Tumors wies einen sofortigen Anstieg nach der Gabe beider Kontrastmittel auf. Darauf folgte ein kontinuierlicher Abfall des SNR über den Messzeitraum.

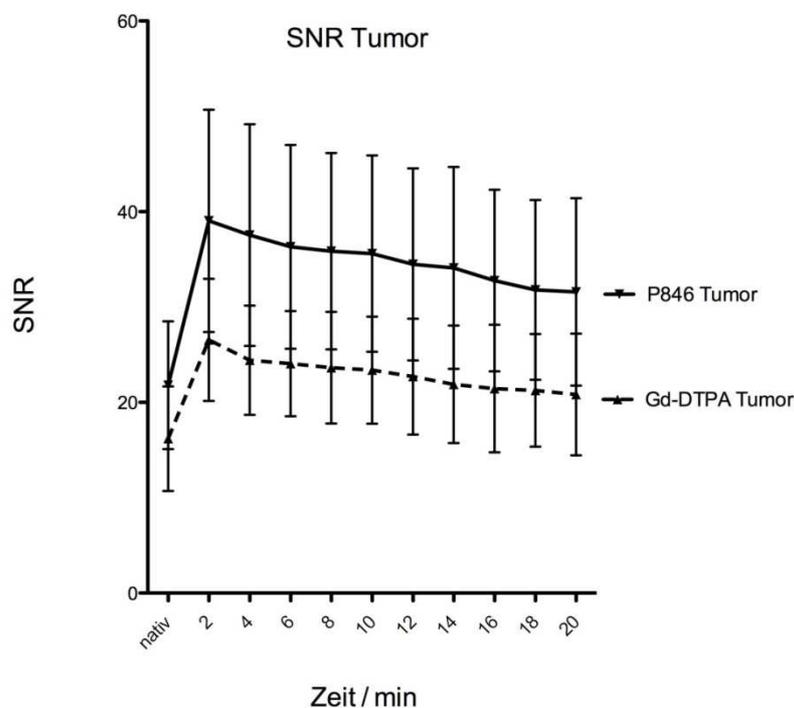


Abbildung 7.12: SNR des Tumorgewebes über die Zeit nach Injektion der Kontrastmittel Gd-DTPA und P846.

	Nativ	2 min	4 min	6 min	8 min	10 min	12 min	14 min	16 min	18 min	20 min
Gd-DTPA	16,2	26,6	24,4	24,1	23,6	23,4	22,7	21,9	21,5	21,3	20,8
P846	21,8	39,0	37,6	36,3	35,9	35,6	34,5	34,1	32,8	31,8	31,6
p	0,051	0,006	0,003	0,003	0,003	0,002	0,002	0,005	0,007	0,006	0,008

7.2.3 Kontrast-zu-Rausch-Verhältnis

Es wurden signifikant höhere Werte des CNR (Mittelwert \pm Standardabweichung) von P846 ($12,2 \pm 0,9$) im Vergleich zu Gd-DTPA ($6,1 \pm 0,9$; $p < 0,001$) mithilfe der Messdaten berechnet.

Übereinstimmend mit dem SNR legte das CNR einen frühen Anstieg nach Injektion der Kontrastmittel dar und fiel im Verlauf kontinuierlich ab.

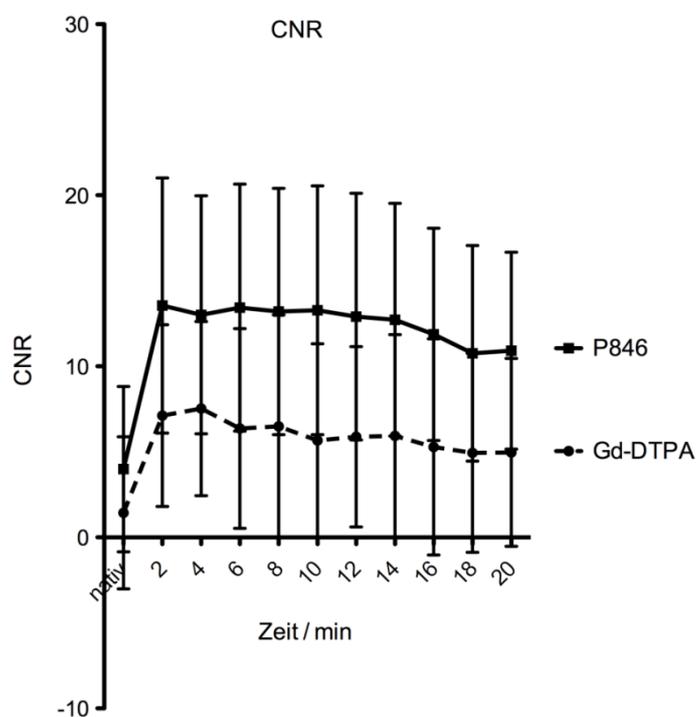


Abbildung 7.13: CNR über die Zeit nach Injektion der Kontrastmittel Gd-DTPA und P846.

	Nativ	2 min	4 min	6 min	8 min	10 min	12 min	14 min	16 min	18 min	20 min
Gd-DTPA	1,4	7,1	7,5	6,4	6,5	5,7	5,9	5,9	5,3	4,9	5,0
P846	3,9	13,6	13,0	13,4	13,2	13,3	12,9	12,7	11,9	10,8	10,9
p	0,32	0,04	0,04	0,014	0,033	0,015	0,014	0,026	0,03	0,041	0,028

7.2.4 Läsionsenhancement

Das LE (Mittelwert \pm Standardabweichung) der Messungen von P846 ($13,5 \pm 2,1$) im Vergleich zu Gd-DTPA ($7,9 \pm 1,8$; $p < 0,001$) wies signifikant höhere Werte des P846 auf.

Die Kontrastmittelanreicherung konnte mit einem raschen Peak mit darauffolgendem konstantem Abfall beider Kurven beobachtet werden. Die Kinetik der Kontrastmittel war dabei ähnlich.

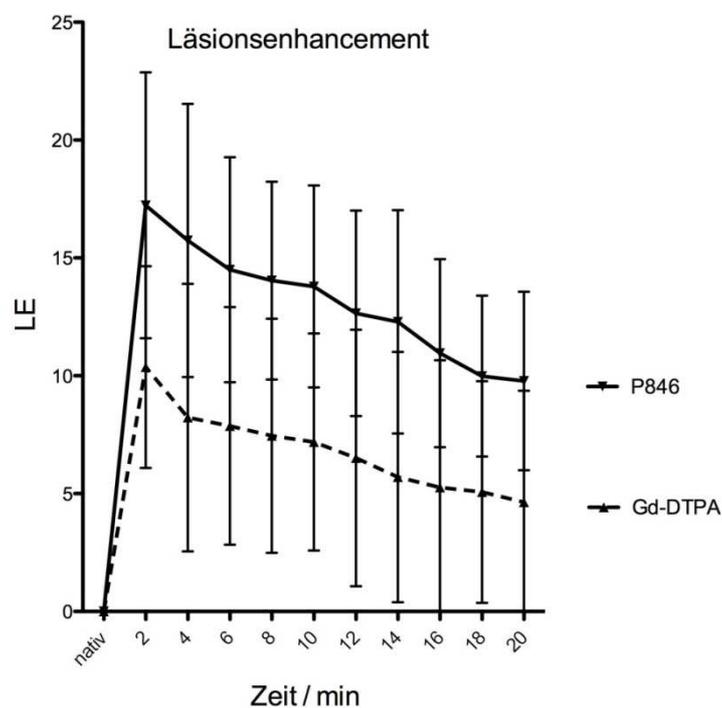


Abbildung 7.14: LE über die Zeit nach Injektion der Kontrastmittel Gd-DTPA und P846.

	Nativ	2 min	4 min	6 min	8 min	10 min	12 min	14 min	16 min	18 min	20 min
Gd-DTPA	0	10,4	8,2	7,9	7,5	7,2	6,5	5,7	5,3	5,1	4,6
P846	0	17,2	15,7	14,5	14,0	13,8	12,7	12,3	11,0	10,0	9,8
p	n.a.	0,004	0,014	0,008	0,008	0,004	0,01	0,014	0,042	0,023	0,032

7.2.5 Magnetresonanztomographie-Bilder

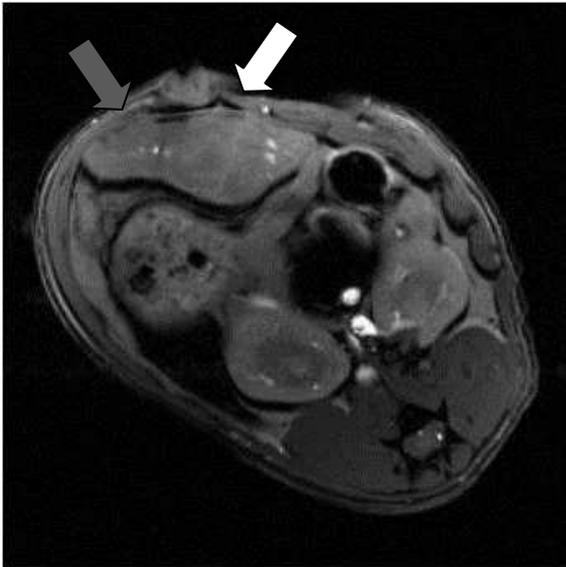


Abbildung 7.15: T1-gewichtete axiale Aufnahme vor Kontrastmittelgabe. Der weiße Pfeil weist auf die Lebermetastase, der graue Pfeil kennzeichnet das gesunde Lebergewebe.

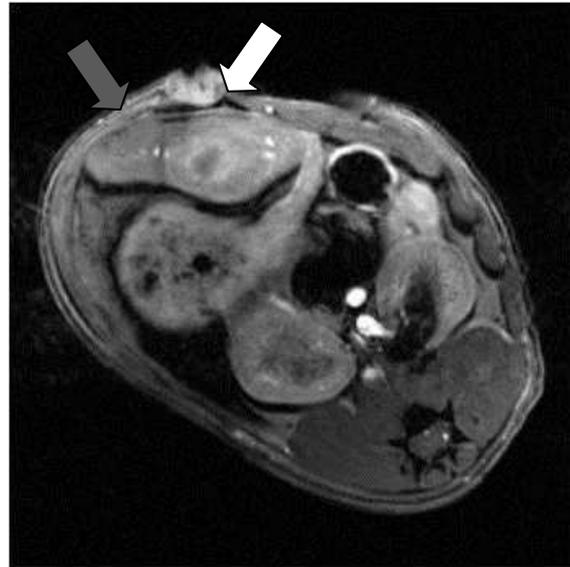


Abbildung 7.16: Axiale T1-gewichtete Aufnahme nach intravenöser Injektion des Kontrastmittels Gd-DTPA in der Dosierung 0,1 mmol/kg Körpergewicht. Es ist ein Anstieg der Signalintensität der Metastase (weißer Pfeil) und des Leberparenchyms (grauer Pfeil) zu erkennen.

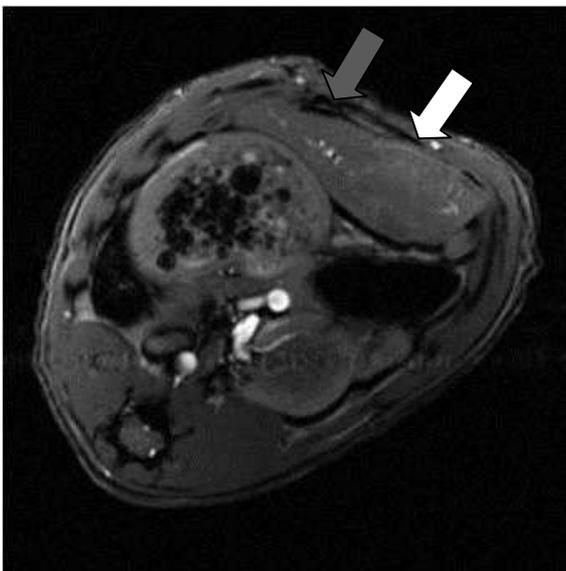


Abbildung 7.17: Axiale T1-gewichtete Aufnahme der Metastase (weißer Pfeil) und der Leber (grauer Pfeil) vor Kontrastmittelgabe.

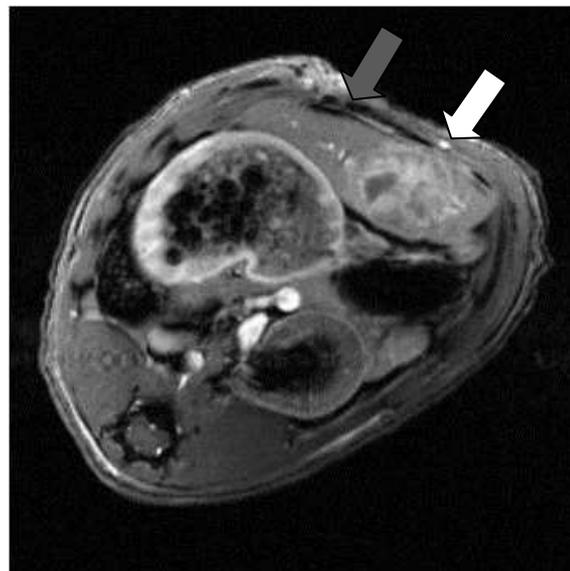


Abbildung 7.18: T1-gewichtete axiale Aufnahme nach Injektion von 0,1 mmol/kg Körpergewicht P846. Der Signalanstieg der Lebermetastase (weißer Pfeil) und des hepatischen Gewebes (grauer Pfeil) ist deutlich zu sehen.

8 Diskussion

Die klinische und experimentelle MRT hat sich in den letzten Jahren stetig in Richtung höhere Magnetfelder bewegt. Ultrahochfeld-MR-Tomographen bis 21 Tesla zu Forschungszwecken bieten im Vergleich zu niedrigeren Feldstärken eine kürzere Akquisitionszeit und eine bessere räumliche Auflösung. Dadurch ist es möglich geworden auch sehr kleine und sich schnell bewegende Strukturen, wie zum Beispiel das kardiovaskuläre System von Mäusen zu untersuchen [Fries et al., 2012]. Dies ermöglicht die Durchführung von intraindividuellen Vergleichs- oder Longitudinalstudien in der präklinischen Herz-Kreislauf-Forschung [Custodis et al., 2011] [Reil et al., 2012].

Einschränkungen bei der Ultrahochfeld-MRT ergeben sich jedoch bezüglich der Anwendung von Kontrastmitteln. Mit steigenden Feldstärken kommt es zu einer Abnahme der R1-Relaxivität, sprich zu einer Abnahme des Kontrasteffektes auf T1-gewichteten Aufnahmen.

Eine zunächst naheliegende Möglichkeit, einen verbesserten Kontrast in der Ultrahochfeld-MRT zu erhalten, scheint eine Erhöhung der Kontrastmitteldosis zu sein. Jedoch steigt die Kontrastanreicherung mit Erhöhung der Dosis nicht linear an, sondern zeigt nach einer Anstiegsphase ein Plateauphänomen. Zusätzlich entstehen durch die verstärkte Anreicherung des Kontrastmittels vermehrt T2*-Effekte und somit eine Abnahme bis zu einem Verlust des Signals bei sehr hohen Kontrastmitteldosierungen [Hagberg et Scheffler, 2013]. Es erschließt sich, dass eine höhere Dosierung des Kontrastmittels nicht uneingeschränkt zu einer Kontrastverbesserung im Ultrahochfeld-MRT führt.

Des Weiteren zeigen Studien, dass die Exposition von manchen Gadolinium enthaltenden Kontrastmitteln ein Risikofaktor zur Entwicklung einer nephrogenen systemischen Fibrose (NSF) zu sein scheint [Todd et al., 2007]. Die NSF ist eine Erkrankung, die sich in fibrotischen Umbauprozessen der Haut und inneren Organe manifestiert [Thomsen et al., 2013]. Das Auftreten von Veränderungen der Haut im Rahmen einer NSF erwies sich als Prädiktor von Frühsterblichkeit [Todd et al., 2007]. Ein besonders hohes Risiko diese Krankheit zu entwickeln haben Patienten mit einer glomerulären Filtrationsrate unter 30 ml/min, Patienten, die dialysepflichtig sind oder

an einer akuten Niereninsuffizienz leiden [Thomsen et al., 2013]. Des Weiteren spielt die Dosierung der Kontrastmittel und die Anzahl der Kontrastmittelverstärkten MRT-Untersuchungen eine wichtige Rolle bei der Entstehung der NSF. Die Erhöhung der Kontrastmitteldosis ist somit nicht nur in Bezug auf die erwünschte Erhöhung des T1-Kontrastes ungeeignet, sondern bedingt auch ein höheres Risiko für das Auftreten unerwünschter Nebenwirkungen im Rahmen der NSF.

Eine Erhöhung der Relaxivität eines Kontrastmittels stellt somit die wohl naheliegende Alternative zur Erhöhung des Kontrastes auf T1-gewichteten Aufnahmen dar. Dies kann durch unterschiedliche Mechanismen erreicht werden. Eine Möglichkeit ist die Erhöhung der Anzahl der Hydratationen des Gadolinium-Ions. Die Protonenrelaxivität in der inneren Sphäre ist linear proportional zu der Anzahl der Hydratationen des Gadoliniums [Rashid et al., 2012]. Die Relaxivität wird ebenso von der mittleren Verweildauer der Wassermoleküle in der inneren Sphäre beeinflusst. Sie beeinflusst die Austauschrate der Wassermoleküle in den drei Sphären, die sich um das Gadolinium-Ion anordnen. Ist die Austauschrate zu langsam wird insbesondere die Relaxation der Wassermoleküle der zweiten und äußeren Sphäre behindert. Ist sie zu schnell reicht die mittlere Verweildauer der Wassermoleküle in der inneren Sphäre nicht aus um effizient relaxiert zu werden. Ein weiterer Faktor, der die Relaxivität beeinflusst, ist der Abstand des Gadolinium-Ions zu den Wasserprotonen (r_{GdH}). Die Relaxivität der inneren Sphäre ist umgekehrt proportional zu r_{GdH}^6 [Rashid et al., 2012]. Ein geringerer Abstand führt zu einer höheren Relaxivität. Beide Mechanismen sind jedoch in Realität nur schwierig zu beeinflussen und können mit einer reduzierten Stabilität des Chelatkomplexes einhergehen.

Ein weiterer Faktor, der die Relaxivität eines Kontrastmittelmoleküls maßgeblich beeinflusst, ist die „rotational correlation time“. Die rotational correlation time reflektiert die Rotationsrate des Moleküls pro Zeiteinheit [Rashid et al., 2012] und ist abhängig von der Magnetfeldstärke. Die Rotationsbewegung ist wahrscheinlich der wichtigste Parameter, der die Relaxivität beeinflusst [Caravan, 2006]. Eine längere Rotationszeit ermöglicht eine bessere Interaktion zwischen den Wasserstoffprotonen und dem Gadolinium-Ion im Zentrum des Kontrastmittelmoleküls. Eine gute Relaxivität über 1,5 bis 9,4 Tesla kann mit einer rotational correlation time von 0,5 bis 1,5 ns erreicht werden [Caravan et al., 2009], was einer mittleren Rotationsrate

entspricht. Dies kann umgesetzt werden, indem der Metallkomplex in dem Baryzentrum des Kontrastmittelmoleküls gebunden wird. Ebenso kann eine Vergrößerung des Moleküls durch Bindung multipler Chelate zu einer rigiden Verbindung mit geringerer Rotationsrate und somit zu einer verbesserten Relaxivität führen.

Kontrastmittel, die kovalent oder nicht-kovalent eine Bindung mit Plasmaproteinen eingehen, können ebenso die Relaxivität über eine Erhöhung der rotational correlation time steigern. Klinische Beispiele dieser Kontrastmittelgruppe sind MS-325 (Gadofosveset Trinatrium, Vasovist[®], Bayer Schering Pharma AG, Berlin), Gd-BOPTA (Dimeglumingadobenat, Multihance[®], Bracco Imaging SpA, Mailand) und Gd-EOB-DTPA (Dinatriumgadoxetat, Primovist[®], Bayer Schering Pharma AG, Berlin). MS-325 bindet an humanem Serumalbumin, was eine verlängerte Plasmahalbwertszeit, eine Retention in den Blutgefäßen und eine erhöhte Relaxationsrate der Wasserprotonen im Plasma zur Folge hat [Caravan et al., 2007]. Durch die starke und reversible Bindung von MS-325 an humanem Serumalbumin kommt es zu einer signifikanten Erhöhung der Relaxivität [Rashid et al., 2012]. Aufgrund seiner ausschließlichen Verteilung in den Blutgefäßen eignet es sich für die MR-Angiographie. Gd-BOPTA besitzt eine lipophile Seitenkette, die zu einer schwachen, reversiblen Proteinbindung mit humanem Serumalbumin führt. Es hat im Vergleich zu den Standard Gd-Chelaten eine erhöhte Relaxivität bei 1,5 und 3 T [von Tengg-Kobligk et al., 2003]. Es wird für die MR-Angiographie, zur ZNS-, Mamma- und Leber-MR-Bildgebung eingesetzt. Das Kontrastmittel Gd-EOB-DTPA wird für die Angiographie und Leberbildgebung inklusive Cholangiographie in der MRT genutzt. Durch die Proteinbindung, die es im Blutplasma mit Albumin eingeht, weist es eine hohe Relaxivität auf. Eine Erhöhung der Relaxivität von diesen Proteinbindenden Verbindungen kann bei Feldstärken zwischen 0,5 und 3 T beobachtet werden. Bei höheren Feldstärken kommt es zu einem Abfall der Relaxivität dieser Komplexe [Fries et al., 2014] [Noehbauer-Huhmann et al., 2010] [Shen et al., 2015]. So erschließt sich, dass diese Kontrastmittel im Ultrahochfeld-MRT bei Feldstärken zwischen 4,7 und 9,4 Tesla eine vergleichbare Relaxivität wie extrazelluläre Kontrastmittel ohne Proteinbindung aufweisen, und damit nur bei geringeren Feldstärken einen Vorteil bezüglich der Relaxivität bieten.

Theoretisch sollten Kontrastmittel zur Anwendung bei hohen Feldstärken folgende Eigenschaften aufweisen: eine hohe Wasseraustauschrate, eine lange Verweildauer des Wassers am Relaxationszentrum, eine mittlere Rotationsrate und eine hohe Hydratationszahl [Caravan et al., 2009]. Um ein hohes Maß an Sicherheit zu gewährleisten sind eine hohe thermodynamische Stabilität und eine schnelle Elimination des Kontrastmittels aus dem Körper möglichst ohne Metabolisierung oder Wechselwirkungen notwendig; dies ist jedoch eine generelle Anforderung für MRT-Kontrastmittel, sowohl bei niedrigen als auch bei hohen Feldstärken.

Die in dieser Arbeit durchgeführten Untersuchungen konnten folgende Fragestellungen der Arbeit beantworten: das SNR der Leber sowie das SNR des Tumors zeigten für beide experimentelle Kontrastmittel signifikant höhere Werte im Vergleich zu den klinischen Kontrastmitteln. Die berechneten Werte des CNR zwischen Tumor und Lebergewebe waren für AGuIX, bzw. P846 im Vergleich zu Gd-DOTA, bzw. Gd-DTPA signifikant höher. Die Kontrastmittelanreicherung, bzw. das LE des Tumors war für die experimentellen Kontrastmittel signifikant höher im Vergleich zu den klinischen Kontrastmitteln. Unsere Studien konnten insgesamt zeigen, dass die verwendeten experimentellen, makromolekularen Kontrastmittel signifikant bessere Kontrasteigenschaften zur Untersuchung von fokalen Leberläsionen in der MRT bei 9,4 Tesla im Vergleich zu den verwendeten klinischen, extrazellulären Kontrastmitteln besitzen. Zu erklären ist dieser Effekt dadurch, dass die R1-Relaxivitäten der experimentellen Kontrastmittel AGuIX und P846 auch bei der in dieser Studie angewendeten Feldstärke von 9,4 Tesla signifikant höher ist als die der klinischen Referenzkontrastmittel Gd-DOTA und Gd-DTPA.

Bedingt ist dieser Effekt bei beiden experimentellen Kontrastmitteln in erster Linie durch eine Erhöhung der Molekülmasse und der Molekülgröße. Für AGuIX bedeutet dies eine Molekülmasse von 8500 Da und ein hydrodynamischer Durchmesser von 3 nm gegenüber dem Referenzkontrastmittel von Gd-DOTA mit einer Molekülmasse von 560 Da und einem hydrodynamischen Durchmesser von 1 nm. Im Fall von P846 besteht eine Molekülmasse von 3500 Da ein hydrodynamischer Durchmesser von 4 nm gegenüber dem Referenzkontrastmittel von Gd-DTPA mit einer Molekülmasse von 550 Da und einem hydrodynamischen Durchmesser von 1 nm. Durch diese Erhöhung von Molekülmasse und –durchmesser wird die Eigenrotationsrate der Moleküle maßgeblich reduziert und dadurch die Möglichkeit der Interaktion mit

Wasserstoffprotonen verbessert. [Lux et al., 2011] [Fries et al., 2015]. Insbesondere bei klinischen Feldstärken wie beispielsweise 1,5 T schlägt sich dieser Effekt durch eine deutliche Erhöhung der R1-Relaxivität nieder, die für AGuIX ($11,4 \text{ mmol}^{-1}\text{s}^{-1}$) mehr als dreimal so hoch ist wie für das Vergleichskontrastmittel Gd-DOTA ($3,6 \text{ mmol}^{-1}\text{s}^{-1}$) und im Fall von P846 ($32 \text{ mmol}^{-1}\text{s}^{-1}$) sogar mehr als achtmal so hoch ist wie das Referenzkontrastmittel Gd-DTPA ($3,9 \text{ mmol}^{-1}\text{s}^{-1}$). Bei ultrahohen Feldstärken, wie in dieser Studie bei 9,4 T, ist dieser Effekt der Relaxivitätssteigerung jedoch deutlich geringer ausgeprägt. Nichtsdestotrotz sind bei 9,4 T die R1-Relaxivitäten der experimentellen Kontrastmittel AGuIX ($5,8 \text{ mmol}^{-1}\text{s}^{-1}$) und P846 ($7,7 \text{ mmol}^{-1}\text{s}^{-1}$) immer noch etwa doppelt so hoch wie die der klinischen Kontrastmittel Gd-DOTA ($3,1 \text{ mmol}^{-1}\text{s}^{-1}$) und Gd-DTPA ($3,4 \text{ mmol}^{-1}\text{s}^{-1}$), was sich auch in dieser Studie in in-vivo durch signifikante höhere Signalanreicherungen reproduzieren ließ.

Trotz der höheren Molekülmasse und –größe zeigen beide experimentellen Kontrastmittel eine vergleichbare Kinetik mit einem raschen Signalanstieg unmittelbar nach Injektion und einer stetigen Abnahme im Rahmen der Auswaschung des Kontrastmittels, so wie es für die klinischen Kontrastmittel mit deutlich geringer Molekülmasse und –größe der Fall ist. Dies ist bedingt durch die Tatsache, dass Moleküle mit einem hydrodynamischen Durchmesser kleiner als 5,5 nm eine schnelle und effiziente renale Ausscheidung aufweisen [Choi et al., 2007]. Zudem werden Moleküle mit Durchmessern kleiner als 5 nm nicht durch Makrophagen des retikuloendothelialen Systems (RES) aufgenommen [Mignot et al., 2013]. Dies bedeutet, dass auch die experimentellen Kontrastmittel AGuIX und P846 mit Moleküldurchmessern von 3 und 4 nm klein genug sind, um renal ausgeschieden zu werden und zu klein sind, um im retikuloendothelialen Systems zu akkumulieren und sich letztendlich hinsichtlich ihrer Verteilungs- und Ausscheidungskinetik nicht wesentlich von den klinischen Kontrastmitteln unterscheiden.

Die Entwicklung von Nanopartikeln hat sich in den letzten Jahren zu einem schnell wachsenden Forschungsgebiet entwickelt. Aufgrund der vielen unterschiedlichen Verbindungen bieten sie multiple Einsatzmöglichkeiten. Neben dem in dieser Arbeit verwendeten AGuIX, dessen Kern auf Polysiloxan-Verbindungen basiert, zeigte eine Studie, dass höhere Relaxivitäten durch Bindung von Gadolinium-Komplexen in

nanoporösen Partikeln von injizierbaren Silikonmikropartikeln erreicht werden können [Ananta et al., 2010].

Des Weiteren können Nanopartikel im Bereich der Theragnostik genutzt werden. Dies bedeutet, dass an Nanopartikel Molekülkomplexe angehängt werden, die Kontrasteigenschaften für unterschiedliche Modalitäten wie MRT oder CT bieten und gleichzeitig auch zu therapeutischen Zwecken eingesetzt werden können. So konnte in Studien mit dem hier untersuchten Nanopartikel AGuIX gezeigt werden, dass sich der Komplex nicht nur zur MRT-Diagnostik von experimentellen Hirngliomen in Ratten eignet, sondern auch einen radiosensitivierenden Effekt bei der Radiotherapie der Hirntumoren aufweist [Le Duc et al., 2011]. Die untersuchten Ratten zeigten eine signifikant verlängerte Überlebenszeit nach Radiotherapie bei gleichzeitiger Behandlung mit AGuIX gegenüber Vergleichstieren, die ohne den Einsatz von AGuIX bestrahlt wurden.

8.1 Schlussfolgerung

Aufgrund seiner Kontrasteigenschaften und seiner Größe, die eine renale Elimination gewährleistet, kann der Nanopartikel AGuIX als extrazelluläres Kontrastmittel in der Ultrahochfeld-MRT genutzt werden. Auch P846 erwies sich als geeignetes Kontrastmittel mit guten Kontrasteigenschaften bei hohen Magnetfeldstärken in der MRT. Ob die Kontrastmittel zum Einsatz bei der klinischen MR-Bildgebung kommen bleibt bei den zu prüfenden möglichen Gefahren und Sicherheitsaspekten für die Anwendung beim Menschen fraglich. Auch stellen die zeit- und kostenintensiven Auflagen, die klinische Zulassungsstudien mit sich bringen, eine deutliche Hürde für die weitere klinische Etablierung dieser Substanzen als MRT Kontrastmittel dar. Für die Anwendung in der experimentellen präklinischen MRT bei hohen Feldstärken können sich die hier untersuchten Kontrastmittel jedoch als nützlich erweisen und weiter etablieren.

9 Literaturverzeichnis

1. Aime S, Caravan P. Biodistribution of Gadolinium-Based Contrast Agents, Including Gadolinium Deposition. *J Magn Reson Imaging* 2009; 30:1259-1267.
2. Ananta JS, Godin B, Sethi R, Moriggi L, Liu X, Serda RE, et al. Geometrical confinement of gadolinium-based contrast agents in nanoporous particles enhances T1 contrast. *Nat Nanotechnol* 2010; 5:815-821.
3. Ba-Ssalamah A, Happel B, Kettenbach J, Dirisamer A, Wrba F, Längle F, Schima W. MRT der Leber. Klinische Bedeutung nichtspezifischer und leberspezifischer MRT-Kontrastmittel. *Radiologe* 2004; 44:1170-1184.
4. Bastati-Huber N, Prosch H, Baroud S, Magnaldi S, Schima W, Ba-Ssalamah A. Neuere Entwicklungen in der Leber-MRT. *Radiologe* 2011; 51:680-687.
5. Bipat S, van Leeuwen MS, Comans EF, et al. Colorectal liver metastases: CT, MR imaging, and PET for diagnosis - Meta-analysis. *Radiology* 2005; 237:123-131.
6. Blyth S, Blakeborough A, Peterson M, Cameron IC, and Majeed AW. Sensitivity of magnetic resonance imaging in the detection of colorectal liver metastases. *Ann R Coll Surg Engl* 2008; 90:25–28.
7. Breitenseher J, Pones M, Wengert G, Ba-Ssalamah. Moderne Bildgebung der Lebermetastasen. *Radiologe* 2015; 55:36-42.
8. Caravan P. Strategies for increasing the sensitivity of gadolinium based MRI contrast agents. *Chem Soc Rev* 2006; 35:512-523.

9. Caravan P, Parigi G, Chasse JM, Cloutier NJ, Ellison JJ, et al. Albumin Binding, Relaxivity, and Water Exchange Kinetics of the Diastereoisomers of MS-325, a Gadolinium(III)-Based Magnetic Resonance Angiographic Contrast Agent. *Inorganic Chemistry* 2007; 46:6632-6639.
10. Caravan P, Farrar CT, Frullano L, Uppal R. Influence of molecular parameters and increasing magnetic field strength on relaxivity of gadolinium- and manganese-based T1 contrast agents. *Contrast Media Mol Imaging* 2009; 4(2):89-100.
11. Choi HS, Liu W, Misra P, et al. Renal Clearance of Nanoparticles. *Nat Biotechnol.* 2007; 25:1165-1170.
12. Choti MA, Sitzmann JV, Tiburi MF, et al. Trends in long-term survival following liver resection for hepatic colorectal metastases. *Ann Surg* 2002; 235:759-66.
13. Coenegrachts K. Magnetic resonance imaging of the liver: New imaging strategies for evaluating focal liver lesions. *World J Radiol* 2009; 1:72-85.
14. Custodis F, Fries P, Müller A, Stamm C, Grube M, Kroemer HK, Böhm M, Laufs U. Heart Rate Reduction by Ivabradine Improves Aortic Compliance in Apolipoprotein E-Deficient Mice. *J Vasc Res* 2012; 49:432-440.
15. Firbank MJ, Coulthard A, et al. A comparison of two methods for measuring the signal to noise ratio on MR images. *Phys. Med. Biol.* 1999; 44:N261-N264.
16. Floriani I, Torri V, Rulli E, et al. Performance of Imaging Modalities in Diagnosis of Liver Metastases From Colorectal Cancer: A Systematic Review and Meta-analysis. *J. Magn. Reson. Imaging* 2010; 31:19-31.

17. 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 Gd-Chelate in a Rat Brain Tumor Model. *Invest Radiol* 2009; 44:200-206.

18. Fries P, Massmann A, Seidel R, Müller A, Stroeder J, Custodis F, Reil J, Schneider G, Bücken A. Comparison of Retrospectively Self-Gated and Prospectively Triggered FLASH Sequences for Cine Imaging of the Aorta in Mice at 9.4 Tesla. *Invest Radiol* 2012; 47:259–266.

19. Fries P, Lux F, Morelli JN, Tillement O, Schneider G, Bücken A. The issues and tentative solutions for contrast-enhanced MRI at ultra-high field strength. *Wires Nanomed Nanobiotechnol* 2014; doi: 10.1002/wnan.1291.

20. Fries P, Morr D, Müller A, Lux F, Tillement O, Massmann A, Seidel R, Schäfer T, Menger MD, Schneider G, Bücken A. Evaluation of a Gadolinium-based Nanoparticle (AGuIX) for contrast-enhanced MRI of the liver in a rat model of hepatic colorectal cancer metastases at 9.4 Tesla. *Fortschr Röntgenstr* 2015; doi 10.1055/s-0035-1553500.

21. Geraldès CFGC, Laurent S. Classification and basic properties of contrast agents for magnetic resonance imaging. *Contrast Media Mol Imaging* 2009; 4:1-23.

22. Hagberg G, Scheffler K. Effect of r1 and r2 relaxivity of gadolinium-based contrast agents on the T1-weighted MR signal at increasing magnetic field strengths. *Contrast Media Mol Imaging* 2013; 8:456-465.

23. Herborn CU, Honold E, Wolf M, Kemper J, Kinner S, Adam G, Barkhausen J. Clinical Safety and Diagnostic Value of the Gadolinium Chelate Gadoterate Meglumine (Gd-DOTA). *Invest Radiol* 2007; 42:58-62.

24. International Electrotechnical Commission (IEC) (2010) Medical electrical equipment – Part 2-33: particular requirements for the safety of magnetic resonance equipment for medical diagnosis. Edition 3.0. 60601-2-33.
25. Jacquier A, Bucknor M, Do L, et al. P846, a new gadolinium based low diffusion magnetic resonance contrast agent, in characterizing occlusive infarcts, reperfused ischemic myocardium and reperfused infarcts in rats. *Magn Reson Mater Phy* 2008; 21:207-218.
26. Jacquier A, Wendland M, Do L, et al. MR imaging assessment of the kinetics of P846, a new gadolinium-based MR contrast medium, in ischemically injured myocardium. *Contrast Media Mol Imaging* 2008; 3:112-119.
27. Kangarlu A, Baudendistel KT, Heverhagen JT, Knopp MV. Klinische Hoch- und Ultrahochfeld-MR und ihre Wechselwirkungen mit biologischen Systemen. *Radiologe* 2004; 44:19-30.
28. Koh DM, Berry J. Critical questions in the imaging of colorectal hepatic metastases. *Cancer Imaging* 2008; 8:69-78.
29. Ladd ME, Bock M. Probleme und Chancen der Hochfeldmagnetresonanztomographie. *Radiologe* 2013; 53:401-410.
30. Laurent S, Elst LV, Muller N. Comparative study of the physicochemical properties of six clinical low molecular weight gadolinium contrast agents. *Contrast Med. Mol. Imaging* 2006; 1:128-137.
31. Layer G, Bohrer M. Radiologische Diagnostik von Lebertumoren. Teil 1: Allgemeine Krankheitsaspekte und radiologische Verfahren. *Radiologe* 2007; 47:819-832.

32. Le Duc G, Miladi I, Alric C, Mowat P, Bräuer-Krisch E, Bouchet A, et al. Toward an Image-Guided Microbeam Radiation Therapy Using Gadolinium-Based Nanoparticles. *ACS Nano* 2011; 12:9566-9574.
33. Lux F, Mignot A, Mowat P, et al. Ultrasmall rigid particles as multimodal probes for medical applications. *Angew Chem Int Ed Engl* 2011; 50:12299-12303.
34. Mignot A, Truillet C, Lux F, et al. A Top-Down Synthesis Route to Ultrasmall Multifunctional Gd-Based Silica Nanoparticles for Theranostic Applications. *Chemistry* 2013; 19:6122-6136.
35. Niekel MC, Bipat S, Stoker J. Diagnostic Imaging of Colorectal Liver Metastases with CT, MR Imaging, FDG PET, and/or FDG PET/CT: A Meta-Analysis of Prospective Studies Including Patients Who Have Not Previously Undergone Treatment. *Radiology* 2010; 257:674-684.
36. Noebauer-Huhmann IM, Szomolanyi P, Juras V, Kraff O, Ladd ME, Trattnig S. Gadolinium-Based Magnetic Resonance Contrast Agents at 7 Tesla. *Invest Radiol* 2010; 45:554-558.
37. Peldschus K, Hamdorf M, Robert P, et al. 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* 2008; 43:837-842.
38. Rashid HU, Yu K, Zhou J. Lanthanide(III) chelates as MRI contrast agents: A brief description. *J Struct Chem* 2013; 54:223-249.

39. Reil JC, Hohl M, Reil GH, Granzier HL, Kratz MT, Kazakov A, Fries P, Müller A, et al. Heart rate reduction by I_f-inhibition improves vascular stiffness and left ventricular systolic and diastolic function in a mouse model of heart failure with preserved ejection fraction. *Eur Heart J* 2012; 34:2839-2849.
40. Reimer P, Vosschenrich R. Kontrastmittel in der Radiologie. Aktuelle Zulassungen, Empfehlungen und Sicherheitshinweise. *Der Radiologe* 2013; 53:153-164.
41. Rohrer M, Bauer H, Mintorovitch, Requardt M, Weinmann HJ. Comparison of Magnetic Properties of MRI Contrast Media Solution at Different Magnetic Field Strengths. *Invest Radiol* 2005; 40:715-724.
42. Runge VM, Nitz WR, Schmeets SH, Schoenberg SO. *Clinical 3 T Magnetic Resonance*. Thieme New York Stuttgart 2007.
43. Scheffel H, Alkadhi H, Boss A, Merkle EM. *Praxisbuch MRT Abdomen und Becken*. Springer Berlin Heidelberg 2012.
44. Schenck JF. Physical interactions of static magnetic fields with living tissues. *Prog Biophys Mol Biol* 2005; 87:185-204.
45. Shen Y, Goerner FL, Snyder C, Morelli JN, Hao D, Hu D, Li X, Runge VM. T1 Relaxivities of Gadolinium-Based Magnetic Resonance Contrast Agents in Human Whole Blood at 1.5, 3, and 7 T. *Invest Radiol* 2015; 50:330-338.
46. Springer F, Martirosian P, Boss A, Claussen C, Schick F. Current Problems and Future Opportunities of Abdominal Magnetic Resonance Imaging at Higher Field Strengths. *Top Magn Reson Imaging* 2010; 21(3):141-148.

47. Tengg-Kobligk H von, Floemer F, Knopp MV. Intraindividuellem Vergleich dreier Kontrastmittel (Gd-DTPA, Gd-BOPTA und Gd-BT-DO3A) mit der multiphasischen Angiographie. *Radiologe* 2003; 43:171-178.
48. Thomsen HS, Morcos SK, Almén T, et al. Nephrogenic systemic fibrosis and gadolinium-based contrast media: updated ESUR Contrast medium Safety Committee guidelines. *Eur Radiol* 2013; 23:307-318.
49. Todd DJ, Kagan A, Chibnik LB, Kay J. Cutaneous Changes of Nephrogenic Systemic Fibrosis. Predictor of Early Mortality and Association With Gadolinium Exposure. *Arthritis Rheum* 2007; 56:3433-3441.
50. Umutlu L, Orzada S, Kinner S, Maderwald S, Brote I, Bitz AK, et al. Renal Imaging at 7 Tesla: Preliminary results. *Eur Radiol* 2011; 21:841-849.
51. Weishaupt D, Köchli V, et al. *Wie funktioniert MRI? Eine Einführung in Physik und Funktionsweise der Magnetresonanztomographie*. 6. Auflage Springer Medizin Verlag Heidelberg 2009.

10 Aus der Arbeit hervorgegangene Publikationen

Wissenschaftliches Poster:

Fries P, Morr D, Müller A, Maßmann A, Schneider G, Seidel R, Buecker A.

Dynamic contrast enhanced imaging with high temporal resolution for semiquantitative perfusion assessment of experimental liver tumors in rats at 9.4 T.

European Congress of Radiology 03/ 2013, Wien, Österreich

ECR 2013 / Poster number C-0909.

Wissenschaftlicher Vortrag:

Fries P, Morr D, Müller A, Lux F, Tillement O, Palm J, Schneider G, Seidel R, Buecker A.

Evaluation of enhancement properties of gadolinium-labeled nanoparticles for contrast-enhanced MRI in rats with experimental liver tumours at 9.4 T.

European Congress of Radiology 03/ 2013, Wien, Österreich

ECR 2013 Book of Abstracts. Insights Imaging (2013); 4(Suppl1):S383. Presentation number B-1035.

Wissenschaftlicher Vortrag:

Fries P, Morr D, Müller A, Lux F, Tillement O, Maßmann A, Schneider G, Seidel R, Buecker A.

Kontrasteigenschaften eines Gd-markierten Nanopartikels in Ratten mit experimentell induzierten Lebertumoren in der MRT bei 9,4 Tesla.

94. Deutscher Röntgenkongress 05/ 2013, Hamburg.

Fortschr Röntgenstr 2013;185 - VO103_1.

Wissenschaftlicher Vortrag:

Fries P, Lux F, Tillement O, Morr D, Müller A, Bücken A, Schneider G.

Enhancement characteristics of a new gadolinium-based nanoparticle for contrast-enhanced MRI in rats with experimental liver tumors at 9.4 T.

Contrast Media Research 11/ 2013 Beijing, China.

Contrast Media Mol. Imaging 2014; 9:413-449. Presentation number 3-02.

Wissenschaftlicher Vortrag:

Fries P, Morr D, Müller A, Robert P, Bücken A, Schneider G.

Intraindividual comparison of a high relaxivity macromolecular Gd-based contrast-agent with a standard extracellular Gd-chelate in rats with experimental liver tumors at 9.4 T.

Contrast Media Research 11/ 2013 Beijing, China.

Contrast Media Mol. Imaging 2014; 9:413-449. Presentation number 8-04.

Wissenschaftlicher Vortrag:

Fries P, Morr D, Müller A, Maßmann A, Seidel R, Robert P, Schneider G, Bücken A.

Kontrasteigenschaften des experimentellen makromolekularen Gd-Komplexes P846 im Vergleich zu Gd-DTPA in experimentellen Lebertumoren bei 9,4 Tesla

Deutscher Röntgenkongress 05/ 2014, Hamburg.

Fortschr Röntgenstr 2014; 186 - WS_VO302_7.

Originalarbeit:

Fries P, Morr D, Müller A, Lux F, Tillement O, Massmann A, Seidel R, Schäfer T, Menger MD, Schneider G, Bücken A.

Evaluation of a Gadolinium-based Nanoparticle (AGuIX) for contrast-enhanced MRI of the liver in a rat model of hepatic colorectal cancer metastases at 9.4 Tesla.

Fortschr Röntgenstr 2015; doi 10.1055/s-0035-1553500.

11 Danksagung

Bei Herrn Prof. Dr. med. Arno Bücken M.Sc. bedanke ich mich herzlich für die Vergabe des Themas.

Herrn Dr. med. Peter Fries danke ich für die hervorragende Betreuung und die stets hilfreichen und zeitnahen Ratschläge.

Herrn Dr. Andreas Müller und Frau Christa Isaacs danke ich für die nette Betreuung und Hilfe bei den Messungen im Kleintier-MRT.

Ich bedanke mich bei den Mitarbeitern des Instituts für Experimentelle Chirurgie der Universitätsklinikum des Saarlandes unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. med. Michael Menger für die Organisation der Tierhaltung und der Zellkultivierung.

Ein besonderer Dank gebührt Nils Haake, meiner Familie, der Familie Haake und meinen Freunden für die permanente tolle Unterstützung. Ihr seid die Besten!