

Aus dem Bereich Radiologie

Klinische Medizin

der Medizinischen Fakultät

der Universität des Saarlandes, Homburg/Saar

**Vergleich von klinisch etablierten und experimentellen,
auf Gadolinium basierenden Kontrastmitteln anhand eines
Tumormodelles in der Ultrahochfeld-MRT**

**Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
der Medizinischen Fakultät**

DER UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

2019

vorgelegt von: Gero Björn Lothar Denda

geb. am: 01.08.1985 in Herten

Tag der Promotion: 13.07.2020

Dekan: Prof. Dr. M. D. Menger

1. Berichterstatterin: Prof. Dr. A. Bücken

2. Berichterstatter/in: Prof. Dr. F. Lammert

1 Inhaltsverzeichnis

2. Abkürzungen	5
3. Zusammenfassung	7
4. Abstract	9
5. Einleitung	11
5.1 Grundlagen der Magnetresonanztomographie.....	11
5.1.1 Relaxation	12
5.1.2 Longitudinale Relaxation T1	12
5.1.3 Transversale Relaxation T2.....	13
5.1.4 Ultrahochfeld-MRT	13
5.1.5 Signal-zu-Rausch-Verhältnis	14
5.2 Kontrast in der MRT	14
5.2.1 Native MR-Bildgebung der Leber	14
5.2.2 Gewebespezifische T1&T2 Relaxationsparameter	15
5.2.3 Kontrastmittel in der MRT.....	16
5.2.4 Mehrphasenbildung nach Gabe eines extrazellulären Kontrastmittels	17
5.2.5 Bildgebungstechniken zur Minimierung von Artefakten: retrospektive und externe Triggerung	18
5.2.5 Kolorektales Karzinom	19
5.3.1 Fragestellung.....	20
6. Material und Methodik	21
6.1 Versuchstiere	21
6.1.1 Tumorimplantation.....	21
6.1.2 Einleitung und Aufrechterhaltung der Narkose	22
6.1.3 Lagerung der Versuchstiere zur Bildgebung.....	22
6.1.4 Monitoring während der Untersuchungen	22
6.1.5 Magnetresonanztomograph und Software	23
6.1.6 Zeitlicher Ablauf	23
6.2 Eingesetzte Kontrastmittel	23
6.2.1 Gd-DTPA (Magnevist®)	23
6.2.2 Gd-BOPTA (Multihance®),	24
6.2.3 Gd-BT-DO3A (Gadovist®)	25

Inhaltsverzeichnis

6.2.4 P03277	25
6.2.5 Eigenschaften von Gd-DTPA & Gd-BOPTA	26
6.3. Sequenzparameter	26
6.3.1 Dynamische T1-gewichtete Bildgebung (RSG-FLASH und EG-FLASH)	26
6.3.2 Signal-zu-Rausch-Verhältnis	28
6.3.3 Zu-interessierende-Region (ROIs)	29
6.3.4 Kontrast-zu-Rausch-Verhältnis	30
6.4 Auswertung der gewonnenen Bilddaten	30
6.4.1 Software OsiriX	30
6.4.2 Statistische Auswertung & t-test	30
7. Ergebnisse	32
7.1 Signal-zu-Rausch-Verhältnis (SNR): Leber	32
7.1.1 Gruppe Gd-BOPTA <i>versus</i> Gd-DTPA	33
7.1.2 Gruppe Gd-BT-DO3A <i>versus</i> P03277	34
7.2 Signal-zu-Rausch-Verhältnis (SNR): Tumor	35
7.2.1 Gruppe Gd-BOPTA <i>versus</i> Gd-DTPA	36
7.2.2 Gruppe P03277 <i>versus</i> Gd-BT-DO3A	37
7.3 Kontrast-zu-Rausch-Verhältnis (CNR):	38
7.3.1 Gruppe Gd-BOPTA <i>versus</i> Gd-DTPA	39
7.3.2 Gruppe P03277 <i>versus</i> Gd-BT-DO3A	40
7.4 Kontrastmittelanreicherung (Lesion Enhancement, LE)	41
7.4.1 Gruppe Gd-BOPTA <i>versus</i> Gd-DTPA	42
7.4.2 Gruppe Gd-BT-DO3A <i>versus</i> P03277	43
7.5 Darstellung der gewonnenen Aufnahmen	44
8. Diskussion	48
9. Literaturverzeichnis	55
10. Danksagung	62

2. Abkürzungen

AG	= Aktiengesellschaft
BW	= Body weight = Körpergewicht
°C	= Grad Celsius
cm	= Zentimeter
CNR	= Kontrast-zu-Rausch-Verhältnis
CT	= Computertomographie
EKG	= Elektrokardiogramm
FA	= Flipwinkel
FLASH	= Fast Low Angle Shot
FOV	= Field of View
Gd	= Gadolinium
Gd-BOPTA	= Gadobenat-Dimeglumin
Gd-DTPA	= Gadopentetat-Dimeglumin
Gd-EOB-DTPA	= Gadolinium-Ethoxybenzyl-Diethylen-Triamin-Pentaessigsäure
HF-Impuls	= Hochfrequenzimpuls
kg	= Kilogramm
KG	= Körpergewicht
KM	= Kontrastmittel
Da	= Dalton
mmol	= Millimol
Mn-DPDP	= Mangafodipir Trisodium
MRT	= Magnetresonanztomograph
SD	= standard deviation = Standardabweichung
SI	= Signalintensität
ROI	= Region of Interest
RSG	= retrospectively self-gated = retrospektives Selbstgating
SNR	= Signal-zu-Rausch-Verhältnis
T	= Tesla
T1w	= T1-gewichtete Sequenz
T2w	= T2-gewichtete Sequenz
TE	= Echo Time = Echo
TR	= Repetition Time = Repetitionszeit

Abkürzungsverzeichnis

FFT	= Fourier-Transformation
CA	= Contrast Agent = Kontrastmittel
^1H	= Wasserstoff
^{13}C	= Kohlenstoff
^{19}F	= Fluor
GFR	= Glomeruläre-Filtration

3. Zusammenfassung

Im klinischen Alltag ist die MR-Bildgebung der Leber eine weit verbreitete und etablierte Methode. Seit der Einführung von Kontrastmitteln hat sich die Diagnosegenauigkeit deutlich erhöht. Die Kontrastmittel, die am häufigsten eingesetzt werden, basieren auf Gadolinium. Dazu gehören u.a. Gd-DTPA und Gd-BOPTA, die in dieser experimentellen Studie untersucht wurden. In den letzten Jahren hat ein Trend zu immer höheren Feldstärken eingesetzt, für den der Begriff Ultrahochfeld-MRT eingeführt wurde. Mit zunehmender Feldstärke über 3,0 Tesla, verändern sich die Eigenschaften der bekannten auf Gadolinium basierenden Kontrastmittel.

Das Ziel dieser Studie war der intra-und-interindividuelle Vergleich des Signal-zu-Rausch-Verhältnisses, des Kontrast-zu-Rausch-Verhältnisses sowie der Läsionsanreicherung der, auf Gadolinium basierenden Kontrastmittel, Gd-BOPTA (Multihance[®], Bracco Imaging SpA, Italien), Gd-DTPA (Magnevist[®], Bayer Healthcare, Deutschland) und Gd-BT-DO3A (Gadovist[®], Bayer Healthcare, Deutschland) sowie des experimentellen Kontrastmittels P03277 (Guerbet Research, Aulnay-sous-Bois, Frankreich) in einem experimentell erzeugten Lebertumormodell bei Ratten mittels Ultrahochfeld-MRT bei 9,4 T.

In zwei Versuchsgruppe bestehend aus jeweils 10 WAG-Ratten wurden Daten abwechselnd nach der Gabe von Gd-BOPTA und Gd-DTPA sowie nach Gabe von Gd-BT-DO3A und P03277 gewonnen. Die Ergebnisse wurden anschließend intraindividuell verglichen. Bei der Untersuchung der unterschiedlichen Kontrastmittel wurde ein 48-stündiges Zeitintervall eingehalten, um eine ausreichende Ausscheidung zu gewährleisten und den Tumorprogress so klein wie möglich zu halten.

Bilddaten wurden an 10 aufeinander folgenden Zeitpunkten von 2-20 min. akquiriert. Gd-BOPTA wurde in einer Standarddosis von 0,1 mmol/kg KG, Gd-DTPA in einer Dosis von 0,2 mmol/kg Körpergewicht appliziert, Gd-BT-DO3A und P03277 jeweils in der Dosierung von 0,1 mmol/kg Körpergewicht. Für die Aufnahmen wurden dynamische T1-gewichtete FLASH-Sequenzen mit Atemtriggerung akquiriert. Es wurden die identischen Sequenzparameter verwendet. (TR/TE: 45/2,5 ms, Flipwinkel: 25°, Field of view (FOV): 50 x 50 mm², Matrix: 256x256, Pixelgröße: 0,195x0,195 mm, Schichtdicke: 1 mm).

Gd-BOPTA zeigte im Vergleich zu Gd-DTPA sowohl statistisch signifikant höheres ($p < 0,05$) SNR_{Leber} als auch einen höheren Kontrast zwischen Läsion und Leber (CNR). Beim

Zusammenfassung

Kontrast-zu-Rausch-Verhältnis zeigt Gd-BOPTA einen fast durchgehend negativen Kontrast zwischen Leber und Tumorgewebe mit Ausnahme zu den Messzeitpunkten 2 und 3.

Die Bestimmung der SNR_{Tumor} zeigte für die Kontrastmittel unterschiedliche Werte.

Für alle bestimmten Parameter ergaben sich für P03277 signifikant höher Werte als für Gd-BT-DO3A.

Im Gegensatz zu den anderen verwendeten Kontrastmitteln wird Gd-BOPTA aktiv von Hepatozyten aufgenommen und geht Interaktionen mit Proteinen ein. Diese Eigenschaft wird für die erhöhte und verlängerte Signalintensität verantwortlich gemacht. Die signifikant besseren Kontrasteigenschaften des experimentellen Kontrastmittels P03277 erklärt sich durch die, in Relation zu anderen klinischen Gd-Komplexen erhöhten Hydratationszahl, die es erlaubt gleichzeitig zwei Wasserstoffprotonen anzulagern.

Die gewonnenen Ergebnisse könnten für zukünftige Perfusionsstudien interessant sein, da sich die Kontrasteigenschaften bei zunehmender Feldstärke verringern und eine höhere Relaxation bei Kontrastmitteln vorzuziehen wäre.

Die beobachtete Kontrastmittelkinetik zeigt einen frühen Signalpeak und anschließend rasche Auswaschung. Dies ist für niedermolekulare Kontrastmittel typisch und bedingt durch eine zügige kapilläre Extravasation und frühe Reabsorption in das Kapillarsystem sowie eine rasche renale Elimination bedingt.

4. Abstract

MR-Imaging of the liver is a well-established and broadly used clinical examination method. To enhance the efficacy of liver diagnosis, contrast agents (CA) have been introduced. The most frequently used contrast agents are based on gadolinium such as Gd-DTPA and Gd-BOPTA which have been used in this experimental study. During the past years there has been a trend to utilize higher magnetic field strength, resulting in the so-called ultra-high field MR imaging. With increasing field strengths above 3.0 T, the properties of the well-known contrast agents change.

The aim of this study was the intra- and interindividual comparison of the signal-to-noise ratio (SNR), contrast-to-noise ratio (CNR) and lesion enhancement (LE) of Gd-based contrast agents (Gd-DTPA, (Magnevist[®], Bayer Healthcare, Germany), Gd-BOPTA, (Multihance[®], Bracco Imaging SpA, Italy, Gd-BT-DO3A (Gadovist[®], Bayer Healthcare, Germany) and the experimental compound P03277 (Guerbet Research, Aulnay-sous-Bois, France)) in an experimentally induced rat-liver tumor model using a 9.4 T ultra-high field MR scanner.

We examined two groups consisting of 10 female WAG rats each. In one group we compared intraindividually Gd-BOPTA with Gd-DTPA, in the other group Gd-BT-DO3A with P03277. The interval between the application of the different contrast agents included a rest period of at least 48 hours to ensure elimination of the contrast agents and to minimize tumor progression.

Data acquisition was performed at ten consecutive timepoints after contrast agent application. Gd-BOPTA was administered with a dosage of 0.1 mmol/kg body weight, whereas Gd-DTPA was used at a dosage of 0.2 mmol/kg body weight. Gd-BT-DO3A and P03277 were administered at equal doses of 0.1 mmol/kg bodyweight.

Imaging was performed by using a T1-weighted respiratory-gated FLASH sequence with identical imaging parameters (TR/TE: 45/2.5 ms, flip angle: 25°, field of view: 50 x 50 mm², matrix: 256x256, pixel size: 0.195x0.195 mm, slice thickness: 1 mm).

Gd-BOPTA presented statistically significant ($p < 0.05$) higher SNR of liver tissue compared to Gd-DTPA as well as a higher contrast between the lesion and the liver (CNR). Gd-BOPTA presented, except for the timepoint 2 and 3, at nearly all time points negative contrast between tumor and liver. The determination of the SNR of the tumor after different contrast agents showed varied signal increase with partial statistical significance. Measurements demonstrated higher values for Gd-BOPTA.

Abstract

All measured values were significantly higher for P03277 as compared to Gd-BT-DO3A. The detected dynamics of the CA was characterized by an early signal peak and rapid wash-out. This typical behavior of low molecular CA is generated by an early capillary leakage and expeditious re-uptake as well as early renal elimination.

The high enhancement properties of P03277 are explained by the increased hydration number of the complex. This enables a markedly higher relaxivity of this compound.

In contrast to the other investigated contrast agents, Gd-BOPTA is absorbed by hepatocytes and interacts with plasma proteins. This characteristic may be responsible for the increased and prolonged signal intensity. This aspect could be interesting for future perfusion studies, since relaxation properties decrease with higher field strengths. Hence contrast agents with higher relaxivity might be preferable for future studies.

5. Einleitung

5.1 Grundlagen der Magnetresonanztomographie

In der Magnetresonanztomographie beruht die Bildgebung auf der elektromagnetischen Aktivität der Atomkerne. Die Atomkerne setzen sich aus Neutronen und Protonen zusammen. Der Begriff der Ordnungszahl beschreibt die Anzahl der Protonen im Kern, die wiederum mit der Anzahl der Elektronen in den äußeren Schalen übereinstimmt. Elemente mit einer geraden Ordnungszahl, also einem ausgeglichenen Verhältnis zwischen Protonen und Elektronen besitzen kaum oder keine magnetischen Eigenschaften, da sich ihre magnetischen Momente, auch Dipolmomente genannt, gegenseitig aufheben. Elemente mit einer ungeraden Ordnungszahl bzw. -Protonenzahl sind geladen, besitzen ein Dipolmoment und eignen sich für die Bildgebung in der MRT. Zu diesen Elementen bzw. Isotopen gehören z.B. Wasserstoff (^1H), Kohlenstoff (^{13}C), das Fluorion (^{19}F) und das Isotop Natrium ^{23}Na . Das in Lebewesen am häufigsten vorkommende ^1H -Atom wird daher zur MRT Bildgebung verwendet. Der Kern der Wasserstoffatome besteht aus einem einzigen Teilchen, einem Proton mit positiver Ladung, welches vom Elektron mit negativer Ladung umkreist wird. Dies bezeichnet man als Spin. Durch diese Bewegung entsteht elektrische Ladung, die auch als Dipol bezeichnet wird [Bitar *et al.*, 2006]. Diese Spins befinden sich solange kein äußeres Magnetfeld angelegt ist im gleichen Energielevel. Ihre magnetischen Momente sind zufällig ausgerichtet und bilden deswegen keine messbare Magnetisierung aus. Wenn ein äußeres Magnetfeld angelegt wird, richten sich die Spins entlang oder entgegen diesem Feld aus. Die Ausrichtung oder auch dieser Zustand sind unter den Begriffen „spin-up“ oder „spin-down“ bekannt. Bevorzugt wird dabei die „spin-up“ Ausrichtung, da diese ein niedrigeres Energieniveau besitzt. Die „spin-down“ Ausrichtung befindet sich daher auf einem höheren Energielevel. Der sich im „spin-up“ befindliche Kern, kann Energie aufnehmen und zu einem „spin-down“ werden, umgekehrt kann Energie von einem „spin-down“ an einen „spin-up“ übertragen werden. Durch diese Eigenschaften entsteht das gyromagnetische Moment. Die Energiedifferenz zwischen diesen beiden Zuständen wird vom äußeren Magnetfeld bestimmt.

Durch ein externes Magnetfeld B_0 werden die Dipole entlang eines Gradienten ausgerichtet. Dabei kreisen sie mit einer festen Geschwindigkeit. Diese wird als Larmorfrequenz (Gleichung 1) bezeichnet. In einem Magnetfeld wird die Rotationsgeschwindigkeit Präzessionsfrequenz genannt die von der Stärke des magnetischen Feldes abhängig ist. Die Dipolmomente können sich entlang des externen Magnetfeldes parallel oder antiparallel ausrichten. Die parallele

Einleitung

Ausrichtung wird wohl aus energetischen Gründen bevorzugt angenommen. Im stabilen Zustand befinden sich einige Spins bzw. Dipolmomente mehr im parallelen, als im antiparallelen Zustand. Dieser Unterschied lässt sich als Längsmagnetisierung M_Z in Abhängigkeit der Feldstärke B_0 messen.

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

Gleichung 1: Lamorfrequenz

ω_0 die Lamorfrequenz in Megahertz [MHz]

γ_0 das gyromagnetische Verhältnis

B_0 die Stärke des Magnetfeldes in Tesla [T].

Durch einen Hochfrequenzimpuls (HF) mit der Lamorfrequenz kann die Längsmagnetisierung von B_0 in die Transversalebene (XY) ausgelenkt werden. Dieser Auslenkwinkel, der auch Flipwinkel genannt wird, ist von der Dauer des Impulses abhängig. Die Transversalmagnetisierung besteht so lange wie die Kerne (Spins) angeregt werden. Schaltet man den Hochfrequenzpuls aus dephasieren die Kerne wieder unter Abnahme der Transversalmagnetisierung und Zunahme der Längsmagnetisierung. Das Signal das von den Kernen abgegeben wurde, wird als freier Induktionszerfall genannt. Mit Hilfe der Fourier- Transformation (FT) wird das über Empfangsspulen aufgezeichnete Signal mit Hilfe des Computers in ein für uns erkennbares Bild umgewandelt.

5.1.1 Relaxation

Nach der Anregung besteht eine transversale Magnetisierung M_{XY} welche in der Empfangsspule eine Wechselspannung erzeugt. Ohne Anregung verlassen die Kerne das energetisch höhere Niveau und gehen in den energetischen Gleichgewichtszustand über. Dies wird durch zwei Vorgänge, der Spin-Gitter T1 und Spin-Spin-Wechselwirkung T2 bewirkt.

5.1.2 Longitudinale Relaxation T1

Die Magnetisierung klappt aus der transversalen Ebene in die Z- Richtung. Während der longitudinalen Relaxation geben die Spins Energie an die Umgebung ab. Daher nennt man diesen Vorgang auch Spin-Gitter-Relaxation. Die Zeit, die benötigt wird bis 63% der Longitudinalmagnetisierung wieder erreicht wurde, wird durch die T1-Konstante beschrieben. Sie steht

Einleitung

dabei in Abhängigkeit von der Stärke des Magnetfeldes B_0 sowie der Größe und Art des Gewebes. Wasserstoffatome haben eine hohe Brownsche Molekularbewegung, so dass Energie nur schwer auf sie übertragen werden kann. Dadurch erklärt sich ihre lange T1-Zeit, diese spiegelt die Abgabe der Energie wieder. Fett gehört zu den Geweben mit einer geringen Eigenbewegung, die verkürzte T1-Zeit, erklärt sich durch die leichtere Abgabe von Energie an die Umgebung.

5.1.3 Transversale Relaxation T2

Die T2-Konstante zeigt die Zeit in der die Transversalmagnetisierung auf 37% ihres Ausgangswertes zurückgegangen ist. Die T2-Relaxation ist charakteristisch für unterschiedliche Arten von Gewebe. Über eine Spule, sogenannte Coils, werden charakteristische Radiofrequenzimpulse in das Magnetfeld und somit Energie in dieses übertragen. Durch den Hochfrequenzimpuls werden die Spins in Phase gebracht. Mit dem Begriff Phase wird ein Winkel bezeichnet. Nach der Anregung befindet sich ein Teil der Spins in Phasenkohärenz. Schaltet man diesen Hochfrequenzpuls ab, geraten die Protonen und deren Spins außer Phase. Der Verlust der transversalen Magnetisierung entsteht durch die Inhomogenität des äußeren sowie inneren Magnetfeldes. Mit zunehmender Dephasierung der Spins nimmt auch die von außen messbare Transversalmagnetisierung ab. In freibeweglichen Protonen bleibt die Magnetisierung in der Transversalebene länger als in Feststoffen bestehen. Dies liegt daran, dass Wassermoleküle eine schnelle Eigenbewegung besitzen und sich die lokalen Magnetfelder so schnell ändern, dass sich entstehende Inhomogenitäten auslöschen.

5.1.4 Ultrahochfeld-MRT

Von der Entdeckung der magnetischen Kernresonanz 1946 durch Edward M. Purcell sowie Felix Bloch bis zur Einführung der ersten Magnetresonanztomographen in den standardmäßigen klinischen Gebrauch vergingen mehr als 30 Jahre. Höhere Feldstärken mit mehr als 4,0 T wurden seit Anfang der achtziger Jahre für experimentelle Studien verwendet. Mittlerweile werden im experimentellen Bereich Feldstärken zwischen 2,4 T und 17 T und mehr verwendet.

Die Verwendung von Ultrahochfeld-MRT bringt zahlreiche Vorteile mit sich. Vor allem die Bildqualität wird durch ein höheres Signal-zu-Rausch-Verhältnis verbessert. Die Messzeiten

Einleitung

werden verkürzt und minimieren Bewegungsartefakte [Edelstein *et al.*, 1986]. Durch die erhöhte Auflösung ist es möglich detailreichere Aufnahmen zu machen.

Des Weiteren kann man bei höheren Magnetfeldstärken beobachten, dass sich in fast allen Geweben die T1-Relaxationszeit verlängert, die T2-Relaxationszeit relativ konstant bleibt [Bottomley PA *et al.* 1987] [Wansapura JP *et al.*, 1999].

5.1.5 Signal-zu-Rausch-Verhältnis

Der Begriff Signal-zu-Rausch-Verhältnis (SNR) beschreibt die Wechselwirkungen zwischen dem MR-Signal und der Stärke des Rauschens. Je größer das Signal ist desto besser ist die Bilddarstellung, wohingegen das Rauschen die Bildschärfe beeinträchtigt. Das Bildrauschen wird z.B. durch thermische Bewegungen von Teilchen, durch die Körpertemperatur bzw. Atembewegungen, durch Inhomogenität des Magnetfeldes oder durch die Bildverarbeitung, verursacht. Das SNR setzt sich aus dem Quotienten zwischen der Signalintensität einer ROI (Region of Interest, zu interessierende Region), die durch eine Standardabweichung der Signalintensität einer Region außerhalb der abgebildeten Region gemessen, geteilt werden muss. Unterschiedliche Untersuchungstechniken können durch das Signal-zu-Rausch-Verhältnis verglichen werden [Lerski, de Certaines, 1993]. Mit steigender Magnetfeldstärke verstärkt sich das Signal-Rausch-Verhältnis. Dabei steigt das SNR linear und proportional zur Magnetfeldstärke B_0 an, so dass das erhöhte SNR für eine höhere räumliche und/ oder Auflösung genutzt werden kann. Die bildet die Grundlage für rauscharme Bilder. Das SNR ist proportional zur Quadratwurzel der Akquisitionszeit. Zudem erlaubt eine Erhöhung der Feldstärke im Zuge des vermehrt zur Verfügung stehenden SNR eine Erhöhung der örtlichen Auflösung, eine Erhöhung der zeitlichen Auflösung oder einer Kombination aus beidem [Hoult DI, *et al.*, 2000], [Fries *et al.*, 2008]. Problematisch zeigt sich aber bei zunehmenden Feldstärken die Abnahme der Relaxivität der etablierten und vor allem auf Gadolinium basierenden Kontrastmittel, so dass SNR nicht mehr proportional zur Feldstärke steigt.

5.2 Kontrast in der MRT

5.2.1 Native MR-Bildgebung der Leber

Wichtig ist die Abgrenzung zwischen maligner und benigner Leberläsion sowie von Metastasen. Native Sequenzen sind ein wichtiger Bestandteil jeder MR-Bildgebung. Sie dienen zur

Einleitung

Detektion von Läsionen. Auf nativen T1-oder T2-Aufnahmen gibt die Signalintensität (SI) einen ersten Anhaltspunkt, ob es sich um gutartige oder malignitätsverdächtige Strukturen handelt. Allgemein kann man sagen, dass Metastasen auf nativen T1-Aufnahmen eine niedrige Signalintensität im Vergleich zum umliegenden Gewebe haben. In der T2-Gewichtung hingegen haben Tumore eine höhere Signalintensität als das umliegende Lebergewebe, auch wenn die SI-Werte geringer sind als die von Hämangiomen oder Zysten. Häufig wird bei kolorektalen Lebermetastasen in der T2-gewichteten Bildgebung das sogenannte Schießscheibenphänomen beobachtet. Dabei handelt es sich um eine zentrale Nekrose, die sich hyperintens darstellt, umgeben von einer weniger intensiv wirkenden Randzone [Sica *et al.*,2002]. Im klinischen Alltag sind Hämangiome die häufigsten detektierten Neubildungen in der Leber [Goodman *et al.*,2007]. Auf nativen T1-gewichteten Aufnahmen erscheinen Hämangiome und Zysten typischerweise als homogene, hypointense Strukturen. In der T2-Wichtung erscheinen Hämangiome als hyperintense Strukturen. Für eine genauere Darstellung und Diagnose werden dann Kontrastmittel eingesetzt. Erst durch dynamische Untersuchung nach Kontrastmittelgabe ist eine weitere Charakterisierung und beispielweise Differenzierung zwischen Hämangiomen und Lebermetastasen möglich.

5.2.2 Gewebespezifische T1&T2 Relaxationsparameter

In der MR-Bildgebung haben die verschiedenen Gewebearten eine unterschiedliche T1- und T2-Relaxation sowie eine unterschiedliche Anzahl an Wasserstoffatomen, die zu Unterschieden im Gewebekontrast führen [Damadian *et al.*, 1971]. Für den Bildkontrast sind zwei Parameter entscheidend: zu einem die Repetitionszeit (TR, repetition time), zum anderen die Echozeit (TE, echo time). Die Repetitionszeit TR ist die Zeit, die zwischen zwei aufeinanderfolgenden Radiofrequenzimpulsen liegt. TR beeinflusst den T1-Kontrast in besonderem Maße, da sie das Zeitintervall bestimmt wie lange die angeregten Spins wieder zurückkippen. Wird eine kurze Repetitionszeit genommen, so wird der Bildkontrast vor allem durch T1 beeinflusst. Gewebe mit einer kurzen T1 relaxieren schneller und haben bei der nächsten Einstrahlung eines RF-Impulses mehr Längsmagnetisierung zur Verfügung. Gewebe mit kurzem T1 erscheinen daher auf T1-gewichteten Bildern hell, wohin gegen Gewebe mit langer T1 hingegen dunkel erscheinen. Die Echozeit TE beschreibt die Zeit, welche zwischen der Anregung durch den Radiofrequenzimpuls und der ersten Messung des Signales vergeht. Sie beeinflusst die T2-Wichtung auf den Bildkontrast. Verwendet man eine kurze Echozeit so hat die T2-Relaxation gerade erst begonnen und es gibt nur wenig Signal. Wird aber eine längere Echozeit verwendet so werden die Unterschiede zwischen den Geweben deutlicher. Gewebe

Einleitung

die dunkel erscheinen haben eine kurze T2, Gewebe mit langem T2 erscheinen hell. Für T2-gewichtete Aufnahmen müssen die TE und TR lang gewählt werden. Dadurch verlängert sich aber auch die Messzeit. T2-gewichtete Aufnahmen bieten demnach wohl die beste Möglichkeit um pathologische Veränderungen nativ darzustellen. In den meisten Fällen befindet sich in pathologisch verändertem Gewebe mehr Flüssigkeit als gewöhnlich. Das betroffene Gewebe erscheint in der T2-Wichtung hell.

5.2.3 Kontrastmittel in der MRT

Unter der Anwendung von Kontrastmitteln wird bei der T1-Relaxation die Energie der Protonenspins rascher auf die Umgebung abgegeben. Durch die schnellere Abgabe der bei der Larmoranregung aufgenommenen Energie nimmt das Signal bei T1-Wichtung zu. Kontrastmittel haben eine größere Anzahl von nicht gepaarten Elektronen, welche die Wechselwirkung mit umherliegenden Wasserstoffkernen begünstigt.

Der Begriff Relaxivität bestimmt die Kontrastierungseigenschaften eines Kontrastmittels. Die Relaxivität ist ein Maß für die Relaxationszeitverkürzung durch gesteigerte Spin-Gitter- und Spin-Spin-Wechselwirkungen. Ein magnetisches Wechselfeld wird durch den hohen Anteil an ungepaarten Elektronen der Kontrastmittelmoleküle erzeugt. Dadurch wird die Relaxation der umliegenden Protonen verstärkt. Aus einer starken Relaxivität ergibt sich also eine starke Kontrastmittelwirkung.

Unter den Übergangsmetallen und seltenen Erden, wie zum Beispiel Gadolinium, findet man Atome mit ungepaarten Elektronen, welches eine hohe Anzahl von ungepaarten Elektronen und somit hohe Relaxivität besitzt.

Den Eigenschaften nach kann man die Kontrastmittel in verschiedene Gruppen unterteilen.

- Extrazelluläre Kontrastmittel
- Intravasale Kontrastmittel
- Makro & Mikromolekulare Kontrastmittel
- Hepatobiliäre Kontrastmittel
- SPIO (Superparamagnetische Eisenoxidpartikel)

Einleitung

Der überwiegende Teil der heute verwendeten Kontrastmittel zählt zu der Gruppe der extrazellulären Kontrastmittel. Diese bestehen aus einem zentralen Gadoliniumatom und einem Liganden. Gadolinium als freies Molekül und Ca^{2+} besitzen die gleiche Molekülgröße sowie annähernd den gleichen Ionenradius. Daher kann Gadolinium bei vielen Prozessen, die eigentlich Ca^{2+} benötigen, an Rezeptoren binden und enzymatische Reaktionen verändern und blockieren. Gadolinium besitzt auf Grund seiner dreifachen Ladung eine höhere Bindungskraft als Ca^{2+} -Ionen. Gadolinium kann enzymatische Reaktionen beeinflussen und besitzt eine deutliche Toxizität [Cherry *et al.*, 2009]. Daher ist es wichtig, dass eine stabile Verbindung zwischen Gadolinium und seinem Chelat hergestellt wird. Die Chelate unterscheiden sich in ihrem molekularen Aufbau. Dabei kann man zwischen einem linearen und makrozyklischen Aufbau unterscheiden. Extrazelluläre Kontrastmittel bestehen aus relativ kleinen Molekülen, die rasch aus dem Gefäßsystem austreten. Eine weitere Gruppe der verwendeten Kontrastmittel bilden die intravasalen Kontrastmittel (Bloodpool-Agents). Diese sind größer und haben ein höheres Molekulargewicht und verbleiben somit länger im Gefäßsystem. Eine weitere verwendete Gruppe bilden leberspezifische Kontrastmittel, die nach ihrem Verteilungsraum unterteilt werden.

Zu den hepatobiliären, paramagnetischen Kontrastmitteln gehören Dinatrium-Gadoxetat (Gd-EOB-DTPA; Primovist), Trinatrium-Mangafodipir (Mn-DPDP; Teslascan) und das in unseren Versuchen verwendete Dimeglumingadobenat (Gd-BOPTA; Multihance). Leberspezifische Kontrastmittel werden in der vaskulären Phase in den Hepatozyten angereichert und teilweise mit der Galle ausgeschieden. Gd-BOPTA geht eine reversible Bindung mit Albumin ein. Diese Anreicherung ist für die Differenzierung zwischen benignen Veränderungen wie z.B. der fokalen nodulären Hyperplasie und malignen Läsionen, die auf Grund von fehlenden Hepatozyten kein Kontrastmittel aufnehmen, hilfreich. Lebergewebe mit funktionellen Hepatozyten reichert das Kontrastmittel an und stellt sich hyperintens da, wohingegen maligne Strukturen hypointens wahrzunehmen sind.

Zu den leberspezifischen Kontrastmitteln gehören auch die superparamagnetischen Eisenoxidpartikel (SPIO), die von den Kupfferzellen (RES, retikuloendotheliales System) mittels Phagozytose aufgenommen werden. Die superparamagnetischen Eisenoxidpartikel führen zu einer T2/T2*-Verkürzung in gesundem Lebergewebe, so dass sich diese Bereiche dunkel darstellen, wohingegen Neoplasien mit fehlendem RES, hell in der Bildgebung erscheinen.

5.2.4 Mehrphasenbildgebung nach Gabe eines extrazellulären Kontrastmittels

Einleitung

Studien haben ergeben, dass die Kontrastmittel-unterstützte MR-Bildgebung eine hoch sensitive Methode ist, um kleine Lebermetastasen (<10 mm) zu erkennen. Daher wird sie als präoperatives Verfahren empfohlen. Im Vergleich zur CT-Bildgebung wird von der MR-Bildgebung die Ausdehnung der Lebermetastasen am besten erfasst [Floriani, I., *et al.*,2010].

Aus radiologischer Sicht repräsentieren z.B. kolorektale Metastasen eine Gruppe von Läsionen mit charakteristischen Eigenschaften. Nach Gabe eines nichtspezifischen auf Gadolinium basierendem Kontrastmittels lassen sich vier verschiedene Perfusionsphasen mit charakteristischen Merkmalen unterscheiden. Auf die native Bildgebung folgt zunächst die arterielle Phase, die überwiegend arteriell versorgtes Gewebe kontrastiert. Dies ist besonders für die Detektion des hepatozellulären Karzinoms von Bedeutung. Darauf folgt die portal-venöse Phase in der sich das Lebergewebe am besten von hypovaskularisierten Strukturen wie Zysten, Metastasen und Narbengewebe abgrenzt [Hamm *et al.*, 1994]. Häufig werden Metastasen des kolorektalen Karzinoms zentral nekrotisch, was sich in der T1-Bildgebung hypointens dargestellt. Der größte Kontrastunterschied zwischen gesundem Lebergewebe und hypovaskularisierten Metastasen zeigt sich in der portal-venösen Phase [Kuszyk *et al.*,1996].

In der mit Gadolinium unterstützten Bildgebung zeigen sich in der Equilibriumsphase für kolorektale Metastasen malignitätsverdächtige Perfusionseigenschaften wie z.B. ein charakteristisches peripheres Auswaschen, was auch als „wash-out“ Phänomen bezeichnet wird [Larson *et al.*,1994, Semelka *et al.*,2002].

5.2.5 Bildgebungstechniken zur Minimierung von Artefakten: retrospektive und externe Triggerung

Die MR-Bildgebung wird immer häufiger wegen ihrer guten Kontrastauflösung in der präklinischen Tumorforschung angewendet. Untersuchungen mit höheren Teslastärken zwischen 7 bis 17 T, wurden vor allem in experimentellen Hirntumormodellen verwendet. Die Bildqualität wird durch das Fehlen von kardialen und respiratorischen Einflüssen verbessert. Um dieses Problem zu umgehen und die Bildqualität zu verbessern wurden verschiedene Techniken entwickelt. Die gängigste Methode basiert auf der externen respiratorischer Triggerung.

Bei der externen Triggerung (EG, External Gating) werden durch einen Druckmesser, der an der Abdominalwand angebracht ist, Daten über die Atemfrequenz ermittelt. Das ermittelte Signal wird an ein externes Gerät geleitet und dort graphisch dargestellt [Fries *et al.*, 2012], [Fries *et al.*,2013].

Kürzlich wurden auch andere Techniken entwickelt, die nicht auf die externe Triggerung angewiesen sind. Eine Methode die nicht auf externe Triggerung angewiesen ist, basiert auf der Look-Locker Sequenz in Kombination mit einer radiären k-Raum-Füllung. Diese Methode

Einleitung

wurde bei Feldstärken von 1,5 T klinisch eingesetzt und in ersten Versuchen auch in der präklinischen experimentellen Bildgebung verwendet [Braren *et al.*,2011]. Ein weiteres Verfahren das nicht auf die externe Triggerung angewiesen ist, basiert auf retrospektivem Selbstgating (RSG) (IntraGate, Bruker, Ettlingen, Germany). Bei dieser Technik werden einige Echos der Sequenz als Navigator verwendet. Die Änderung der Signalintensität in dieser Navigations-schicht beruhen auf der Bewegung der Abdominalwand oder des Zwerchfells bzw. der viszeralen Organe und lassen Rückschlüsse auf den Atemzyklus zu. Alle nachfolgenden Echos der Sequenz, die in der Exspirationsphase gewonnen werden, werden dazu verwendet den k-Raum zu generieren. Die Echosignale aus der Inspirationsphase werden verworfen [White *et al.*,1991], [Crowe *et al.*,2004]. Dieser Versuchsansatz ist ein etabliertes Verfahren in der experimentellen Bildgebung von Kleintieren [Fries *et al.*,2012], [Bishop *et al.*,2006], [Fries *et al.*, 2013].

5.2.5 Kolorektales Karzinom

Aus aktuellen Krebsstatistiken ist bekannt, dass das kolorektale Karzinom bei Männern nachdem Lungenkarzinom und bei Frauen nach dem Mammakarzinom die zweithäufigste Krebsart in Deutschland ist. Pro Jahr werden etwa 50.000 Neuerkrankungen diagnostiziert, mit steigender Tendenz. [Vogl *et al.*,2002]. In der Bundesrepublik erkrankten im Jahre 2014 33.120 Männer und 27.890 Frauen von den 476.120 Krebsdiagnosen neu an Darmkrebs. Der Anteil an allen Krebserkrankungen lag bei Männern aller Altersgruppen bei 15,3% und bei Frauen bei 7,7%. Insgesamt starben 13.580 Männer und 11.932 Frauen an den Folgen [Krebs in Deutschland, 2013/2014].

Die primären hepatischen Tumore machen ca. 10% der malignen Leberläsionen aus. Viel häufiger sind in den westlichen Industriestaaten Metastasen [Layer *et al.*, 2007]. Die häufigste Ursache für Lebermetastasen stellt das kolorektale Karzinom mit ca. 30% dar, gefolgt vom Magenkarzinom mit ca. 20%. Bei Männern kommt an dritter Stelle das Bronchialkarzinom und bei Frauen Malignome der Brustdrüse. Die Leber ist damit das am zweithäufigste von Metastasen betroffene Organ neben den regionalen Lymphabflusswegen [Schima *et al.*,2005]. Nach der Diagnose des kolorektalen Karzinoms weisen bis zu 15% der Patienten im Staging bereits Metastasen in der Leber auf. Bei weiteren 20% treten auch nach der Behandlung des kolorektalen Karzinoms Metastasen in der Leber auf. Singuläre Lebermetastasen wurden bei mehr als 30% der Patienten, die an kolorektalen Karzinom verstorben sind, gefunden. Das initiale Staging sollte über Lage, Größe und Anzahl der Metastasen Auskunft geben und ist für die weitere Therapieplanung entscheidend [Gaa *et al.*,2005].

5.3.1 Fragestellung

Ziel dieser Studie war der Vergleich zwischen den klinisch etablierten auf Gadolinium basierenden Kontrastmitteln (Gd-BOPTA & Gd-DTPA) sowie der Vergleich des ebenfalls etablierten Kontrastmittels Gd-BT-DO3A im Vergleich mit einem innovativen, experimentellen Kontrastmittels mit der Bezeichnung P03277.

Dabei wurde in einem experimentellen Tiermodell an Ratten mittels Ultrahochfeld-MRT bei 9,4 T die Bildgebungsparameter SNR_{Leber} , SNR_{Tumor} , CNR und LE ermittelt und miteinander verglichen.

6. Material und Methodik

6.1 Versuchstiere

Für diese Studie wurden zwei Gruppen zu je 10 weiblichen Ratten (Wag-Rij, Charles River Laboratories, Sulzfeld, Germany) verwendet. Die Tiere hatten ein mittleres Gewicht von 150g und waren im Durchschnitt drei bis vier Monate alt. Die Haltung der Tiere erfolgte artgerecht und als Futter wurde das Standardlaborfutter sowie Wasser verwendet, zu dem die Tiere freien Zugang hatten. Die Tiere wurden unter klimatisierten Bedingungen (entsprechend des vom 18. Mai 2018 an gültigen und aktualisierten Tierschutzgesetzes) am Institut für Klinisch Experimentelle Chirurgie, Universität des Saarlandes, Homburg/Saar, gehalten.

6.1.1 Tumorimplantation

Die Tumorzellenimplantation erfolgte unter inhalativer Vollnarkose mittels eines Narkosegasgemisches aus 1-2% Isofluran und 98-99% Sauerstoff, welches mit einer Flussrate von 1,0 l/min über eine Beatmungsmaske verabreicht wurde. Entsprechend des gültigen Tierschutzgesetzes erhielten Versuchstiere eine analgetische Medikation mit Carprofen (5 mg / kg Körpergewicht) subkutan. Nach Rasur (Typ Elektra®, Esculap, Tuttlingen), und Desinfektion (Braun Softasept®, Melsungen) des Operationsgebietes wurde unterhalb des Xiphoids entlang der Linea alba ein Schnitt von ca. 1,5 - 2 cm Länge durchgeführt um die Abdominalhöhle zu eröffnen. Zur Befeuchtung des Abdomens und anderen Organe wie z.B. des Dün- und Dickdarmes, wurde ein steriles Tuch, mit isotoner NaCl 0,9% (Braun®, Melsungen AG) getränkt und am unteren Schnitttrand positioniert.

Als Implantationsstelle für die Injektion der Tumorzellen wurde der linke Leberoberlappen ausgewählt. Dieser ist mit der Punktionskanüle bei kurzem Injektionsweg gut zu erreichen. Die frisch aufgearbeitete CC531 Tumorzellsuspension (5×10^5 Zellen pro Tier) wurde mit einer 27 G Kanüle (Omnicon F, ® Braun, Melsungen, Deutschland) unter Sicht subkapsulär injiziert. Nach korrekter Injektion wölbt sich die Leberkapsel weißlich hervor.

Die Injektionsstelle wurde anschließend für mehrere Minuten komprimiert. Damit wurde verhindert, dass sich die Tumorzellen im Abdomen oder Peritoneum verteilen und es zu einer Peritonealkarzinose kommt. Der Abdominalverschluss erfolgte mehrschichtig mit Prolene 4,0

Material & Methodik

(Vicryl 4,0 Ethicon, ® Johnson & Johnson Medical GmbH, Norderstedt, Deutschland) fortlaufend. Jeder einzelne Eingriff dauerte zwischen 15- 20 Minuten.

6.1.2 Einleitung und Aufrechterhaltung der Narkose

Die Einleitung der Narkose erfolgt durch die Begasung der Versuchstiere in einer Kunststoffkammer mit 5% Isofluran / 95% Sauerstoff mit einer Flussrate von 3,0 l/min.

Um die Narkose (Isofluran) weiterführen zu können, wurde die Schnauze der Ratten in eine in die Lagerungshilfe integrierte Atemmaske positioniert. Die Narkose wird mit einer Mischung aus 1-2% Isofluran und 98-99% Sauerstoff in Abhängigkeit von der Atem – und –Pulsfrequenz während der MRT-Untersuchung aufrechterhalten.

6.1.3 Lagerung der Versuchstiere zur Bildgebung

Die Versuchsratten wurden in eine aus Kunststoff bestehende Halbschale, deren Breite dem Innendurchmesser der MR-Spule entsprach, gelegt. Um eine Auskühlung zu vermeiden wurden sie mit einem wärmeisolierenden Tuch bedeckt. Eine in die Tierliege bzw. in die Halbschale integrierte thermostatisch gesteuerte Wärmevorrichtung hält die Temperatur während des Untersuchungszeitraumes konstant. Um eine Veränderung der Position zu verhindern, wurden die Ratten mit Klebeband an den Pfoten fixiert. Die Versuchstiere wurden in Bauchlage in der Lagerungsschale positioniert. Während der gesamten Messungen wurde über einen rektalen Sensor die Kernkörpertemperatur überwacht. Bei fehlendem Lidschluss der Augen, wurden diese zum Schutz mit Bepanthen® Nasen- und Augensalbe (Bayer, Leverkusen) benetzt.

6.1.4 Monitoring während der Untersuchungen

Über die gesamte Dauer der Untersuchungen wurden die Vitalparameter der Versuchstiere über ein dezidiertes Tiermonitoringsystem überwacht. Dieses enthält ein Elektrokardiogramm um die Herzkreislauffunktion kontinuierlich zu überwachen sowie ein durchgängiges Monitoring der Atemfunktion und Temperatur. Das Monitoring der Atemfrequenz wurde über einen Drucksensor an der Bauchwand (infant respiration sensor, Smith Medical Germany, Grasbrunn, Deutschland) überwacht. Für die EKG-Ableitung benutzte man Elektroden aus der Neonatologie (3M ®Red Dot neonatal monitoring electrodes, 3M® Health Care, St. Paul, MN, USA). Diese wurden über die Vorderpfoten abgeleitet. Zusätzlich wurden die Vitalparameter

Material & Methodik

über einen separaten Computer über eine spezifische Software betrieben (PC-SAM32, Sa Instruments Inc.®, Stony Brook, NY, USA) aufgezeichnet und überwacht.

6.1.5 Magnetresonanztomograph und Software

Der experimentelle Magnetresonanztomograph Typ BioSpec 94/20 (Bruker® Ettlingen, Deutschland) wurde für diese klinische Studie verwendet. Der Magnetresonanztomograph wurde für die Untersuchungen mit einer 16-Kanal-Volumenspule bestückt. An diesen 16 Kanälen können gleichzeitig Signale empfangen und gesendet werden. Für alle Untersuchungen wurde eine Feldstärke von 9,4 Tesla verwendet. Mit der Software ParaVision 5.1 (Bruker, Deutschland) wurde der Magnetresonanztomograph betrieben. Zur Bildgebung sowie Bildrekonstruktion diente die Intradate Software (Intradate, Bruker, Deutschland).

6.1.6 Zeitlicher Ablauf

Die zwei Versuchsgruppen bestanden jeweils aus 10 WAG-Ratten. In jeder Gruppe wurden zwei Kontrastmittel an allen Versuchstieren getestet. In der ersten Gruppe wurde Gd-BOPTA und Gd-DTPA, in der zweiten Gruppe Gd-BT-DO3A und P03277 verwendet. Die Untersuchungen wurden nach 12 bzw. 14 Tagen nach Tumorimplantation durchgeführt. Zwischen der Gabe der unterschiedlichen Kontrastmittel fügte man eine zweitägige Pause ein, um eine ausreichende Elimination des zuvor applizierten Kontrastmittels zu gewährleisten. Die Ergebnisse wurden intraindividuell miteinander für die jeweilig in der Versuchsgruppe verwendeten Kontrastmittel verglichen.

6.2 Eingesetzte Kontrastmittel

6.2.1 Gd-DTPA (Magnevist®)

Gadopentetat-Dimeglumin (Gd-DTPA) war das erste auf dem Markt befindliche Kontrastmittel, das für die MR-Bildgebung im Jahre 1988 zugelassen wurde. Gadolinium wird mit Diethylenetriaminpentaessigsäure in einen stabilen Chelatkomplex eingebunden und hat niedriges Molekulargewicht von 0,938 kDa (weitere chemische Eigenschaften s. Tabelle 2).

Gd-DTPA gehört durch seine sieben ungepaarten Außenelektronen zu den paramagnetischen Kontrastmitteln und verkürzt die T1-Relaxation. Umgeben von einem äußeren Magnetfeld entwickelt es ein magnetisches Moment. Gewebe mit einem hohen Anteil an Wasserprotonen

Material & Methodik

relaxieren in der Nähe von Gd-DTPA durch seinen großen magnetischen Moment deutlich schneller und werden als helle, hyperintense Regionen im T1gewichteten Bild angezeigt. Zusätzlich gehört es in die Gruppe der unspezifischen Kontrastmittel, da es von den Hepatozyten und dem retikuloendotheliale System nicht aufgenommen wird. Es wird in der Bildgebung zur Darstellung von Blutgefäßen verwendet und zur Darstellung der Gefäßdurchlässigkeit in entzündetem oder erkranktem Gewebe. Um das pathologisch veränderte Gewebe herum kommt es häufig zu einer Bildung eines Ödems in dem sich mehr Kontrastmittel anreichert als in gesundem Gewebe und somit zu einer Steigerung der Signalintensität führt [Fries *et al.*, 2009] [Brasch *et al.*, 1984]. Die klinische Dosierung liegt bei 0,1 mmol / kg Körpergewicht. Die LD 50 liegt bei 10,6-11,3 mmol/kg nach i.v. Injektion bei der Maus.

6.2.2 Gd-BOPTA (Multihance®),

Gadobenat Dimeglumin (Gadolinium-Benzyl-Oxy-Propionin-Tetra-Acetat) basiert auf der Molekülstruktur des am häufigsten verwendeten Kontrastmittels Gadopentetat Dimgelumin (Gd-DTPA). Durch die Anbindung einer lipophilen Gruppe erklären sich die veränderten Eigenschaften zu denen eine erhöhte Relaxivität im Plasma sowie die hepatobiliäre Aufnahme zählen (Molekulargewicht 1,085 kDa, weitere chemische Eigenschaften s. Tabelle 2). Das Anfügen einer Benzyl-Oxymethyl-Gruppe bewirkt die Aufnahme in die Hepatozyten und des Weiteren interagiert Benzyl-Oxymethyl mit Plasmaproteinen, vor allem mit Albumin. Durch diese Interaktion wird die Rotation der paramagnetischen Einheit des Moleküls gebremst. Der sich daraus ergebende Effekt ist eine verstärkte Wechselwirkung zwischen Gd-BOPTA und den Wasserstoffprotonen, der zu einer erhöhten Relaxivität führt. Gegenüber anderen extrazellulären Kontrastmitteln besitzt Gd-BOPTA eine nahezu doppelt so hohe Relaxivität, was bei gleicher Dosis mit einem verbesserten Signal-zu-Rausch-Verhältnis einhergeht [Pintaske J, *et al.*, 2006]. Die eingesetzte Dosis liegt bei 0,05 mmol/kg KG.

Die Ausscheidung von Gd-BOPTA erfolgt zu 95% über die renale Ausscheidung, die restlichen 5% werden von den Hepatozyten aufgenommen und biliär ausgeschieden. Gd-BOPTA besitzt sowohl die Eigenschaften eines extrazellulären als auch leberspezifischen Kontrastmittels [Kirchin, *et al.*, 1998]. Die europäische Arzneimittelbehörde hat die Zulassung zurzeit auf die abdominelle Bildgebung aufgrund von möglichen gesundheitlichen Gefahren beschränkt [Fachinformation 2017].

6.2.3 Gd-BT-DO3A (Gadovist®)

Gd-BT-DO3A gehört zu den extrazellulären auf Gadolinium basierenden Kontrastmitteln. Es besitzt ein niedriges Molekulargewicht 0,605 kDa und ist makrozyklisch aufgebaut. Die Verteilung findet extrazellulär ohne nennenswerte Proteinbindung statt (weitere chemische Eigenschaften s. Tabelle 2). Es wird renal eliminiert. In einem magnetischen Feld verkürzt es die T1-Relaxationszeit. Auch in niedrigen Dosen hat es einen Einfluss auf die Verkürzung der Relaxationszeit. Es wird für ein breites Spektrum an Untersuchungen verwendet, dazu gehören neben der kranialen auch die abdominelle Bildgebung. Zur klinischen Bildgebung werden 0,1 mmol / kg Körpergewicht verwendet. Die LD50 liegt bei 23 mmol/kg KG (Maus) [Hammersting, *et al.*, 2009], [Fachinformation 2017].

6.2.4 P03277

Hinter der Abkürzung P03277 (Guerbet, Aulnay-sous-Bois, Frankreich, Patentnummer EP 1931 673 B1, Seite 8, Beispiel 2) verbirgt sich ein experimentelles Kontrastmittel, das makrozyklisch aufgebaut und nicht ionisch ist.

Es repräsentiert ein auf Gd-basierendes niedermolekulares Kontrastmittel, welches mit der normalen glomerulären Filtration eliminiert wird [Robic, *et al.*, 2019]. Es zeichnet sich durch eine hohe Relaxivität bei unterschiedlichen Feldstärken aus. Diese Eigenschaft beruht auf der dreidimensionalen Struktur mit entsprechend erhöhter hydrodynamische Größe [Fries *et al.*, 2019]. Nachfolgend wird dadurch die molekulare Eigenbewegung gesenkt, wodurch die Wechselwirkungen mit den Wasserstoffatomen erhöht werden. Des Weiteren ist die Zugänglichkeit des Gd-Zentrums für Wasser mit einer durchschnittlichen Hydratationszahl von 1,7 erhöht wohingegen andere Kontrastmittel wie z.B. Gd-DTPA oder Gd-BT-DO3A nur einen Wert von 1,0 aufweisen [Wong *et al.* 2010], [Fries *et al.*, 2015], [Fries *et al.*, 2019]. Interaktionen mit Serumalbumin oder Plasmaproteinen zeigt P03277 nicht. Es wurde experimentell in der MR-Bildgebung der Leber eingesetzt [Fries *et al.*, 2015].

Die experimentell eingesetzte Dosis liegt bei 0,1 mmol/kg KG. Zum Zeitpunkt der Untersuchungen und Erstellung der Dissertation befand sich P03277 in experimenteller Erprobung, weshalb weitere, detaillierte Herstellerangaben limitiert waren und nicht zur Verfügung standen.

6.2.5 Eigenschaften von Gd-DTPA & Gd-BOPTA

	Gd-BOPTA	Gd-DTPA	Gd-BT-DO3A
Strukturformel	$C_{22}H_{28}GdN_{33}O_{11}$	$C_{14}H_{18}GdN_3O_{10}$	$C_{18}H_{31}GdN_4O_9$
Molekulargewicht	1,058 kDa	0,938 kDa	0,605 kDa
Viskosität bei 37 ° C	5,3 mPa s	2,9 mPa s	4,96 mPa s
Osmolalität bei 37°C	1,97 osmol/kg	1960 mOsm/kg H ₂ O	1960 mOsm/kg H ₂ O
Elimination	Renal, biliär	renal	Renal
Ph-Wert	6,8 – 7,5	7,0 bis 7,9	6,6 bis 8,0
Kontrastmechanismus	T1-Verkürzung	T1-Verkürzung	T1-Verkürzung

Tabelle 1: Aufgeführt sind verschiedene physikalische und chemische Eigenschaften der klinisch zugelassenen Kontrastmittel. Genauere Angaben bzgl. P03277 waren zum Zeitpunkt der Studie und der Erstellung der Dissertation nicht verfügbar. [Fachinformation 2017].

6.3. Sequenzparameter

6.3.1 Dynamische T1-gewichtete Bildgebung (RSG-FLASH und EG-FLASH)

Zum Einsatz kamen zwei unterschiedlich getriggerte Gradientenechosequenzen.

Zum einen erfolgte die Akquisition einer RSG-FLASH-Sequenz mittels retrospektivem Selbstgating. Die Sequenz hatte eine TR von 45 ms und TE von 2,5 ms, der Anregungswinkel betrug 45°, das Messfeld hatte eine Größe von 50 x 50 mm², mit einer Matrix von 256 x 256 und 1 mm Schichtdicke. Nach der Kontrastmittelgabe erfolgte die Messung der RSG-FLASH Sequenzen nach 2, 5, 9, 13 und 17 Minuten.

Nach der intravenösen Applikation von 0.1 mmol/kg Körpergewicht von Gd-BOPTA oder entsprechend 0,2 mmol/kg Körpergewicht von Gd-DTPA über die Schwanzvene wurde abwechselnd die Akquisition beider Sequenzen an zehn hintereinander folgenden Zeitpunkten durchgeführt. Nach der Kontrastmittelgabe erfolgte die Messung der RSG-FLASH-Sequenzen nach 2, 5, 9, 13 und 17 Minuten.

Zum anderen wurde eine EG-FLASH Sequenz mit den gleichen Bildparametern, derselben Position unter der Atemfrequenz getriggert. Die Sequenz hatte eine TR von 45 ms und TE

Material & Methodik

von 2,5 ms, der Anregungswinkel betrug 45°, das Messfeld hatte eine Größe von 50 x 50 mm², mit einer Matrix von 256 x 256 und 1mm Schichtdick.

Nach der intravenösen Applikation von 0,1 mmol/kg Körpergewicht von Gd-BOPTA oder entsprechend 0,2 mmol/kg Körpergewicht von Gd-DTPA über die Schwanzvene wurde die Akquisition beider Sequenzen an zehn hintereinander folgenden Zeitpunkten durchgeführt.

Nach der Kontrastmittelgabe erfolgte die Messung der EG-FLASH Sequenzen nach 3, 7, 10, 14, und 18 Minuten.

Da sich im Verlauf der Durchführung der Experimente herausgestellt hat, dass die RSG-FLASH Sequenz mit größerer Konsistenz durchführen lässt, wurde in der Versuchsgruppe bei der Gd-BT-DO3A mit P03277 verglichen wurde nur diese Sequenz an 10 aufeinanderfolgenden Zeitpunkten akquiriert (2 min. - 20 min.). Auch hier wurden die entsprechenden Kontrastmittel in einer Dosierung von 0.1 mmol/kg Körpergewicht über die Schwanzvenen appliziert.

Sequenz	RSG-FLASH	EG-FLASH
TR	45	45
TE	2,5 ms	2,5 ms
Flipwinkel (FA)	25°	25°
Field of View (FOV)	50 x 50 mm ²	50 x 50 mm ²
Matrix	256 x 256	256 x 256
Pixelgröße	0,195 x 0,195 mm	0,195 x 0,195 mm
Schichtanzahl	5	5
Schichtdicke	1 mm	1 mm

Tabelle 2: Verwendete Sequenzparameter

6.3.2 Signal-zu-Rausch-Verhältnis

Das Signal-zu-Rausch Verhältnis wird definiert als das Verhältnis aus der Signalintensität eines definierten Areals (region of interest, ROI) und des Hintergrundrauschens. Das Signal-zu-Rausch-Verhältnis (signal to noise ratio, SNR) ist eine der wichtigsten Maßeinheiten um die Leistungsfähigkeit von Magnetresonanztomographen zu vergleichen [Lerski, de Certaines, 1993]. Die ROIs wurden mit einer Mindestgröße von 3 mm in homogenes Leber und Tumorgewebe, paarweise gesetzt. Die Standardabweichung der ROI's diente zur Ermittlung des Hintergrundrauschens. Diese Messungen wurden an einem iMac® (Apple, Kalifornien, USA) mit der Software OsiriX (Pixmeo, Berne, Schweiz) durchgeführt.

Für die Berechnung der Signal-zu-Rausch-Verhältnisse wurde die Subtraktionsmethode verwendet [Firbank *et al.*, 1999].

$$SNR = \frac{SI_{mean} \times \sqrt{2}}{SD_{subtract}}$$

$$SNR_{Leber} = \frac{SI_{Leber,t} \times \sqrt{2}}{SD_{subtract}}$$

$$SNR_{Tumor} = \frac{SI_{Tumor,t} \times \sqrt{2}}{SD_{subtract}}$$

$$CNR = SNR_{Tumor} - SNR_{Leber}$$

SNR	=	Signal-zu-Rausch-Verhältnis
SI _{mean}	=	Signalintensität aus zwei identischen Scans
SD _{subtr}	=	Standardabweichung der Subtraktionsdatensätze vor KM-Gabe, repräsentiert das Hintergrundrauschen
LE	=	Läsionsenhancement (Kontrastmittelanreicherung)
CNR	=	Kontrast-zu-Rausch-Verhältnis

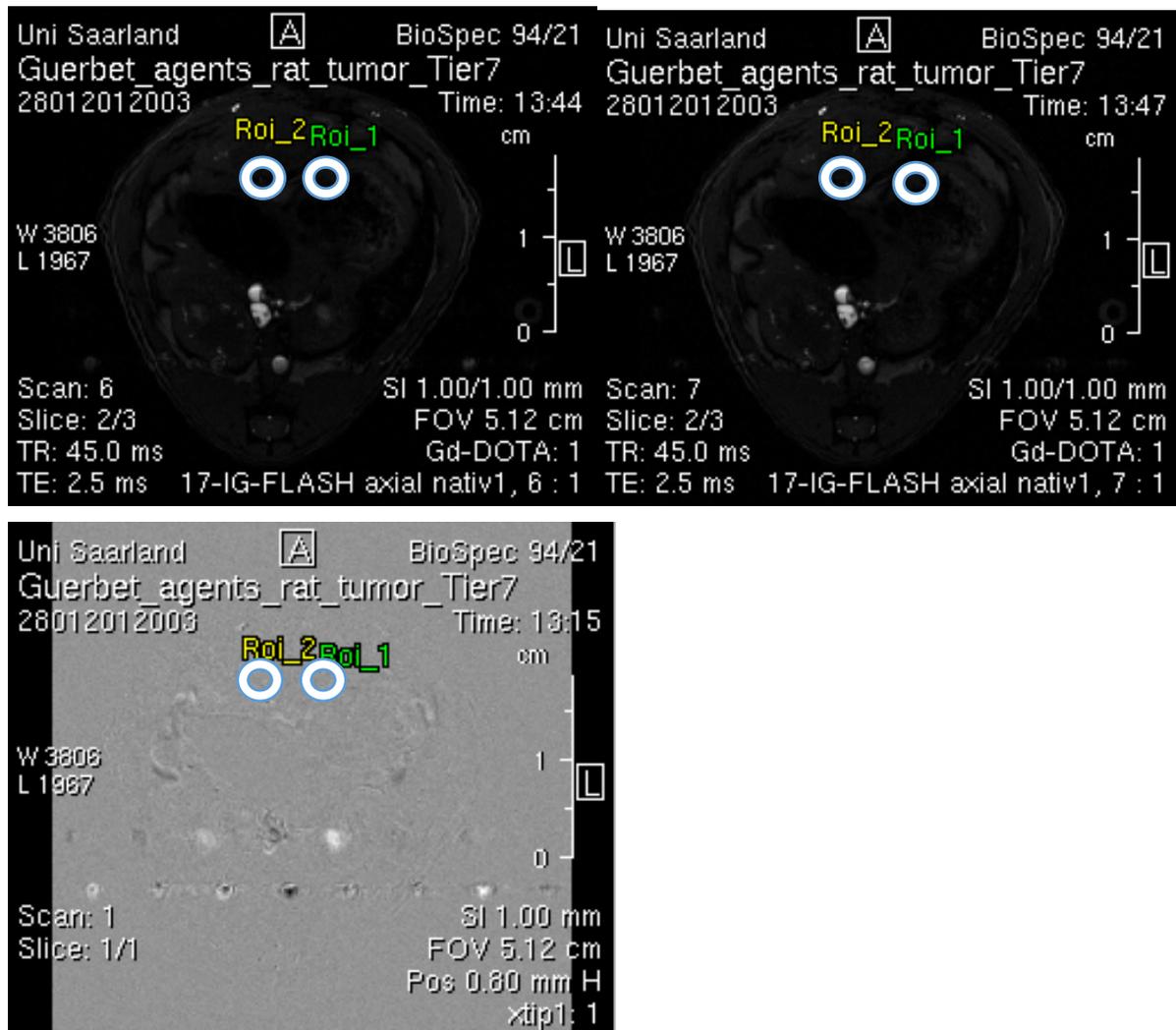


Abb. 1: Zeigt die Ermittlung von Signalintensitäten und des Rauschens in T1-gewichteten Aufnahmen und eines Subtraktionsbildes der RSG-FLASH Sequenzen. Dafür wurden ROIs ins das Leber und Tumorgewebe positioniert. Für die Berechnung des Rauschverhältnisses werden diese in subtrahierte Bildaufnahmen hineinkopiert.

6.3.3 Zu-interessierende-Region (ROIs)

Um Daten aus der MRT-Bildgebung genauer analysieren zu können wurden ROIs verwendet. Die Abkürzung ROI leitet sich vom englischen Begriff „region-of-interest“ ab. Dabei wird eine Messfläche im Bild eingezeichnet, innerhalb derer unterschiedliche Messparameter z. B. SI Mittelwerte, Standardabweichungen oder Minimum bzw. Maximum bestimmt werden.

6.3.4 Kontrast-zu-Rausch-Verhältnis

Das Kontrast-zu-Rausch-Verhältnis ist ein Maß in wie weit zwei Strukturen gegenüber dem Hintergrundrauschen voneinander abgrenzbar sind. Für die Berechnung der Kontrast-zu-Rausch-Verhältnis, wurde die SNR der angrenzenden gesunden Leber von der SNR des Tumors subtrahiert. Die CNR wird verwendet um den Kontrast zwischen Tumor und Leber darzustellen. Das Hintergrundrauschen wurde aus den Standardabweichungen der ROIs aus den Subtraktionsdaten im gesunden Lebergewebe und Tumor ermittelt.

$$CNR = SNR_{Tumor} - SNR_{Leber}$$

6.4 Auswertung der gewonnen Bilddaten

6.4.1 Software OsiriX

Für die Datengewinnung verwendeten wir die Software OsiriX (OsiriX, Pixmeo, Bernex, Schweiz). OsiriX ist eine Bildbearbeitungssoftware für DICOM (Digital Imaging and Communications in Medicine) Bilder. Mit dieser Software platzierten wir die ROIs in den Tumor bzw. in die Leber. Dabei wurde darauf geachtet die Messfelder nicht in Gefäße oder Randbereiche zu positionieren. Die ROIs wurden mit einem minimalen Durchmesser von 3 mm in homogenes Leber und Tumorgewebe paarweise gesetzt. Pro Bild wurden 6 ROIs positioniert.

6.4.2 Statistische Auswertung & t-test

Die weitere Erfassung und Aufbereitung der Daten erfolgte mit Hilfe einer Excel Tabelle (MICROSOFT®, Excel®, USA.). Die statistische Analyse wurde mit der Software (GraphPad® Prism Version 5.00 & 7.00, GraphPad® Software, San Diego, California, USA) durchgeführt. Zu Beginn der statistischen Auswertung erfolgte die Überprüfung der Normalverteilung mit Hilfe des Shapiro-Wilk-Tests [Biometrika, 1965].

Für die Berechnung statistisch signifikanter Unterschiede ($p < 0,05$) zwischen den Werten SNR, CNR und LE zu allen Zeitpunkten wurde für den intraindividuellen Vergleich zwischen

Material & Methodik

Gd-BOPTA mit Gd-DTPA und Gd-DO3A und P03277 ein gepaarter t-Test verwendet, da es sich um eine verbundene Stichprobengröße handelt (Messwiederholung).

7. Ergebnisse

7.1 Signal-zu-Rausch-Verhältnis (SNR): Leber

Bei der Messung der SNR der gesunden Leber zeigten alle Kontrastmittel ein höheres Signal-zu-Rausch-Verhältnis im Vergleich zu den nativen Aufnahmen. Gd-BOPTA zeigte im Vergleich zu Gd-DTPA zu vier Messzeitpunkten statistisch signifikant ($p < 0,05$) höhere SNR der Leber. Statistisch signifikant höhere Werte ergeben sich für P03277 im Vergleich zu Gd-BT-DO3A. Die auf Gadolinium basierenden Kontrastmittel Gd-BOPTA sowie Gd-DTPA zeigen beide einen langsamen Abfall der SNR. Auch bei den späteren Messungen wurden relativ konstant hohe SNR Werte erhoben. Betrachtet man die Ergebnisse sowie Kurvenverläufe von Gd-BT-DO3A und P03277, erkennt man einen Gipfel unmittelbar nach Kontrastmittelapplikation mit anschließendem raschem Abfall.

Für die Berechnung der Werte zu allen Zeitpunkten wurde für den intraindividuellen Vergleich zwischen Gd-BOPTA mit Gd-DTPA und zwischen P03277 mit Gd-BT-DO3A ein gepaarter t-Test verwendet, da es sich um zwei abhängige Messwiederholungen handelt

7.1.1 Gruppe Gd-BOPTA versus Gd-DTPA

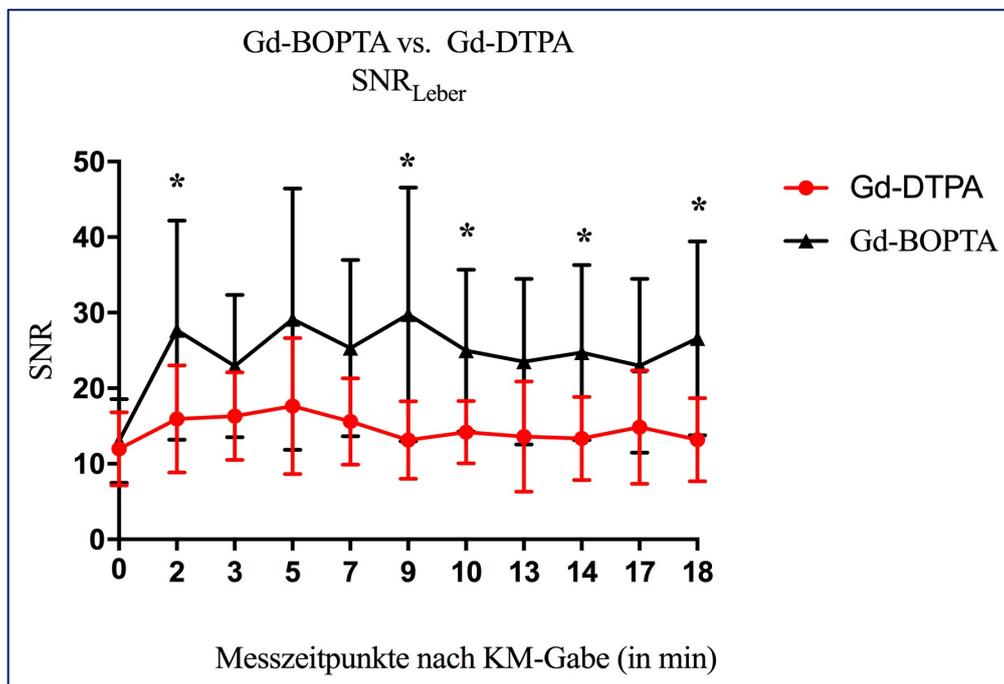


Abb. 2: Graphische Darstellung der SNR_{Leber} der Gruppe Gd-BOPTA vs. Gd-DTP. Für Gd-BOPTA wurden statistisch signifikant erhöhte Messwerte zu den Messzeitpunkten 2, 9, 10, 14, 18 min. ermittelt.

Messzeitpunkte	Gd-BOPTA	Gd-DTPA	P
0 = nativ	13,029 (\pm 5,550)	11,971 (\pm 4,854)	0,6829
2	27,668 (\pm 14,51)	15,948 (\pm 7,106)	0,0398 *
3	22,933 (\pm 9,419)	16,323 (\pm 5,803)	0,1321
5	29,132 (\pm 17,30)	17,645 (\pm 8,981)	0,1312
7	25,315 (\pm 11,653)	15,594 (\pm 5,720)	0,0834
9	29,762 (\pm 16,811)	13,133 (\pm 5,140)	0,0249 *
10	24,984 (\pm 10,730)	14,203 (\pm 4,127)	0,0251 *
13	23,509 (\pm 19,980)	13,596 (\pm 7,303)	0,0756
14	24,714 (\pm 11,577)	13,373 (\pm 5,516)	0,0452 *
17	22,998 (\pm 11,503)	14,835 (\pm 7,511)	0,1471
18	26,619 (\pm 12,861)	13,180 (\pm 5,518)	0,0322 *

Tabelle 3: Messwerte der SNR_{Leber} der Gruppe Gd-BOPTA vs. Gd-DTPA

7.1.2 Gruppe Gd-BT-DO3A versus P03277

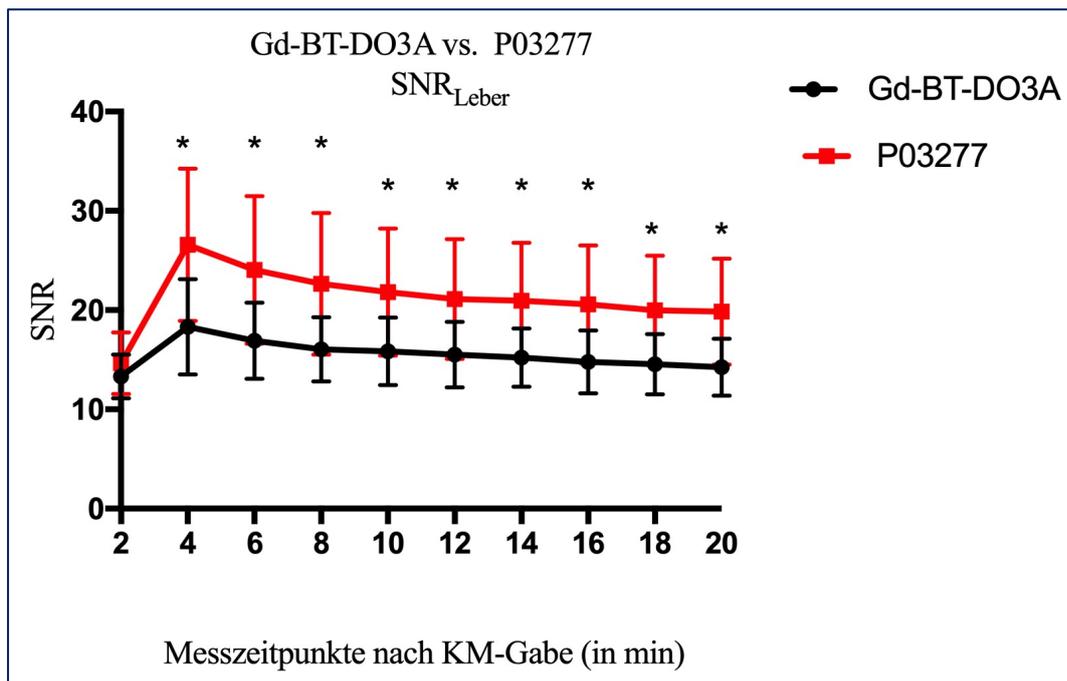


Abb. 3: Graphische Darstellung der SNR_{Leber} der Gruppe Gd-BT-DO3A vs. P03277. Bei der Ermittlung der SNR_{Leber} wurden nach der Gabe von P03277 durchgehend statistisch signifikante erhöhte Werte ermittelt.

Messzeitpunkte	P03277	Gd-BT-DO3A	P
0	14,650 (\pm 3,088)	13,310 (\pm 2,214)	0,06
2	26,580 (\pm 7,676)	18,310 (\pm 4,823)	0,002 *
4	24,050 (\pm 7,428)	16,920 (\pm 3,829)	0,004 *
6	22,650 (\pm 7,124)	16,060 (\pm 3,250)	0,009 *
8	21,820 (\pm 6,390)	15,860 (\pm 3,398)	0,008 *
10	21,110 (\pm 6,051)	15,530 (\pm 3,298)	0,004 *
12	20,960 (\pm 5,851)	15,200 (\pm 2,952)	0,006 *
14	20,580 (\pm 5,938)	14,770 (\pm 3,196)	0,003 *
16	19,980 (\pm 5,509)	14,560 (\pm 3,036)	0,003 *
18	19,840 (\pm 5,339)	14,260 (\pm 2,891)	0,002 *
20	19,720 (\pm 5,144)	13,660 (\pm 2,909)	0,001 *

Tabelle 4: Messwerte der SNR_{Leber} der Gruppe Gd-BT-DO3A vs. P03277.

7.2 Signal-zu-Rausch-Verhältnis (SNR): Tumor

Unter der Verwendung von Kontrastmitteln zeigten sich deutlich höhere SNR-Werte im Vergleich zu den Aufnahmen ohne Kontrastmittel. Gd-BOPTA und Gd-DTPA zeigten wie bei der vorherigen SNR Ermittlung einen langsamen, plateauähnlichen Abfall der Messwerte wohingegen Gd-BT-DO3A und P03277 einen frühen Gipfel mit anschließender rascher Signalabnahme zeigten. Es zeigt sich kein relevanter Unterschied des Signal-zu-Rausch-Verhältnisses zwischen Gd-BOPTA und Gd-DTPA. Beim Vergleich zwischen Gd-BT-DO3A und P03277 erzielte P03277 statistisch signifikant höhere Werte.

7.2.1 Gruppe Gd-BOPTA versus Gd-DTPA

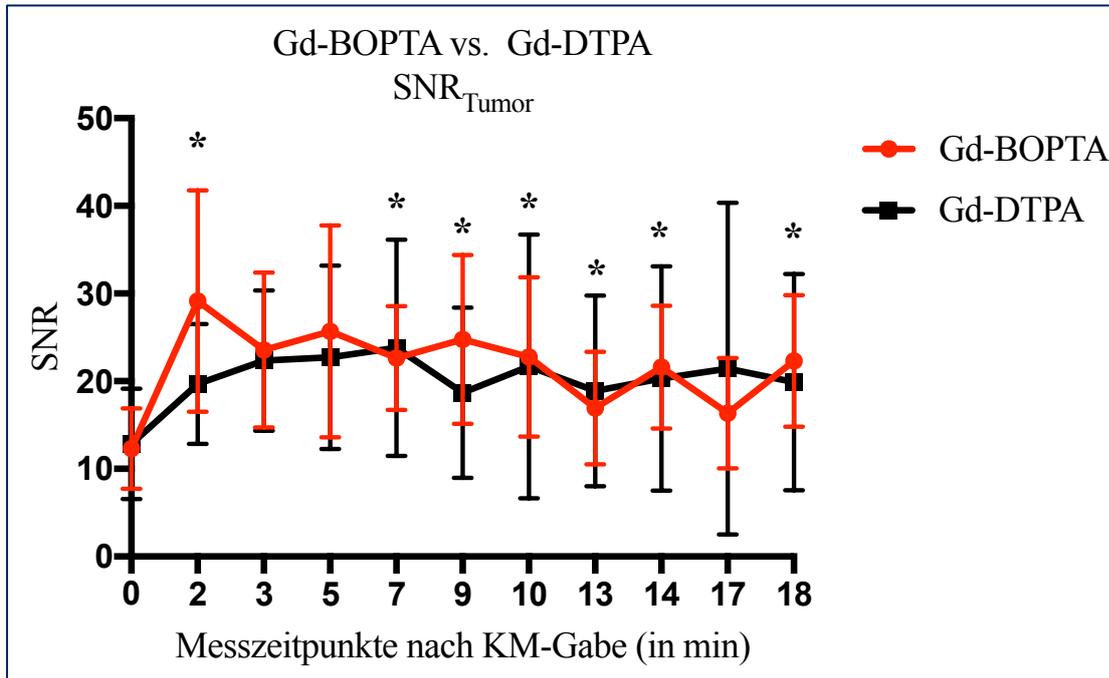


Abb. 4: Graphische Darstellung der SNR_{Tumor} der Gruppe Gd-BOPTA vs. Gd-DTPA. Für Gd-BOPTA wurden während 2, 7, 9, 10, 13, 14, 18 min statistisch signifikant erhöhte Werte gemessen.

Messzeitpunkt	Gd-BOPTA	Gd-DTPA	P
0 = nativ	12,325 (± 4,598)	12,850 (± 6,280)	0,8659
2	29,162 (± 12,654)	19,687 (± 6,816)	0,0406 *
3	23,560 (± 8,825)	22,360 (± 8,250)	0,7762
5	25,676 (± 12,107)	22,724 (± 10,448)	0,6079
7	22,627 (± 5,918)	23,792 (± 12,351)	0,8204 *
9	24,765 (± 9,611)	18,696 (± 9,701)	0,2156 *
10	22,711 (± 9,068)	21,689 (± 15,027)	0,8666 *
13	16,953 (± 6,439)	18,895 (± 10,882)	0,6492 *
14	21,600 (± 6,988)	20,324 (± 12,798)	0,8110 *
17	16,363 (± 6,297)	21,450 (± 18,921)	0,4854
18	22,326 (± 7,525)	19,912 (± 12,369)	0,6650 *

Tabelle 5: SNR_{Tumor} der Gruppe Gd-BOPTA vs. Gd-DTPA

7.2.2 Gruppe P03277 versus Gd-BT-DO3A

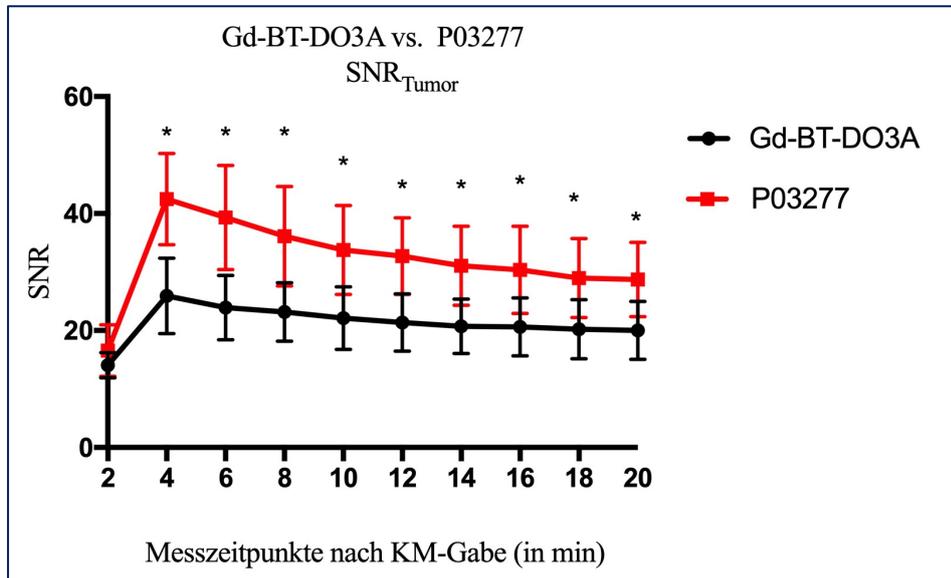


Abb. 5: Graphische Darstellung der SNR_{Tumor} der Gruppe P03277 vs. Gd-BT-DO3A. Es wurden durchgehende statistisch signifikant erhöhte SNR-Werte unter P03277 ermittelt.

Messzeitpunkt	P03277	Gd-BT-DO3A	P
0	16,560 (± 4,417)	14,080 (± 2,173)	0,13
2	42,490 (± 7,833)	25,930 (± 6,445)	<0,001 *
4	39,330 (± 8,927)	23,930 (± 5,495)	<0,001 *
6	36,100 (± 8,547)	23,200 (± 5,015)	<0,001 *
8	33,770 (± 7,627)	22,120 (± 5,347)	0,001 *
10	32,720 (± 6,561)	21,350 (± 4,934)	<0,001 *
12	31,060 (± 6,777)	20,730 (± 4,659)	<0,001 *
14	30,380 (± 7,442)	20,620 (± 4,977)	0,002 *
16	28,950 (± 6,775)	20,230 (± 5,077)	0,002 *
18	28,720 (± 6,334)	20,010 (± 4,953)	0,002 *
20	27,070 (± 6,521)	19,160 (± 4,650)	0,002 *

Tabelle 6: SNR_{Tumor} Messwerte der Gruppe P03277 vs. Gd-BT-DO3A

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

Bei der Berechnung des Kontrast-zu-Rausch-Verhältnisses (CNR) ergaben sich für alle Kontrastmittel unterschiedliche Werte. Unter der Verwendung von Gd-BOPTA zeigte sich bis auf die erste und zweite Messung ein durchgehend negativer Kontrast zwischen Leber und Tumorgewebe. Auch hier zeigt sich das schnelle Anfluten und Auswaschen von P03277. Unter der Verwendung von Gd-BT-DO3A ergeben sich die niedrigsten CNR Werte. P03277 und Gd-BT-DO3A zeigten wie in den übrigen Messungen einen frühen Gipfel mit anschließender rascher Abnahme des Kontrastes zwischen Leber und Tumorgewebe. Unter der Verwendung von Gd-DTPA zeigt sich ein langsamer Abfall der Werte.

7.3.1 Gruppe Gd-BOPTA versus Gd-DTPA

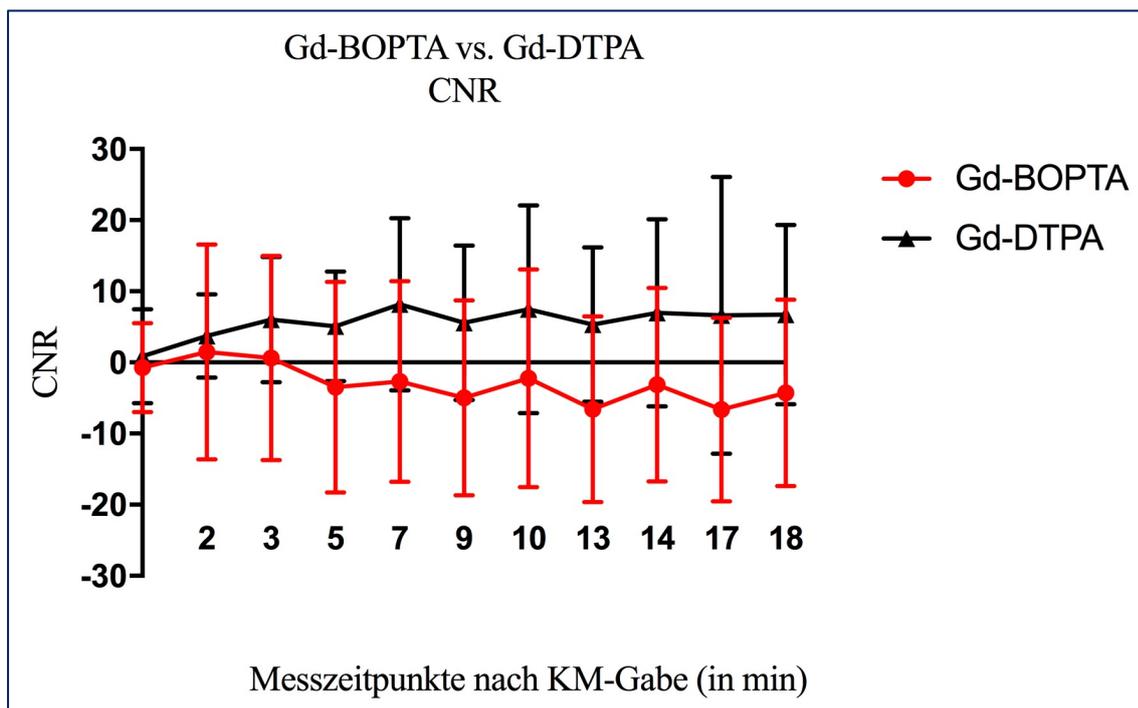


Abb. 6: Graphische Darstellung des CNR der Gruppe Gd-DTPA vs. Gd-BOPTA. Die Berechnung des Kontrast-zu-Rausch-Verhältnisses (CNR) ergab zu keinem der Messzeitpunkte signifikante Unterschiede zwischen Gd-BOPTA und Gd-DTPA. Gd-BOPTA zeigte bis auf Messzeitpunkte 2, 3 min durchgehend negatives CNR.

Messzeitpunkt	Gd-BOPTA	Gd-DTPA	P
0	-0,704 (\pm 6,292)	0,8789 (\pm 6,616)	0,6330
2	1,493 (\pm 15,120)	3,739 (\pm 5,885)	0,6189
3	0,627 (\pm 14,339)	6,037 (\pm 8,830)	0,3542
5	-3,456 (\pm 14,828)	5,079 (\pm 7,711)	0,1412
7	-2,688 (\pm 14,097)	8,198 (\pm 12,107)	0,1280
9	-4,997 (\pm 13,716)	5,563 (\pm 10,856)	0,0735
10	-2,212 (\pm 15,325)	7,487 (\pm 14,590)	0,2389
13	-6,556 (\pm 13,983)	7,854 (\pm 10,879)	0,1467
14	-3,114 (\pm 13,612)	6,952 (\pm 13,182)	0,1930
17	-6,635 (\pm 12,901)	6,615 (\pm 19,466)	0,0896
18	-4,294 (\pm 13,129)	6,731 (\pm 12,611)	0,1348

Tabelle 7: Messwerte des CNR der Gruppe Gd-BOPTA vs. Gd-DTPA

7.3.2 Gruppe P03277 versus Gd-BT-DO3A

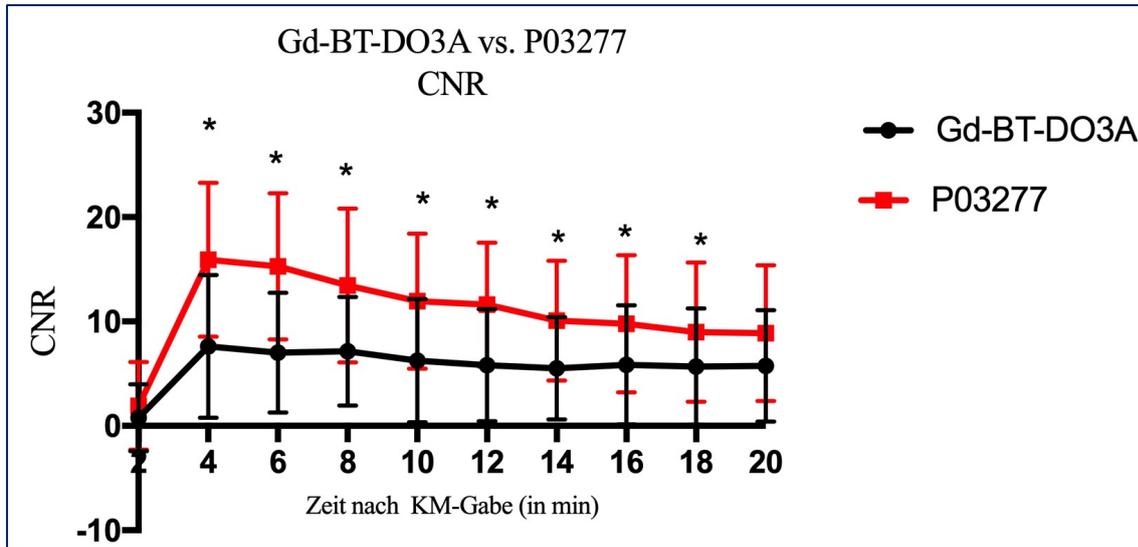


Abb. 7: Graphische Darstellung des CNR der Gruppe P03277 vs. Gd-BT-DO3A. Die Berechnung des Kontrast-zu-Rausch-Verhältnisses (CNR) ergab zu allen KM-verstärkten Zeitpunkten statistisch signifikante Unterschiede zwischen P03277 und Gd-BT-DO3A.

Messzeitpunkt	P03277	Gd-BT-DO3A	P
0	1,950 (± 4,216)	0,772 (± 3,220)	0,27
2	15,910 (± 7,387)	7,622 (± 6,846)	<0,001 *
4	15,280 (± 7,018)	7,011 (± 5,726)	<0,001 *
6	13,450 (± 7,368)	7,138 (± 5,196)	0,003 *
8	11,950 (± 6,455)	6,256 (± 5,903)	0,002 *
10	11,610 (± 5,940)	5,821 (± 5,381)	<0,001 *
12	10,090 (± 5,730)	5,531 (± 4,926)	<0,001 *
14	9,799 (± 6,577)	5,851 (± 5,693)	0,002 *
16	8,972 (± 6,693)	5,674 (± 5,562)	0,001 *
18	8,878 (± 6,513)	5,747 (± 5,330)	0,003 *
20	7,610 (± 6,010)	5,497 (± 5,075)	0,03

Tabelle 8: Messwerte des CNR der Gruppe P03227 vs. Gd-BT-DO3A

7.4 Kontrastmittelanreicherung (Lesion Enhancement, LE)

Die hier ermittelten Werte sind für die einzelnen Kontrastmittel sehr unterschiedlich. Im Vergleich zwischen Gd-DTPA und Gd-BOPTA werden höhere Kontrastmittelanreicherungen mit Gd-BOPTA gemessen. Statistisch signifikante Werte ($p < 0,05$) werden zu den Messzeitpunkten 7, 9, 10, 13, 14, 18 min (Ausnahme 9. Messzeitpunkt) ermittelt. Das experimentelle P03277 erzielt im Vergleich zu Gd-BT-DO3A signifikant höhere Werte. Betrachtet man die Kurvenverläufe so zeigt Gd-BOPTA einen langsamen, plateauähnlichen Abfall der LE, wohingegen P03277 einen frühen Peak kurz nach Kontrastmittelapplikation aufweist. Der Kurvenverlauf von Gd-BT-DO3A zeigt kaum messbare Veränderungen.

7.4.1 Gruppe Gd-BOPTA versus Gd-DTPA

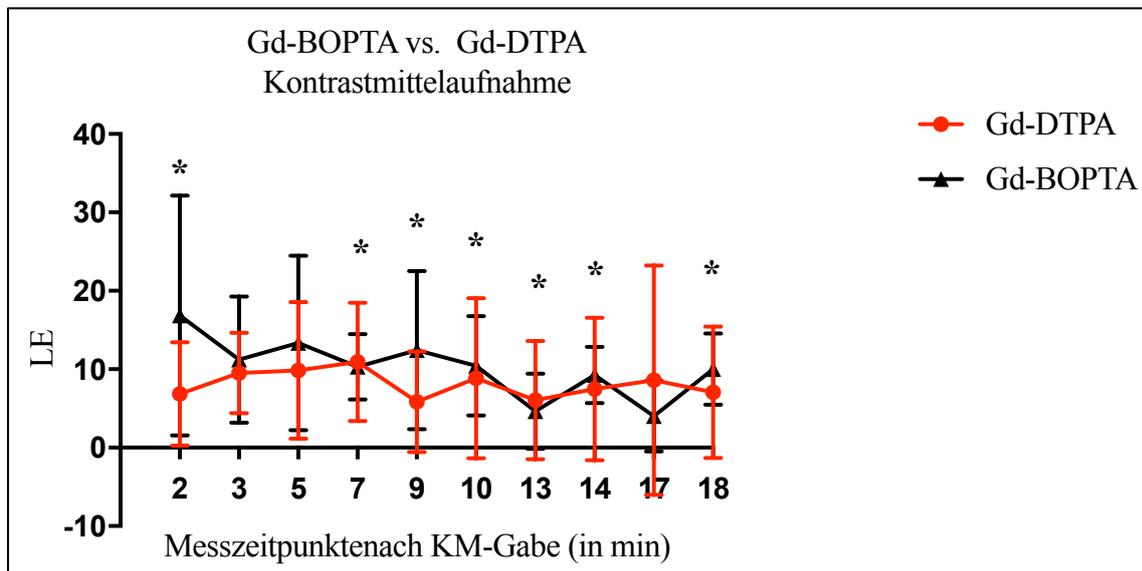


Abb. 8: Graphische Darstellung der LE der Gruppe Gd-BOPTA vs. Gd-DTPA. Beim Messzeitpunkt 5 fällt der negative LE-Wert unter Gd-BOPTA auf.

Messzeitpunkt	Gd-DTPA	Gd-BOPTA	P
2	6,837 (\pm 6,589)	16,836 (\pm 15,308)	0,0130*
3	9,510 (\pm 5,141)	11,235 (\pm 8,054)	0,0959
5	9,874 (\pm 8,708)	13,305 (\pm 11,110)	0,0771
7	10,942 (\pm 7,531)	10,301 (\pm 4,179)	0,0258 *
9	5,846 (\pm 6,404)	12,439 (\pm 10,067)	0,0056 *
10	8,839 (\pm 10,239)	10,446 (\pm 6,322)	0,0011 *
13	6,048 (\pm 7,569)	4,627 (\pm 4,821)	0,0289 *
14	7,474 (\pm 9,089)	9,274 (\pm 3,595)	0,0079 *
17	8,600 (\pm 14,645)	4,037 (\pm 4,514)	0,1240
18	7,062 (\pm 8,391)	10,000 (\pm 4,453)	0,0043 *

Tabelle 9: Messwerte der LE der Gruppe Gd-BOPTA vs. Gd-DTPA

7.4.2 Gruppe Gd-BT-DO3A versus P03277

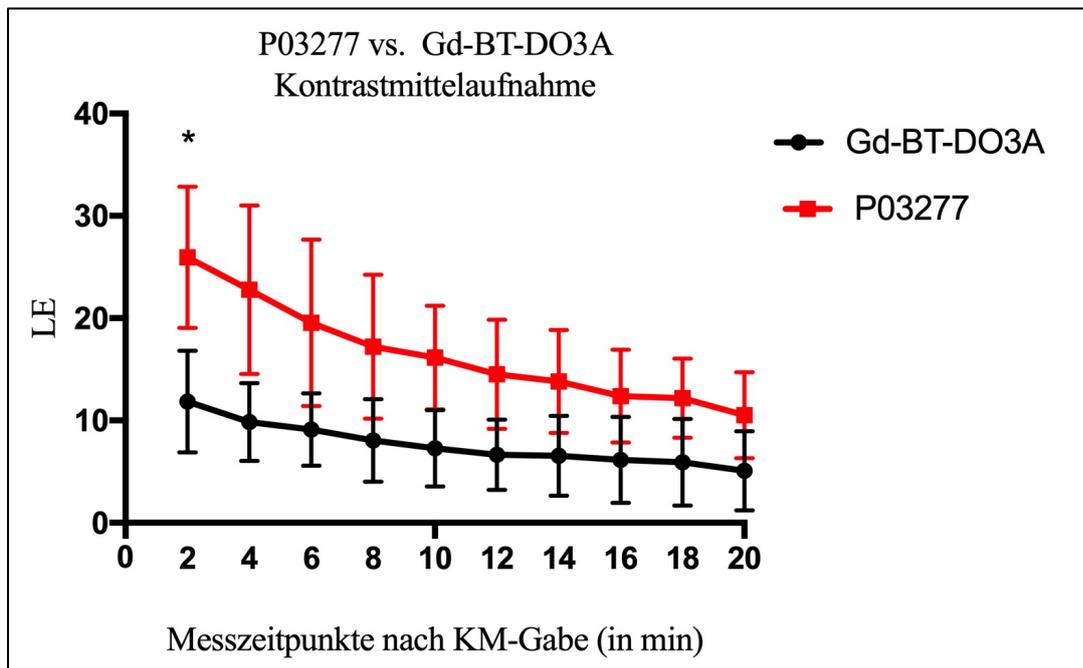


Abb. 9: Graphische Darstellung des LE der Gruppe Gd-BT-DO3A vs. P03277. Beide Kontrastmittel zeigen eine deutliche frühe Anreicherung gefolgt von einem kontinuierlichen Abfall der LE-Werte.

Messzeitpunkt	Gd-BT-DO3A	P03277	P
2	11,850 (\pm 4,955)	25,940 (\pm 6.909)	<0,001 *
4	9,854 (\pm 3,819)	22,780 (\pm 8,223)	0,002
6	9,118 (\pm 3,51)	19,550 (\pm 8,140)	0,007
8	8,039 (\pm 4,039)	17,220 (\pm 7,033)	0,01
10	7,271 (\pm 3,746)	16,160 (\pm 5,075)	0,004
12	6,653 (\pm 3,424)	14,500 (\pm 5,341)	0,01
14	6,542 (\pm 3,906)	13,820 (\pm 5,036)	0,004
16	6,157 (\pm 4,220)	12,390 (\pm 4,546)	0,01
18	5,932 (\pm 4,251)	12,170 (\pm 3,870)	0,02
20	5,079 (\pm 3,863)	10,510 (\pm 4,217)	0,01

Tabelle 10: Messwerte der LE der Gruppe Gd-BT-DO3A vs. P03277

7.5 Darstellung der gewonnenen Aufnahmen

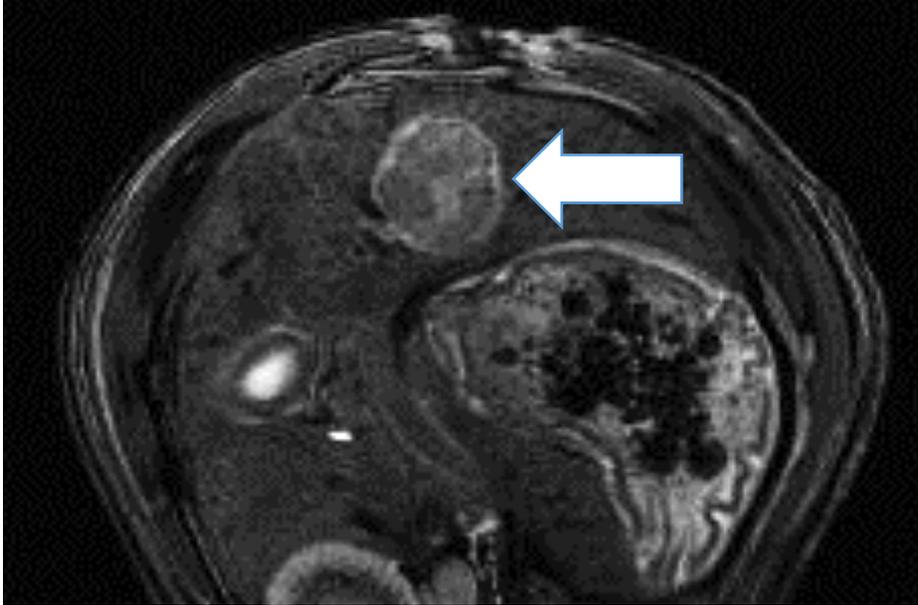


Abb. 10: Axiale-EG-FLASH-Aufnahme nach der Gabe von Gd-BOPTA grenzt sich das Tumorgewebe (langer Pfeil) deutlich vom Lebergewebe ab.

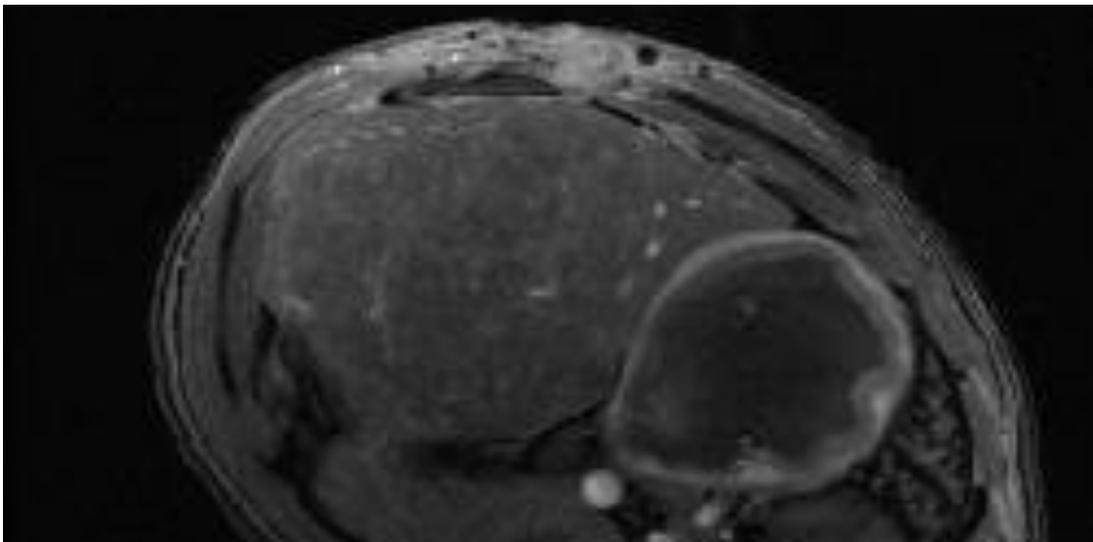


Abb. 11: Diese axiale EG-FLASH-Aufnahme (7, Messzeitpunkt) wurde nach der Gabe von Gd-DTPA aufgenommen. Man kann nicht deutlich genug zwischen Leber und Tumorgewebe unterscheiden.

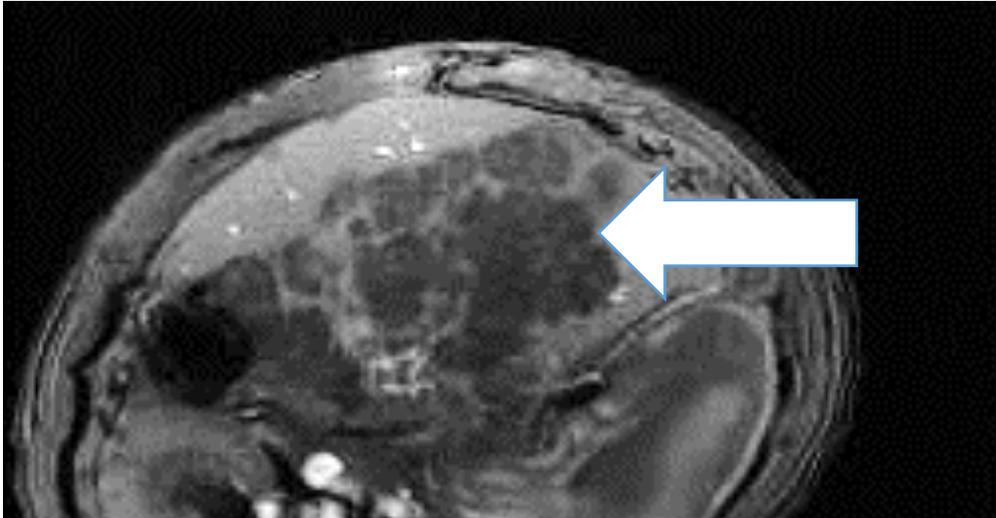


Abb. 12: Axiale T1-gewichtete Aufnahme nach Gabe von Gd-BOPTA. Das Tumorgebe (weißer Pfeil) stellt sich mit einem negativen Kontrast zum Lebergewebe dar.

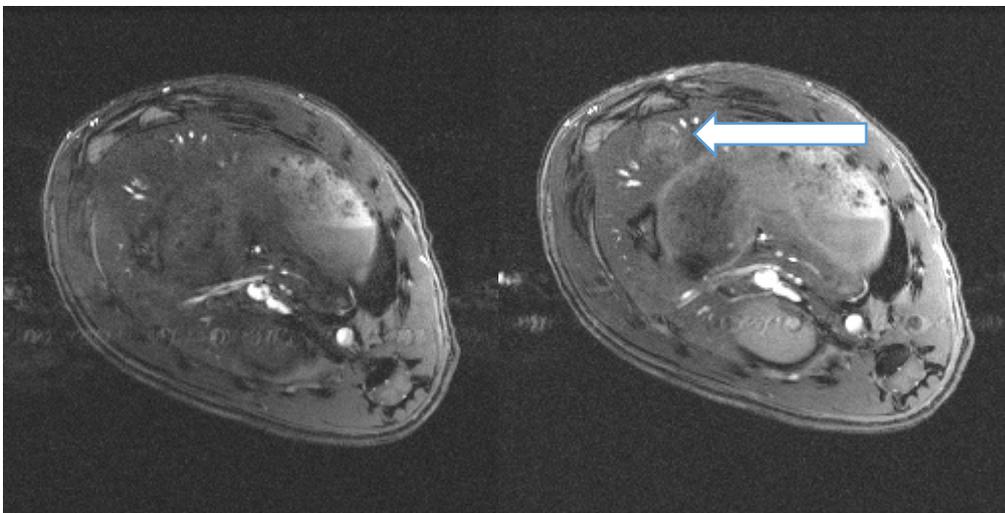


Abb. 13: Axiale T1-gewichtete Bilder von der Metastase in der Leber, links vor und rechts nach der Gabe von 0,1 mmol/kg/KG von Gd-DTPA. Auf der Nativaufnahme sieht man nur einen geringen Kontrastunterschied zwischen Leber und Tumorgewebe. Nach KM Gabe zeigt sich ein deutlicher Kontrastanstieg.

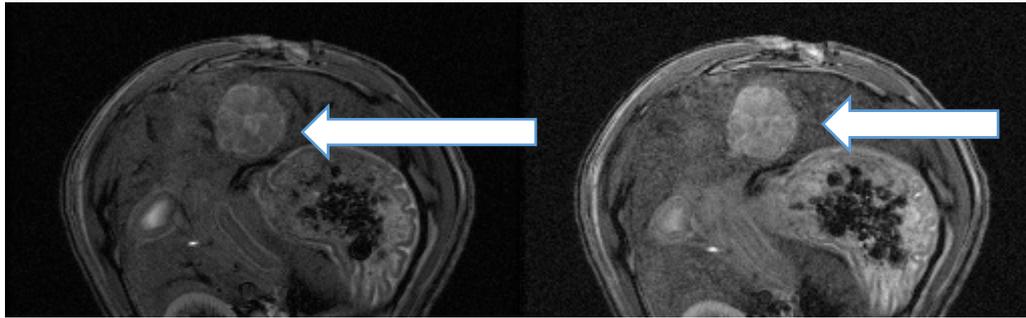


Abb. 14: Axiale-EG-FLASH-Aufnahme; früher Beginn der Kontrastierung (links im Bild) und 7 Minuten (rechts im Bild) nach Gabe von Gd-BOPTA. Man beachte die deutliche Zunahme des Kontrastunterschiedes zu Beginn mit niedriger Signalstärke, der nach der KM Gabe deutlich sichtbar ansteigt.

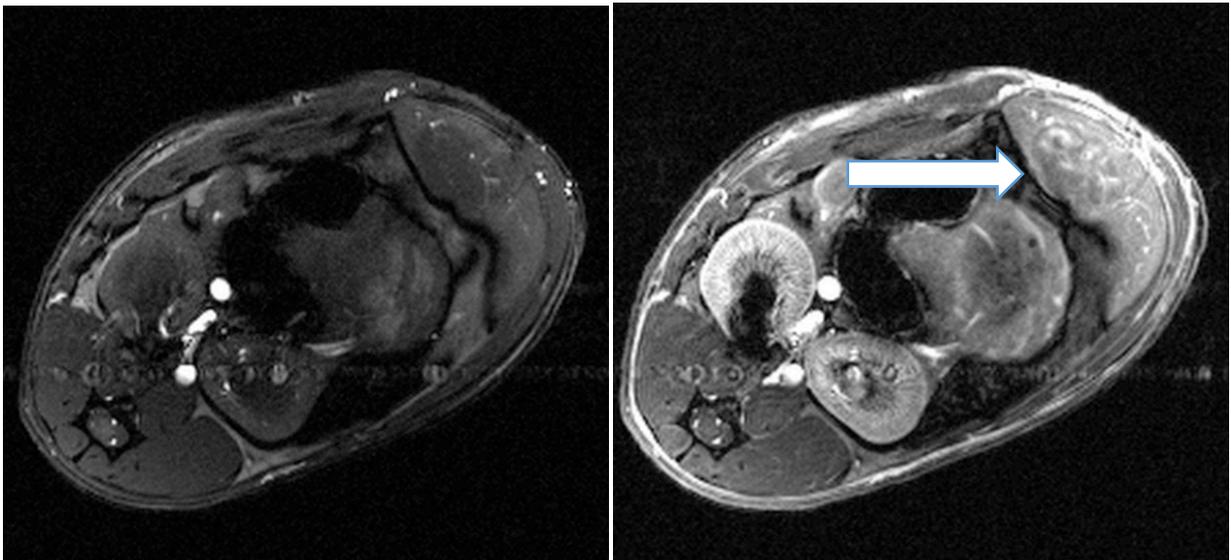


Abb. 15: Bei beiden Bildern handelt es sich um axiale T1-gewichtete Aufnahmen, links vor und rechts nach Gabe von 0,1 mmol/kg KG P03277, was zu einer deutlichen Signalsteigerung und besseren Detektierbarkeit der Leberläsion führt.

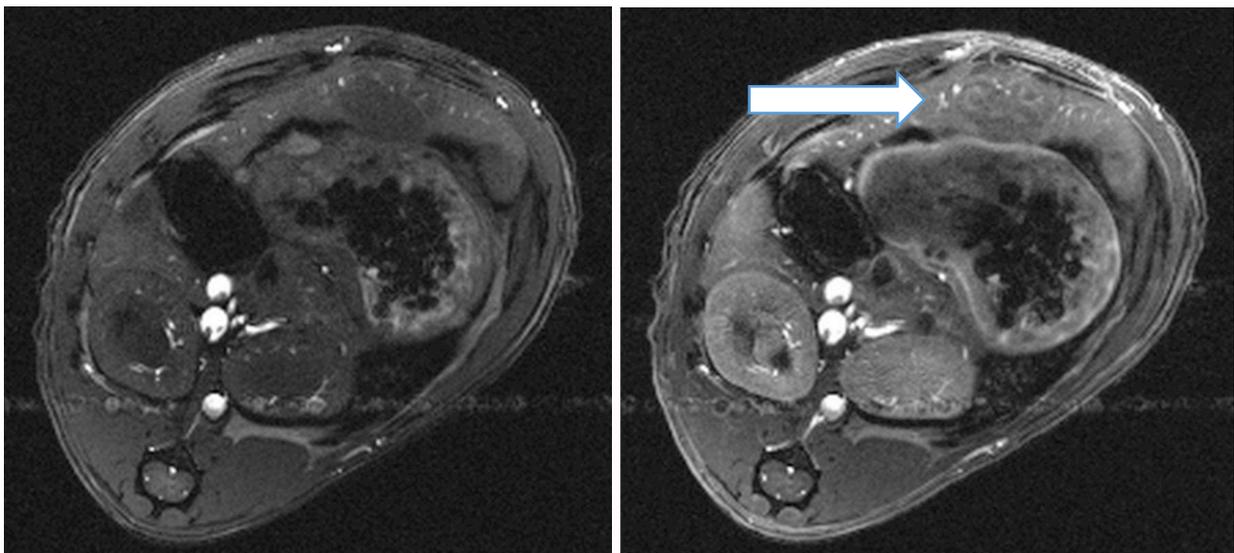


Abb. 16: Axiale T1-gewichtete Aufnahmen vor und nach Gabe von 0,1 mmol/kg KG Gd-BT-DO3A. Die Kontrastmittelanreicherung fällt hier deutlich geringer aus als unter der Verwendung von P03277 (Abbildung 15).

8. Diskussion

Die frühzeitige und exakte Detektion von sowohl primären malignen Leberläsionen als auch von Metastasen, z.B. des kolorektalen Karzinoms hat sich positiv auf das Überleben von betroffenen Patienten ausgewirkt [Lodge *et al.*, 2000]. Bei einer Vielzahl von malignen Erkrankungen ist die Leber das Organ primärer Metastasen. Fast 40% der Patienten mit kolorektalem Karzinom haben Lebermetastasen [Ferrucci *et al.*, 1994]. Dabei wird zwischen synchroner und metachroner Metastasierung unterschieden. Liegen bei der Erstdiagnose des Malignoms bereits Metastasen vor spricht man von synchroner Metastasierung. Diese ist bei 15-20% der Patienten zu finden. Eine metachrone Metastasierung beschreibt das Auftreten von Metastasen nach erfolgreicher primärer Therapie. Synchroner Metastasen bedeuten eine primär fortgeschrittenere Tumorerkrankung und damit schlechtere Prognose. Hierbei ist es wichtig, die exakte Anzahl, Größe und Lage zu kennen, um die Therapieoptionen bestmöglich abzuwägen. Idealerweise wird durch die Resektion eine vollständige Entfernung des Tumorgewebes von hepatischen Metastasen eines kolorektalen Karzinoms angestrebt. In Studien konnte gezeigt werden, dass es bei radikaler Operation eines metastasierten kolorektalen Karzinoms zu einer Überlebensverbesserung mit 5 Jahresüberlebensraten zwischen 25 und 50% und seltener zur Rezidiven kommt [Hohenberger, *et al.*, 2009].

Die MR-Bildgebung besitzt eine hohe Sensitivität bei der Darstellung von Läsionen, welche größer als 10 mm sind. Eingeschränkter gelingt dies bei kleineren Läsionen [Kuszyk *et al.*, 1996], [Valls *et al.*, 1998]. Ein Vorteil der MRT-Bildgebung gegenüber der Sonographie und Computertomographie ist der höhere Gewebekontrast, welcher eine bessere Detektion und Charakterisierung fokaler Leberläsionen ermöglicht. Darüber hinaus hat die Entwicklung von Kontrastmitteln das diagnostische Fenster in der Erkennung und Charakterisierung von Lebermetastasen verbessert [Zech *et al.*, 2009].

Die kontrastverstärkenden Eigenschaften von Kontrastmitteln sind von verschiedenen Faktoren abhängig. Einfluss nimmt hier die chemische Zusammensetzung des Kontrastmittels, sowie die Verteilung und Konzentration in dem zu untersuchenden Gewebe. Nicht zu vergessen sind die paramagnetischen Eigenschaften des Kontrastmittels, in wie weit es die T1-Relaxationszeit verkürzen kann und somit direkten Einfluss auf die Protonenrelaxivität hat. Die Interaktion zwischen dem Kontrastmittel und den Plasmaproteinen hat ebenso entscheidenden Ein-

Diskussion

fluss auf die Relaxivität. Aus verschiedenen Studien geht hervor, dass mit steigenden Feldstärken die Relaxivität der gadoliniumhaltigen Kontrastmittel abnimmt. Davon sind überwiegend Kontrastmittel betroffen, die Bindungen mit Plasmaproteinen eingehen. Obwohl durch die Interaktion mit Proteinen eine erhöhte Relaxivität erreicht wird, geht ein Großteil dieser Eigenschaft mit steigender Feldstärke verloren [Pintaske *et al.*, 2006]. Die Relaxivität spiegelt die Wechselwirkung des Chelates mit den umliegenden Protonen wieder. Chelate mit einer niedrigen Eigenbewegung haben aufgrund einer stärkeren Wechselwirkung mit den umliegenden Protonen eine höhere Relaxivität.

Es gibt wie o.a. eine Vielzahl von Kontrastmitteln in der Magnetresonanztomographie der Leber, um die Darstellung und Charakterisierung von Läsionen zu verbessern. In dieser Studie wurden Kontrastmittel aus der Gruppe der extrazellulären, auf Gadolinium basierenden, unspezifischen Kontrastmittel wie z.B. Gd-DTPA und Gd-BT-DO3A untersucht. Darüber hinaus wurde Gd-BOPTA, das die Eigenschaften eines extrazellulären und hepatozytenspezifischen Kontrastmittels vereint, hinsichtlich des Signal-zu-Rausch, Kontrast-zur-Rausch-Verhältnisses sowie der Kontrastmittelaufnahme im Tumor untersucht. Auch für das experimentelle Kontrastmittel P03277 wurden diese Werte ermittelt.

Die SNR Werte aus dem normalen Lebergewebe zeigten nahezu in allen Messungen signifikant bessere Ergebnisse für Gd-BOPTA im Vergleich mit Gd-DTPA. Die SNR im Tumor von Gd-BOPTA war signifikant besser als die der Vergleichssubstanz Gd-DTPA. Gd-BOPTA unterscheidet sich von anderen auf Gadolinium-basierenden Kontrastmittel darin, dass es zu schwachen Wechselwirkungen mit dem Plasmaalbumin kommt. Daten aus anderen Studien belegen, dass es durch die Interaktion zwischen Gd-BOPTA und dem Plasmaalbumin zu höherer r1- und r2-Relaxivität kommt. Eine Möglichkeit diese Wechselwirkungen zu verstärken besteht darin, die Molekülstruktur der Kontrastmittel zu verändern. Bei Gd-BOPTA modifizierte man eine lipophile Seitenkette, die zu einer reversiblen Bindung an Albumin führt. Gd-BT-DO3A, Gd-DTPA und P03277 fehlen diese Eigenschaft. Im Vergleich zwischen P03277 und Gd-BT-DO3A, wurde bessere Ergebnisse unter der Verwendung von P03277 gemessen.

Gd-BOPTA weist in der gebundenen Form eine höhere Relaxivität auf, welche zu einer deutlichen Signalverstärkung führt. Die erhöhte Relaxivität führt man auf die Größe des Moleküls zurück, da diese zu niedrigeren Rotationsraten und zu längeren Interaktionen der Moleküle mit umliegenden Protonen führt [Vander *et al.*, 2001]. Die Relaxivität wird durch die molekulare Eigenbewegung des Chelates beeinflusst. In diesem Zusammenhang scheint auch die Zugänglichkeit des Gd-Atoms für die Interaktion mit Protonen einflussreich auf die Relaxivität

Diskussion

zu sein. Die erhöhte SNR von Gd-BOPTA kann wie bereits oben erwähnt durch erhöhte Relaxivität erklärt werden. In diesem Zusammenhang ist es wichtig den Begriff „rotational correlation time“ zu erwähnen. Diese ist ein zeitabhängiges Maß für die Eigenbewegung des Moleküls. Die Eigenbewegung bzw. die Eigenrotation hat einen wesentlichen Einfluss auf die Relaxivität. Je länger die Rotationszeit, desto mehr Zeit bleibt dem Gd-Chelat mit den umliegenden Protonen in der Umgebung zu interagieren. Ergebnisse aus Vergleichsstudien mit Feldstärken von 4,7-7,0 T bestätigen die hier ermittelten höheren SNR Werte für Gd-BOPTA im Vergleich zu anderen Kontrastmitteln [Noebauer-Human *et al.*, 2010] [Mlynarik *et al.*, 2005].

Ein kleiner Teil des verabreichten Gd-BOPTA in Höhe von 3-5% wird über die Galle ausgeschieden. Dies bedeutet, dass Gd-BOPTA von funktionierenden Hepatozyten in gesundem Lebergewebe aufgenommen wird. Auch wenn wie o.a. nur ca. 5% des Kontrastmittels von den Hepatozyten aufgenommen wird, reicht diese Menge für eine deutlichere und verlängerte Kontrastierung von normalen Lebergewebe aus. Diese Eigenschaft fehlt der Mehrzahl der im klinischen Einsatz befindlichen Kontrastmitteln, unter anderem auch Gd-BT-DO3A und Gd-DTPA. Die Aufnahme von Gd-BOPTA durch das „organic anionic transporter protein“ (OATP8) mit anschließender biliärer Exkretion ermöglicht eine exakte Differenzierung zwischen Lebergewebe und hepatischen Metastasen, denen leberspezifische Membranproteine fehlen [Feuerlein *et al.*, 2012].

Die r_1 -Relaxivität wird nicht nur durch die Temperatur und das Gewebe, sondern vor allem auch durch die Magnetfeldstärke beeinflusst. Seitdem immer höhere Feldstärken zum Einsatz kommen, ist die Bestimmung der r_1 -Relaxivität wichtig, um z.B. die verabreichte KM-Dosis zu optimieren. Mit zunehmender Feldstärke oberhalb von 1,5 T sinkt die r_1 -Relaxivität der erprobten gadoliniumhaltigen Kontrastmittel. Die Relaxationsrate ist außerdem nicht linear von der Kontrastmitteldosis abhängig [Noebauer-Humann *et al.*, 2010]. Im Vergleich zwischen P03277 und Gd-BT-DO3A wurden signifikant höhere SNR_{Leber} für P03277 gemessen. Auch wenn Gd-BT-DO3A und P03277 eine vergleichbare rasche Anflutung und kontinuierliche Abnahme der Signalintensität zeigen, werden mit P03277 höhere Werte gemessen. Dieses ähnliche dynamische Verhalten sowie Abfall der SNR kann mit einer frühen Extravasation, früher Rückaufnahme in das Gefäßsystem und schneller renaler Elimination erklärt werden.

Durch die zuvor erwähnte aktive Gd-BOPTA-Aufnahme der Hepatozyten steigt das Kontrast-zu-Rausch-Verhältnis der Leber. Mit Ausnahme der in Minute 2 und 3 ermittelten Kontrast-zu-Rausch-Verhältnisse zeigt sich durchgehend ein negativer Kontrast zwischen Tumor und Leber für Gd-BOPTA. Statistisch signifikante Werte wurden für Gd-BOTPA im Vergleich zu Gd-DTPA in Minute 7+14 ermittelt, zu den übrigen Messzeitpunkten wurden für Gd-BOPTA

Diskussion

höhere Werte ohne statistische Signifikanz gemessen. Durch erhöhte SNR und CNR verbessern sich die Detektionsraten von Läsionen. Durch die zuvor erwähnte aktive Gd-BOPTA-Aufnahme der Hepatozyten steigt das Kontrast-zu-Rausch-Verhältnis der Leber. Mit Ausnahme der in Minute 2 und 3 ermittelten Kontrast-zu-Rausch-Verhältnisse zeigt sich durchgehend ein negativer Kontrast zwischen Tumor und Leber für Gd-BOPTA. Statistisch signifikante Werte wurden für Gd-BOTPA im Vergleich Gd-DTPA ermittelt. Die zwischen Tumor und Lebergewebe gewonnenen CNR-Werte waren für P03277 durchgehend statistisch signifikant höher als für Gd-BT-DO3A. Eine Möglichkeit die erhöhte CNR zu erklären wären Unterschiede im Molekulargewicht. Gd-DTPA hat ein Molekulargewicht von 0,938 kDa und unterscheidet sich nur wenig von denen von Gd-BT-DO3A (0,605 kDa) und Gd-BOPTA (1,058 kDa). Diese sind schwerer oder leichter als P03277, mit einem angegebenen Gewicht von 0,970 kDa, jedoch nicht relativ unterschiedlich. Daher wäre kein Unterschied bzgl. der Extravasation des Kontrastmittels in das Interstitium zu erwarten. Beobachtet wurde aber für P03277 ein höheres und zeitlich früheres Maximum der Signalanreicherung als bei den Vergleichssubstanzen. Bei P03277 handelt es sich um ein neues Kontrastmittel in dem die Interaktion des Gd-Zentrums mit umliegenden Wasserstoffprotonen erleichtert ist [Wong *et al.*, 2010]. P03277 besitzt die Besonderheit, dass gleichzeitig zwei Wasserstoffprotonen sich am Gd-Atom relaxieren können. Hierdurch wird für dieses experimentelle Kontrastmittel eine deutlich höhere Relaxivität erzielt. [Fries *et al.*, 2015].

Das Signal-zu-Rausch Verhältnis Lebergewebe unter der Verwendung von Gd-BOPTA zeigt einen, bis in die späten Messungen hinein, plateauähnlichen Kurvenverlauf. Für Gd-DTPA zeigt sich hingegen ein rascherer Signalabfall. Dies kann an der langen Verweildauer von Gd-BOPTA in den Hepatozyten, bzw. Gallengängen und dem langsameren Auswaschen im Vergleich zu Gd-DTPA liegen.

Unter der Verwendung von Gd-BOPTA konnten im Vergleich zu Gd-DTPA die höchsten Läsionsanreicherungen im Tumorgewebe ermittelt werden. Durch das tumoröse Gefäßbett, vaskuläre Proliferationsfaktoren als auch lokale Entzündungsreaktionen kommt es zu einer Akkumulation der Kontrastmittel. Gd-BOPTA geht zusätzlich transiente Proteinbindungen ein. Dies führt zu einem langsameren Übertritt in oder aus dem extrazellulären Raum. Daraus ergibt sich eine längere Verweildauer im Plasma und die Möglichkeit hepatobiliär ausgeschieden zu werden. Gd-DTPA, P03277 und Gd-BT-DO3A werden nicht aktiv durch Hepatozyten aufgenommen. Sie reichern sich im Interstitium an und werden anschließend wieder vaskulär aufgenommen und renal eliminiert. Das experimentelle P03277 geht keine Bindungen mit Plasmaproteinen oder Albumin ein [Fries, *et al.*, 2019]. Gd-DTPA und Gd-BT-DO3A gehen

Diskussion

wie viele andere klinisch etablierte Kontrastmittel ebenfalls keine Proteinbindungen ein. Damit kann die niedrigere und kürzere Läsionsanreicherung im Tumorgewebe erklärt werden.

Wie bereits auch in anderen Studien beobachtet wurde, wird die Anreicherung von Kontrastmitteln in Tumorgewebe durch verschiedene Faktoren beeinflusst. In Tumorgewebe kommt es zu einer vermehrten Ausschüttung des vaskulären endothelialen Wachstumsfaktors, der kurz auch VEGF genannt wird. Unterschiede im lokalen Blutfluss, vermehrte Vaskularisation durch Neoangiogenese, ein veränderter Haematokrit haben Einfluss auf die Kontrastmittelverteilung [Padhani *et al.*, 2002]. Dieser Wachstumsfaktor ist für die Hypervaskularisierung mitverantwortlich [Knopp *et al.*, 1999]. Im Gefäßendothel werden vermehrt transendotheliale Verbindungen zwischen Gefäßsystem und Extrazellulärraum eingebaut. Diese erhöhen die Gefäßpermeabilität für Plasmaproteine und auch niedermolekulare Kontrastmittel [Dvorak *et al.*, 1996]. Tumorwachstum konsumiert hohe Dosen an Energie, diese kann auf Grund von schlechter Sauerstoffversorgung häufig nur anaerob ablaufen, so dass es zu Akkumulation von Laktationen und somit zu einem saurem PH-Milieu im Bereich des Tumors kommt. Veränderungen im PH-Wert werden durch Transportmechanismen durch die Membran reguliert, der wiederum durch Kinasen gesteuert wird. Dieser molekularbiologische Bereich ist mittlerweile ein Ansatzpunkt für Tumorthapien und Biologicals [Hulikova *et al.*, 2013].

Vergleicht man die Ergebnisse anderer Ultrahochfeld-MRT Studien, so zeigen sich deutliche Änderungen der Kontrastmitteleigenschaften, die besonders die Relaxivität betreffen. Bei zunehmender Feldstärke kommt es zu einer Abnahme von R1 und somit zum Abfall des Kontrasteffektes. Die einfachste Möglichkeit diesen Verlust abzumildern läge in der Gabe einer höheren Kontrastmitteldosis. Durch eine höhere Dosis kann dieser negative Effekt teilweise kompensiert werden. Dazu muss erwähnt werden, dass es keine lineare Beziehung zwischen Dosis und Kontrastverstärkung gibt; vielmehr zeigt sich ein Sättigungseffekt. Mit zunehmender Kontrastmitteldosis überwiegen die T2-Effekte und führen zu einem Verlust des T1-Signals [Thomsen *et al.*, 2013]. Wir verwendeten die Kontrastmittel Gd-BOPTA und Gd-DTPA, P03277 und Gd-BT-DO3A in klinisch erprobter Dosierung und konnten damit sichtbare Kontrasteffekte und Tumorkontrastierung erreichen. Neuere Studien vermuten, dass es einen Zusammenhang zwischen der applizierten Kontrastmitteldosis und dem Auftreten der nephrogenen systemischen Fibrose (NSF) gibt [Errante *et al.*, 2015]. Somit wäre es vorteilhaft, die Kontrastmitteldosis gering zu halten.

Bis vor wenigen Jahren ging man davon aus, dass die Verwendung von Gadolinium-haltigen Kontrastmitteln, aufgrund der hochstabilen Chelatstruktur, mit wenigen Nebenwirkungen be-

Diskussion

haftet ist. Diese Einschätzung musste kurzzeitig aufgrund einiger neu beschriebener Phänomene im Zusammenhang mit der Kontrastmittelanwendung bei Patienten mit vorliegender Niereninsuffizienz überprüft werden. Insbesondere bei Patienten mit bekannter Niereninsuffizienz wird dieses Phänomen unter Einbehaltung der maximalen Dosen nicht mehr beobachtet. Die nephrogene systemische Fibrose wird mit der Ablagerung von Gadolinium im Gewebe in Zusammenhang gebracht. Bei dieser Erkrankung kommt es aufgrund von unkontrollierter Reaktion von Fibroblasten und Kollagenablagerung zu einer Fibrosierung der Haut aber auch zur Mitbeteiligung der Lunge, des Herzens und des Muskelgewebes. Der genaue pathophysiologische Mechanismus für die Erkrankung ist noch nicht vollständig geklärt. Es wird vermutet, dass die primäre Ätiologie in der Dissoziation der Gadoliniummoleküle aus den Chelatkomplexen liegt. Dies kann mit einer längeren Verweildauer im Körper zusammenhängen, da überwiegend Patienten mit eingeschränkter Nierenfunktion unter der NSF leiden [Grobner *et al.*, 2005]. In größeren Studien wurde eine Inzidenz von 2,6%- 3,0% Prozent unter der Verwendung von Gadodiamid beobachtet [Martin, *et al.*, 2010]. Ursächlich für diese Schwankungen können verschiedene Stadien der Niereninsuffizienz sein, die Kontrastmitteldosis, sowie der Nachbeobachtungszeitraum [Nandwana, *et al.*, 2015]. Insofern ist eine Dosisbegrenzung natürlich erstrebenswert.

„Aus aktuellen Studien geht hervor, dass es zu einer vermehrten Ablagerung von linearen gadoliniumhaltigen Kontrastmitteln im Globus pallidum, Nucleus dentatus und Thalamus kommt [McDonald, *et al.*, 2013].“ „Die Europäische Arzneimittelagentur und das Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte haben daher den Zulassungsstatus für die Kontrastmittel deutlich eingeschränkt [Rote-Hand-Brief, 2018].“ Aber auch bei Patienten mit normaler Nierenfunktion kommt es zu einer Einlagerung von Gadoliniumchelaten in das Knochenmark oder Gehirn. Durch Massenspektroskopie konnte nun auch bei Patienten mit normaler Nierenfunktion Gadopentetat-Dimeglumin (Magnevist®), Gadodiamid (Omniscan®) und Gadoteridol (ProHance®) im Gehirn nachgewiesen werden. Die Ablagerungen scheinen dosisabhängig zu sein. Einen Krankheitswert konnte man diesen Ablagerungen bisher nicht zuordnen. Hepatobiliäre Kontrastmittel sind aufgrund ihrer renalen und biliären Elimination und somit verkürzten Verweildauer im Organismus besonders auch für Patienten mit Niereninsuffizienz vorteilhaft [Altum *et al.*, 2009]. Neue Forschungsergebnisse zeigen, dass die wiederholte Gabe von linearen Kontrastmitteln zu einer erhöhten Signalintensität auf T1-gewichteten Bildern führt. Bei der Untersuchung von Kontrastmitteln mit geringer Dissoziationskonstante konnten solche Effekte bisher noch nicht nachgewiesen werden. Warum es zu

Diskussion

bevorzugter Ablagerung in den Nucleus dentatus und Globus pallidum kommt ist nicht hinreichend erforscht [Kanada *et al.*, 2015]. Aufgrund der bekannten Toxizität von Gadolinium bedarf es weiterer intensiver Forschung.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass Gd-BOPTA hinsichtlich der SNR in Lebergewebe und Tumorgewebe im Vergleich zu Gd-DTPA signifikant bessere Werte erreicht. Dies könnte am ehesten daran liegen, dass Gd-BOPTA sowohl schwach und reversibel an Albumin im Serum als auch nach der Aufnahme in die Hepatozyten an lokale Proteine bindet, was zu einer verlängerten Relaxivität führt [de Haen *et al.*, 1999].

Besonders vorteilhaft ist die lange Verweildauer von Gd-BOTPA im Gewebe, welche sich in einer langanhaltenden Plateauphase von den anderen verwendeten Kontrastmitteln unterscheidet. Diese Anreicherung eignet sich besonders gut für die Differenzierung zwischen Tumor und Lebergewebe.

P03277 erreicht im Vergleich zu Gd-BT-DO3A signifikant bessere SNR im Leber- und Tumorgewebe, bedingt durch die auch bei 9,4 T bestehende deutlich erhöhte Relaxivität. Hier eröffnet sich ein weites Feld für zukünftige Forschungsprojekte. In zahlreichen anderen Studien wurde bereits, das diagnostische Potential der Ultrahochfeld-MRT beschrieben [Hagberg *et al.*, 2013]. Höhere Feldstärken führen zu einem höheren Signal-zu-Rausch-Verhältnis, welches für eine höhere örtliche oder zeitliche Auflösung verwendet werden kann und daraus ergibt sich auch die potentielle Möglichkeit Veränderungen im Gewebe früher zu entdecken. Die frühe Detektion von malignen Erkrankungen hat einen entscheidenden Einfluss auf die Überlebensrate der Patienten.

Beim Vorliegen von Lebermetastasen eines kolorektalen Karzinoms liegt die 5-Jahres-Überlebenswahrscheinlichkeit zwischen 25-50%. Die höheren SNR und CNR Werte von Gd-BOPTA im Hochfeld-MRT könnten für eine bessere Detektion von Metastasen verwendet werden. In unserer experimentellen Studie konnte gezeigt werden, dass sich insbesondere Gd-BOPTA und P03277 vielversprechend in der Ultrahochfeld-MRT-Bildgebung einsetzen lassen. Hier liegen etliche vielversprechende Ansätze weiterer experimenteller und klinischer Forschungsarbeiten, die zu einer Verbesserung des diagnostischen Potentials der Magnetresonanztomographie beitragen können [Fries, *et al.*, 2019].

9. Literaturverzeichnis

Altum E, Martin DR, Wertman R, Lugo-Somolinos A, Fuller ER 3rd, Semelka RC. Nephrogenic systemic fibrosis: change in incidence following a switch in gadolinium agents and adoption of a gadolinium policy--report from two U.S. universities. *Radiology*. 2009 Dec;253(3):689-96.

Bitar R, Leung G, Perng R, Tadros S, Moody AR, Sarrazin J, McGregor C, Christakis M, Symons S, Nelson A, Roberts TP. MR pulse sequences: what every radiologist wants to know but is afraid to ask. *Radiographics*. 2006Mar-Apr;26(2):513-37. Review

Bottomley PA, Hardy CJ, Argersinger RE, Allen-Moore G. A review of ¹H nuclear magnetic resonance relaxation in pathology: are T1 and T2 diagnostic? *Med Phys*. 1987 Jan-Feb;14(1):1-37. Review

Brasch RC, Weinmann HJ, Wesbey GE. Contrast-enhanced NMR imaging: animal studies using gadolinium-DTPA complex. *AJR Am J Roentgenol*. 1984 Mar;142(3):625-30

Sherry AD, Caravan P, Lenkinski RE. Primer on gadolinium chemistry. *J Magn Reson Imaging*. 2009 Dec;30(6):1240-8. doi: 10.1002/jmri.21966. Review.

De Haën C, La Ferla R, Maggioni F. Gadobenate dimeglumine 0.5M solution for injection (MultiHance) as contrast agent for magnetic resonance imaging of the liver: mechanistic studies in animals. *J Comput Assist Tomogr*. 1999 Nov;23 Suppl 1:S169-79

Dvorak AM, Kohn S, Morgan ES, Fox P, Nagy JA, Dvorak HF. The vesiculo-vacuolar organelle (VVO): a distinct endothelial cell structure that provides a transcellular pathway for macromolecular extravasation. *J Leukoc Biol*. 1996 Jan;59(1):100-15

Edelstein WA, Glover GH, Hardy CJ, Redington RW. The intrinsic signal-to-noise ratio in NMR imaging. *Magn Reson Med*. 1986 Aug;3(4):604-18

Literaturverzeichnis

Fachinformation Gadobensäure, MultiHance® 0.5M Injektionslösung. Stand der Informationen Dezember 2017. Bracco Imaging Deutschland GmbH, Konstanz, Zulassungsnummer, 42393.00.00

Fachinformation Gadopentetat-Dimeglumin, Magnevist®, 2 mmol/l Injektionslösung. Stand der Informationen November 2017. Bayer Vital GmbH 51368 Leverkusen. Zulassungsnummer, 54206.00.00.

Fachinformation Gadobutrol, Gadovist® 1,0 mmol/ml Injektionslösung. Stand der Informationen November 2017. Bayer Vital GmbH 51368 Leverkusen. Zulassungsnummer 40252.00.00

Feuerlein S, Gupta RT, Boll DT, Merkle EM. Hepatocellular MR contrast agents: enhancement characteristics of liver parenchyma and portal vein after administration of gadoxetic acid in comparison to gadobenate dimeglumine. *Eur J Radiol.* 2012 Sep;81(9):2037-41. doi: 10.1016/j.ejrad.2011.06.014. Epub 2011 Jun 29.

Errante Y, Cirimele V, Mallio CA, Di Lazzaro V, Zobel BB, Quattrocchi CC. Progressive increase of T1 signal intensity of the dentate nucleus on unenhanced magnetic resonance images is associated with cumulative doses of intravenously administered gadodiamide in patients with normal renal function, suggesting dechelation. *Invest Radiol.* 2014 Oct;49(10):685-90. doi: 10.1097/RLI.0000000000000072.

Ferrucci JT. Liver tumor imaging. Current concepts. *Radiol Clin North Am.* 1994 Jan;32(1):39-54

Firbank MJ, Coulthard A, Harrison RM, Williams ED. A comparison of two methods for measuring the signal to noise ratio on MR images. *Phys Med Biol* (1999) 44:N261-N264

Floriani I, Torri V, Rulli E, Garavaglia D, Compagnoni A, Salvolini L, Giovagnoni A. Performance of imaging modalities in diagnosis of liver metastases from colorectal cancer: a systematic review and meta-analysis. *J Magn Reson Imaging.* 2010 Jan;31(1):19-31

Fries P, Runge V M, 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

Literaturverzeichnis

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

Fries P, Runge VM, Kirchin MA, Watkins DM, Buecker A, Schneider G. Magnetic resonance imaging of the spine at 3 Tesla. *Semin Musculoskelet Radiol*. 2008 Sep;12(3):238-52. doi: 10.1055/s-0028-1083107. Epub 2008 Oct 10. Review.

Fries P, Müller A, Seidel R, Robert P, Denda G, Menger MD, Schneider G, Buecker A. P03277 – A new approach to achieve high-contrast enhancement. Initial results of an experimental extracellular Gadolinium-based magnetic resonance contrast agent. *Invest Radiol*. 2015;50:835-42.

Fries P, Seidel R, Müller A, Matthes K, Denda G, Massmann A, Menger MD, Sperling J, Morelli JN, Altmeyer K, Schneider G, Buecker A. Comparison of self-gated and prospectively triggered fast low angle shot (FLASH) sequences for contrast-enhanced magnetic resonance imaging of the liver at 9.4 T in a rat model of colorectal cancer metastases. *Invest Radiol* 2013;48:738-44.

Fries P, Massmann A, Seidel R, Müller A, Stroeder J, Custodis F, Reil J, Schneider G, Buecker 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(4):259-66

Fries P, Massmann A, Robert P, Corot C, Laschke MW, Schneider G, Buecker A, Müller A. Evaluation of Gadopiclenol and P846, 2 High-Relaxivity Macrocyclic Magnetic Resonance Contrast Agents Without Protein Binding, in a Rodent Model of Hepatic Metastases: Potential Solutions for Improved Enhancement at Ultrahigh Field Strength. *Invest Radiol*. 2019 Apr 25.

Gaa J, Wieder H, Schwaiger M, Rummeny EJ. Moderne Bildgebung bei Lebermetastasen kolorektaler Tumoren. *Chirurg* 2005; 76(6):525-6, 528-34

Nandwana SB, Moreno CC, Osipow MT, Sekhar A, Cox KL. Gadobenate Dimeglumine Administration and Nephrogenic Systemic Fibrosis: Is There a Real Risk in Patients with Impaired Renal Function? *Radiology*. 2015 Sep;276(3):741-7. doi:10.1148/radiol.2015142423. Epub 2015 Apr 15.

Literaturverzeichnis

Gadolinium-haltige Kontrastmittel: Aktualisierte Empfehlungen nach Bewertung von Gadoliniumablagerungen im Gehirn und anderen Geweben, Rote-Hand-Brief, 08.01.2018

Grobner T. Gadolinium--a specific trigger for the development of nephrogenic fibrosing dermopathy and nephrogenic systemic fibrosis? *Nephrol Dial Transplant*. 2006 Apr;21(4):1104-8. Epub 2006 Jan 23. Erratum in: *Nephrol Dial Transplant*. 2006 Jun;21(6):1745

de Haën C, Cabrini M, Akhnana L, Ratti D, Calabi L, Gozzini L. Gadobenate dimeglumine 0.5 M solution for injection (MultiHance) pharmaceutical formulation and physicochemical properties of a new magnetic resonance imaging contrast medium. *J Comput Assist Tomogr*. 1999 Nov;23 Suppl 1:S161-8. Review

Hagberg GE, Scheffler K. Effect of r_1 and r_2 relaxivity of gadolinium-based contrast agents on the T_1 -weighted MR signal at increasing magnetic field strengths. *Contrast Media Mol Imaging*. 2013 Nov-Dec;8(6):456-65. doi: 10.1002/cmml.1565

Hamm B, Thoeni RF, Gould RG, Bernardino ME, Lüning M, Saini S, Mahfouz AE, Taupitz M, Wolf KJ. Focal liver lesions: characterization with nonenhanced and dynamic contrast material-enhanced MR imaging. *Radiology*. 1994 Feb;190(2):417-23

Hammerstingl R, Adam G, Ayuso JR, et al. Comparison of 1.0M gadobutrol and 0.5 M gadopentetate dimeglumine-enhanced magnetic resonance imaging in five hundred seventy-two patients with known or suspected liver lesions: results of a multicenter, double-blind, interindividual, randomized clinical phase-III trial. *Invest Radiol*. 2009;44:168–176.

Hohenberger W, Weber K, Matzel K, Papadopoulos T, Merkel S. Standardized surgery for colonic cancer: complete mesocolic excision and central ligation--technical notes and outcome. *Colorectal Dis*. 2009 May;11(4):354-64; discussion 364-5

Hoult DI, Phil D. Sensitivity and power deposition in a high-field imaging experiment. *J Magn Reson Imaging*. 2000 Jul;12(1):46-67. Review

Hulikova A, Harris AL, Vaughan-Jones RD, Swietach P. Regulation of intracellular pH in cancer cell lines under normoxia and hypoxia. *J Cell Physiol*. 2013 Apr;228(4):743-52. doi: 10.1002/jcp.24221

Kanda T, Fukusato T, Matsuda M, *et al.* Gadolinium-based Contrast Agent Accumulates in the Brain Even in Subjects without Severe Renal Dysfunction: Evaluation of Autopsy Brain Specimens with Inductively Coupled Plasma Mass spectroscopy. *Radiology* 2015;276:228–32 doi:10.1148/radiol.2015142690pmid:25942417

Kirchin, M., G. Pirovano, et al. (1998). "Gadobenate dimeglumine (Gd- BOPTA). An overview." *Invest Radiol* 33(11): 798-809

Knopp MV, Weiss E, Sinn HP, Mattern J, Junkermann H, Radeleff J, Magener A, Brix G, Delorme S, Zuna I, van Kaick G. Pathophysiologic basis of contrast enhancement in breast tumors. *J Magn Reson Imaging*. 1999 Sep;10(3):260-6

Krebs in Deutschland für 2013/2014. 11. Ausgabe. Robert Koch-Institut (Hrsg) und die Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e.V. (Hrsg). Berlin, 2017

Kuszyk BS, Bluemke DA, Urban BA, Choti MA, Hruban RH, Sitzmann JV, Fishman EK. Portal-phase contrast-enhanced helical CT for the detection of malignant hepatic tumors: sensitivity based on comparison with intraoperative and pathologic findings. *AJR Am J Roentgenol*. 1996 Jan;166(1):91-5

Larson RE, Semelka RC, Bagley AS, Molina PL, Brown ED, Lee JK. Hypervascular malignant liver lesions: comparison of various MR imaging pulse sequences and dynamic CT. *Radiology*. 1994 Aug;192(2):393-9

Layer G, Bohrer M. Radiologische Diagnostik von Lebertumoren. Teil 1: Allgemeine Krankheitsaspekte und radiologische Verfahren. *Radiologe* (2007) 47:819-832

Leitlinienprogramm Onkologie (Deutsche Krebsgesellschaft, Deutsche Krebshilfe, AWMF): S3-Leitlinie Kolorektales Karzinom, Langversion 2.0, 2017, AWMF Registrierungsnummer:021/007OL,<http://www.leitlinienprogramm-onkologie.de/leitlinien/kolorektales-karzinom/> [abgerufen am: 23.03.2018] © Leitlinienprogramm Onkologie | S3-Leitlinie Kolorektales Karzinom | Version 2.0 | November 2017

Literaturverzeichnis

Lerski RA, de Certaines JD. Performance assessment and quality control in MRI by Eurospin test objects and protocols. *Magn Reson Imaging* 1993; 11(6): 817-833. DOI:10.1016/0730-725X(93)90199-N

Lodge JP. Modern surgery for liver metastases. *Cancer Imaging*. 2000 Oct 11;1:77-85. doi: 10.1102/1470-7330/00/010077+09

Martin DR, Krishnamoorthy SK, Kalb B, et al. Decreased incidence of NSF in patients on dialysis after changing gadolinium contrast-enhanced MRI protocols. *J Magn Reson Imaging*. 2010;31(2):440–446. doi:10.1002/jmri.22024

Mlynarik V, Pinker K, Trattnig S. Relaxivities of protein-interacting and non-protein-interacting contrast agents at 1.5 and 3 Tesla. *Proc Int Soc Magn Reson Med*. 2005:2214

Noebauer-Huhmann IM, Szomolanyi P, Juras V, Kraff O, Ladd ME, Trattnig S. Gadolinium-based magnetic resonance contrast agents at 7 Tesla: in vitro T1 relaxivities in human blood plasma. *Invest Radiol*. 2010 Sep;45(9):554-8. doi: 10.1097/RLI.0b013e3181ebd4e3.

Padhani AR. Dynamic contrast-enhanced MRI in clinical oncology: current status and future directions. *J Magn Reson Imaging*. 2002 Oct;16(4):407-22. Review

Pintaske J, Martirosian P, Graf H, Erb G, Lodemann KP, Claussen CD, Schick F. Relaxivity of Gadopentetate Dimeglumine (Magnevist), Gadobutrol (Gadovist), and Gadobenate Dimeglumine (MultiHance) in human blood plasma at 0.2, 1.5, and 3 Tesla. *Invest Radiol*. 2006 Mar;41(3):213-21. Erratum in: *Invest Radiol*. 2006 Dec;41(12):859

Robic C, Port M, Rousseaux O, Louguet S, Fretellier N, Catoen S, Factor C, Le Greneur S, Medina C, Bourrinet P, Raynal I, Idée JM, Corot C. Physicochemical and Pharmacokinetic Profiles of Gadopiclenol: A New Macrocyclic Gadolinium Chelate With High T1 Relaxivity. *Invest Radiol*. 2019 Aug;54(8):475-484.

Runge VM, Lee C, Williams NM. Detectability of small liver metastases with gadolinium BOPTA. *Invest Radiol*. 1997 Sep;32(9):557-65

Literaturverzeichnis

S. S. Shapiro, M. B. Wilk, An Analysis of Variance Test for Normality (Complete Samples), *Biometrika*, Vol. 52, No. 3/4 (Dec., 1965), pp. 591-611, available at sdittami.altervista.org/ShapiroTest.html.

Schima W, Kulinna C, Langenberger H, Ba-Ssalamah A. Liver metastases of colorectal cancer: US, CT or MR? *Cancer Imaging*. 2005 Nov 23;5 Spec No A:S149-56. Review

Semelka RC, Braga L, Armao D, et al. Liver. In: Semelka RC, ed. *Abdominal-pelvic MRI*, 1st ed. New York: Wiley-Liss, 2002 : 101–134

ica GT, Ji H, Ros PR. Computed tomography and magnetic resonance imaging of hepatic metastases. *Clin Liver Dis*. 2002 Feb;6(1):165-79, vii. Review

Valls C, Lopez E, Gumà A, Gil M, Sanchez A, Andía E, Serra J, Moreno V, Figueras J. Helical CT versus CT arterial portography in the detection of hepatic metastasis of colorectal carcinoma. *AJR Am J Roentgenol*. 1998 May;170(5):1341-7

Vander Elst L, Laurent S, Bintoma HM, Muller RN. Albumin-bound MRI contrast agents: the dilemma of the rotational correlation time. *MAGMA*. 2001 May;12(2-3):135-40

Wansapura JP, Holland SK, Dunn RS, Ball WS Jr. NMR relaxation times in the human brain at 3.0 tesla. *J Magn Reson Imaging*. 1999 Apr;9(4):531-8

10. Danksagung

Herrn Professor Dr. Arno Bücken danke ich für die Vergabe des Themas und der Ermöglichung der experimentellen Studie.

Herrn Dr. Roland Seidel danke ich für die äußerst gute Betreuung meiner Dissertation. Von Anfang an, hatte er immer ein offenes Ohr für mich und hat mich geduldig bis zur Fertigstellung dieser Arbeit tatkräftig unterstützt.

Herrn Jens Wienkenhoever danke ich für die Unterstützung, Hilfe und Support während meiner Doktorarbeit. Danke für deine Hilfe und offenes Ohr! „Wenn du denkst es geht nicht mehr, kommt dein bester Freund daher.“

Herrn Dr. Andreas Müller und Christa Isaacs danke ich für die gute Zusammenarbeit, sowie Aufmunterung während der unzähligen gemeinsamen Stunden im Labor.

Herrn PD Dr. Peter Fries danke ich für die vertrauensvolle Zusammenarbeit, kollegialen Austausch und die Unterstützung bei der Durchführung der Experimente und der Erstellung der Arbeit.

Aus der Arbeit hervorgegangene Publikationen

European Congress of Radiology 2014 (wissenschaftliches elektronisches Poster)

In vivo evaluation of Gd-BOPTA and Gd-DTPA in a rat liver tumor model of a solitary colorectal cancer metastasis at 9.4 T.

R. Seidel, G. Denda, P. Fries, A. Massmann, G. K. Schneider, A. Buecker;

Originalarbeit

P03277 - A New Approach to Achieve High-Contrast Enhancement: Initial Results of an Experimental Extracellular Gadolinium-Based Magnetic Resonance Contrast Agent.

P. Fries, A. Müller, R. Seidel, P. Robert, G. Denda, MD, Menger, G. Schneider, A. Buecker.

Invest Radiol. 2015 Dec;50(12):835-42.