

## 4. DISKUSSION

### 4.1 Tiermodell für Forschung an Thromben im MRT

Erste Ansätze den Thrombus elektrisch zu induzieren mußten verlassen werden, da die Eisenfärbung massive Inkrustationen zeigte. Alternativ wurde in der vorliegenden Studie eine Thrombose chirurgisch/chemisch 80 Wistar-Ratten (á ca. 250 g) einseitig in der Vena jugularis induziert. Der Thrombus bildete sich durch Thrombininjektion unter Blutstillstand (Stase), wobei nach chirurgischer Sichtkontrolle dieser durch eine subtotale Ligatur vor dem Embolisieren bewahrt wurde.

Dem Vorteil der Induktion des Thrombus im Halsbereich der Ratte, was eine an Bewegungsartefakten armen MR-Aufnahmen bedingt und ein minimal invasives chirurgisches Vorgehen erlaubt, steht der Nachteil des chirurgischen Vorgehens an sich gegenüber. Ein den menschlichen tiefen Beckenvenen entsprechendes Gebiet, welches allerdings eventuell durch Bewegung der Aorta und des Darmes in der MR-Untersuchung beeinträchtigt sein könnte, stellt die Vena iliaca dar [Northeast, 1992].

Einschränkend ist allerdings die nötige maximal invasive chirurgische Vorgehensweise (Laparatomie) in diesem Modell zu bedenken. Gerade bei MR-Untersuchungen ist ein durch Operationen möglichst wenig verändertes Gewebe in der Umgebung wünschenswert. Ob man die Laparatomie umgehen kann, indem man das Thrombin von weitem durch Katheter appliziert, ist offen.

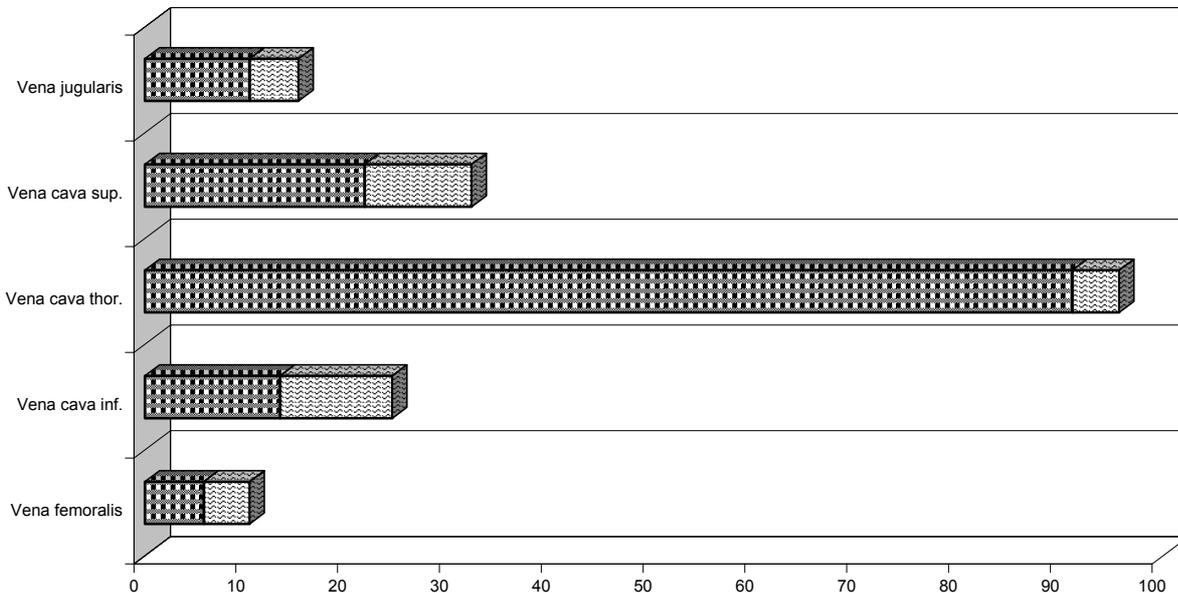
Die Induktion von Thromben unter Blutstase ist laut Breddin "wahrscheinlich am wenigsten geeignet, die Thrombusbildung und seine Hemmung zu untersuchen" [Breddin, 2000].

Geeigneter müßte die St. Thomas-Methode [Northeast, 1995] der Thrombusinduktion in der Vena cava inferior der Ratte sein, da sie unter kurzfristig vermindertem, aber noch vorhandenem, Blutfluß einen geschichteten muralen Thrombus nach Gabe von Trombin entstehen und durch Apposition wachsen läßt. Dieser aus Leukozyten und Erythrozyten gemischte Thrombus soll mannigfache Epitope aufweisen, die mittels Antikörper anzusprechen sein sollten. So hat er wenig mit dem hier unter Stase- und Hyperkoagulabilitätsbedingungen gebildeten roten Thromben zu tun [Zahn, 1875].

Der rote Thrombus, wird von den Endothelien mittels ihrer fibrinolytischen Aktivität abgebaut. Diese ist unterschiedlich auf die Gefäße, gleich ob tierischen oder menschlichen Ursprungs, verteilt [Northeast, 1990] [de Cossart, 1983].

Der Gehalt an "tissue Plasminogen Activator" (tPA) ist um so höher, je zentraler das Gefäß liegt. Die Konzentration an Urokinase (uPA) unterliegt keinen großen Schwankungen. Bei der Wahl der Induktionsstelle des Thrombus ist das zu bedenken.

Anatomische Verteilung der venösen fibrinolyt. Aktivität bei der Ratte (Wistar)  
[Northeast, 1990]



	Vena femoralis	Vena cava inf.	Vena cava thor.	Vena cava sup.	Vena jugularis
UPA (Urokinase)	4,5	11	4,6	10,5	4,8
TPA (Gewebe-Plasminogen-Aktivatör)	5,8	13,3	91,1	21,6	10,3

TPA (Gewebe-Plasmin-Aktivator)
  UPA (Urokinase)

Für Signalintensitätsmessungen in Thromben von Ratten ist das Auflösungsvermögen klinischer MR-Tomographen unzureichend, da deren Auflösungsvermögen an die menschlichen Körpergrößen adaptiert ist. Der Wistar-Rattenstamm sollte ggf. durch geeigneter Modelle ersetzt werden.

Während in der Humanmedizin die Fibrinolyse unterschiedlich stark ausgeprägt unter den Geschlechtern ist, sind die Ratten des Wistarstammes insofern laut Untersuchungen von Smokovits nicht dimorph [Smokovitis, 1978].

#### 4.2 Angiographie (Evaluierung der Treffsicherheit MR-Histologie)

Rattenböcke des Stammes Wistar sind für kurzzeitige MR-angiographische Studien adäquat. Vorteilhaft ist ihre leicht Verfügbarkeit und der Umstand, dass man mehrere Tiere zugleich untersuchen kann. Die MR-Technik bietet einige vorteile gegenüber der Röntgen-Angiographie, kann deren Auflösungskraft aber nicht erreichen. Bedenkenswert ist auch der vergleichsweise beträchtliche Zeitaufwand zur Bildgewinnung, der ein Verwackeln des Bildes, d.h. eine Zunahme des „Rauschens“, begünstigt. Um den Partialvolumeneffekt zu vermindern, wären so lange Untersuchungszeiten nötig, daß neben physiologischen Problemen auch fiskalische Gesichtspunkte dies nicht erlauben könnten.

Die histologische Untersuchung gestaltet sich aufwendig. Sie bietet ein vom Alter des Thrombus vielfach unabhängiges histologisches Bild. Wahrscheinlich ist dieser Sachverhalt aber auch auf die häufig inkomplette Darstellung des gesamten Thrombus zurückzuführen. Feinste beginnende Bildung von Blutgefäßen sind in der histologischen Untersuchung nachweisbar.

### **4.3 Kontrastmittel in der MRT**

Das DDM 43/34 hat sich als ein sehr lange im Blut verbleibendes MR-Kontrastmittel (Blood Pool Contrast Agent / BPCA) erwiesen. Es stellt so die venösen und arteriellen Gefäße mit guter Bildqualität auch über einen sehr langen Zeitraum hin dar. Die Thrombusdetektion ist gut möglich. Auch länger andauernde, z.B. funktionale Untersuchungen des Herzens, der Gefäße und von Organen sind so möglich.

Zurzeit sind die in Tabelle 5 (S.63) genannten Substanzen MR-angiographisch und/oder anschliessend zur spezifischen Darstellung von Pathologien im Einsatz, bzw. in der Erprobung. Teils verbleiben sie über viele Minuten im Intravasalraum (typische BPCA), teils verlassen sie ihn (extrazelluläre KM) und teils sammeln sie sich sogar innerhalb von Zellen an (intrazelluläres KM). Ausgeschieden werden sie in unterschiedlichem Maße und je nach Größe und Ladung über verschiedene Wege. Auch eine Bindung an Albumin kann zu einem BPCA-Effekt führen.

Nutzen verspricht man sich vom Einsatz von BPCA durch eine umfassende Untersuchung z.B. des Herzens, wegen der Verbesserung der räumlichen und zeitlichen Auflösung. So werden Darstellungen koronaler Krankheiten, von Erfolgen der Revaskularisationstherapie und Verlaufskontrollen der Herzfunktion unter medikamentöser Therapie ermöglicht. Von den in der Tabelle 5 zuerst genannten sieben Gadolinium-Verbindungen extravasieren allerdings alle zu schnell. Die Untersuchungszeit ist stark limitiert. Die MRA mit diesen extrazellulären KM muß mittels schneller Sequenzen durchgeführt werden. Dies gilt nicht bei der Anwendung intravaskulärer Kontrastmittel. Derzeit gibt es keine klinisch zugelassenen intravaskulären Kontrastmittel. Das Kontrastmittel MS-325 befindet sich jedoch in Phase III klinischer Studien. Seine lange Bluthalbwertszeit erklärt sich aus seiner Bindung an Albumin. Auch das Anhängen von vielen Albumin-, Dextran- oder Lysinmolekülen an extrazelluläre KM verlängert die Blut-HWZ. Die Verträglichkeit der KM ist aber nicht gegeben.

P792 eine hochmolekulare Gadoliniumverbindung wird leicht renal ausgeschieden. Es wird nach intravenöser Gabe vom Endothel an der Extravasation gehindert und verläßt über die Nieren den Körper (Partikeldurchmesser ca. 5,05 nm).

MnDPDP ist das einzige intrazelluläre MR-Kontrastmittel. Sein Metabolit MnPLED hat kardioprotektive Eigenschaften [Karlsson, 2001].

Gadophrin hat eine Affinität zu Nekroseherden gezeigt und soll z.B. der Infarkt diagnose zukünftig dienen [Jeong, 2001].

Dendrimere ( auch Kaskadenpolymere oder Polyaminoamid/PAMAM- , Diaminobutyl/ DAB- oder Ethylendiamin-Dendrimere genannt) sind globuläre Makromoleküle. Ihre an das Astwerk großer Laubbäume erinnernde Struktur bietet viel Platz, um z.B. Liganden für Rezeptoren anzulagern. Bestimmte Tumorzellen exprimieren z.B. einen hochaffinen Folatrezeptor. Nach Einbringen von Folatresten in ein PAMAM-Molekül kann er spezifisch mit diesem KM dargestellt werden [Konda, 2001] [Konda, 2002]. Durch Konjugation mit Polyethylenglykolresten (PEG) wird die Hydrophilität des Moleküls so gesteigert, daß die Zirkulationsdauer verlängert, der Verbleib in Organen erschwert und die Exkretion erleichtert wird [Kobayashi, 2001].

Das Dendrimer Gadomer 17 hat sowohl für das Verweilen im Intravasalraum, als auch für die glomeruläre Filtration, eine hinreichende große bzw. kleine Größe. So bietet dieses BP-CA, wie auch die Magnetite (Resovist, Clariscan, Combidex, Sinerem) in niedrigen Konzentrationen einen T1-Effekt (ist angiographisch wirksam), unterliegt aber im Gegensatz zu den Magnetiten keiner Verstoffwechslung/Speicherung im Körper und ist nierengängig.

Das Dendrimer Gadomer 17 bietet genauso wie das Magnetit Resovist (bzw. DDM 43/34) im Vergleich mit den etablierten gadoliniumhaltigen MR-Kontrastmitteln (Magnevist, Dotarem, Omniscan, ProHance, Gadovist und MultiHance) kaum eine stärkere Zunahme der Signalintensität, aber die Möglichkeit der "Equilibrium-Phase"-Angiographie, auch bei geringen Magnetfeldstärken [Clarke, 2000]. Diese sind für Magnetite, wenn man ihr angiographisches Potential nutzen will ( $T_1$ ), auch zu bevorzugen. Ursächlich ist die damit verbundene geringere Störung des Signales durch die bei hohen Tesla-Werten auftretenden dunkel machenden  $T_2^*$ -Signalintensitätsveränderungen (Suszeptibilitäts-Artefakte). Im Vergleich mit Magnevist benötigen Resovist und Gadomer 17 eine geringere Dosis für eine ähnlich hell-machende Wirkung, ohne Extravasation in das umgebende Gewebe. So können auch bei geringen Feldstärken hoch qualitative MR-Bilder erzeugt werden (hohe räumlich und zeitliche Auflösung). Mehrere Körperregionen können angiographisch während einer Untersuchung analysiert werden (Panangiographie).

Der  $T_2^*$  - Effekt mindert auch bei geringen Feldstärken die angiographische Wirkung der SPIO. Die hell ( $T_1$ ) und dunkelmachenden ( $T_2$ ) Wirkungen der SPIO kompensieren sich zum Teil. Die Dendrimere hingegen zeigen kaum einen  $T_2^*$ -Effekt. Da sie auch leichter zu dosieren sind und den Körper anders als Eisenpartikel schnell verlassen, scheint die Angiographie in der Equilibriumphase mittels Dendrimeren indiziert zu sein. Auch das gezielte Ansteuern von Zielorganen, welche nicht von Natur aus ein stark entwickeltes retikuloendotheliales System (wie die Leber, Lymphknoten, Knochenmark, Milz) besitzen, ist mit Den-

drimeren möglich. Immunologisch wurde vor kurzem nachgewiesen, daß venöse Thromben nicht wie arterielle eine deutliche Infiltration mit Makrophagen aufweisen [**Cherian, 1999**].

Eine  $T_2^*$  gewichtete MR-Sequenz, welche die von in Makrophagen akkumulierten SPIO ausgehende  $T_2^*$ -Relaxivität untersucht, ist bei der Untersuchung von venösen Thromben wahrscheinlich nicht nötig.

Die aus Versuchen mit Ratten gewonnenen Erkenntnisse sind nicht ohne weiters auf andere Tiere übertragbar. Zusätzlich besitzen z.B. jüngere Menschen einen anderen Eisenstoffwechsel als Erwachsene. Ratten sind beständig im Wachstum begriffen und benötigen deshalb Eisen ihr Leben lang. Beim Menschen unterliegt der Eisenstoffwechsel zusätzlich hormonellen Einflüssen.

Das besonders kleine DDM 43/34 hat sich in jüngsten Untersuchungen als zur Phagozytose ungeeignet erwiesen [**Fleige, 2002**]. Es ist so klein, dass es von sehr vielen unspezifischen Zellen (d.h. Zellen, die nicht zum RES gehören) aufgenommen wird.

Die anionische Ladung der Carboxydextran-Umhüllung bewirkt, daß die Partikel nicht sofort am Injektionsort durch die Zellen des Endothels extravasieren.

<i>FREINAME</i>	<i>HANDELSNAME</i>	<i>HERSTELLER</i>	<i>CHEMISCHER NAME</i>	<i>VERTEILLUNG IN</i>	<i>BESONDERHEITEN</i>
Gadopentate dimeglumine	Magnevist	Schering	GD-DTPA	EZR + Interstitium	Extrazellularraum
Gadoterate meglumine	Dotarem	Guerbet	Gd-DOTA	EZR + Interstitium	
Gadodiamide	Omniscan	Nycomed	Gd-DTPA-BMA	EZR + Interstitium	
Gadoteridol	Prohance	Bracco	GdDo3A	EZR + Interstitium	
Gadobutrol	Gadovist	Schering	GdDO3A-butrol	EZR + Interstitium	
Gadoversetamide	OptiMARK	Mallinckrodt	GdDTPA-BMEA	EZR + Interstitium	Leber + Gehirn
Gadobenate dimeglumine	Multihance	Bracco	Gd-BOPTA	EZR + hepatobiliär	schwache Albuminbind.
MS-325	AngioMARK	Schering	Gd hochmolekular	Extrazellularraum	Albuminbindung
P792	Vistarem	Guerbet	Gd hochmolekular	Extrazellularraum	nierengängig
Gd-DTPA-dextran		Nycomed	Gd hochmolekular	Intravasalraum	
Gd-DTPA-polylysin		Schering	Gd hochmolekular	Intravasalraum	
SH L 643 A	Gadomer 17	Schering	Gd hochmolekular	Intravasalraum	nierengängig
Gadophrin		Schering	Gd-Porphyrin	Nekrosespezif.	
B22956/1		Bracco	Gd hochmolekular	Extrazellularraum	Albuminbindung
AG USPIO	Sinerem	Guerbet	USPIO	Intravasalraum	
Ferrumoxtran (Ami 227)	Combidex	Advanced Magnetics	USPIO	Intravasalraum	
NC100150	Clariscan	Nycomed	USPIO	Intravasalraum	
SH U555A/Ferucarbotran	Resovist	Schering	USPIO	Intravasalraum	
Mangafodipir trisodium	Teslascan	Nycomed	Mn-DPDP	Intrazellularraum	

Tabelle 5