

## 2 Grundlagen

### 2.1 Grundlagen der Magnetresonanztomographie (MRT)

Bei der Untersuchung eines Patienten im MR-Tomographen wird dieser einem sehr starken Magnetfeld ausgesetzt. In der Regel entsprechen die Feldstärken der MR-Tomographen 1,5 Tesla (T). Erste MRT-Geräte mit 3,0 T sind bereits im Einsatz. Durch das statische Magnetfeld wird das magnetische Moment („Spin“) der Protonen im Körper des Menschen ausgerichtet. Durch Emission eines Hochfrequenz-(HF)-Impulses werden die Spins angeregt und mit Hilfe von magnetischen Gradientenfeldern die bei der Relaxation entstehenden Signale lokalisiert. Mit Empfangsspulen werden dann diese Signale elektronisch verarbeitet und in Bilddaten umgewandelt. Die empfangenen Signale werden von den Relaxationszeiten T1 und T2, der Protonendichte sowie einer Vielzahl weiterer Faktoren beeinflusst. Eine Besonderheit der MRT bildet hierbei die Tatsache, dass das Signal sowohl durch physikalische (z.B. Protonendichte) und chemische (z.B. Molekülwechselwirkungen), als auch biologische (z.B. Fluss) Faktoren beeinflusst wird.

Theoretisch könnten eine Vielzahl von Elementen für die Bildgebung in der Magnetresonanztomographie genutzt werden. Da Protonen natürlicher Weise im Körper in hoher Anzahl vorliegen und diese eine hohe Sensitivität für das MR-Signal aufweisen, werden für die MR-Bildgebung praktisch keine anderen Elemente verwendet. Das individuelle magnetische Moment kann dabei nur zwei Ausrichtungen aufweisen. Dagegen kann der Nettomagnetisierungsvektor einer Gruppe von Protonen jede Richtung annehmen. Definitionsgemäß bezeichnet man die Richtung des statischen Magnetfeldes  $B_0$  als longitudinale oder auch z-Achse und die senkrecht dazu liegende Achse als x-y-Achse bzw. Transversalachse. Das magnetische Moment oder der Spin präzediert mit einer spezifischen Frequenz, der so genannten Larmor-Frequenz. Die Präzessionsfrequenz ist dabei abhängig von der statischen Magnetfeldstärke. Je größer das anliegende Magnetfeld desto größer ist die Präzessionsfrequenz. Vor einem HF-Impuls liegt die Ausrichtung der Protonen entlang der z-Achse. Will man die Spins nachweisen, müssen diese in der transversalen Ebene vorliegen. Dazu kann man mit Hilfe einer Transmitter-Spule die Spins so ablenken, dass der Nettomagnetisierungsvektor von der Ausgangsausrichtung entlang der z-Achse wegrotiert. Nach einem

HF-Impuls bildet die Summe aller Magnetisierungsvektoren im Messvolumen, die noch longitudinal und transversal zum statischen Magnetfeld ausgerichtet sind, den Nettomagnetisierungsvektor im Gewebe. Die Proportionalität zwischen Präzessionsfrequenz und der Magnetstärke am Ort des Spins kann für die Zuordnung der Ortsinformation eines empfangenen Signals genutzt werden. Dazu werden dem statischen Magnetfeld magnetische Gradientenfelder in 3 Raumebenen überlagert, damit die Präzessionsfrequenzen aller Spins in Abhängigkeit von ihrer Position im Raum unterschiedlich sind.

Weil ein HF-Puls einer bestimmten Frequenz lediglich die Spins mit der korrespondierenden Präzessionsfrequenz anregt, besteht die Möglichkeit, dass nur die Spins in einer bestimmten Schicht durch Magnetfeldgradienten angeregt werden. Während der Signalauslesung wird ein weiterer Gradient in der angeregten Schicht in einer anderen Raumrichtung geschaltet. Dies führt in der Folge zu Spins mit unterschiedlicher Präzessionsfrequenz an unterschiedlichen Stellen in der angeregten Schicht. Das Ausmessen des Signals zu verschiedenen Zeiten ermöglicht die nachträgliche Signalzuordnung zu verschiedenen Punkten. Der dazu notwendige mathematische Algorithmus stellt die nach dem Mathematiker Joseph B. Fourier benannte Fourier-Transformation dar. Für die Signalzuordnung in der 3. Ebene (Zeilen) wird noch ein weiterer Gradient zwischen HF-Puls und Signalauslesung eingesetzt, der zu einem bestimmten Zeitpunkt zur Präzession der Spins bestimmter Zeilen einer Schicht mit unterschiedlicher Frequenz führt. Im Ergebnis führt dieser als Phasenkodierschritt bezeichnete Vorgang zu verschiedenen Phasen der Spins in verschiedenen Zeilen. Die Gesamtheit der Anregungsimpulse, Gradienten und Auslesungen wird als MR-Sequenz bezeichnet. Die zwischen aufeinander folgenden HF-Anregungen und Auslesung gelegene Zeit wird als Repetitionszeit (TR) bezeichnet.

Den Winkel zwischen dem statischen Magnetfeld und dem abgelenkten Nettomagnetisierungsvektor bezeichnet man als Flipwinkel. Dieser ist abhängig von der Stärke und Dauer des HF-Pulses. Der gewählte Flipwinkel hängt von der gewählten Untersuchungsmethode ab, bei Spinecho-(SE)-Sequenzen wird z.B. ein Flipwinkel von  $90^\circ$  verwendet; kleinere Flipwinkel, bei denen nur ein Teil des Nettomagnetisierungsvektors rotiert, kommen bei Verwendung von Gradientenecho-Sequenzen (GRE) zum Einsatz.

## 2.2 MR Sequenzen und Techniken

### 2.2.1 Spinecho- und Gradientenechosequenzen

In der einfachsten Variante besteht die Pulsfolge von SE-Sequenzen aus zwei HF-Pulsen. Dabei folgt einem Initialen  $90^\circ$ -Impuls nach einer Zeit  $\pi$  (üblicherweise in der Mitte des Datenakquisitionsfensters) ein  $180^\circ$ -Impuls. Der erste Impuls wandelt die longitudinale in eine transversale Magnetisierung und die transversale Magnetisierung zerfällt. Der zweite Impuls führt zum Vorzeichenwechsel der präzedierenden Spins, wobei die Drehrichtung und Präzessionsgeschwindigkeit jedoch erhalten bleiben. Die Zeit zwischen dem HF-Impuls und dem Spinecho in der Mitte des Datenakquisitionsfensters bezeichnet man als Echozeit (TE). Feldinhomogenitäten oder Suszeptibilitätsdifferenzen werden durch den  $180^\circ$ -Impuls ausgeglichen. Bei Verwendung von Spinecho-Sequenzen hängt der Bildkontrast von den Relaxationszeiten T1 und T2 sowie von der Protonendichte ab. Untersuchungen mit kurzer TR und TE führen zu T1-gewichteten Aufnahmen. Bei Untersuchungen mit langer TR und TE zu T2-gewichteten Aufnahmen und bei langer TR und kurzer TE entstehen so genannte Protonendichtegewichtete Aufnahmen.

Während bei der SE-Sequenz durch den ersten  $90^\circ$  Impuls die gesamte longitudinale Magnetisierung in transversale Magnetisierung umgewandelt wird, kommt es bei der Verwendung von Gradientenechosequenzen nur zu einer teilweisen Rotation der longitudinalen Magnetisierung. Die Gradientenecho-Technik beinhaltet keinen  $180^\circ$  Refokussierungsimpuls und ist prinzipiell empfindlicher gegenüber Inhomogenitäten des Magnetfeldes (Inhomogenitäten des statischen Magnetfeldes, Suszeptibilitätsartefakte). Die transversale Relaxationszeit wird hier  $T2^*$  genannt und beinhaltet sowohl die T2-Relaxationszeit als auch zusätzliche Dephasierungsmechanismen als Folge der oben genannten Magnetfeldinhomogenitäten und Suszeptibilitäten. Durch die bei GRE-Sequenzen verkürzten TE besteht die Möglichkeit, Dephasierungseffekte zu verringern. Mit einer Verringerung der Repetitionszeit bei GRE-Sequenzen kommt es zu einem schlechteren Signal-Rausch-Verhältnis, was zum Teil durch Verwendung kleinerer Anregungswinkel kompensiert werden kann.

### 2.2.2 Schnelle und Ultraschnelle Bildgebung

Zur Beschleunigung bei der Erzeugung von MRT-Bildern wurde eine Reihe neuer Bildgebungstechniken entwickelt.

Das Prinzip der so genannten Turbo-Spinecho-Sequenzen besteht in der Verwendung mehrerer, jeweils neu phasenkodierter Echos zur Auffüllung der Fourierzeilen des k-Raumes. Der T2-Kontrast bei TSE-Sequenzen wird maßgeblich von dem TE der Echos beeinflusst. TSE-Sequenzen haben die konventionelle Spinecho-Technik in weiten Teilen abgelöst [27]. Gegenwärtig erfolgt bei allen MR-Sequenzen die Datensammlung im k-Raum. Unter der Annahme eines symmetrischen k-Raumes wird bei der so genannten Half-Fourier-Bildgebung nur der halbe k-Raum mit Daten gefüllt und vor der Bildrekonstruktion mittels Phasenkorrekturschritten wiederaufgefüllt. Durch die Kombination einer TSE-Sequenz mit der Half-Fourier-Bildgebung können mit einer Anregung und einem multiplen phasenkodierten Echo alle zur Bildrekonstruktion relevanten Daten einer Schicht als „Single-Shot Technik“ rekonstruiert werden.

Derzeitig wird der Begriff „ultraschnelle“ MRT nur für die Echoplanare (EPI)-Bildgebung verwendet. Hierbei werden durch eine Anregung und multiple phasenkodierte Gradientenechos die Daten für ein Bild in 80 bis 100 ms akquiriert. Die Verwendung so genannter kontrastdominanter k-Raum-Ausleseprofile (z.B. CENTRA) findet neuerdings z.B. bei der MR-Angiographie Anwendung [28].

### **2.2.3 Techniken zur Gefäßdarstellung in der Magnetresonanztomographie – Magnetresonanzangiographie (MRA)**

Derzeit existieren drei verschiedene Techniken zur MR-Angiographie:

1. Die Phasenkontrast-Angiographie (PCA)
2. Die Time-of-Flight-MR-Angiographie (TOF-MRA)
3. Die kontrastmittelgestützte MR-Angiographie (KM-MRA)

Die Darstellung der Gefäße des Abdomens erfolgt heute überwiegend mit der KM-MRA.

In der Phasenkontrast-Angiographie erfahren mit Hilfe eines Gradienten, der zunächst aus einer positiven und dann aus einer negativen Halbwelle besteht, alle Spins je nach Ort eine unterschiedliche Phasenverschiebung. Durch die negative Halbwelle mit gleicher Stärke und Dauer wie die vorangegangene positive Halbwelle wird die Phasenverschiebung rückgängig gemacht, insofern sich der Spin noch an derselben Stelle befindet. Hat sich dieser bewegt (z.B. Blut), bleibt eine Phasenverschiebung zurück. Aus der Differenz eines Bildes mit und ohne Geschwindigkeitsgradienten kann die Geschwindigkeit des fließenden Blutes mit hoher Genauigkeit ermittelt werden [29].

Die TOF-MRA basiert auf dem Einfluss ungesättigten hyperintens zur Darstellung kommenden Blutes in das Bildvolumen mit überwiegend gesättigtem hypointens erscheinendem stationärem Gewebe und wird als so genannte 3D-TOF-MRA und 2D-TOF-MRA bezeichnet. Heute wird diese Technik zum Beispiel für die Darstellung der intra- und extrakraniellen Gefäße eingesetzt [30].

Die zuletzt etablierte Technik zur nicht-invasiven MR-Angiographie ist die kontrastmittelgestützte MR-Angiographie (KM-MRA) mit einem intravenös applizierten, extrazellulären Kontrastmittel. Zur Bildgebung kommen bei der KM-MRA schnelle 3D-Gradientenecho-Sequenzen mit sehr kurzem TR und TE zur Anwendung. Die geräteseitigen Verbesserungen mit der Möglichkeit die MR-Angiographie in Atemstillstand des Thorax, sowie während einer Bolustransitzeit mit Kontrastierung der abdominalen Gefäße zu akquirieren, sind als wesentliche Verbesserungen der MR-Angiographietechnik einzustufen.

### **2.3 EKG Triggerung**

Der physiologische Herzschlag des Menschen beträgt ca. 60 bis 80 Schläge pro Minute. Dabei verschieben sich die Koronararterien fast ständig um einige Millimeter bis Zentimeter. Um das Herz und dessen Koronararterien artefaktfrei darstellen zu können, muss man den Messvorgang präzise mit der Phase des Herzschlages synchronisieren. Hierzu wurde während der Untersuchung das 3-Kanal-Elektrokardiogramm (EKG) des Patienten abgeleitet und auf die R-Zacke des Signals getriggert. Erschwert wird dies durch die Veränderungen des EKG im Magnetfeld des MRT, was typischerweise zu einer vergrößerten T-Welle führt.

Ein gutes Signal des EKG bei der Datenakquisition ist essentiell, da eine unzureichende Erkennung der R-Zacken bei der Untersuchung zu einer mitunter erheblichen Messzeitverlängerung führen kann, oder diese gar unmöglich macht.

Die EKG-Ableitung während der Messung kann grundsätzlich für zwei Arten der Bewegungsunterdrückung genutzt werden. Zum einen wird „prospektiv getriggert“, zum anderen wird retrospektiv „ge-gated“.

Bei Akquirierung der Cine-TRUE-FISP Lokalisationsscans, bei der der komplette Herzyklus dargestellt werden soll, kommt das „gating“ Verfahren zum Einsatz. Dabei werden kontinuierlich k-Raumlinien akquiriert. Zu jedem Messdatensatz wird zudem gespeichert, zu welcher Herzphase die ausgelesenen Bildinformationen aufgenommen wurden. Nach der Untersuchung werden die k-Linien retrospektiv, in Relation zur R-Zacke, chronologisch sortiert und zu Herzphasen zusammengefasst. Jedes Bild der cine-Sequenz entsteht so nur aus k-Linien, die im gleichen RR-Intervall aufgenommen wurden. Dieses Verfahren ist jedoch nur eingeschränkt nutzbar, da mit dieser keine Möglichkeiten der Kontrastbeeinflussung (z.B. durch Vorpulse) gegeben sind.

In den Navigatorsequenzen zur Darstellung der Koronararterien wird dagegen prospektiv „getriggert“. Dabei wird nach einem frei wählbaren Zeitintervall (Triggerdelay) hinter der R-Zacke ein Teil des Bildes akquiriert. Das Triggerdelay wird dabei so gewählt, dass das Herz sich in einer Phase befindet, in dem es sich möglichst nicht oder nur sehr gering bewegt. Meist befindet sich dieser, zuvor mittels cine-true-fisp-Sequenz ermittelte Zeitpunkt, in der Enddiastole.

Zur Vermeidung von Bewegungsunschärfen ist es außerdem wichtig, die Akquisitionszeit pro Bild und Herzschlag möglichst gering zu halten, sonst kommt es ähnlich der Photographie zum Bewegungsunschärfen des Bildes.

Solange keine Arrhythmien oder Extrasystolen bestehen, funktionieren erfahrungsgemäß die gängigen Trigger- und Gating-Verfahren hinreichend gut.

## **2.4 Atemgating**

Ein erwachsener Mensch hat eine physiologische Atemfrequenz von 12-14 Atemzügen pro Minute. Bei der Ein- und Ausatmung bewegt sich das Herz in allen drei Raum-

richtungen, insbesondere durch das Zwerchfell bedingt in craniokaudaler Ausrichtung [31]. Dabei bewegt sich die Herzspitze pro Atemzug um ca. 19 mm, die Herzbasis jedoch nur um 12 mm.

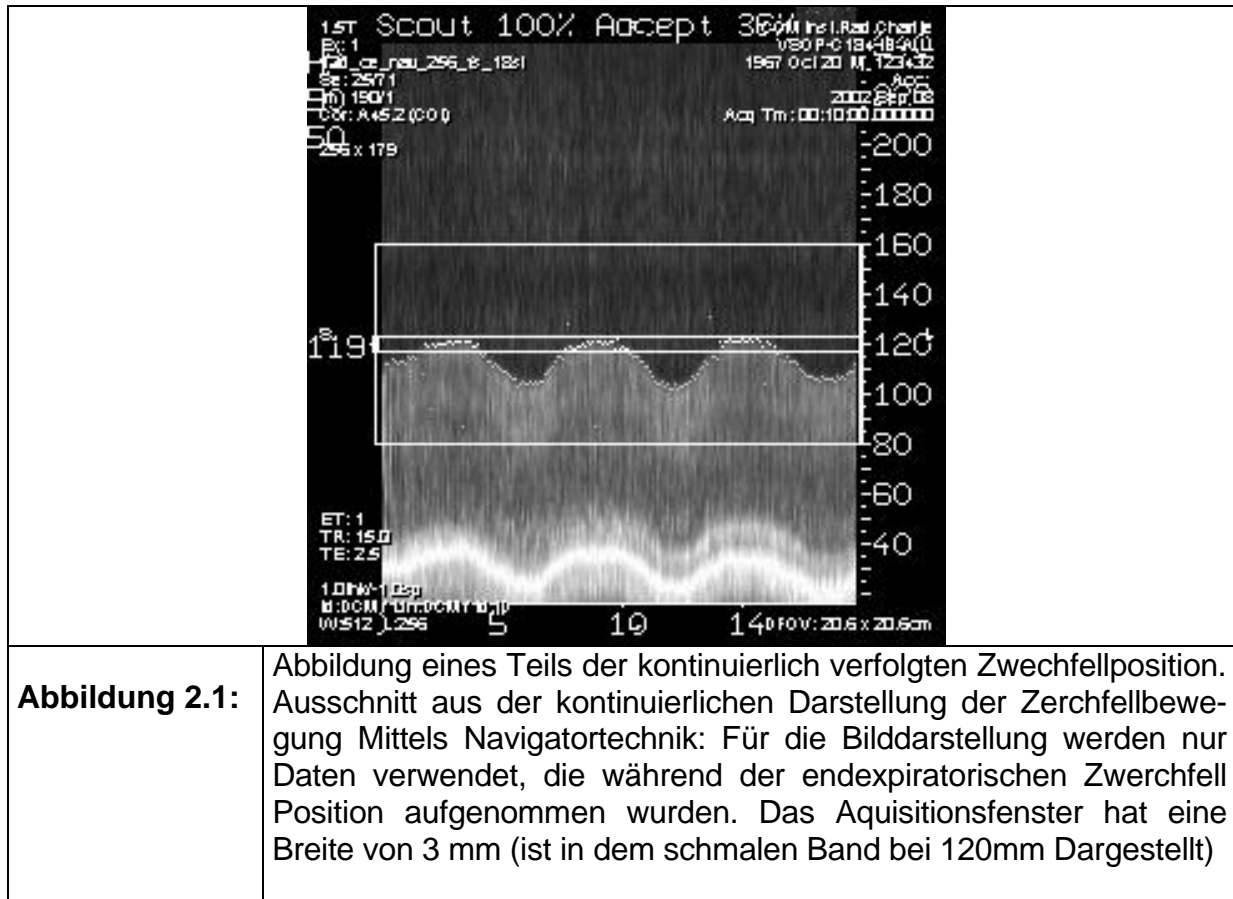
Die Atemstopptechnik ist eine Möglichkeit, die Atembewegungen bei der Messung zu unterdrücken. Dazu hält der Proband je nach Aufnahmetechnik und Gesundheitszustand für 8-20 s die Luft an. Der Atemstopp sollte in Expirationsstellung erfolgen, da in dieser die Atemlage durch die Patienten besser zu reproduzieren ist als in Inspirationsstellung. Diese Technik kam bei den Planungsscans und Cine-Sequenzen zum Einsatz.

Untersuchungen, die eine besonders hohe räumliche Auflösung benötigen oder große Volumina abdecken, bräuchten Atemstopp-Phasen von mehreren Minuten und bedienen sich daher aufwendiger Navigatorverfahren, bei denen die Atemposition direkt an der Lungen-Zwerchfell-Grenze gemessen wird. Dabei wird üblicherweise mit Hilfe eines eindimensionalen MR-Signals mit einer räumlichen Auflösung von ca. 1 mm die Zwerchfell Lungengrenze graphisch über die Zeit dargestellt.

Die beiden gekreuzten Navigatorblöcke werden mit Hilfe einer SE-Messung erzeugt, bei der die schichtselektiven Gradienten in der HF-Phase sicherstellen, dass nur Informationen aus einem stabförmigen Schnittvolumen zweier gekreuzter Schichten zum Navigatorecho beitragen. Dabei dürfen die Navigatoren sich nicht durch das abzubildende Gewebe wie etwa des Herzens gelegt werden, da die Anregung durch das Spinecho in den Messvolumina zu Sättigungseffekten führen, die dann wiederum im untersuchten Volumen zu Artefakten führen.

Bei den in der Phase Ib angewendeten Navigatorsequenzen wird ein Gatingfenster mit 5 mm in Expiration festgelegt. Vor der eigentlichen Akquirierung des Bilddatensatzes wird in einer Präparationsphase die endexpiratorische Atemlage bestimmt, die es dem Computer- und MR-Tomographen erlauben, nur Volumina in der gleichen Atemlage für die Messung und Auswertung zu berücksichtigen. Während des Messvorganges wird bei jedem Herzschlag ein Navigatorprofil erstellt, das mit dem zuvor erstellten Referenzprofil verglichen wird (siehe Abb. 2.1). Liegt die Herzaktion außerhalb des zuvor festgelegten und somit verwertbaren Bereiches, werden die Daten verworfen. Je kleiner das Gatingfenster gewählt wird, desto schärfer wird das Bild, jedoch muss hierbei

eine längere Messzeit in Kauf genommen werden. Unter guten Bedingungen erreicht man eine Akzeptanz von 50 – 60 % der Daten [1].



## 2.5 Magnetisierbarkeit chemischer Substanzen / Suszeptibilität

Die Magnetisierbarkeit einer bestimmten Substanz wird als magnetische Suszeptibilität bezeichnet [32].

Ein Magnetismus wird durch Bewegungen von Protonen und Elektronen in elektrischen Teilchen erzeugt und ist allen Substanzen gemeinsam (Atome, Ionen wie auch chemischen Verbindungen). Einzig unterschiedlich ist die Empfindlichkeit, mit der Substanzen auf ein von außen einstrahlendes magnetisches Feld reagieren. Dies wird als Magnetische Suszeptibilität bezeichnet. Diese Eigenschaft wird mit den Begriffen Diamagnetismus, Paramagnetismus, Ferromagnetismus oder Supermagnetismus benannt.



Magnetische Eigenschaft	Beispiel	Elektronen-Gruppen	Relative Suszeptibilität	Magnetisierung
Diamagnetismus	Wasser	Gepaart	-1	Temporär
Paramagnetismus	Gd-DTPA	Ungepaart	+10	Temporär
Ferromagnetismus	Eisen	Ungepaart	+25000	Längerfristig
Superparamagnetismus	Magnetit	Ungepaart	+5000	Temporär
<b>Tabelle 2.1:</b>	Magnetische Eigenschaften von Substanzen mit exemplarischem Beispiel.			

### Diamagnetismus

Die meisten Substanzen haben eine gerade Anzahl von Elektronen in ihren Elektronengruppen. Da sich die Spins aller Elektronen gegenseitig aufheben, ist das magnetische Moment gleich null. Durch diamagnetische Substanzen wird die unmittelbare Umgebung eines von außen angelegten Feldes nur geringfügig abgeschwächt. Diese Eigenschaft wird auch als negative Suszeptibilität bezeichnet. Dieser Effekt ist klinisch nicht von Relevanz und kann nicht für eine Auswertung im Rahmen der Bildgebenden Verfahren herangezogen werden. Die meisten Substanzen gehören in diese Gruppe, ein Beispiel ist Wasser.

### Paramagnetismus

Paramagnetische Substanzen enthalten in ihrer Atomhülle mindestens eine ungepaarte Ladung. Wie zu erwarten, nimmt das magnetische Moment mit der Anzahl an unpaaren Elektronen zu. Paramagnetische Substanzen zeigen damit eine positive Suszeptibilität. Befindet sich eine Substanz in einem von außen angelegten magnetischen Feld, richtet sich die Substanz entsprechend dessen Richtung aus. Die magnetische Feldstärke der unpaaren Elektronengruppe(n) addiert sich zu der des äußeren Feldes. Damit kommt es zu einer lokalen Erhöhung der Feldstärke. Nach Unterbrechen des externen Magnetfeldes kehrt die Substanz wieder in deren Grundzustand zurück.

### Ferromagnetismus

Auch ferromagnetische Substanzen haben ungepaarte Elektronen und dementsprechend auch eine positive Suszeptibilität. Sie werden auch als Multidomänenpartikel bezeichnet. Verträglichkeitsprobleme können im klinischen Alltag dadurch entstehen, dass die ferromagnetischen Teilchen, nachdem sie einem Magnetfeld ausgesetzt wurden, teilmagnetisiert bleiben. Somit besteht die Gefahr einer Aggregation. Dies kann durch Poly- oder Monomerbeschichtung der Partikel verhindert werden. Kontrovers diskutiert wird, ob sich eine Restmagnetisierung der Teilchen nach der Aufnahme auf den Körper auswirkt bzw. wie sie sich in einer menschlichen Zelle auswirkt.

### Superparamagnetismus

Durch eine Reduzierung von ferromagnetischen Multidomänenartikeln unter eine bestimmte Größe erzeugt man sog. Eigendomänenpartikel mit superparamagnetischen Eigenschaften. Diese lassen sich schon bei schwachen Feldstärken vollständig magnetisieren und verlieren ihre Magnetisierung nach entfernen des Feldes. Es besteht zwar nicht die Gefahr einer Partikel-Aggregation nach Abschalten des magnetischen Feldes, jedoch aggregieren auch diese solange sie einem magnetischen Feld ausgesetzt sind. Daher müssen auch superparamagnetische Kontrastmittel für den klinischen Gebrauch beschichtet werden.

## **2.6 MRT Kontrastmittel**

Eine der wesentlichen Stärken der MRT ist, dass sich bereits nativ aufgrund der natürlichen gewebespezifischen Relaxationszeiten Gewebe differenzieren lassen. Grosse Variabilität und Überschneidungen bezüglich der Relaxationszeiten von normalem und pathologischem Gewebe limitieren jedoch die Aussagekraft für artdiagnostische Zuordnung pathologischer Befunde bei nativen Untersuchungen. Intravenöse Kontrastmittel bewirken erhebliche Veränderungen der Gewebe- und Gefäßsignalintensitäten und ermöglichen damit eine verbesserte Erkennbarkeit pathologischer Befunde. MRT Kontrastmittel lassen sich in zwei Gruppen - so genannte nicht-spezifische und gewebespezifische Kontrastmittel - unterteilen.

Das paramagnetische, unspezifische Kontrastmittel Gd-DTPA wurde zu Beginn der 1980er Jahre in die klinische Magnetresonanztomographie eingeführt. Gd-DTPA ist als Substanz mit stark Bild beeinflussendem Effekt bei niedriger Toxizität chemisch stabil

und guter Wasserlöslich. Das ungebundene Gadolinium ist stark toxisch und erfordert daher eine feste Bindung an Liganden, die Chelatbildung bietet die Voraussetzungen für eine gute Verträglichkeit [33].

Die derzeit zugelassenen niedermolekularen Gd-Kontrastmittel wie z.B. Gd-DTPA sind im pharmakokinetischen Verhalten ähnlich denen der Röntgenkontrastmittel und daher zwar vielseitig einsetzbar, aufgrund der raschen Extravasation in das Interstitium sinkt aber die T1 verkürzende Wirkung im Gefäßsystem schnell ab.

Die hochaufgelöste Darstellung von Gefäßen wie etwa der Art. carotis oder die Evaluation der Koronararterien setzen Blut-Pool-Kontrastmittel voraus, die im Gegensatz zu herkömmlichen Gd-Kontrastmitteln eine wesentlich längere intravasale Halbwertszeit aufweisen müssen, um im gesamten Untersuchungsverlauf die T1-Relaxationszeit des Blutes ausreichend zu verkürzen [34]. Hierzu eignen sich makromolekulare Gd-Kontrastmittel und niedermolekulare Gd-Kontrastmittel, die sich nach Applikation im Intravasalraum an Plasmaproteine binden und somit eine verlängerte intravasale Verweildauer aufweisen, sowie die SPIO mit verlängerter intravasaler Verweildauer, die als Blut-Pool Kontrastmittel bezeichnet werden. Dabei verlängert sich im Allgemeinen mit abnehmender Partikelgröße die intravasale Verweildauer und damit der Blut-Pool Effekt von SPIO..

### **2.6.1 Pharmakokinetik von MR-Kontrastmitteln**

Sowohl gadoliniumhaltige, als auch eisenoxidhaltige MR-Kontrastmittel verkürzen sowohl die T1- als auch die T2-Relaxationszeit des umgebenden Organismus. Die Relaxivität (T1-Relaxivität ( $r_1$ ) bzw. T2-Relaxivität ( $r_2$ )) mit der Einheit  $l/(mmol*s)$  oder auch  $l*mmol^{-1}*s^{-1}$ ) ist das Maß für die Verkürzung der Relaxationszeiten einer bestimmten Substanz. Der im Vergleich zu Gd-haltigen Kontrastmitteln hohe T2 und T2\* verkürzende Effekt führte zu Beginn zu einem Einsatz von SPIO als „negativem Kontrastmittel“. Damals war zwar auch die hohe T1-Relaxivität bekannt, konnte jedoch bis zur Einführung schneller Gradientensysteme in den MR-Tomographen der neuen Generation nicht genutzt werden. Heute kann, mit Echozeiten von 5 ms und kleiner, der kontrastverstärkende Effekt von SPIO und auch VSOP-C184 z.B. zur MR-Angiographie der Koronararterien genutzt werden. Ob ein SPIO bei einer gewählten Pulssequenz als

negatives oder als positives Kontrastmittel nutzbar ist, hängt vom Verhältnis von T1- zu T2-Relaxativität ab und wird durch den Quotienten  $r1/r2$  beschrieben. Dieser Quotient ist sehr stark abhängig von der Größe des Partikels. Eisenoxidpartikel mit einer Größe von 50 nm und mehr besitzen einen niedrigen Quotienten ( $r1/r2$ ) und können daher bisher fast ausschließlich als negatives Kontrastmittel verwendet werden, wohingegen bei einer Partikelgröße von 20 nm oder kleiner mit den neuen schnellen MR-Gradientensystemen sowohl die negative als auch die signalverstärkende Wirkung zur Kontrastierung genutzt werden können [10, 35].

## **2.6.2 Kontrastmittel auf Eisenoxid Basis**

Supraparamagnetische Eisenoxidpartikel gehören zu einer Gruppe hochwirksamer und vielseitig einsetzbarer Kontrastmittel in der MRT [36]. Erstmals wurde der Begriff des Superparamagnetismus im Jahre 1952 beschrieben [37]. Im Jahre 1987 wurden die ersten Daten zu Kontrastmitteln auf Basis superparamagnetischer Eisenoxid Partikel (SPIO) zur intravenösen Kontrastierung publiziert. SPIO ist der Überbegriff für alle in der MR-Tomographie als Kontrastmittel eingesetzten superparamagnetischen Eisenoxidpartikel und steht für Superparamagnetic Iron Oxide (SPIO). Partikel mit vergleichsweise größerem Durchmesser (etwa 50 – 150 nm oder größer) werden historisch bedingt im engeren Sinne auch als SPIO bezeichnet. Davon werden die Mitte der 90er Jahre des 20. Jhs. entwickelten Eisenoxidnanopartikel mit kleinerem Durchmesser um etwa 20 nm abgegrenzt, welche als Ultrakleine Superparamagnetische Eisenoxid-Partikel bezeichnet (USPIO: Ultrasmall SPIO) werden [16, 38, 39]. Eine Sonderstellung unter den eisenoxidhaltigen MR-Kontrastmitteln nehmen die Very Small Superparamagnetic Iron Oxide Particles (VSOP) ein. Bei diesen handelt es sich um eisenoxidhaltige Partikel mit einer Größe von unter 10 nm. Die geringe Größe begründet sich durch die Stabilisierung des kristallinen Eisenoxidkerns mit monomeren Citrat. SPIO dagegen sind, mit einem hydrodynamischen Durchmesser zwischen 50 bis 150 nm, im Vergleich zu den VSOP noch verhältnismäßig groß. SPIO sind polydisperse und polykristalline Partikel, welche durch Dextran bzw. Carbodextran stabilisiert werden [18, 19]. Um die Partikel nach der Herstellung stabil und in Lösung zu halten und auch nach der i.v. Injektion eine Aggregation zu verhindern, werden die Eisenoxid-Kerne mit einer entsprechenden Oberflächenbeschichtung versehen. Eine Stabilisierung wird für biomedizinische Anwendungen in der Regel durch eine Beschichtung mit

polymeren Substanzen realisiert. Bisherige Ansätze basieren auf Dextran- [40], Carboxydextran- [19], Polyethylenglykol- [41], Albumin- [42], liposomal [43] stabilisierten Kontrastmitteln. Ein Nachteil dieser sterischen Stabilisierung ist die im Vergleich zu monomeren Substanzen in einigen Fällen stark allergene Wirkung. Eine polymere Beschichtung mit diesen Substanzen bedeutet zudem eine Limitation der minimalen Größe auf mindestens 15-20 nm (z.B. bei in Gruppe der USPIO). Da diese Dextran stabilisierten Eisenoxidpartikel aufgrund ihrer Größe sehr rasch durch die Kupfferschen Sternzellen und das Retikulo-Endotheliales-System (RES) phagozytiert werden, sind diese auf einzelne Organregionen beschränkt. So eignen sich SPIO Kontrastmittel vornehmlich zur Kontrastierung der Leber und Milz [18, 44]. Möchte man den Indikationsbereich eisenoxidhaltiger Kontrastmittel auf andere Organe als der Leber erweitern, braucht man Partikel, die klein genug sind oder aufgrund ihrer Stabilisierung das Mononukleären Phagozytierenden Systems möglichst effizient umgehen [17, 45]. Aufgrund der geringeren Größe von USPIO haben diese eine andere Organverteilung als die SPIO der ersten Generation und damit auch einen anderen Indikationsbereich. USPIO Kontrastmittel werden heute zur Kontrastierung des Lymphsystems und zur Knochenmarkbildung klinisch geprüft [46, 47]. Die geringe Größe der Partikel bewirkt eine verlängerte Bluthalbwertszeit und bewirkt zusätzlich eine Erhöhung der T1 Relaxivität, was den Einsatz von USPIO in der MR-Angiographie ermöglicht [39, 45]. Auch bei den USPIO Kontrastmitteln handelt es sich um polymerbeschichtete Eisenoxidpartikel. Studien haben gezeigt, dass die Effektivität von SPIO als MR-Kontrastmittel für die MR-Angiographie mit Verkleinerung des Durchmessers zunimmt [16].

Um die Eisenoxidpartikel weiter zu verkleinern und somit die Effektivität als MR-Kontrastmittel zu steigern, können diese alternativ mit einer monomeren Substanz umhüllt werden. Die Stabilisierung der Lösung bei physiologischem pH-Wert wird zum einen durch die monomere Substanz selbst erreicht, die sich wie ein Chelator an die Partikeloberfläche legt, zum anderen führt die starke Oberflächenladung der Partikel zu einer elektrostatischen Abstoßung, die eine Aggregation der Partikel untereinander verhindert [48, 49]. Die minimale Größe der Partikel kann durch eine monomere Beschichtung auf 5 nm verringert werden. Zusätzlich zu der damit erreichten langen HWZ im Körper kann bei dieser Methode im Herstellungsprozess das Verhältnis zwischen signalsteigernder und signalmindernder Wirkung des Endproduktes beeinflusst werden. Damit eröffnet sich elektrostatisch stabilisierten Eisenoxidnanopartikeln aufgrund

ihrer langen HWZ und der Steuerbarkeit der Signalbeeinflussung - im Vergleich zu den herkömmlichen Partikeln - ein erweitertes Anwendungsgebiet. Zudem zeigte sich in der präklinischen Vorarbeit im Vergleich zu Kontrastmitteln mit polymeren Beschichtungen eine sehr gute Verträglichkeit [50].

<b>Tabelle 2.2 Auflistung einiger intravenöser SPIO und deren Partikeleigenschaften. Zum Vergleich dazu sind ein makromolekulares Gd-haltiges (Gadomer) und ein niedermolekulares, Gd-haltiges (Gadopentetat Dimeglumin, Gd-DTPA) Kontrastmittel mit aufgeführt.</b>					
Substanz	Partikelgröße	Hüllmaterial	T <sub>1</sub> -Relaxivität (R <sub>1</sub> ) [l/(mmol*s)]	T <sub>2</sub> -Relaxivität (R <sub>2</sub> ) [l/(mmol*s)]	r <sub>1</sub> /r <sub>2</sub>
AMI-25	80 – 150 nm	Dextran	30	100	0,3
SHU 555 A	50 – 100 nm	Carboxydextran	25	164	0,15
AMI-227	20 – 40 nm	Dextran	31	78	0,39
AMI-228	ca. 18 nm	Carboxymethyldextran	35,3	64,8	0,54
NC100150	20 nm	Stärke/PEG	20	35	0,57
SHU 555 C	ca. 20 nm	Carboxydextran	18	41	0,44
Gadomer	35 kDa	-	18,7	29	0,64
Gd-DTPA <sup>1</sup>	0,7 kDa	-	4	6	0,66

### 2.6.3 Neuartiges citratstabilisiertes eisenhaltiges Kontrastmittel VSOP-C184

In der wissenschaftlichen Vorarbeit zu dieser Dissertation wurden verschiedene Kontrastmittel auf Eisenoxidbasis mit elektrostatischer Stabilisierung entwickelt. Dabei zeigte sich in präklinischen Studien eine gute Verträglichkeit und Wirksamkeit für die MRA. Die Entwicklung von VSOP-C184 bzw. deren Vorläufersubstanzen und deren präklinischen Studien wurden in verschiedenen Publikationen detailliert dargelegt [18-20, 51-55].

Der Prüfsubstanz VSOP-C184 und deren Vorläuferpartikel sind die elektrostatische Stabilisierung mit monomerem Citrat, dem Salz der Zitronensäure gemeinsam. Der monomeren Substanz Citrat wurde der Vorzug gegeben, da es sich um einen körpereigenen Stoff handelt, der metabolisiert werden kann. Analytische Untersuchungen zu Beginn der Entwicklung von VSOP zeigten eine hohe Stabilität der Eisenoxid-Citrat-Partikel bei einer geringen Partikelgröße unter 10 nm. Während des Herstellungsprozesses mit Citrat kann die Gesamtpartikelgröße zwischen 5 und 12 nm variiert werden. Zusätzlich kann während des Herstellungsverfahrens die galenische Formulierung durch Zusatz von Hilfsstoffen hinsichtlich pH und Osmolalität wesentlich beeinflusst werden. Diese genannten Variablen haben zudem erheblichen Einfluss auf die T1- und T2-Relaxivitäten und deren Verhältnis ( $r_1$  zu  $r_2$ ). Außerdem können über die Art der Herstellung die pharmakologisch-toxikologischen Eigenschaften beeinflusst werden. Im Wesentlichen sind dies die Bluthalbwertszeit, Organverteilung und akute Toxizität.

Mit VSOP-C91, einem Vorläufer der Prüfsubstanz VSOP-C184, lag bereits ein Blut-Pool Kontrastmittel auf der Basis von superparamagnetischen Eisenoxidnanopartikeln vor, welches bezüglich der physikalischen Eigenschaften (T1- und T2-Relaxivität) und Pharmakokinetik (Bluthalbwertszeit) weitgehend dem angestrebten Ziel entsprach. Mit dieser Variante wurde präklinisch erfolgreich eine ausführliche Untersuchung ihrer Wirksamkeit in der Equilibrium MR-Angiographie der Koronararterien durchgeführt. Zwar konnte präklinisch nachgewiesen werden, dass bereits VSOP-C91 eine lange intravasale HWZ aufweist und als Blut-Pool-Kontrastmittel geeignet ist, jedoch erfüllten die gefundenen toxikologischen Verträglichkeitsdaten nicht in vollem Umfang die hohen Forderungen (höchste nicht toxische Dosis  $> 5$  mmol Fe/kg). Der Syntheseweg der Vorläufersubstanz VSOP-C91 war mit einem erheblichen Aufwand verbunden, den es im weiteren Optimierungsprozess noch zu vereinfachen galt.

Vor Beginn klinischer Verträglichkeits- und Wirksamkeitsstudien wurden für VSOP-C184 eine entsprechende präklinische in vivo Charakterisierung unter Berücksichtigung der ICH Richtlinien an Ratten und Schweinen durchgeführt. Dabei zeigte sich, dass die Prüfsubstanz tierexperimentell gut verträglich und nicht toxisch ist. Außerdem ergab sich kein Anhalt für mutagene Veränderungen [23].

Das untersuchte Kontrastmittel VSOP-C184 wurde von der Firma Ferropharm in Teltow, Deutschland in Zusammenarbeit mit dem Institut für Radiologie der Charité, Cam-

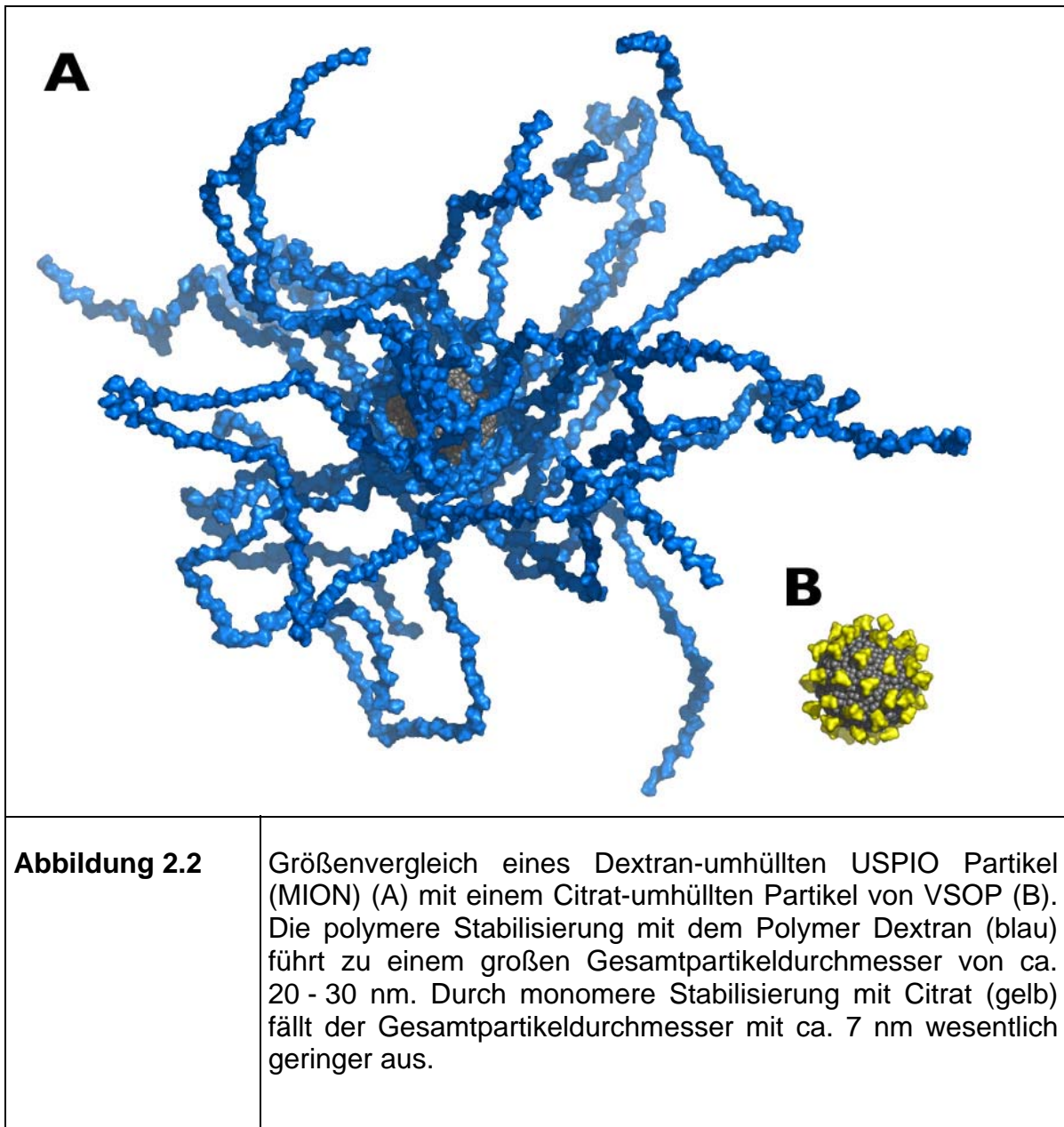
pus Mitte entwickelt. Für die Entwicklung von VSOP-C184 durch Ferropharm und dem Abschluss der Verträglichkeitsstudie Phase I in Kooperation mit der Radiologischen Abteilung des Campus Charité Mitte Berlin wurden drei Jahre eingeplant.

### **2.6.3.1 Chemische Zusammensetzung**

VSOP-C184 ("C" für Citrat coated und 184 für die 184. Variante citratummantelter Partikel) besteht aus einer wässrigen Lösung zitratummantelter, superparamagnetischer Eisenoxidpartikel. Die Konzentration der aktiven Substanz (Megluminsalz des nanopartikulären Eisenoxid-Citrat-Komplexes) betrug 27,9 g Fe/L, entsprechend 0,5 mol Fe/L, eine Osmolalität von 389 mOsm/kg H<sub>2</sub>O und einen pH von 7,0.

Da Untersuchungen gezeigt haben, dass die Eignung von SPIO als Kontrastmittel zur MR-Angiographie mit abnehmendem hydrodynamischem Durchmesser zunimmt [16], wurde die Prüfsubstanz monomer elektrostatisch stabilisiert. Durch dieses Verfahren konnte der Durchmesser des Kernes von VSOP-C184 auf 4 nm und der hydrodynamische Durchmesser des Partikels auf 7,1 nm gesenkt werden, wie durch Transmissions-Elektronenmikroskopie und Laserlichtzerstreuungstechnik ermittelt wurde [23]. Damit erscheint VSOP-C184 wesentlich kleiner als dies durch polymere Beschichtung erreichbar ist (Größenvergleich siehe Abb. 2.2).





### 2.6.3.2 Magnetische Eigenschaften und Pharmakokinetik von VSOP-C184

Bei der Entwicklung eines eisenoxidhaltigen monomer-elektrostatisch stabilisierten Kontrastmittels wurde nach einem Partikel gesucht, das folgende Eigenschaften in sich vereint:

- Hydrodynamischer Durchmesser < 10 nm
- $r_1/r_2$  bei 0,94T > 0,45
- Blut HWZ > 20 min
- Höchste nicht toxische Dosis > 5 mmol Fe/kg

Es ist bekannt, dass die Relaxationszeiten aller MR-Kontrastmittel von der umgebenden Feldstärke abhängen [56]. Daher wurden die Relaxationszeiten von VSOP-C184 mit Hilfe von Standard Mess- und Analysemethoden unter Einwirkung von verschiedenen Feldstärken ermittelt (demineralisiertes Wasser, Feldstärke von 0,94 T, 37° Celsius). Die T1- und T2-Messungen wurden in demineralisiertem Wasser an einem 10 MHz Minispec PC 10 Bruker, einem 20 MHz Minispec PC 20 Bruker und bei 60 MHz an einem Minispec PC 60 Brukergerät unter Verwendung einer Standard-Inversion-Recovery-Sequenz für T<sub>1</sub> und einer Carr-Purcell-Meiboom-Gill Sequenz für T<sub>2</sub> durchgeführt. Die Werte bei 300 MHz wurden an einem Bruker AMX-300 Spektrometer akquiriert (Bruker, Karlsruhe, Germany).

<b>Tabelle 2.3:</b>	<b>Gemessene Relaxivitäten von VSOP-C184 Charge 050701 bei vier verschiedenen Feldstärken</b>			
	0,24 T (10 MHz)	0,47 T (20 MHz)	1,4 T (60 MHz)	7 T (300 MHz)
r <sub>1</sub> [l/(mmol*s)]	18,79	18,70	13,97	3,48
r <sub>2</sub> [l/(mmol*s)]	27,15	30,02	33,45	34,17
r <sub>1</sub> /r <sub>2</sub>	0,69	0,62	0,42	0,10
Anmerkung:	Diese Daten wurden in der Arbeitsgruppe von Prof. R.N. Muller, Mons, bestimmt.			

### 2.6.3.3 Elimination

In vorangegangenen tierexperimentellen Studien wurde gezeigt, dass die Elimination von VSOP, wie auch bei den bereits zugelassenen SPIO, über das Phagozytose-System des RES stattfindet. Die in der klinischen Verwendung eingesetzte Menge an Kontrastmitteln ist mit etwa 0,01 bis 0,05 mmol Fe/kg im Vergleich zum körpereigenen Fe-Pool gering und macht etwa 5-10% der Gesamteisenmenge aus. Das beim Abbau

frei werdende Eisen wird dem Fe-Kreislauf des Organismus zugeführt [57]. Sollten die Eisenspeicher überfüllt sein, scheidet der Körper das überschüssige Eisen aus.