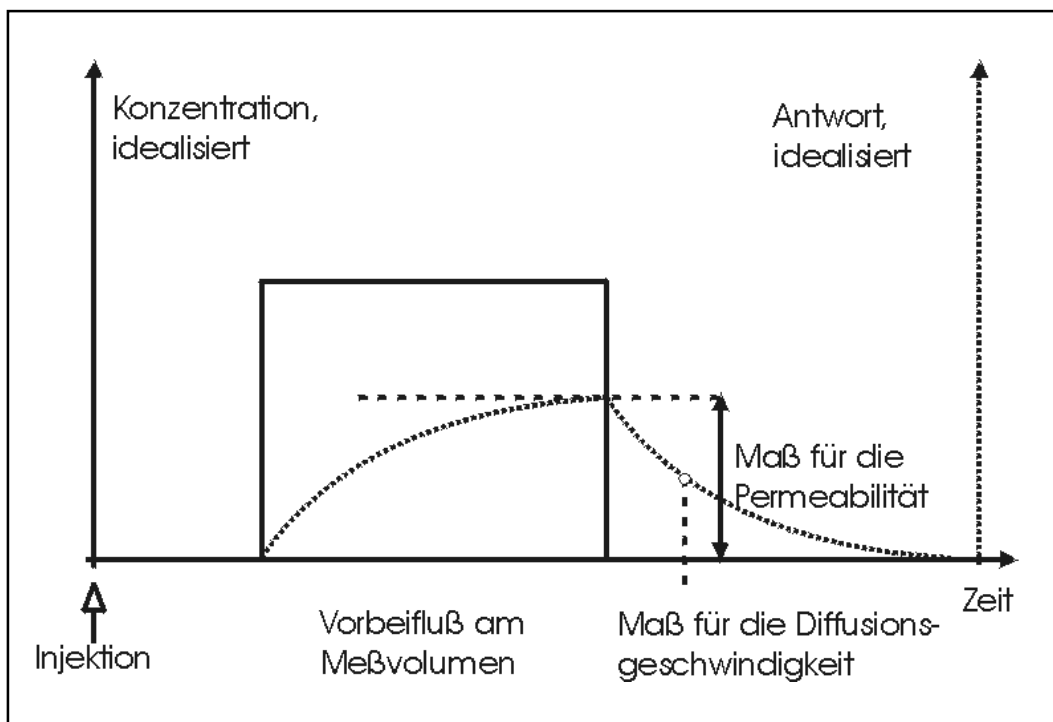


MR-Perfusionsmessungen an experimentellen Hirntumoren

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung der Doktorwürde



vorgelegt von

Dipl.-Phys. Claudia Diekmann

aus Helmstedt

vom Fachbereich Physik
der Freien Universität Berlin
genehmigte Dissertation
im Juni 2001

Tag der Disputation: 17.07.2001

Fachbereich Physik der Freien Universität Berlin

Betreuer: Dr. med. Claus Zimmer

1. Gutachter: Prof. Dr. rer. nat. Klaus D. Kramer

2. Gutachter: Prof. Dr. rer. nat. Herbert Rinneberg

Wahrscheinlich darf man ganz allgemein sagen, daß sich in der Geschichte des menschlichen Denkens oft die fruchtbarsten Entwicklungen dort ergeben haben, wo zwei verschiedene Arten des Denkens sich getroffen haben. Diese verschiedenen Arten des Denkens mögen ihre Wurzeln in verschiedenen Gebieten der menschlichen Kultur haben oder in verschiedenen Zeiten, in verschiedenen kulturellen Umgebungen oder verschiedenen religiösen Traditionen. Wenn sie sich nur wirklich treffen, d.h., wenn sie wenigstens so weit ineinander in Beziehung treten, daß eine echte Wechselwirkung stattfindet, dann kann man darauf hoffen, daß neue und interessante Entwicklungen folgen.

Werner Heisenberg

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
2	Medizinische Einführung	6
2.1	Angiogenese	6
2.1.1	Tumorangiogenese	6
2.1.2	WHO-Grading von Gliomen	7
2.1.3	Morphologie	8
2.1.4	Visualisierung der Angiogenese	11
3	Die Grundlagen der Kernspinresonanz	12
3.1	Quantenmechanische Betrachtung des kernmagnetischen Momentes im äußeren Magnetfeld	12
3.1.1	Der Zeeman-Effekt	13
3.2	Molekulare Wechselwirkungen	14
3.2.1	Spin-Rotation-Wechselwirkung	15
3.2.2	Dipol-Dipol-Wechselwirkung	15
3.2.3	Skalare Kopplung	16
3.2.4	Chemische Verschiebung (Chemical Shift)	16
3.2.5	Quantenmechanische Betrachtung der Relaxionsmechanismen	18
3.3	Klassische Betrachtung der Magnetisierung im äußeren Magnetfeld	19
3.3.1	Die Boltzmann-Verteilung	19
3.3.2	Der Magnetisierungsvektor	20
3.3.3	Die Bloch'schen Gleichungen	21
3.3.4	Die Bloch'schen Gleichungen im Laborsystem	21
3.3.5	Die Bloch'schen Gleichungen im rotierenden System	22
3.3.6	Ideale Pulsanregung	23
3.4	Relaxationsprozesse	25
3.4.1	Die longitudinale Relaxationszeit T_1	25
3.4.2	Die transversale Relaxationszeit T_2	27
3.5	NMR-Bildgebung	28
3.5.1	Ortskodierung	30

3.5.2	Phasenkodierung.....	31
3.5.3	Point-Spread-Funktion	32
4	Methoden zum Bolustrack-Verfahren.....	35
4.1	Blutflußphysiologie	36
4.2	Bolustrack-Verfahren.....	38
4.2.1	Kontrastmittel.....	39
4.2.1.1	Paramagnetische Substanzen.....	40
4.2.1.2	Superparamagnetische Substanzen.....	43
4.2.1.3	Einsatzgebiete der Kontrastmittel: Hepatobiliäre Kontrastmittel	43
4.2.1.4	Einsatzgebiete der Kontrastmittel: Makromolekulare Kontrastmittel	44
4.2.2	Kontrast	44
4.2.2.1	Bildkontraste bei der Spin-Echo-Sequenz.....	44
4.2.2.2	Bildkontraste bei der Gradienten-Echo-Sequenz	45
4.2.3	Pharmakokinetik	48
4.2.3.1	Durchblutungsmodell nach Kety.....	48
4.2.3.2	Rezirkulationseffekte.....	50
4.2.3.3	Permeabilität.....	51
4.2.3.4	Quantifizierung.....	56
5	Material und Methoden.....	57
5.1	Tiermodell	57
5.2	Tumormodell	57
5.3	Anästhesie und Medikation.....	58
5.4	Kontrastmittel.....	58
5.4.1	Gd-DTPA.....	58
5.4.2	Gadomer-17.....	59
5.4.3	DDM 128.....	59
5.5	NMR-System.....	60
5.6	Software.....	64
5.7	Sequenzen.....	65

5.8	Experimente.....	67
5.8.1	Phantommessungen.....	67
5.8.2	Dynamische Messung an experimentellen Hirntumoren unter Verwendung der Kontrastmittel Gd-DTPA und Gadomer-17: Auswertung nach dem Weissleder-Modell	68
5.8.3	Dynamische Messung an experimentellen Hirntumoren unter Verwendung des Kontrastmittels DDM 128	68
5.8.4	Dynamische Messung an experimentellen Hirntumoren unter Verwendung des Kontrastmittels Gd-DTPA.....	69
5.8.5	Dynamische Messung an experimentellen Hirntumoren unter Verwendung des Kontrastmittels Gadomer-17	69
5.8.6	Eigene Modellentwicklung.....	69
5.8.7	Histologie und Korrelation mit MR-Ergebnissen.....	73
6	Ergebnisse.....	77
6.1	Phantommessungen.....	77
6.1.1	DDM 128.....	77
6.1.2	Gd-DTPA.....	78
6.1.3	Gadomer-17.....	79
6.2	Dynamische Messung an experimentellen Hirntumoren unter Verwendung der Kontrastmittel Gd-DTPA und Gadomer-17: Auswertung nach dem Weissleder-Modell	80
6.3	Dynamische Messung an experimentellen Hirntumoren unter Verwendung des Kontrastmittels DDM 128.....	82
6.4	Dynamische Messung an experimentellen Hirntumoren unter Verwendung des Kontrastmittels Gd-DTPA	85
6.5	Dynamische Messung an experimentellen Hirntumoren unter Verwendung des Kontrastmittels Gadomer-17.....	87
6.6	Histologie und Korrelation mit MR-Ergebnissen.....	89
6.7	Fehlerbetrachtung	91
7	Diskussion und Zusammenfassung der Ergebnisse.....	93

8	Literaturverzeichnis	97
9	Anhang	102
9.1	Abkürzungsverzeichnis aus Abb. 5.1	102
9.2	Auswerteprogramm	103

7 Diskussion und Zusammenfassung der Ergebnisse

Zu den gestellten Fragen von Tumormorphologie, Tumorgading und Tumorkontrolle kann die Antwort über die Kombination von Biopsie und Histologie gefunden werden. Kann der Einsatz des nicht-invasiven Verfahrens der Kernspintomographie diese Fragen ebenfalls beantworten?

Im Rahmen der durchgeführten Arbeiten hat sich gezeigt, daß das neu entwickelte und angewandte Modell ein durchaus zuverlässiges und robustes Verfahren zur Berechnung der vaskulären Parameter CBV, interstitielles Volumen, Zellvolumen und Permeabilität darstellt. Wie schon in Kapitel 4 dieser Arbeit angeregt wurde, sind viele Modelle zur Berechnung des relativen Blutvolumens bzw. der Permeabilität möglich. Dazu werden die magnetische Markierung und die Bolustrack-Methode gezählt.

Daß die Methode der magnetischen Markierung für die Beantwortung der hier wiederholten Fragestellung aufgrund eines schlechten Signal/Rausch-Verhältnisses nicht anwendbar ist, wurde bereits ausgeführt. Zudem gestatten die Ergebnisse keine Schlüsse auf die Rolle der Selbstdiffusion.

Das Bolustrack-Verfahren beruht auf einer Applikation eines als Bolus verabreichten Kontrastmittels. Die Signaldetektion wird im Allgemeinen durch die Anwendung einer schnellen T_2^* -gewichteten Sequenz realisiert. Die erfaßte Signal-Zeit-Kurve wird durch das bekannte Signal-Kontrastmittel-Verhalten in einen Kontrastmittel-Zeit-Verlauf konvertiert, mit dessen Hilfe es möglich ist, oben genannte physikalische Parameter zu berechnen, die den Tumor zu charakterisieren vermögen. Die Anwendung dieser Methode ist beschränkt auf Untersuchungen von Geschwülsten mit intakter Blut-Hirn-Schranke, weil nur dann der Effekt der longitudinalen Relaxationszeit vernachlässigt werden kann. Im Fall einer Blut-Hirn-Schrankenstörung wird die T_1 -Zeit signifikant verkürzt und aus der Benutzung der T_2^* -Technik resultieren erhöhte CBV-Werte (94), (95), (40). Andere Modelle vernachlässigen vollständig den Effekt der Extravasation in das interstitielle Kompartiment, was unvermeidbar zu erhöhten CBV-Werten führt und Bereiche mit unauffälligen CBV-Werten aber erhöhter Permeabilität ignoriert (8). Daher ist die Benutzung einer T_1 -Technik vorteilhafter. Der aber aus jüngsten Veröffentlichungen ablesbare Drang zu immer höheren Feldstärken läßt sich durch Einsatz dieses Verfahrens nicht erklären, da mit der Feldstärke auch die Relaxationszeiten steigen. Um dennoch einen guten Kontrast zu erreichen, muß deutlich länger akquiriert werden. Doch viele hier zitierte Veröffentlichungen stellen Ergebnisse bei

Feldstärken von mehr als 4,7 T vor und müssen dabei mindestens schlechte Kontraste in Kauf nehmen, wenn sie der zeitlichen Auflösung genügen wollen. Die Folge wäre auch hier, daß neue Kontrastmittel entwickelt werden müssen, die aufgrund einer höheren Konzentration der molaren Lösung die Relaxationszeiten stärker verkürzen.

Neben der die Gefäßstruktur beschreibenden Größe des CBVs, um ein Tumorgrading durchführen zu können, werden in neuen Publikationen als Hauptkriterium für diesen Zweck die Messungen der mikrovaskulären Permeabilität herangezogen (6). Viele dieser Modelle machen Aussagen über die Permeabilität bzw. über das Permeabilitätsflächenprodukt PO. Aus der Berechnung dieses Produktes kann man aber nicht auf die Gefäßarchitektur schließen und Areale mit kleinen Gefäßen und hoher Permeabilität können mit Arealen mit wenigen großen Gefäßen und niedriger Permeabilität verwechselt werden. Zudem weisen die meisten benutzten Meßsequenzen eine viel zu geringe zeitliche Auflösung auf (mehrere Sekunden), um aufgrund der Form des Signalanstiegs korrekte Rückschlüsse auf diese vaskuläre Größe ziehen zu können (67). Das ist exakt der Grund dafür, daß in dieser Arbeit eine neue Methode etabliert wurde, bei der das Permeabilitätsflächenprodukt aufgespalten wurde. Das Aufspalten des Permeabilitätsflächenproduktes in seine Faktoren und die Einführung eines gewichteten Mittels der Gefäßradien erlaubt eindeutigere Informationen über die vaskuläre Struktur.

Die vorliegende Arbeit befaßte sich damit, alternativ zu der diagnostischen Fragestellung der Tumormorphologie, Tumorgrading und Tumorkontrolle, deren Antworten bislang in der Histologie gefunden wurden, ein ausgesuchtes Verfahren der Kernspintomographie zu benutzen und weiterzuentwickeln. Das Verfahren der Bolustrack-Methode ist diesbezüglich am erfolgversprechendsten, da es durch die Ermittlung von physikalischen Eigenschaften wie Permeabilität und Diffusion vermag, quantitative Aussagen über den Tumor zu erstellen. Zu diesem Zweck wurde ein experimentelles Tumormodell an Ratten ausgewählt, welches im Grade zunehmenden Wachstums erhöhte Vaskularisation und erhöhte Permeabilität der Blutgefäßwände aufweist.

Ein einfaches, in der Literatur beschriebenes, Modell von Weissleder wurde verwendet, um sich in die Thematik der Kernspintomographie und des Bolustrack-Verfahrens einzuarbeiten. Die ungenügende Zeitauflösung und die Annahme, daß das Signal S direkt proportional zur Relaxationszeit T_1 sei und daraufhin direkt auf ein Volumen geschlossen werden könne, ergaben unbefriedigende Ergebnisse.

Weitere Untersuchungen wurden mit drei Kontrastmitteln unterschiedlicher Größe und unterschiedlichem magnetischen Verhalten durchgeführt, um die dadurch ermittelten

Ergebnisse miteinander korrelieren zu können. Dabei handelte es sich um Eisenoxidpartikel (DDM 128), welche hauptsächlich die T_2 -Zeit verkürzen und um die zwei paramagnetischen Substanzen Gadomer-17 und das im klinischen Einsatz befindliche Kontrastmittel Gd-DTPA, deren Haupteffekt die Verkürzung der T_1 -Zeit darstellt. Zur Signaldetektion wurden eine T_2^* -gewichtete und eine T_1 -gewichtete Snapshot-FLASH-Sequenz mit einer zeitlichen Auflösung von einer Sekunde an einem 2,4 T Tomographen optimiert. Für die Auswertung wurde ein Modell entwickelt, welches im Gegensatz zu bisher publizierten Modellen vermag, die Permeabilität der pathologischen Blutgefäße im Tumor quantitativ zu bestimmen. Zu diesem Zweck wurden Informationen aus der Histologie dieses definierten experimentellen Tumors in das Modell integriert. Das in der Literatur beschriebene Permeabilitätsflächenprodukt wurde aufgespalten, indem die Oberfläche dieses Produktes durch eine die Gefäßform beschreibende Zylinderoberfläche substituiert wurde. Diese Zylinderoberfläche wurde mit einem aus der Histologie ermittelten gewichteten Mittel des Gefäßradius angegeben.

Die Auswertungen der Messungen mit dem Kontrastmittel DDM 128 ergaben Parameterbilder des zerebralen Blutvolumens. Die Berechnung der Permeabilität war aufgrund der hohen Molarmasse und der daraus resultierende Größe des Komplexes nicht möglich. Ferner genügte die berechneten Maps nicht den quantitativen Ansprüchen, da die Molarmasse, aufgrund der sich variierenden Größe der die Partikel umgebenden Hydrathülle, eine Gaußverteilung aufweist, kleinere Partikel also extravasieren könnten. Andererseits ist man aufgrund der magnetischen Eigenschaft dieses Kontrastmittels auf die Benutzung einer T_2^* -gewichteten Sequenz beschränkt, wodurch nachweislich höhere CBV-Werte berechnet wurden (94), (95), (40).

Die Beschreibung der vaskulären Parameter hängt eng mit der Partikelgröße der applizierten Kontrastmittel zusammen. Wenn die Partikel zu klein sind, ist eine Separation der einzelnen Kompartimente aufgrund der zu schnellen Extravasation, wie mittels Gd-DTPA an diesem Tumormodell gezeigt wurde, nicht möglich. Wenn die Partikel allerdings zu groß sind, können sie unter Umständen nicht extravasieren und eine trotz gestörter Blut-Hirn-Schranke mögliche Permeabilität ist nicht detektierbar. Für die quantitative Analyse von vaskulären Parametern sind Kontrastmittel von größerer Molmasse mit längerer Zirkulationszeit nützlich, um den First Pass Effekt zu minimieren. Daher werden neue Kontrastmittel für die Kernspintomographie benötigt, wie zum Beispiel die Messungen mit Gadomer-17 zeigten. Mit diesem Kontrastmittel gelang es, quantitative Parameterbilder des vaskulären Volumens, des Zellvolumens, des interstitiellen Volumens und der Permeabilität zu berechnen. Die Überprüfung dieser Berechnungen erfolgte mittels histologischer Untersuchungen. Es mußte

sich in dieser Arbeit darauf beschränkt werden, nur die Werte des CBVs mit denen der Histologie zu vergleichen, weil die Beschreibung der Permeabilität mit histologischen Möglichkeiten mit großen Schwierigkeiten und großem Aufwand verbunden ist. Die Korrelation basierte auf einer pixelweisen Auswertung der CBV-Werte einiger zufällig ausgewählter mikroskopischer Gesichtsfelder. Die schon augenscheinlich erkennbare Korrelation wurde mit dem χ^2 -Test überprüft und zeigte eine geringe Irrtumswahrscheinlichkeit.

Natürlich muß die neu erarbeitete Methode dennoch mit Vorsicht behandelt werden, denn trotz allem obliegt es dem Mediziner, die Daten zu interpretieren.

Mit geeigneten Methoden können somit Unterschiede zwischen Tumor und gesundem Hirngewebe auch im kleinen Tiermodell mit dynamischen Perfusionsmessungen nachgewiesen werden. Quantitative Informationen über die Größe des vaskulären Volumens und die Permeabilität der Blutgefäßwände eröffnen neue Möglichkeiten für diagnostische (*in vivo*-Grading) und therapeutische Zwecke (Antiangiogenetische Therapie). Das in dieser Arbeit entwickelte Verfahren kann in Zukunft vielleicht sogar dem Anspruch genügen, ein Alternativverfahren zur Biopsie und Histologie darzustellen und ist in jedem Fall einer computertomographischen Untersuchung, welche mit einer hohen Strahlenexposition verbunden ist, vorzuziehen.

12 Curriculum Vitae

Name: Diekmann, Claudia
Geburtstag: 24.07.1971 in Helmstedt
Nationalität: deutsch
Eltern: Peter und Cornelia Diekmann, geb. Ramm

1984–1991 Gymnasium Julianum: Helmstedt
1991–1994 Studium der Physik: Universität Kaiserslautern
Grundstudium Physik mit Nebenfach Biologie
(Tierphysiologie), Vordiplom 1994
1994–1998 Studium der Physik: Freie Universität Berlin
Hauptstudium mit Nebenfach Medizinische Physik:
Diplom 1998
1998–2000 Aufbaustudiengang Medizinische Physik: Humboldt-
Universität zu Berlin: Abschluß: Fachanerkennung als
Medizinphysikerin: Zertifikat
1998–2001 Tätigkeit im Rahmen der Promotion in der
Forschungsgruppe Dr. C. Zimmer an der Charité Berlin,
gefördert durch die DFG.