

# 1 Einleitung und Problemstellung

Tumorerkrankungen stellen nach den Herz- Kreislauf- Erkrankungen die zweithäufigste Todesursache in den Industrienationen dar. Die möglichen Therapieansätze sind in den letzten Jahren immer weiter verbessert worden, die Überlebensraten einiger Tumorerkrankungen konnten dadurch erheblich verlängert werden.

Eine akkurate und optimale Therapie setzt immer eine frühe und eindeutige Diagnose voraus. Dabei spielt nicht nur die Erkennung des Primärtumors eine große Rolle. Auch die Existenz von Metastasen in regionalen Lymphknoten sowie Fernmetastasen müssen beurteilt werden, um die erfolgsversprechenste Therapie zu bestimmen.

Die sichere Lymphknotendiagnostik bereitet dabei eminente Schwierigkeiten. Zwar stellt die reine Darstellung der meisten Lymphknoten aufgrund der neuen Schnittbildverfahren nicht das Hauptproblem dar, Probleme bereitet aber die Beurteilung der Binnenstrukturen hinsichtlich Metastasen.

Diagnosekriterium ist zur Zeit nur eine eventuelle Größenzunahme. Daher bleiben vor allem Mikrometastasen in nicht vergrößerten Lymphknoten eine Herausforderung für die Diagnostik, da diese mit den heutigen bildgebenden Verfahren nicht zu erkennen sind.

Die native Magnetresonanztomographie gelangt hier trotz der exzellenten Weichteilauflösung an ihre Grenzen. Einen Ausweg aus der problematischen Diagnostik sollen neue, Lymphknoten spezifische Kontrastmittel bieten, die zur Zeit weltweit erforscht und weiterentwickelt werden. Mit diesen Kontrastmitteln soll das funktionell intakte Lymphknotengewebe kontrastiert werden, zusätzlich kann präoperativ die Lage des Lymphknotens durch dreidimensionale Bildverarbeitung exakt bestimmt werden.

Die Kontrastmittel, die für die Lymphknotendiagnostik in der Magnetresonanztomographie verwendet werden, bestehen meist aus einem Eisenoxidkern mit einer biokompatiblen Hüllschicht. Sie bieten zudem den Vorteil einer geringen Toxizität, die Abbauprodukte werden in den körpereigenen Eisenpool eingebaut.

Das Kontrastmittel reichert sich in den Makrophagen des gesamten mononukleären Phagozytensystems an, kontrastiert somit nicht nur Lymphknoten, sondern z. B. auch Milz und Leber. Bisherige Eisenoxidpräparationen für die Lymphknotendiagnostik sind mit Polymeren (z. B. Dextran) stabilisiert.

Im Gegensatz dazu sind die in dieser Arbeit untersuchten Eisenoxidpartikel mit einer monomeren Hülle aus Zitrat galenisch stabilisiert. Dieses Eisenoxid- Kontrastmittel (VSOP-C144T) soll auf seine Effektivität in der Lymphknotendarstellung untersucht werden.

Zusätzlich sollen Informationen über den Abbau der Substanz in den Lymphknoten, sowie Leber, Milz und Knochenmark gewonnen werden.

Das etablierte Modelltier Ratte erleichtert den Vergleich mit anderen Substanzen.

## **2 Grundlagen und Literaturübersicht**

### **2.1. Lymphsystem**

Das Lymphsystem der Säugetiere besteht aus zwei unterschiedlichen Einheiten, aus Lymphgefäßen, die in Kapillaren, Gefäße und Sammelgänge unterteilt werden, und in das Lymphgefäßsystem eingeschalteten Lymphknoten.

#### **2.1.1. Lymphgefäße, Zirkulation und Kreislauf**

Das Lymphgefäßsystem beginnt blind mit den Lymphkapillaren im Bindegewebe, die nur ein einschichtiges, verzahntes, lückenhaftes Endothel besitzen. Sie haben die Form von ballonartigen Sinusstrukturen. Eine Basalmembran fehlt größtenteils. Die zarten, stark dehnbaren Kapillaren werden mit Gitterfasern (Retikulinfasern) im Bindegewebe befestigt und gestützt. Bei Schwellung im Bereich des interstitiellen Gewebes führt der Zug an den Gitterfasern zu einer Weitstellung der Lymphkapillaren. Die extrazelluläre Matrix dient dabei als Stützgerüst und Vorfilter (CASTENHOLZ, 1998). Schon im Bereich des weit verzweigten Kapillarnetzwerkes treten paarige Klappen auf. Weiter gehen die Kapillaren in die Lymphgefäße über. Auch diese verlaufen weit verzweigt, streckenweise parallel und mit zahlreichen Anastomosen.

Die Lymphgefäße, die größtenteils parallel zu den Blutgefäßen verlaufen, zeigen eine durchgehende Basalmembran, Klappen und im weiteren Verlauf auch glatte Muskulatur, die bis in die Klappen reicht. Die Stärke der Muskelschicht richtet sich nach dem Lumen der Gefäße. Die Muskelzellen verankern sich über elastische Fasern mit der Umgebung.

Die Lymphgefäße gehen in die mit zahlreichen Klappen ausgestatteten Lymphsammelgänge über, deren Struktur streckenweise der Dreischichtigkeit der Blutgefäße ähnelt. Der Lymphsammelraum (Cisterna chyli) nimmt den Inhalt der kaudalen Lymphgefäße auf und mündet als Ductus thoracicus (Milchbrustgang) in den linken Venenwinkel, während der rechte Venenwinkel die Lymphsammelgänge der kranialen Körperregion und der Schultergliedmaße aufnimmt (BERG, 1993).

Der Transport der Lymphe wird zum einen durch Kontraktion der Lymphgefäße, zum anderen durch äußere Faktoren wie Arterienpulsation und Kontraktion der umliegenden Skelettmuskulatur gewährleistet.

### 2.1.2. Lymphknoten

Als Lymphknoten wird lymphatisches Gewebe bezeichnet, das über ab- und zufließende Lymphgefäße in den Lymphkreislauf eingeschaltet ist. Lymphknoten sind oberflächlich von einer bindegewebigen Kapsel überzogen, die von zahlreichen afferenten Gefäßen durchbohrt wird. Diese entlassen die Lymphe in den subkapsulären Sinus (Marginalsinus), der mit dem Sinussystem in Verbindung steht. Der Marginalsinus geht in die Intermediärsinus über, welche die senkrecht von der Kapsel in die Tiefe ziehenden, bindegewebigen Trabekel begleiten. Diese sammeln sich im Marksinus (Medullarsinus), einem weit gekammerten Kavernensystem, von dem aus die Lymphe gesammelt über die efferenten Lymphgefäße den Lymphknoten wieder verläßt. Der Lymphabfluß erfolgt am Hilus, an dem auch die Blutgefäße ein- und austreten (LIEBICH, 1993).

- Funktionelle Unterteilung

Das *Sinussystem* ist mit modifizierten Retikulumzellen ausgekleidet und kommuniziert über zahlreiche Spalten mit dem umgebenden lymphatischen Gewebe. Die Sinus werden von Retikulinfasern kreuz und quer durchzogen. Im Lumen der Sinus selbst befinden sich Makrophagen des Mononukleären Phagozytensystems (MPS), die sich bei Bedarf stark vermehren und zahlreiche Zellausläufer bilden (Sinushistiozytose).

Zwischen den bindegewebigen Trabekeln, die das Stützgewebe des Lymphknotens darstellen, ist ein Netzwerk von Retikulinfasern und Retikulumzellen ausgebildet, dessen Maschen von den funktionellen Zellen des lymphatischen Gewebes ausgefüllt werden. In den unterschiedlichen Zonen des Lymphknotens sind die verschiedenen Zellen unterschiedlich stark vertreten, wodurch sich die Areale funktionell und morphologisch differenzieren lassen.

Der *Markstrang* (Medulla) besteht aus Lymphozyten, Makrophagen, Plasmazellen und einigen Granulozyten, zwischen denen Blutgefäße verlaufen. Nach Stimulation des Immunsystems treten Plasmazellen vermehrt auf (Plasmozytose). Die subkapsuläre Rindenzone wird vorwiegend von B- Zellen bevölkert, die sich zu Lymphfollikeln konzentrieren. Die Follikel (*Kortex*) werden je nach Aktivitätszustand als Primär- oder Sekundärfollikel bezeichnet. Um die Lymphfollikel herum und als Zwischenzone zum Mark befindet sich die T- Zell Zone, der *Parakortex*. Auch die parakortikale Zone verbreitert sich im Zuge einer Immunantwort.

Im Parakortex befinden sich auch die hochendothelialen Venulen (HEV). Sie stellen postkapilläre Venulen mit einem hohen, meist kubischen Endothel dar. Die Endothelzellen der HEV besitzen an ihrer luminalen Seite Glycoproteinrezeptoren, die für die spezifische Bindung von Lymphozyten zuständig sind. Dieses Andocken ist der erste Schritt eines als Lymphozyten- Homing bezeichneten Prozesses, während dessen im Blut zirkulierende Lymphozyten zwischen den Endothelzellen der HEV's durchwandern, um sich danach in den Parakortex bzw. Kortex zu begeben. Im ruhenden Lymphknoten verweilen sie dort für mehrere Stunden (4- 6 h bei Nagetieren), um danach über die Markstränge und die efferenten Lymphgefäße erneut zu rezirkulieren (Lymphozyten- Rezirkulation) (WEISS, 1983).

### **2.1.3. Funktion**

Das Lymphsystem hat zwei unterschiedliche Aufgaben zu erfüllen. Die bei Durchfluß durch das Blutkapillarbett zurückbleibende Flüssigkeit wird durch seine Gefäße dem Kreislauf wieder zugeführt. Gleichzeitig werden körperfremde Partikel sowie körpereigene, geschädigte Zellen zu den Lymphknoten als immunkompetente Organe abtransportiert, die zur Entsorgung der Partikel ausgerüstet sind.

- Filtration

Im Bereich des Blutkapillarbetts bilden die Endothelzellen Poren von 10 nm Durchmesser in den interzellulären Verbindungen, welche das Durchtreten von im Plasma gelösten Stoffen, sowie von Flüssigkeit ins Interstitium erlauben. Eine weitere Austrittsmöglichkeit bietet die Transzytose durch Endothelzellen, die auch bei größeren Partikeln vorkommt (PREDESCU und PALADE, 1993). Von der Flüssigkeit können nur 90% rückresorbiert werden, die restlichen 10% werden über den Lymphkreislauf zurückgeführt.

Die im Plasma gelösten Stoffe werden einerseits durch den Flüssigkeitsstrom mitgerissen (solvent drag), zu einem weit höheren Prozentsatz aber nach den Gesetzen der Diffusion mit dem Konzentrationsgefälle ausgetauscht (KLINKE und SILBERNAGL, 2001). Dies betrifft sowohl körpereigene als auch körperfremde Stoffe. Auch über Poren in venösen Mikrogefäßen ist ein Übertritt von Partikeln mittels Solvent Drag möglich, beschrieben wird dieser Mechanismus für Lipoproteine (LDL Fraktion) von 13- 15 nm Durchmesser (RUTLEDGE et al., 1995).

- Abwehr

Die **unspezifische Abwehr** von Partikeln mit Filtration der Lymphflüssigkeit und Phagozytose ist eine wichtige Aufgabe des Lymphknotens. Der durch querverlaufende Retikulinfasern verlangsamte Lymphfluß in den Sinus erhöht die Kontaktzeit mit den dort und im Mark wartenden Makrophagen. Diese nehmen sowohl körpereigene als auch körperfremde Partikel auf. Körpereigene Partikel können sowohl ganze Zellen (z. B. Erythrozyten, Tumorzellen) sein, als auch nur Teile von Zellen oder Stoffwechselprodukte. Unter körperfremde Partikel fallen Krankheitserreger, aber auch Eisenoxidpartikel, Rußteilchen und sonstige unbelebte Partikel. Aktivierte Makrophagen nehmen rasch an Größe und Anzahl zu, wodurch die Flußgeschwindigkeit weiter gesenkt wird (*Sinushistiozytose*) (WEISS, 1983).

Lymphknoten reagieren mit der **spezifischen Abwehr** vor allem auf regional vorkommendes Antigen, im Gegensatz zu anderen immunkompetenten Organen, z. B. der Milz, die vor allem auf im Blut zirkulierendes Antigen reagieren.

Zu den Antigen- präsentierenden Zellen zählen neben den interdigitierenden Zellen des Parakortex und den folliculären dendritischen Zellen des Kortex auch die Makrophagen der Medulla. Sie erkennen Antigen, nehmen es auf und stellen es auf ihrer Oberfläche dar. Durch die Präsentation von Antigen kommt es zu einer Stimulation und Aktivierung von T- und B-Lymphozyten. Sekundärfollikel bildet sich aus (ab dem 5. Tag) und der *Parakortex* verbreitert sich (Hyperplasie des Parakortex). Während T- Zell- Abkömmlinge zur zellulären Abwehr gehören, gehen aus den B- Zellen des *Kortex* die Vorläufer der Plasmazellen (humorale Abwehr) hervor. Diese wandern unter massiver Produktion von Antikörpern in die Markstränge aus, um dort endgültig zu Plasmazellen zu proliferieren (*Plasmozytose*). Für etwa 2 Wochen bilden sie dort Antikörper, allerdings weniger als ihre Vorläufer. Die Antikörper immobilisieren, agglutinieren bzw. lysieren Erreger. Den Freßzellen wird dadurch die Arbeit erleichtert, die Phagozytoserate steigt.

Die aktivierten Lymphozyten produzieren derweil Lymphokine, die für die Aktivierung anderer Zellen, sowie für die erhöhte Gefäßpermeabilität zuständig sind. Der Lymphknoten schwillt an. Die Aktivität des Lymphknotens reduziert sich nach erfolgreicher Bekämpfung des Fremdkörpers über die nächsten Wochen, die Sekundärfollikel bleiben über mehrere Wochen erhalten. Die B- und T- Gedächtniszellen rezirkulieren ebenso. Bei einem zweiten Kontakt ist die Antwort schneller und stärker, die histologisch sichtbaren Zeichen der Immunantwort bleiben wesentlich länger bestehen.

## 2.2. Lymphknoten der Ratte

### 2.2.1. Lymphsystem und Nomenklatur, Lage der Lymphknoten

Lage und Form der Lymphknoten bei der Weißen Ratte (*Rattus norvegicus* Berkenhout, *Epimys norvegicus*) wurden von MIOTTI (1965) zum ersten Mal ausführlich erforscht und beschrieben.

Die Weiße Ratte hat ca. 45-56 mit dem bloßen Auge bzw. der Lupe erkennbare Lymphknoten, das ist im Verhältnis zu anderen Tieren wenig. Dabei konnten keine Geschlechtsunterschiede festgestellt werden, während die Größe altersspezifisch variiert. Tiere im Alter von 4-6 Monaten haben die maximale Anzahl und Größe von Lymphknoten. Bei älteren Tieren sind Größe und Anzahl der Lymphknoten im Verhältnis zur Körpergröße geringer.

Die meisten Lymphknoten sind rundlich bis oval, teilweise auch nierenförmig, und in Fettgewebe eingebettet.

Folgende Lymphknoten wurden entnommen:

Die Bezeichnungen stammen der Publikation ‚The laboratory rat‘ von KOMÁREK (2000). In den Klammern stehen die Bezeichnungen nach MIOTTI (1965), wenn die Angaben nicht übereinstimmen.

Der oberflächliche *Lymphonodus mandibularis* (Lymphocentrum submentale) (1) besteht aus 2 apfelkerngroßen, konstanten Lymphknoten, die lateral der Medianebene auf oder zwischen der Gl. mandibularis, bzw. Gl. sublingualis liegen. Bis zu fünf hirsekorngroße Lymphknoten kommen zusätzlich vor, die kettenförmig laterokaudal der konstanten liegen und bis zur Teilungsstelle der V. jugularis ext. ziehen.

Der *Lymphonodus cervicalis profundus cran.* (2) ist längsoval und ca. 3-4 mm groß, er liegt lateral des ersten Luftröhrenringes auf Höhe der Teilungsstelle der V. jugularis int..

Der hanfkorngroße *Lymphonodus axillaris* (3) liegt medial von M. teres major und M. latissimus dorsi an den Vasa axillaria. Manchmal existiert kranial ein weiterer, stecknadelkopfgroßer Lymphknoten.

Als *Lymphonodi axillares accessorii* (4) werden die Lymphknoten bezeichnet, die in der Winkelnische von *M. latissimus dorsi* und *Caput longum* des *M. triceps brachii* im Fettpolster liegen, wobei nur der ventrale konstant vorkommt.

Im Fettgewebepolster der Kniefalte befindet sich der reiskorngroße, konstante *Lymphonodus subiliacus* (5), der auch leicht segmentiert sein kann. Zusätzlich können 1-2 etwa stecknadelkopfgroße Lymphknoten vorkommen.

Den stecknadelkopfgroßen *Lymphonodus popliteus* (6) findet man im Fettpolster in der Tiefe der Kniekehle.

Laterokranial der Endaufteilung der Aorta abdominalis und der V. cava caudalis liegen die konstanten *Lymphonodi iliaci mediales* (7) (*Lymphonodi lumbales*), es können bis zu 3 Einzellymphknoten vorkommen.

Die *Lymphonodi jejunales* bilden eine Lymphknotenkette entlang der Vasa mesenterica im jejunalen Gekröseabschnitt.

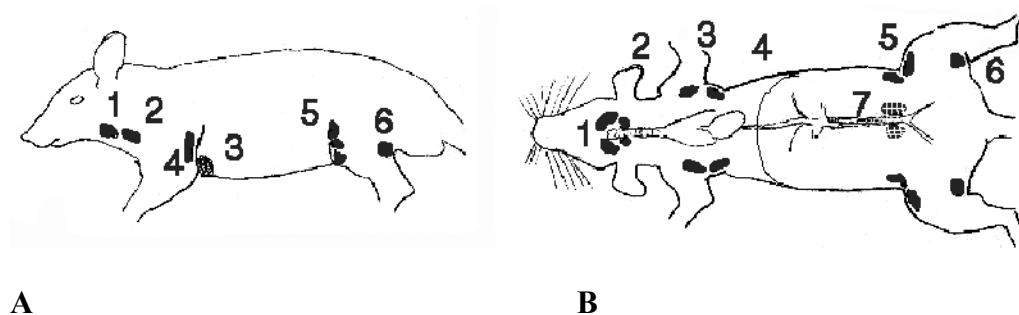


Abb. 1: Lage der entnommenen Lymphknoten bei der Ratte, laterale (A) und ventrale (B) Ansicht, Lymphknotenbezeichnungen entsprechend Text (1- 6 subkutane Lymphknoten; 7 innere Lymphknoten), Nr.3 liegt teils in der Achselhöhle, Nr.7 liegt in der Beckenhöhle (nach KOMÁREK, 2000)

### 2.2.2. Besonderheiten der Ratte

- Struktur

Bei der Ratte kommen Kurzschlüsse von afferenten und efferenten Lymphgefäßen eher in größeren Lymphknoten vor, was die Durchfluß- und Filtrationsrate beeinflusst (MIOTTI,



1965). Diese entstehen durch strukturelle Besonderheiten in der Lymphknotenarchitektur der Ratte.

Die in Kapitel 2.1. beschriebene Sinusarchitektur mit Unterteilung in Marginal-, Intermediär- und Marksinus ist bei der Ratte nicht einheitlich vorhanden. Vielmehr können 4 Untertypen beobachtet werden (SAINTE-MARIE et al., 1982). Dabei wird die Rinde durch verschieden stark segmentierte Einheiten aus tiefer (Parakortex) und peripherer (Kortex) Rinde definiert. Die Einheiten liegen jeweils unter der Einmündung eines afferenten Lymphgefäßes. Je nach Einflußmuster über die afferenten Lymphgefäße sind die Segmentierungen unterschiedlich stark. Bei Typ 1 sind weder Kortex noch Parakortex von Sinus unterbrochen. Der Lymphfluß zum Marksinus erfolgt ausschließlich über den Randsinus. Während Typ 2 wenige Segmentierungen aufweist, die Kortex und manchmal auch Parakortex unterbrechen und dort den Randsinus direkt mit Marksinus verbinden, zeigt Typ 3 eine Fülle solcher durchgehender Unterteilungen. Bei Typ 4 bilden Kortex, Parakortex und Mark mehr oder weniger eigenständige Komplexe, die jeweils getrennt von zuführenden Lymphgefäßen versorgt werden. Diese Besonderheiten bei der Ratte sorgen dafür, daß anströmende Partikel teilweise nicht mit dem ganzen Lymphknotenmark in Kontakt kommen, sondern nur mit den entsprechenden Segmenten. SAINTE-MARIE et al. (1982) postulierten, daß Typ 1 dominierend vorkommt, konnten aber hinsichtlich der Verteilung innerhalb einer Lymphknotengruppe oder eines Tieres keine Muster feststellen. Diese strukturellen Eigenheiten werden auch bei anderen Säugetieren vermutet (BELISLE und SAINTE-MARIE, 1981).

- Aktivität des Immunsystems

Selbst bei klinisch gesunden Tieren weisen die Lymphknoten einen uneinheitlichen Aktivitätszustand und unterschiedliche Mengenverhältnisse von Sinus zu Rinde auf. Auch Retikulumzellproliferation im Mark und Sinushistiozytose mit Erythrozytenphagozytose kommen in unterschiedlicher Intensität bei den Tieren vor (MIOTTI, 1965). Maximale Immunantworten können bei Ratten zu Beginn der Pubertät (Alter ca. 4 Wochen, rsp. 28 d) beobachtet werden. Danach nehmen mehrere Faktoren der zellulären Immunität bei weiblichen und männlichen Tieren ab (BILDER, 1975).

- Eosinophile Granulozyten

Eosinophile Granulozyten erkennen und phagozytieren Antigen- Antikörper- Komplexe. Besonders nach allergischen bzw. antiparasitären Reaktionen mit Bildung von IgE treten sie vermehrt auf (KÜHNEL, 1992). Die Anzahl der produzierten IgE- Antikörper und somit die Fähigkeit eosinophile Granulozyten zu mobilisieren geht im Alter zurück. Dies konnte besonders für Lymphknotengewebe gezeigt werden. Tiere im Alter von 49- 56 Tagen zeigen eine bessere Mobilisierbarkeit als ältere Tiere (YAGI et al., 1997).

- Mastzellen

Mastzellen bilden und speichern Heparin, Serotonin und Histamin, Faktoren, die bei allergisch- anaphylaktischen Reaktionen eine Rolle spielen. Histamin hat dabei eine vasodilatatorische Wirkung (KÜHNEL, 1992). Im Zuge einer allergischen Reaktion verbinden sich Antikörper (IgE) mit Rezeptoren der Mastzellen und tragen so zur Mediatorenfreisetzung bei (allergische Reaktion) (LIEBICH, 1993). Die Mastzellen der Ratte zeigen in der Hämatoxylin- Eosin- Färbung ein basophiles Verhalten und können mit dieser Färbung identifiziert werden. In der basophilen Anfärbung haben sie ein weites Farbspektrum von blaß- basophil bis bräunlich (Metachromasie) (HÜNIGEN, 2002).

Eine Häufung von Mastzellen im Vergleich zu anderen Lymphknoten kann dabei in den Darmlymphknoten festgestellt werden. Generell kommen die Mastzellen vorwiegend im Marksinus vor. Ratten im allgemeinen und besonders die in dieser Arbeit untersuchten Wistar-Ratten zeigen dabei besonders viele Mastzellen. Vermehrte Anhäufung von Mastzellen stellt aber primär kein Zeichen einer Erkrankung dar (MAJEED, 1994), obwohl Mastzellen die Fähigkeit haben, die Proliferation von Lymphozyten zu steigern (GUSHCHIN et al., 1991). Mastzellgranula werden von den Makrophagen aufgenommen und verstärken die Aktivität von intrazellulären Enzymen (MIYATA und TAKAYA, 1985). Dadurch wirken Mastzellen als Modulatoren der Phagozytose und des Abbaus.

- Mononukleäres Phagozytensystem (MPS)

Die Phagozytoseaktivität der Zellen des MPS läßt im Alter nach. Dies ist besonders bei den Kupfferzellen der Leber der Fall, deren Endozytoseaktivität nachläßt (BROUWER et al., 1986). Die Makrophagen der Milz vermindern ihre Aktivität im Vergleich zu der Leber in

geringerem Umfang. Dadurch verlängert sich die Halbwertszeit von partikulären Pharmazeutika, z. B. den untersuchten superparamagnetischen Kontrastmitteln, mit dem Alter. Dies konnte an Ratten nachgewiesen werden, wobei der altersbedingte Gewichtsrückgang der Organe nicht die Ursache dieses Phänomens ist (SCHNORR et al., 2000). Die Menge an Kupfferzellen in Relation zur Körpermasse ändert sich im Alter nicht, während das Vorkommen von eisenhaltigen Lysosomen in den Kupfferzellen zunimmt. Das Eisen liegt in Form von Ferritin vor (DE LEEUW et al., 1983).

### **2.3. Magnetresonanztomographie (MRT)**

Im Jahr 1946 beschrieben zwei Arbeitsgruppen (Arbeitsgruppen von PURCELL, sowie BLOCH) gleichzeitig das Prinzip der Kernspinresonanz, auf dem das bildgebende Verfahren der Magnetresonanztomographie beruht (ANDREW, 1982). Nach rascher Verbreitung in der Physik, Biologie und der analytischen Chemie konnte es allerdings erst in den 70er Jahren nach der Entwicklung der ortsauflösenden Kernresonanz in der Medizin genutzt werden (LAUTERBUR, 1973).

#### **2.3.1. Grundlagen**

Atomkerne mit ungerader Anzahl von Protonen und/ oder Neutronen haben ein magnetisches Moment. Es existieren zahlreiche stabile Atomkerne und magnetisch aktive Isotope (H, Na, Cl, Cu etc.). In der Medizin nutzt man hauptsächlich die magnetische Eigenschaft von Wasserstoffatomen (H, Protonen), da diese aufgrund des hohen Wassergehalts in biologischem Gewebe am häufigsten vorkommen. Man unterscheidet dabei freie und gebundene Wasserstoffprotonen. Gebundene Protonen sind durch Hydratation an umliegende Makromoleküle gebunden und sind geringer beweglich (KÖCHLI und MARINCEK, 1998).

- Protoneneigenschaften

Wasserstoffprotonen entsprechen kleinen, rotierenden Magneten. Sie haben zum einen eine Drehbewegung um die eigene Achse (**Spin**), und zum anderen führt ihre Drehachse eine Kreiselbewegung durch (**Präzession**). Normalerweise sind diese Bewegungen ungeordnet. In einem Magnetfeld allerdings richten sich die Protonen mit ihren Drehachsen überwiegend parallel, einige auch antiparallel, zum Magnetfeld aus (SEIDERER, 1987). Es entsteht eine

Längsmagnetisierung in Richtung des externen Magnetfeldes, deren Stärke abhängig von der Differenz der parallelen abzüglich den antiparallelen Spins ist. Die Protonen präzedieren asynchron mit der Frequenz  $\omega$  (Resonanzfrequenz, Larmorfrequenz), diese ist proportional zur Feldstärke des konstanten Magnetfeldes. Durch einen senkrecht zum Magnetfeld eingestrahlten Hochfrequenzimpuls werden die Protonen aus dem energetisch günstigeren (parallelen) in den energetisch höheren (antiparallelen) Zustand gebracht und ihre Präzessionsbewegung wird synchronisiert (**Phasenkohärenz**) (ANDREW, 1982; BAUDISCH, 1988). Der dabei eingestrahlte Impuls muß in seiner Energie der Gleichgewichtsenergie des Protonensystems entsprechen. Dies ist nur der Fall, wenn die Frequenz des Impulses mit der Lamorfrequenz  $\omega$  des Systems übereinstimmt (**Resonanzbedingung**). Dabei werden nur die freien Spins zur Messung genutzt, da diese Spins eine genau definierte Larmorfrequenz haben.

Nach Beendigung des Impulses kehren die Protonen wieder in ihren Ausgangszustand zurück. Die phasenkohärent präzedierenden Spins induzieren nach adäquater Anregung durch den hochfrequenten Energieimpuls einen meßbaren Strom in einer Empfangsspule (Signal). Die Höhe des induzierten Signals (Signalintensität) nimmt mit zunehmender Dephasierung der Spins bzw. deren Übergang in den ursprünglichen parallelen Energiezustand ab, dieses wird auch als freier Induktionszerfall (Free induction decay, FID) bezeichnet.

Nach der Zeitkonstante  $T_2^*$  (effektive  $T_2$ - Relaxationszeit) stehen die Protonen wieder überwiegend parallel zum Magnetfeld, und die Präzession erfolgt wieder ungeordnet. Die gewebespezifischen Zeitkonstanten bis zur Wiederherstellung des ursprünglichen Gleichgewichtszustandes werden Relaxationszeiten genannt (SEMMLER, 1997).

### 2.3.2. Relaxationszeiten

Während der **T1- Relaxationszeit** (Spin- Gitter- Relaxationszeit) kehren die Protonen in den ursprünglichen, parallelen Zustand zurück und geben dabei ihre Energie an die Umgebung, das Gitter, ab. Diese Zeit wird auch Längsrelaxationszeit genannt, da in dieser Zeitspanne die Längsmagnetisierung wieder ihren ursprünglichen Wert erreicht. Typische  $T_1$ -Relaxationszeiten liegen bei 0,5-1,5 Tesla zwischen 100 und 2000 ms.

Der Prozeß der Dephasierung, bei dem die Protonen wieder in asynchroner Weise präzedieren, findet während der **T2- Relaxationszeit** (Querrelaxationszeit) statt. Dabei treten die Spins miteinander in Wechselwirkung (Spin- Spin- Relaxationszeit). Dies geschieht durch fluktuierende, lokale Magnetfeldinhomogenitäten. Die Spins, als kleine Magneten, verändern

die Stärke des Magnetfeldes ihres Nachbarn. Da die Präzessionsfrequenz abhängig von der Magnetfeldstärke ist, werden die Spins mal schneller, mal langsamer, sobald ein benachbarter Spin ihr Magnetfeld beeinflusst. Dadurch zerfällt die Phasenkohärenz (KÖCHLI und MARINCEK, 1998).

Im Gegensatz zur T1- Relaxationszeit findet während der T2- Relaxationszeit keine Energieübertragung statt, und T2 an sich ist weitgehend unabhängig von der Magnetfeldstärke. Da T2 an das Vorhandensein angeregter Spins gebunden ist, sind T2- immer kürzer als T1- Relaxationszeiten. T2- Relaxationszeiten liegen zwischen 10 und 1000 ms. Unter realen Bedingungen ist jedoch das Magnetfeld nicht homogen. Technisch bedingte, zeitlich konstante Inhomogenitäten, z. B. durch den Tomographen oder den untersuchten Körper, reduzieren die substanzspezifische Relaxationszeit T2 zur effektiven Relaxationszeit T2\*.

### **2.3.3. Gerät und Bildentstehung**

Ein MRT- Gerät besteht aus einem Magneten, einer Sendespule und einer Empfängerspule, die beide senkrecht zum Magnetfeld stehen. Die Feldstärken in der Klinik bewegen sich in der Regel zwischen 0,5 und 3 Tesla (T). Zusätzlich werden durch drei weitere, kleinere Widerstandsspulen Zusatzfelder (magnetische Gradientenfelder) entlang der drei Raumrichtungen erzeugt, welche die Bildrekonstruktion ermöglichen. Dabei wird der untersuchte Körper in Volumenelemente (Voxel, Schichten) aufgeteilt. In jedem dieser Voxel wird mit Hilfe der zusätzlichen Spulen ein geringfügig unterschiedliches Magnetfeld erzeugt, und es reagiert demnach auf eine andere Resonanzfrequenz. Bei Einstrahlung einer bestimmten Resonanzfrequenz wird nur ein Voxel angeregt. Durch Änderungen im Feldgradienten kann dieser Ort beliebig verschoben und alle Voxel können abgetastet werden. Für jedes Volumenelement werden dann die Intensitäten der gemessenen Signale rechnerisch durch die zweidimensionale Fourier-Analyse den verschiedenen Pixeln in der Bildverarbeitung zugeordnet (Ortskodierung). Dazu werden extrem leistungsfähige Computer benötigt. Auf dem Bildschirm werden dann Gewebe mit einer hohen Signalgebung in einer hellen, Gewebe mit einer geringen Signalgebung in einer dunklen Graustufe dargestellt.

Das zu messende Signal ist allerdings extrem schwach. Die Größenordnung liegt im Bereich einiger  $\mu\text{W}$ , im Gegensatz zur benötigten Frequenz des Hochfrequenzimpulses, die bis zu 20 kW betragen kann. Der Empfang kämpft daher ständig gegen das Rauschen, das die Signale einhüllt (Signal to noise ratio, Rauschabstand, SNR). Technische Faktoren, welche die Signalstärke reduzieren, sind hohe Bildauflösung (Matrix), kleine Bildgröße (Field Of View,

FOV), kleinere Schichtdicke, Sättigung bei kurzer Repetitionszeit TR, sowie lange Echozeit TE. Diese Faktoren limitieren über ungünstige Signal-zu-Rausch-Abstände die räumliche Auflösung.

#### **2.3.4. Signalintensität und Kontrastoptimierung**

Die Signalintensität (SI) ist sowohl von Gewebeparametern als auch von den Geräteparametern (Repetitions- und Echozeit, TR, TE) abhängig. Zu der Dichte der Wasserstoffatomkerne besteht eine lineare Abhängigkeit. Zu den Relaxationszeiten und zu den Meßparametern existiert allerdings eine exponentielle Beziehung. Veränderungen der T1- und T2- Zeiten mit Hilfe von Kontrastmitteln oder auch Variation der Meßparameter anhand unterschiedlicher Sequenzen haben daher eine große Auswirkung.

Der Geräteparameter **Repetitionszeit (TR)** gibt die Zeitspanne zwischen zwei aufeinanderfolgenden Anregungen derselben Schicht an. Die TR- Zeit steht in Korrelation zur Längsrelaxation, denn sie entscheidet darüber, wie viele Spins schon in den ursprünglichen, parallelen Zustand zurückgekehrt sind, d. h. je schneller die Spins in den ursprünglichen Zustand zurückgekehrt sind, umso mehr lassen sich auch wieder anregen und umso höher ist das nächste Signal.

Die **Echozeit (TE)** ist diejenige Zeitspanne, die man nach der Anregung bis zur Messung des Signals verstreichen läßt. Dabei werden die dephasierenden Spins wieder in Phase gebracht, und dabei das Signal wiederhergestellt (Echo).

Durch die Kombination verschieden langer Repetitions- und Echo- Zeiten (TR, TE) erreicht man mit Hilfe der Geräteparameter eine optimierte Kontrastdarstellung.

Eine Optimierung durch Kontrastmittel beeinflußt die Relaxationszeiten (T1, T2). Dabei führen Verkürzungen der T1 in einer T1-gewichteten Techniken zu einer Zunahme der SI, das Gewebe wird heller dargestellt. Eine Verkürzung von T2 in einer T2-gewichteten Techniken bedingt eine Abnahme der SI, das Gewebe stellt sich dunkler dar.

#### **2.3.5. Pulssequenzen**

##### **2.3.5.1. Protonengewichtete Spinecho- Sequenz ( $d_w$ SE, PDSE)**

Durch Auswahl einer langen TR und einer kurzen TE wird der Einfluß der Protonendichte ( $TR \gg T1$ ,  $TE \ll T2$ ) auf die gemessenen SI erhöht (density weighted,  $d_w$ ).

Dies nutzt man bei der Spinecho- Sequenz (SE- Sequenz). Folgend auf den initialen  $90^\circ$ -Puls wird ein  $180^\circ$ -Puls eingestrahlt, nachdem die Hälfte der Echozeit (TE) vergangen ist. Nach der Repetitionszeit (TR) wird die gesamte Sequenz wiederholt (SEMMLER, 1997).

Mit Hilfe der Spinecho Technik ist die reine transversale Relaxationszeit T2 ohne Einfluß der externen Magnetfeldinhomogenitäten meßbar. SE- Sequenzen haben eine sehr gute Bildqualität, allerdings auch lange Meßzeiten.

### **2.3.5.2. T2- gewichtete Gradientenecho- Sequenz (T2<sub>w</sub>GRE)**

Bei T2 (T2<sub>w</sub>) als maßgebliche Komponente werden lange TE und TR (TR >> T1, TE ~ T2) benötigt (SEIDERER, 1987). Die lange TE (TE > 60 ms) gibt Geweben mit kurzer T2 die Möglichkeit, vollständig zu dephasieren. Das FID Signal zerfällt mit der Zeitkonstante T2. Die SI nimmt ab, das Gewebe erscheint dunkel. Gewebe mit langer T2 sind noch nicht vollständig dephasiert, weisen also immer noch ein relativ starkes Signal auf (SI groß, Darstellung hell).

Bei Gradientenecho- Sequenzen nutzt man anstatt eines  $180^\circ$ - Pulses der Sendespule den Frequenzcodiergradienten (Widerstandsspule in X- Achsenrichtung). Dieser wird erst mit negativer Polarität eingeschaltet. Dies bewirkt eine Dephasierung der Spins. Schaltet man den Gradienten danach mit positiver Polarität ein, bewirkt er eine Rephasierung der Spins. Man erhält ein Echo (Gradientenecho). Dieses Echo würde bei der SE- Sequenz zeitlich mit dem Spinecho zusammenfallen und wird daher bei der SE- Technik nicht genutzt.

Vorteil der GRE- Techniken ist vor allem die größere Geschwindigkeit (TE liegen zwischen 8-10 ms, TR bei 15 ms). Die konstanten Feldinhomogenitäten können durch diese Technik aber nicht ausgeglichen werden. Das Signal zerfällt mit T2\* anstatt mit T2. Zusätzlich muß aufgrund der kurzen Repetitionszeiten das verbleibende Signal zur Vorbereitung der nächsten Messung zerstört werden. Dies geschieht durch Spoiling, die Schaltung spezieller Gradienten- oder Hochfrequenzimpulse vor der nächsten Messung.

Im Gegensatz zur Spinecho- ist die Gradientenecho- Sequenz in ihrem T1- Kontrastverhalten nicht nur abhängig von der TR, sondern auch vom Anregungswinkel  $\alpha$ .

Mit kleineren Anregungswinkeln ( $\alpha < 90^\circ$ ) arbeitet man in der Regel der Sättigung entgegen. Der reduzierte Winkel bedingt, daß nicht mehr so viele Spins aus dem parallelen Zustand umgelenkt werden. Nach der kurzen Zeit bis zum erneuten Impuls (kurze TR) sind also relativ gesehen mehr Spins in der Ursprungshaltung, die Längsmagnetisierung ist größer. Der

erneuten Anregung stehen mehr Spins zur Verfügung. Das darauffolgende Signal ist verhältnismäßig stärker als bei einem Impuls mit  $90^\circ$ -Anregung. Je kürzer TR, desto kleiner muß der Anregungswinkel gewählt werden.

In der  $T2_w$  GRE Sequenz wird der T2-Kontrast schon bei kurzen TR mit kleinem Anregungswinkel optimiert, im Gegensatz zu einer konventionellen,  $T2_w$  SE Sequenz, bei der  $TR \gg T1$  sein muß. Die benötigten TE-Zeiten sind kürzer als bei der SE, da  $T2^*$  rascher zerfällt (KÖCHLI und MARINCEK, 1998).

## **2.4. Kontrastmittel**

Kontrastmittel für die MRT kommen immer dann zum Einsatz, wenn sich die Weichteildichte bzw. die Relaxationszeit des Gewebes von seiner Umgebung nicht unterscheiden (isointense Strukturen) oder die Größe der zu untersuchenden Läsion zu gering ist. Eine weitere Anwendungsmöglichkeit ist die Beurteilung der Organfunktion und Perfusion.

Die verschiedenen Kontrastmittelsubstanzen unterscheiden sich unter anderem in der Empfindlichkeit, mit der sie auf ein äußeres magnetisches Feld reagieren. Magnetismus entsteht durch die Bewegung (Spin) elektrisch geladener Teilchen (Protonen, Neutronen oder Elektronen), ist also bei allen Substanzen möglich. Dabei nutzt man für Kontrastmittel das im Vergleich zu Protonen und Neutronen wesentlich stärkere magnetische Moment von Elektronen. Die Magnetisierbarkeit einer Substanz in einem Magnetfeld wird qualitativ als Dia-, Para-, Superpara- oder Ferromagnetismus beschrieben. Die Magnetisierbarkeit nimmt in dieser Reihenfolge zu (NIENDORF und BALZER, 1997). Aufgrund der geringen bzw. zu starken magnetischen Eigenschaften werden dia- bzw. ferromagnetische Substanzen nicht als Kontrastmittel genutzt.

Allen MR-Kontrastmitteln ist gemein, daß sie selbst nicht im Bild dargestellt werden, sondern ihr Einfluß auf das Relaxationsverhalten der umgebenden Protonen. Dies unterscheidet das Wirkungsprinzip von MR-Kontrastmitteln grundsätzlich von Kontrastmitteln für z. B. Röntgentechniken (Computertomographie) oder Ultraschall.

### **2.4.1. Paramagnetische Substanzen**

Ungepaarte Ladungen liegen bei paramagnetischen Substanzen vor. Je größer deren Anzahl, desto größer das magnetische Moment. Diese Substanzen richten sich in einem äußeren Feld parallel aus und addieren ihre Magnetisierung zur bereits bestehenden Feldstärke. Es kommt



zu einer lokalen Erhöhung der Feldstärke. Die Substanzen kehren nach Abschalten des äußeren Feldes wieder in ihren ungeordneten Ausgangszustand zurück. Atome der Nebengruppen (z. B. Lanthanoide, Mangangruppe) mit unaufgefüllten inneren Schalen haben eine starke paramagnetische Wirkung.

Diese Substanzen werden als **positive Kontrastmittel** bezeichnet. Sie nehmen die Energie, die von Protonen an ihre Umgebung abgegeben wird, auf und verkürzen somit die T1-Relaxationszeit. Bei einer T1<sub>w</sub>- Aufnahme kommt es zu einem Signalanstieg, sichtbar als Aufhellung im Bild. Dabei ist die Anzahl der ungepaarten Elektronen, besonders in tiefliegenden Schalen, bedeutend für die Menge der aufgenommenen Energie. Ein Beispiel für paramagnetische Kontrastmittel ist das Gd- DTPA, Gadoliniumionen (Gd<sup>3+</sup>) sind mit 7 ungepaarten Elektronen besonders geeignet. Weitere Beispiele sind Chrom, Mangan und Kupfer. Zusätzlich führen diese Substanzen zu lokalen Schwankungen des Magnetfeldes, wodurch die T2- Relaxationszeit geringfügig reduziert wird; dies führt zu einer Schwärzung im T2<sub>w</sub> Bild.

Der T1-verkürzende Effekt dominiert besonders bei geringen Konzentrationen über den T2-Effekt. Demgegenüber überwiegt der T2- Effekt bei höheren Konzentrationen (Schwärzung). Dies ist z. B. bei renal ausgeschiedenen Gd- Verbindungen bei Aufnahmen der Harnblase zu beobachten. Um den T1- verkürzenden Effekt vollständig zu nutzen, sind daher gerade geringe Konzentrationen bei T1<sub>w</sub>- Aufnahmen von Vorteil (SCHMIDT, 1987).

- Erfahrungen im Einsatz von paramagnetischen Kontrastmitteln

Unter den paramagnetischen Kontrastmitteln liegen besonders Erfahrungen mit Gd- Chelaten vor. Gd wird für die Anwendung als Kontrastmittel an Chelate (z. B. DTPA) gebunden, da Gd<sup>3+</sup> in freier, ionischer Form toxisch ist. Seine Toxizität entsteht aus der Wirkung als Ca-Antagonist. Es beeinflusst die Kontraktilität des Myocards und hemmt das Gerinnungssystem (SCHMIDT, 1987). Als Komplex zeichnet es sich durch gute Verträglichkeit, kurze Verteilungsphase und relativ lange Bluthalbwertszeit (ca. 90 min) aus. Die Ausscheidung erfolgt ausschließlich renal, das Kontrastmittel extravasiiert nicht, passiert die intakte Blut-Hirn- Schranke (BHS) nicht und wird nicht von Zellen des MPS aufgenommen.

Daher werden Gd-Chelate z.B. zur zerebralen Diagnostik (Störungen der Blut- Hirn-Schranke, Tumore, Entzündungen) und Gefäßdiagnostik eingesetzt. Zur Diagnostik der Ausscheidungsorgane Leber, Gallenblase und Niere, sowie von Blasen-tumoren, wurden andere Gd- Chelate entwickelt, z. B. Gd- EOB- DTPA oder Gd- BOPTA (SCHUMANN-

GIAMPIERI et al., 1992, VOGL et al. 1992). Auch zur Darstellung von Endometriuskarzinomen oder als orales Kontrastmittel werden Gd-Chelate eingesetzt.

Zur Diagnostik von Metastasen in der Leber wurde ein weiteres, paramagnetisches Kontrastmittel entwickelt, eine Manganverbindung (Mn- DPDP). Mangan ist ein Übergangsmetall mit 5 ungepaarten Elektronen (SCHMIDT, 1987). Das Kontrastmittel zeichnet sich durch Senkung der Schwellengröße erkennbarer Metastasen und gute Kontrastierung von sowohl Leberparenchym als auch hepatogenen Tumoren oder Hyperplasien aus (HAMM et al., 1992).

## 2.4.2. Superparamagnetische Substanzen

Im Gegensatz zu ferromagnetischen sind **superparamagnetische Substanzen** Eindomänen-Partikel, da die Größe der einzelnen Kristallpartikel unter einem kritischen Durchmesser liegt. Die einzelnen Domänen sind im feldfreien Raum frei beweglich und ordnen sich zufällig an. Dadurch heben sich die Einzelmagnetisierungen auf, es besteht im Gegensatz zu den ferromagnetischen Permanentmagneten keine Restmagnetisierung. Magnetische Aggregationen oder negative Beeinflussung durch intrazelluläre magnetische Wirkungen spielen daher keine Rolle. Schon bei schwachen Feldstärken lassen sich superparamagnetische Substanzen vollständig magnetisieren. Bei zunehmender Feldstärke steigt die Magnetisierung im Gegensatz zu paramagnetischen Substanzen nicht linear, sondern als Sättigungskurve. Auch diese Substanzen haben ungepaarte Elektronen (NIENDORF und BALZER, 1997).

Als superparamagnetische Substanzen kommen kleine, partikuläre Eisenoxidkristalle (Ferrite und Magnetite) in Betracht. Ferrite sind Eisenoxidpartikel mit der Formel  $\text{Fe}^{3+}_2\text{O}^{1-}_3\text{M}^{2+}\text{O}$ , wobei M ein zweiwertiges Metallion, wie z. B. Mangan, Kupfer, Zink, aber auch zweiwertiges Eisen sein kann. Dies ist bei den Magnetiten, einer Untergruppe der Ferriten, der Fall.  $\text{Fe}^{2+}$  ist das Metallion, die Summenformel ist dann  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  (WANG et al., 2001).

### 2.4.2.1. Einsatzbereich für superparamagnetische Kontrastmittel

Superparamagnetische Substanzen als **negative Kontrastmittel** erzeugen in einem äußeren Magnetfeld lokale Feldinhomogenitäten (Störfelder). Diese Störfelder sind weitreichend, obwohl die Partikel relativ klein sind. Die Dephasierung der Protonen erfolgt dadurch

schneller, die T2- Relaxationszeit wird verkürzt. Dies zeigt sich in einer homogenen Signalintensitätsabnahme (Schwärzung) an dem Anreicherungsort, obwohl nur ein geringer Anteil der Zellen tatsächlich Kontrastmittel enthält. Die Effektivität der T2- Beeinflussung ist dabei abhängig von der Anzahl (Konzentration) und einem kleinen Radius der Partikel, stärkste T2-Effekte erhält man durch viele, kleine Partikel. Die Partikelgröße ist auch entscheidend für die weitere Verteilung des Kontrastmittels im Körper. Eisenoxidpartikel sind gewebespezifisch für Leber, Milz, Knochenmark und Lymphknoten, Gewebe in denen das Kontrastmittel von den Zellen des MPS phagozytiert wird. (SAINI et al., 1987). Kleinere Partikel entgehen zunächst dem MPS in Leber und Milz und haben daher die Gelegenheit zu extravasieren. Über die Lymphe gelangen sie dann in die Lymphknoten. Diese Partikel haben demnach eine längere Bluthalbwertszeit (WEISSLEDER et al., 1990a). Die Eisenoxidpartikel selbst haben üblicherweise einen Durchmesser von 5- 50 nm. Nach der Ummantelung mit biokompatiblen Hüllstoffen sind die Partikel zwischen 6- 1000 nm groß.

#### **2.4.2.2. Erfahrungen im Einsatz von superparamagnetischen Kontrastmitteln**

Erste Erfahrungen haben gezeigt, das die Eisenoxidverbindungen generell eine geringere Toxizität als andere MR-Kontrastmittel haben (WANG et al., 2001).

- Leber und Milz

Im bisherigen Einsatz lassen sich Lebermetastasen und gering differenzierte Lebertumore, denen Makrophagen fehlen, gut darstellen. Mit **AMI 25** (Endorem®, Guerbet, Frankreich), das zur Gruppe der SPIO (superparamagnetic iron oxide) gezählt wird, konnten fokale Leberläsionen ab 5 mm Durchmesser dargestellt werden (VOGL et al., 1994). Auch mit Resovist® (**SHU-555A**, Schering, Deutschland) lassen sich primäre und sekundäre Lebertumore darstellen (VOGL et al., 1997, KEHAGIAS et al., 2001). Leberzirrhosen und Hepatitiden können ebenfalls mit Eisenoxiden dargestellt werden (ELIZONDO und WEISSLEDER, 1990).

Magnetit- Kontrastmittel, mit denen die Darstellung der Leber möglich ist, eignen sich auch zur Kontrastierung der Milz, z.B. zur Darstellung von Milzlymphomen (WEISSLEDER et al., 1987, 1988, 1989b). Auch mit USPIO (**AMI 7227**) ist eine verbesserte Diagnostik und Deutung von Läsionen der Milz möglich (HARISINGHANI et al., 2001).

- Angiographie

**AMI 227**, ein USPIO (Ultrasmall SPIO, Sinerem®, Guerbet, Frankreich), kann ebenfalls zur Leberuntersuchung verwandt werden. Eine weitere mögliche Anwendung in der MR-Angiographie ergibt sich aus der längeren Bluthalbwertszeit und dem T1 verkürzenden Effekt. Die neue Substanzklasse der **VSOP** (very small iron oxide particles, von Ferropharm®, Deutschland) hat ebenfalls im Tierexperiment vielversprechende Kontrastierung der Gefäße gezeigt (ABRAMJUK, 2001)

- Rezeptor- spezifische Kontrastmittel und orale Kontrastmittel

Nach entsprechender Modifizierung sind Eisenoxidpartikel auch Rezeptor- spezifisch einsetzbar, zum Beispiel durch Kopplung von USPIO an das leberspezifische Arabinogalactan (REIMER et al., 1990, 1991) oder durch Verbindung von **MION** (Monocrystalline Iron Oxide Nanoparticles) mit Antikörpern zur Darstellung von Myositis (WEISSLEDER et al., 1991). Nach Kopplung von MION an einen Pankreas- spezifischen Träger (Cholecystokinin) ließ sich auch der Kontrast zwischen Pankreas und Tumor verbessern (REIMER et al., 1994).

Aber auch Möglichkeiten der Anwendung als orales Kontrastmittel wurden untersucht, wobei eine gute Kontrastierung zwischen Darm und angrenzenden Organen besteht und die Artefakte durch die Darmschlingen und ihre Peristaltik verringert werden. Die Darmwand selbst läßt sich dabei nur schlecht abgrenzen (HAHN et al., 1990, BOUDGHÈNE et al., 1993).

## **2.5. Aufnahme, Verbleib und Toxizität**

### **2.5.1. Aufnahme des Kontrastmittels in den Lymphknoten**

- Weg in den Lymphknoten

Untersuchungen von WEISSLEDER et al. (1994) haben gezeigt, daß Eisenoxid- Kontrastmittel vor allem über das periphere Kapillarbett in die Lymphe gelangen. Die Partikel passieren die Endothelschranke durch Poren in den interendothelialen Verbindungen oder durch vesikulären Transport in Form von Transzytose (WEISSLEDER et al., 1990a). Aber

auch ein Übergang über die HEV im Parakortex durch Transzytose ist möglich (MÜHLER et al., 1995). Entscheidend für den Übertritt ins Kapillarbett ist der Durchblutungsgrad und die Kapillarpermeabilität, beeinflusst durch Muskelaktivität, sowie regionale Erwärmung. Beide Faktoren haben daher einen großen positiven Einfluß auf die Extravasation und Verteilung des Kontrastmittels (ELSTE, 1996a; ELSTE et al., 1996b). Muskelaktivität ist aber abhängig vom individuellen Bewegungsdrang. Narkose reduziert die Muskelaktivität nach der Injektion des Kontrastmittels. Unterschiedliche Erholungszeiten nach einer Narkose sind ein weiterer Faktor für individuelle Unterschiede in der Verteilung von Kontrastmitteln (ELSTE, 1996a; ELSTE et al., 1996b). Massage der Haut im Injektionsbereich fördert zusätzlich die Verteilung von sc. applizierten Partikeln in die Lymphe (IKOMI et al., 1996). Auch lokale Entzündungen und Tumore, sowie lokale Histaminausschüttung führen über erhöhte Kapillarpermeabilität zu stärkerem Austritt der Partikel (WEISSLEDER et al., 1994).

Die Applikationsweise und der Applikationsort spielen ebenfalls eine große Rolle beim Verteilungsverhalten. Bei subkutaner Gabe werden je nach tributärem Gebiet nur ein oder mehrere lokale Lymphknoten erreicht (SCHNORR, 1999). Nach iv. Gabe läßt sich Kontrastmittel in allen Lymphknoten nachweisen, allerdings zeigen die Lymphknoten unterschiedliche Mengen, die Eingeweidelymphknoten weisen die stärkste Anreicherung auf (WAGNER et al., 1995).

Nach intravenöser Gabe kommt es relativ rasch zu einem Anstieg der Partikelkonzentration in der Lymphe des Milchbrustgangs. Maximale Werte konnten für AMI-227 schon 90 min p.i. gemessen werden. Die Konzentration in der Lymphe hat dabei die gleiche Halbwertszeit wie im Blutplasma und beträgt ca. ein Zehntel der Plasmakonzentration. Dies läßt eine Verbindung der Leberlymphgänge mit dem Milchbrustgang vermuten. Zusätzlich scheint eine erneute Zirkulation der Partikel stattzufinden. Dies würde die Diskrepanz zwischen Maxima in der Lymphe und den Lymphknoten erklären (RÉTY et al., 2000). Auch der Nachweis von Kontrastmittel in der Milz nach sc. Gabe deutet auf einen Durchfluß von Partikeln selbst durch mehrere Filterstationen an (BENGELE et al., 1994).

- Aufnahme in die Makrophagen der Lymphknoten (MPS)

Die Aufnahme in die Makrophagen setzt eine gewisse Kontaktzeit voraus. Die Partikel bleiben in der Lymphe extrazellulär (RÉTY et al., 2000). Die Oberfläche der Partikel mit ihrer Fähigkeit, Proteine zu absorbieren, ist entscheidend für den Phagozytosereiz. Kleine Partikeloberflächen mit geringer Proteinbindung vermindern die Phagozytose (WANG et al.,

2001). Makrophagen nehmen die Kontrastmittelpartikel über aktive Fluid- Phase- Endozytose auf, zu geringerem Anteil aber auch über Rezeptor- vermittelte Endozytose (MOORE et al., 1997). Nach einem initialen Vorkommen in tubulär bis runden Zellorganellen werden die Partikel perinukleär in terminalen Lysosomen verarbeitet (SCHULZE et al., 1995). Nach Aufnahme in die Zellen wird der Eisenkern metabolisiert, und das lysosomal vorkommende Eisen verändert seine Erscheinung (POULIQUEN et al., 1991).

Eine ungleichmäßige Verteilung von Kontrastmittelpartikeln im Lymphknoten wird dabei regelmäßig beobachtet. Die Markregion mit der höheren Anzahl an Makrophagen enthält meist mehr als die Rindenregion (MÜHLER et al., 1995).

In metastatischen Lymphknoten scheint es zusätzlich Veränderungen in der Physiologie des Lymphflusses und der Makrophagenaktivität zu geben, die über die Grenzen der Metastasen hinaus eine verminderte Aufnahme von Kontrastmittel in umgebendem, nicht metastatischem Gewebe bewirken. Dies erklärt die Beobachtung, daß Metastasen histologisch oft kleiner sind als die MR- Bilder suggerieren (WUNDERBALDINGER et al., 2002). Ursachen dafür sind noch nicht bekannt.

### **2.5.2. Verbleib des Eisens im Stoffwechsel**

Eisen stellt die größte Fraktion (70 mg/kg) in der Gruppe der Spurenelemente dar. Es liegt überwiegend gebunden als Hämoglobin (70%) und Myoglobin (2- 20%) vor. In den Depots liegen ca. 20% in Cytochromen vor. Dominierend sind jedoch die stoffwechselneutralen Speicherformen als Ferritin oder Hämosiderin mit  $Fe^{3+}$ .

Das mobilisierbare Ferritin ist eine Verbindung aus dem Protein Apoferritin und bis zu 25%  $Fe^{3+}$ . Bei Bedarf dissoziiert das Eisen in der membrangängigen, zweiwertigen Form. Ferritin stellt in der Leber ca. 66% des Speichereisens. Hämosiderin, das nach Proteolyse aus Ferritin entsteht (WEIR et al., 1984), liegt in Form von wasserunlöslichen Granula vor, deren Mobilisierbarkeit noch unklar ist.

Im Blut wird  $Fe^{2+}$  erst zu  $Fe^{3+}$  oxidiert, um dann an Transferrin, ein Plasmaprotein, zu binden. Transferrin ist nur zu  $\frac{2}{3}$  mit Eisenionen gesättigt, der Rest steht als Transportreserve (latente Eisenbindungskapazität) zur Verfügung. Bei Überschreitung der gesamten Eisenbindungskapazität kommt es zu toxischen Erscheinungen. Diese Kapazität variiert innerhalb einer Spezies, bleibt aber beim Individuum relativ konstant. Weiterhin unterliegt das Plasmaeisen einem Turnover, bei dem das Eisen im Blut täglich mehrmals ausgewechselt wird.

Der Eisenhaushalt ist in engen Grenzen reguliert. Bei oraler Aufnahme beugt der Mukosablock regulativ einer unnötig hohen Resorption vor. Parenterale Intoxikationen sind daher unter physiologischen Bedingungen unmöglich. Bestimmte Faktoren (Vitamin C, Zitrat) fördern die enterale Aufnahme. Die Reutilisation von Eisen beträgt 90%, die Ausscheidungsrate über Kot, Harn und Schweiß ist entsprechend gering (SCHEUNERT und TRAUTMANN, 1987).

- Funktion des Eisens

Eisen ist ein wichtiger Bestandteil der Oxidations- Reduktionsprozesse im Körper, hauptsächlich als Atmungsferment und als Katalysator. Dabei stellen Hämoglobin und Myoglobin nicht- katalytisch wirkende Metallproteide dar, die Sauerstoff reversibel an  $Fe^{2+}$  binden. Unter katalytisch wirkende Metallenzyme fallen z. B. die Hämenzyme, zu denen auch die mitochondrialen Cytochrome als Bestandteil der Atmungskette zählen. Auch Katalasen und Peroxidasen zählen zu den Hämenzymen.

- Verbleib des Kontrastmitteleisens

Nach Kontrastmittelgabe geht das Magnetiteisen in den Stoffwechsel über und ist nach einer bestimmten Zeit im Hämoglobin nachweisbar (WEISSLEDER et al., 1989a; POULIQUEN et al., 1991). Zuerst wird das Eisen in den Makrophagen des MPS als Aggregate in Lysosomen gespeichert (RICHARD et al., 1961). Es wird anschließend über Exozytose wieder in die Umgebung abgegeben. Dieser Prozeß wird ebenso nach Erythrozytenphagozytose beobachtet (YUAN et al., 1996). Es wird dann nach und nach mit einer ungefähren Halbwertszeit von 3-4 Tagen verstoffwechselt. Bei einer Untersuchung mit AMI 25 ließ sich eine Eisenmangelanämie durch iv. Gabe des Kontrastmittels beheben. Unterschiede zu handelsüblichen Therapeutika gegen Eisenmangel konnten dabei nicht festgestellt werden (WEISSLEDER et al., 1989a).

### 2.5.3. Toxizität von Eisenverbindungen

- Freies Eisen

Auf zellulärer Ebene wirken freie, dreiwertige Eisenionen in ihrer Funktion als redoxaktive Metallionen wie prooxidative Agenzien. Sie tragen über die Fenton- Reaktion zur Bildung von Hydroxylradikalen bei (HÄSSIG et al., 1999). Aus diesem Grunde liegt Eisen im Körper vor allem gebunden an Proteine vor.

- Untersuchungen zur Verträglichkeit von Kontrastmitteleisen

Im Vergleich zum Körpereisenpool sind die in der Diagnostik verwandten Eisenmengen sehr gering. In dieser Untersuchung wurden ca. 7- 14% des Körpereisens in einer einmaligen Dosis verabreicht. Zusätzlich aber scheint die Toleranz gegenüber hohen Dosen an Eisen sehr groß zu sein. In einer Untersuchung von WEISSLEDER et al. (1989a) wurden bei einer Dosierung von 3000  $\mu\text{mol}$  Eisen/kg KM keine toxischen Auswirkungen in histologischen und serologischen Untersuchungen beobachtet. Dies entspricht der 40fachen der untersuchten Maximaldosis. Beim Menschen wurden subakute bis chronische Intoxikationen erst bei 15 g Körpereisen (300- 500% des normalen Körpereisens) beobachtet (WEIR et al., 1984). Auch erste Untersuchungen an Menschen im Zuge einer klinischen Phase I- Studie ergaben keine relevanten Veränderungen von Laborparametern (MCLACHLAN et al., 1994). Eisendextran-Verbindungen werden sogar zur parenteralen Eisensupplementation empfohlen (MACDOUGALL, 1999). Auch bei Ratten werden keine Nebenwirkungen nach Gabe von Eisenoxid- Kontrastmitteln beobachtet (LAWACZECK et al., 1997; WAGNER et al., 2002a).

In der Leber konnten zwar 6 Monate p. i. noch Eisenpartikel in den Kupfferschen Sternzellen histologisch nachgewiesen werden, aber weder Hepatozyten noch Sternzellen zeigten pathologische Veränderungen (SAINI et al., 1987).

In einer zweimonatigen Langzeitstudie mit AMI 25 wurden über einen Monat täglich Dosen zwischen 1,12– 56 mg Fe/kg KM/d iv. verabreicht, um anschließend über einen Monat die Reversibilität der nachgewiesenen Veränderungen zu beobachten. Als reversible Folgen der Kontrastmittelgabe waren unter anderem ein Anstieg des Serumeisens, eine Gewichtszunahme von Leber und Nieren, sowie schwarze Verfärbungen von Lymphknoten, Leber und Nieren zu beobachten. Histologisch konnte Eisen nachgewiesen werden. Bei



Dosierungen unter 5,6 mg Fe/kg wurden diese Effekte nur auf histologischem Level in Leber, Milz und einigen Lymphknoten beobachtet. Bei höheren Dosierungen konnten zusätzlich nicht-reversible serologische und histologische Schädigungen an den Hepatozyten nachgewiesen werden. Für AMI 25 wurde die nicht-toxische, tägliche Dosierungsobergrenze daher bei 5,6 mg Fe/kg KM/d iv. postuliert (OKAZAKI et al., 1994), die in dieser Arbeit verwandte maximale, einmalige Menge an Eisen liegt deutlich unter dieser Dosis.

Die Hämokompatibilität wurde anhand verschiedener SPIO-Verbindungen untersucht, wobei bei klinischer Dosierung lediglich eine leichte Abnahme der Plättchenaggregation und eine geringe Zunahme der Thromboplastinzeit beobachtet wurden. Zytotoxische Effekte konnten nicht nachgewiesen werden (CHOULY et al., 1994).

#### **2.5.4. Hüllmaterial**

Das Hüllmaterial umgibt den Eisenoxidkern und erhöht dadurch die Biokompatibilität und verhindert als Stabilisator die Aggregation der Partikel. Auch die Dissoziation von freien Eisenionen wird dadurch verhindert. Durch die Hüllschicht erhöht sich der Gesamtdurchmesser der Partikel. Dies wird zusätzlich vergrößert durch die Wasserbindungskapazität der Hüllensubstanz. Der Gesamtdurchmesser in wässriger Lösung wird daher als hydrodynamischer Durchmesser angegeben (WANG et al., 2001).

Bei den gängigen superparamagnetischen Kontrastmitteln besteht die Hüllschicht aus **Dextranpolymeren**. Bei Vergleichsuntersuchungen zur Ultrastruktur von Eisendextranen und Ferritin wurde festgestellt, daß beide Komplexe nicht nur ähnlich aussehen, sondern auch vergleichbar langsam Eisen in die Umgebung abgeben (THEIL et al., 1979). Nachteile dieser Beschichtung sind allerdings die möglichen Überempfindlichkeitsreaktionen auf die Zuckermoleküle mit einer Mortalität von ca. 15% bei schweren, anaphylaktischen Reaktionen (FAICH und STROBOS, 1999). Zum anderen läßt sich die Dicke der Hüllschicht nicht gut definieren. Dadurch steigt und variiert der Gesamtdurchmesser der Partikel (hydr. Ø z. B. Sinerem® 20-40 nm, Endorem® 80-150 nm, Guerbet, Frankreich) (WANG et al., 2001).

Die neue Substanzklasse der VSOP (very small iron oxide particles) ist mit **Zitratmonomeren** umhüllt. Hydrodynamische Durchmesser von unter 10 nm können dadurch definiert werden. Der Durchmesser der Eisenoxidkerne beträgt 4-5 nm. Zitrat ist eine körpereigene Substanz und wird verstoffwechselt. Reaktionen auf die Hüllschicht sind daher nicht zu erwarten.

In die Hüllschicht aus Zitrat wurden für die untersuchte Substanz VSOP-C144T zusätzlich geringe Mengen eines **Tannins** eingearbeitet. Tannin (*Acidum tannicum*) gehört ebenso wie die Flavonoide zu den wasserlöslichen, pflanzlichen Polyphenolen. Als hydrolysierbarer Gerbstoff kommt es in Futterpflanzen, verschiedenen Früchten (Äpfel, Johannisbeere, Banane) und auch in bestimmten Tee- und Weinsorten vor. In der Arzneikunde sind sie in der Verwendung als Adstringentien, Antisepticum, Hämostypticum und Gegenmittel bei Schwermetall- und Alkaloidvergiftungen bekannt (PETZINGER, 1996). Die antimikrobielle, anti-atherosklerotische (KAPLAN et al., 2001) und anti-Tumor (FELDMAN et al., 1999) - Eigenschaften der Tannine werden zur Zeit weltweit erforscht. Der vasodilatatorische Effekt von Tanninen, der lange für den positiven Einfluß von Weingenuß auf myokardiale Infarktraten verantwortlich gemacht wurde, konnte nur bei bestimmten Rotweinreben nach Reifung in Barrique-Fässern nachgewiesen werden (FLESCH et al., 1998). Neueste Erkenntnisse zeigen ferner eine Vitamin-ähnliche antioxidative Wirkung von Tanninen, ähnlich des Polyphenols Vitamin E ( $\alpha$ -Tocopherol), und fordern deren Einordnung als Vitamine. In ihrer Eigenschaften als Radikalfänger und Inhibitoren der Lipid-Peroxidation reduzieren Tannine den oxidativen Streß auf zellulärem Niveau. Auch wirken Tannine sowie Flavonoide als Chelatoren der prooxidativ wirkenden freien Metallionen (z. B.  $Fe^{3+}$  und Cu) (HÄSSIG et al., 1999). Bei den untersuchten Partikeln waren nur geringste Konzentrationen enthalten, da Tannin auf Makrophagen einen konzentrationsabhängigen Einfluß hat. Das Tannin entfaltet in geringen Mengen seine Phagozytose- steigernde Wirkung. In hohen Konzentrationen bewirkt Tannin jedoch das Gegenteil. Ein Abrunden und eine verminderte Fortsatzbildung mit dadurch geringerer Phagozytose ist die Folge (KREOFISKY et al., 1990).

Zusätzlich bewirkt Tannin über verschiedene, von Makrophagen freigesetzte Faktoren ein Einsetzen der lokalen Immunantwort (ROHRBACH et al., 1992).

## **2.6. Lymphographie**

Tumorerkrankungen stehen mit ca. 200.000 Todesfällen im Jahr auf dem zweiten Rang der Todesursachen hinter den Herz- Kreislauf- Erkrankungen. Jeder vierte Mensch in Deutschland stirbt an einem Krebsleiden, dabei gibt es ca. 354.000 Neuerkrankungen im Jahr. Der Bedarf an rascher Diagnose und Therapie ist daher eminent (KREBSREGISTER, 1998).

Es gibt unterschiedliche Entstehungswege für die tumoröse Erkrankung der Lymphknoten. Den kleineren Prozentsatz bilden die Tumorkrankheiten im Lymphsystem (Hodgkin-Lymphom und Non-Hodgkin-Lymphom) selbst. Den größeren Anteil bilden Tumore nicht-lymphatischen Ursprungs mit Metastasierung in regionale Lymphknoten. Eine Metastasierung an sich kann eine bedeutende Komplikation darstellen, z. B. durch verminderte Filtrations- und Abwehrleistung oder die Kompression anderer Strukturen. Auch die Invasion des Nachbargewebes und Fernmetastasen sind zu Recht gefürchtet, stellen sie doch alle das unkontrollierte Wachstum und Ausbreiten der entarteten Zellen dar.

Das Staging nach der TNM-Klassifikation ist demnach von eminenter Bedeutung für Therapie und Prognose. Es werden das Stadium des Primärtumors (T), der Lymphknotenbefund (N) und mögliche Fernmetastasen (M) beurteilt.

Erst nach präzisiertem Staging kann über das weitere Vorgehen entschieden werden. Die Therapiemöglichkeiten Exzision, Chemotherapie, Strahlentherapie oder palliative Therapie können gegeneinander abgewogen bzw. kombiniert werden.

Aber nicht nur bei der Erstdiagnose spielt die Beurteilung der Lymphknoten eine zentrale Rolle. Die Langzeitbeobachtung ist von ebensolcher Wichtigkeit (SWIFT und HUSBAND, 1999).

Das erklärte Ziel der Lymphographie ist daher die Möglichkeit der Darstellung aller Lymphknoten und ihrer Binnenstrukturen.

Methoden, welche sich einzig auf die Größe der Lymphknoten verlassen, sind zu ungenau und lassen sowohl falsch positive als auch falsch negative Befunde zu. So können Größenveränderungen verschiedene Ursachen haben. Eine reaktive Hyperplasie im Zuge einer Immunantwort z. B. kommt häufig vor, ist anamnestisch manchmal nicht zuverlässig auszuschließen und kann unter Umständen lange bestehen. Auch gibt es Mikrometastasen, ohne Vergrößerung des Lymphknotens. Nekrotische Tumore können ebenso zu einer Aktivierung und Vergrößerung des zugehörigen Lymphknotens führen, ohne daß dieser auch metastatisch betroffen ist (REINHARDT et al., 2001).

Die Möglichkeit, alle Lymphknoten mit einem Verfahren zu erreichen, ist bedeutend, um die Diagnoseroutine zu erleichtern und Standards zu definieren. Besonders bei Tumoren, die unter Umständen in mehrere, bzw. weit entfernte Lymphknoten metastasieren, ist diese Herangehensweise sicher angebracht.

### **2.6.1. Klassische Lymphographie**

Bei der klassischen Röntgenlymphographie wird ein jodhaltiges Kontrastmittel (z. B. Lipiodol) in ein präpariertes Lymphgefäß gespritzt (direkt) oder subkutan in das Einzugsgebiet des entsprechenden Lymphknoten gegeben (indirekt). Nachteile sind hierbei die Belastung mit Röntgenstrahlen und die Nebenwirkungen des Kontrastmittels. Dabei wurden Hypothyreoidosen (HEIDEMANN et al., 1982), Blutungen der Lungenkapillaren (MARGLIN und CASTELLIN, 1979) und Fibrosierung der Lunge (TIEDJEN et al., 1986) beschrieben. Allergische Reaktionen auf das Kontrastmittel wurden beobachtet (CASTELLINO et al., 1977). Traditionelles Anwendungsgebiet für die Lymphographie waren z. B. retroperitoneale Lymphome (BAKER et al., 1990) und das Aufspüren von Mikrometastasen in klinisch unauffälligen Lymphknoten (POND et al., 1989).

Aufgrund der starken Nebenwirkungen, dem invasivem Aufwand der direkten Methode und der neuen Bildgebungsmöglichkeiten wird dieses Verfahren aber kaum noch angewendet.

### **2.6.2. Ultraschall (US)**

Das Einsatzgebiet des Ultraschalls ist mit der Entwicklung von neuen Schallköpfen und von Kontrastmitteln aus Mikroluftblasen stetig erweitert worden. Klassisches Einsatzgebiet in der Lymphographie ist z. B. die Hals- Kopf- Region, sowie die Achselregion, da dort nur geringe Eindringtiefen benötigt werden und die Position der Lymphknoten nicht stark variiert. Die Beurteilung verlief sich zuerst ausschließlich auf die Größe der Lymphknoten. Es wurden Größenlimits von STEINKAMP et al. (1992) postuliert. Kriterien hinsichtlich des M/Q Quotienten (Maximum/Transverse Quotient) und des L/S Quotienten (Long-Short-Axis Quotient) wurden entwickelt und weiterentwickelt. Mit der Entwicklung des L/S Quotienten wurde es möglich, zwischen gutartig vergrößerten ( $L/S > 2$ ) und bösartig vergrößerten Lymphknoten ( $L/S < 2$ , runde Form) zu unterscheiden (STEINKAMP et al., 1995). Zuerst erschien dies aber die einzige Beurteilungsmöglichkeit zu sein. Erst durch die Entwicklung der Doppler-Sonographie, mit der Bewegungen der Blutbestandteile gemessen werden, wurden auch Einblicke in die Binnenstruktur ermöglicht (STEINKAMP et al., 1999). Durch Beurteilung des Durchblutungsmusters im Lymphknoten kann die Unterscheidung zwischen reaktiver Hyperplasie und Metastasen bzw. Lymphom gelingen. Auch scheint es durch Sonomorphologie möglich, Aussagen über die histologischen Befunde hinsichtlich Nekrose und Keratinisierung zu machen (MAURER et al., 1996). Diese vielversprechenden Ansätze

sind aber begrenzt in der Anwendung auf oberflächlich zugängliche Lymphknoten und bedürfen sehr erfahrener Untersucher. Ein weiterer Nachteil des Ultraschalls ist die nicht exakt reproduzierbare Positionierung des Schallkopfes und somit die schlechte Reproduzierbarkeit der Ergebnisse. Eine Einsatzmöglichkeit für den Ultraschall ist daher die Lokalisation und Führung bei Biopsien (SWIFT und HUSBAND, 1999).

### **2.6.3. Scintigraphie und Positronenemissionstomographie (PET)**

Beide Techniken sind aufgrund ihrer geringen Verbreitung und hohen Kosten nicht regulär im Einsatz. Trotzdem gibt es Untersuchungen über den Nutzen beider Techniken in der Diagnose von Lymphomen und anderen Tumoren (RANKIN und COOK, 1999). Vor allem PET erweist sich dabei als ähnlich akkurat wie die CT- Untersuchung. Dabei nutzt man die Aufnahme und glukolytische Aktivität von Tumorzellen, die ein speziell markiertes Zuckermolekül aufnehmen. So können auch geringste Mengen an aktiven Tumorzellen aufgespürt und der ganze Körper untersucht werden. Dies ist besonders in der Behandlungskontrolle von Vorteil (RANKIN und COOK, 1999). In einer Studie zeigte sich dabei das PET mit einer Sensivität von 0.91 und einer Spezifität von 1.00 dem nativen MR überlegen. Andere Studien belegen für bestimmte Regionen eine Überlegenheit zum CT. Aufgrund der renalen Ausscheidung kann es aber zu Darstellungsproblemen in der Beckenregion, auch eine weitere Anreicherung im Darm ist möglich (REINHARDT et al., 2001).

Die Scintigraphie mit Gallium-67 wird vor allem zur Rezidivkontrolle eingesetzt, obwohl vor allem kleine Läsionen schwer zu diagnostizieren sind (SWIFT und HUSBAND, 1999). Auch müssen bestimmte Abstände zur Chemo- bzw. Radiotherapie eingehalten werden. Zusätzlich bereitet das Abdomen Schwierigkeiten bei der Diagnose (RANKIN und COOK, 1999).

### **2.6.4. Darstellung der Sentinel- Lymphknoten**

Aus der Not der momentan fehlenden Möglichkeiten, mit Hilfe der bildgebenden Verfahren eine sichere Beurteilung zu erreichen, hat sich eine weitere Anwendungsmöglichkeit der Lymphographie entwickelt, die Suche nach den Sentinel- Lymphknoten (sentinel node, SN). Mit Sentinel (Wächter) bezeichnet man jene Lymphknoten, die das entsprechende betroffene Gewebe drainieren. Dabei wird um den Tumor herum subkutan und intradermal ein Kontrastmittel appliziert, das hinterher in den SN dargestellt wird. Diese Methode trägt der Beobachtung Rechnung, daß die tributären Gebiete nicht immer mit dem Lehrbuch konform

gehen. Diese Erfahrungen gibt es auch beim Hund, bei dem die Lymphdrainage z. B. zu dem kontralateralen Ln. axillaris nach subkutaner Applikation im Oberkieferbereich gezeigt werden konnte. Zusätzlich geht man davon aus, daß der erste Lymphknoten in der drainierenden Kette auch die erste Metastase zeigen wird. Zudem können die nachfolgenden Lymphknoten bestimmt und das Muster des Lymphflusses dargestellt werden (MARIANI et al., 2001). Bei den dabei angewandten Methoden ist die Lymphographie mit blauer Tinte bzw. radioaktiv markierten Kolloiden zu nennen. Die Tinte wird dabei vor allem zur intraoperativen Darstellung genutzt (IKEDA et al., 2000). Radioaktiv markierte Kolloide dienen zum einen dem präoperativen Darstellen der Sentinel Lymphknoten, z.B. mit Scintigraphie, und können außerdem intraoperativ über Geigerzähler das Auffinden derselben erleichtern (RINK et al., 2001; MARIANI et al., 2001). Auch diese Herangehensweise hat aber ihre Einschränkung aus der Zugangsmöglichkeit zum Tumor. Außerdem darf die Belastung der Patienten und der Umwelt mit Radioaktivität, sowie die aufwendige Prozedur der Harnkollektion nicht außer Acht gelassen werden.

### **2.6.5. Darstellung im Schnittbildverfahren**

Nativen Schnittbildverfahren ist gemein, daß die Differenzierung zwischen benignen Vergrößerungen der Lymphknoten (z. B. Hyperplasie) und malignen Veränderungen aufgrund der Größe als Hauptkriterium meist scheitert. Ebenso sind Mikrometastasen und überlebende Tumorzellen in fibrosierten Lymphknoten nach Therapie schwer zu diagnostizieren (RANKIN und COOK, 1999).

#### **2.6.5.1. Computertomographie (CT)**

Trotz der hohen Strahlenbelastung durch Untersuchungen im Computertomographen (CT) ist dies die Methode der Wahl bei initialem Staging und der Rezidivbeurteilung (SWIFT und HUSBAND, 1999). Kontrastmittel dienen dabei vor allem der Darstellung von Gefäßen zur Verbesserung der Akkuranz der Diagnose. Bei Vergrößerung der Lymphknoten über einen bestimmten Wert (Short- Axis- Durchmesser, ca. 8- 10 mm) wird je nach Region eine Beteiligung des Lymphknotens diagnostiziert. Bei bestimmten Lymphknoten zählt schon deren Nachweis als Kriterium für Malignität (SWIFT und HUSBAND, 1999). Auch eine Beteiligung des umgebenden Gewebes kann im CT nachgewiesen werden. Nachteil ist das

unsichere Größenkriterium und die Strahlenbelastung, vor allem bei wiederholten Untersuchungen zur Rezidivkontrolle.

### **2.6.5.2. MR- Lymphographie**

Bei einer speziellen, hochauflösenden  $T2_w$ - Aufnahmetechnik stellen sich in Lymphknoten ohne Kontrastmittel der Marksinus signalarm und die Follikel signalstärker dar (LEE et al., 1991). Bei Routineuntersuchungen ohne Kontrastmittel steht die Beurteilung anhand der Größe an erster Stelle (SWIFT und HUSBAND, 1999). Auch übertrifft die native MR-Untersuchung die CT- Untersuchung in bestimmten Körperregionen, besonders wenn knöcherne Strukturen das zu untersuchende Gewebe umgeben (z. B. Schlüsselbeinregion). Auch zur Beurteilung von Strukturen im Thorax ist die MRT dem CT überlegen. Native MR-Untersuchungen werden aufgrund der Kosten und der geringen Überlegenheit gegenüber dem CT vor allem zur Abklärung unklarer Aussagen genutzt (SWIFT und HUSBAND, 1999). In der Rezidivkontrolle ermöglicht das MR zusätzlich die Differenzierung zwischen aktivem Tumor und Fibrose, obwohl auch hier Unsicherheiten die definitive Diagnose erschweren. Das Hauptproblem bleibt die Unterscheidung von metastatischem und normalem Lymphknotengewebe, die sich in ihren Signalintensitäten oft überlappen, eine native Unterscheidung wird dadurch erschwert (TAUPITZ et al., 1996).

- **Paramagnetische Kontrastmittel**

Mit paramagnetischen Kontrastmitteln gelingt es, Lymphknoten nach sc. bzw. iv. Gabe darzustellen. Das an einen Polyglucose- assoziierten Makrokomplex (PGM) gebundene Gd-DTPA steigert den Tumor- Lymphknotenkontrast, sowie die Signalintensität von normalem Lymphknotengewebe (HARIKA et al., 1995, 1996). Auch in Liposomen eingekapseltes Gadobutrol eignet sich zur interstitiellen Lymphographie, ebenso wie ein weiterer Gd-Komplex (Gadofluorine 8, Schering AG, Deutschland), mit dem die Darstellung von metastatisch veränderten Lymphknoten nach sc. Gabe gelang (MISSELWITZ und SACHSE, 1997; MISSELWITZ et al., 1999; STAATZ et al., 2001).

Erfahrungen mit der subkutanen Verabreichung von paramagnetischen Kontrastmitteln beim Menschen zeigen zwar eine Kontrastierung der Lymphknoten, eine Diagnose der Binnenstrukturen scheint aber nicht möglich. Durch die Verabreichung entstandene Schmerz-

und Entzündungsreaktionen am Injektionsort stehen in keinem Zusammenhang mit dem diagnostischen Nutzen (RUEHM et al., 2001).

- **Superparamagnetische Kontrastmittel nach subkutaner Gabe**

Nach sc. Gabe von USPIO lassen sich Areale mit Signalverlust im Marksinus darstellen, die mit der Aufnahme der Eisenoxidpartikel in die Makrophagen korrespondieren. Die Follikel verändern ihre Signalstärke nicht (LEE et al., 1991). Zudem zeigen tumorös entartete Lymphknoten keine Veränderung in der Signalintensität (WEISSLEDER et al., 1989c). Dabei kann aber nicht beurteilt werden, ob die betroffene Region auch wirklich über den Injektionsort erreicht wird. So ergeben sich Schwierigkeiten bei der Beurteilung, zumal wenn der Tumor nahe der Medianlinie oder in einem komplex drainierten Gebiet liegt.

- **Darstellung der Sentinel- Lymphknoten mit superparamagnetischen Kontrastmitteln**

Die MR- Lymphangiographie mit Darstellung der Sentinel- Knoten übertrifft die vorher genannten Techniken mit Radiokolloiden und Tinte. Bei Mehrfachuntersuchungen können der Lymphfluß und damit die Lymphknotenreihenfolge auch in komplexen Arealen dargestellt werden und die Lymphknoten nicht nur auf ihre Sentinel- Funktion hin untersucht werden, eine Diagnose auf Metastasen ist zudem möglich. (TORCHIA et al., 2001). Bei chirurgisch schwer zugänglichen Gebieten bietet sich zukünftig auch die Möglichkeit der Nadelbiopsie, geleitet durch topographisch hochauflösende MR- Bilder.

Diese Technik bleibt aber nur bei Tumoren mit regionaler Lymphknotenmetastasierung von Nutzen.

- **Superparamagnetische Kontrastmittel nach intravenöser Gabe**

Nach Gabe von Eisenoxidpartikeln wirken metastasenfremde Lymphknoten homogen hypointens (starke Signalreduktion), während komplett metastatische Lymphknoten aufgrund der fehlenden Makrophagen homogen hyperintens wirken. Probleme bereiten dabei die heterogen erscheinenden Lymphknoten, die kleine Metastasen enthalten könnten. Bei Messungen von Lymphknotengrößen verglichen mit Metastasengrößen erwies sich das Größenkriterium also als völlig unzulänglich bei Mikro- und Kleinstmetastasen, während der



Eisengehalt und damit die Signalintensitäten schon eine ausreichende Charakterisierung erlauben (WUNDERBALDINGER et al., 2002).

Mit einem USPIO gelingt es nach iv. Gabe, eine Signalreduktion im Lymphknoten der Ratte zu bewirken, in den metastatischen Arealen findet keine Veränderung der Signalintensität statt, die Unterscheidung zu hyperplastischen Lymphknoten gelingt ebenso (WEISSLEDER et al., 1990b, 1994).

Intravenöse Gabe führt zu Signalreduktion in allen Lymphknoten des Körpers, wobei üblicherweise 24 h nach Gabe untersucht wird (HARISIGHANI et al., 1999; WANG et al., 2001).

Mit AMI 227 konnten beim Menschen die Lymphknoten im Kopfbereich nach iv. Gabe untersucht werden (Sensivität 95% und Spezifität 84%), wobei falsch positive Resultate vor allem bei ungleichmäßiger Verteilung des Kontrastmittels, bei verkapselten Nekrosen oder ähnlichen Veränderungen ohne aktive Makrophagen vorkommen (ANZAI und PRINCE, 1997).

Bei Patienten mit abdominalen bzw. im Beckenbereich gelegenen Tumoren verschiedenster Ausgangsgewebe gelang es, Metastasen in den regionalen, vergrößerten ( $\varnothing$  1,4 cm) Lymphknoten nachzuweisen (HARISINGHANI et al., 1999).