

**Aus dem  
Institut für Veterinär-Anatomie  
des Fachbereichs Veterinärmedizin  
der Freien Universität Berlin  
und dem  
Institut für Radiologie  
Charité – Universitätsmedizin Berlin  
Campus Mitte**

**Funktionelle Bildgebung der Vaskularisation und Perfusion des  
Prostatakarzinoms mit dynamischer MRT: Korrelation mit  
morphometrischen Parametern**

**Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung des Grades eines  
Doktors der Veterinärmedizin  
an der  
Freien Universität Berlin**

**vorgelegt von  
Ole Gemeinhardt  
Tierarzt aus Berlin**

**Berlin 2008**

**Journal-Nr.: 3210**

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin  
der Freien Universität Berlin

Dekan: Univ.-Prof. Dr. habil. L. Brunnberg  
Erster Gutachter: Univ.-Prof. Dr. habil. J. Plendl  
Zweiter Gutachter: PD Dr. med. Dipl.-Phys. M. Taupitz  
Dritter Gutachter: Univ.-Prof. Dr. habil. A. Grabner

*Deskriptoren (nach CAB-Thesaurus):*

Magnetic Resonance Imaging, Prostatic Neoplasms, Rats, Contrast Media, Blood  
Volume, Morphology, Diagnosis

Tag der Promotion: 03.09.2008

Bibliografische Information der *Deutschen Nationalbibliothek*

Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen  
Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über  
<<http://dnb.ddb.de>> abrufbar.

ISBN-13: 978-3-86664-465-6

**Zugl.: Berlin, Freie Univ., Diss., 2008  
D188**

Dieses Werk ist urheberrechtlich geschützt.

Alle Rechte, auch die der Übersetzung, des Nachdruckes und der Vervielfältigung des Buches, oder  
Teilen daraus, vorbehalten. Kein Teil des Werkes darf ohne schriftliche Genehmigung des Verlages in  
irgendeiner Form reproduziert oder unter Verwendung elektronischer Systeme verarbeitet,  
vervielfältigt oder verbreitet werden.

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Warenbezeichnungen, usw. in diesem Werk berechtigt auch  
ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, dass solche Namen im Sinne der  
Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von  
jedermann benutzt werden dürfen.

This document is protected by copyright law.

No part of this document may be reproduced in any form by any means without prior written  
authorization of the publisher.

alle Rechte vorbehalten | all rights reserved

© **mensch und buch verlag** 2008 Nordendstr. 75 - 13156 Berlin – 030-45494866  
[verlag@menschundbuch.de](mailto:verlag@menschundbuch.de) – [www.menschundbuch.de](http://www.menschundbuch.de)

**Diese Arbeit wurde durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft  
(DFG-BE 2527/1-1) gefördert.**



**Meinen Eltern**



# INHALTSVERZEICHNIS

|            |  |           |
|------------|--|-----------|
| <b>1</b>   | <b>VERWENDETE ABKÜRZUNGEN</b>                                | <b>1</b>  |
| <b>2</b>   | <b>EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG</b>                        | <b>5</b>  |
| <b>3</b>   | <b>GRUNDLAGEN UND LITERATURÜBERSICHT</b>                     | <b>7</b>  |
| <b>3.1</b> | <b>Prostata</b>  | <b>7</b>  |
| 3.1.1      | Prostata des Mannes  | 7         |
| 3.1.2      | Prostata der Ratte   | 8         |
| <b>3.2</b> | <b>Tumoren</b>   | <b>9</b>  |
| 3.2.1      | Vaskularisation von Tumoren                                  | 11        |
| 3.2.2      | Prostatakarzinom des Mannes                                  | 12        |
| 3.2.2.1    | Morphologie  | 12        |
| 3.2.2.2    | Einteilung   | 12        |
| 3.2.2.3    | Prognosekriterien und Therapiemöglichkeiten                  | 13        |
| 3.2.3      | G-Dunning Rattenprostatakarzinom                             | 14        |
| <b>3.3</b> | <b>Magnetresonanztomographie (MRT)</b>                       | <b>14</b> |
| 3.3.1      | MRT-Bildgebung   | 15        |
| 3.3.1.1    | Bildqualität   | 16        |
| 3.3.1.2    | Hochfrequenzspulen in der MRT                                | 17        |
| 3.3.2      | MRT-Kontrastmittel   | 18        |
| 3.3.2.1    | Gadoliniumhaltige Kontrastmittel                             | 19        |
| 3.3.2.2    | Transport von niedermolekularen Verbindungen im Interstitium | 21        |
| 3.3.2.3    | Partikuläre (eisenoxidhaltige) Kontrastmittel                | 22        |
| 3.3.3      | Dynamische MRT   | 24        |
| <b>3.4</b> | <b>Prostatadiagnostik</b>                                    | <b>26</b> |
| 3.4.1      | Konventionelle MRT in der Prostatadiagnostik                 | 27        |
| 3.4.2      | Dynamische MRT in der Prostatadiagnostik                     | 27        |
| 3.4.3      | Weitere bildgebende Verfahren in der Prostatadiagnostik      | 29        |
| 3.4.3.1    | Magnetresonanzspektroskopie (MRS)                            | 29        |
| 3.4.3.2    | Sonographische Verfahren                                     | 30        |
| <b>4</b>   | <b>MATERIAL UND METHODEN</b>                                 | <b>32</b> |
| <b>4.1</b> | <b>Untersuchte Tiere</b>                                     | <b>32</b> |
| 4.1.1      | Haltung der Tiere  | 32        |
| 4.1.2      | Tumorzellimplantation  | 32        |
| 4.1.2.1    | Narkose  | 32        |
| 4.1.2.2    | Orthotope Tumorzellimplantation                              | 33        |

|            |   |           |
|------------|---|-----------|
| <b>4.2</b> | <b>Vorbereitende Untersuchungen</b>   | <b>33</b> |
| 4.2.1      | Auswahl der geeigneten Hochfrequenz-Spule für die MRT-Untersuchungen                            | 33        |
| 4.2.2      | Wachstumskontrolle der Tumoren und Bestimmung des Zeitpunkts der MRT-Untersuchungen             | 34        |
| <b>4.3</b> | <b>Verwendete Kontrastmittel</b>  | <b>34</b> |
| 4.3.1      | Gadodiamid  | 34        |
| 4.3.2      | VSOP-C 184  | 35        |
| <b>4.4</b> | <b>MRT-Untersuchungen an Ratten</b>   | <b>36</b> |
| 4.4.1      | Narkose   | 36        |
| 4.4.2      | Positionierung der Ratten   | 37        |
| 4.4.3      | Morphologische Darstellung von Prostata und Prostatakarzinom                                    | 37        |
| 4.4.4      | Dynamische MRT mit Gadodiamid   | 38        |
| 4.4.5      | Kontrastmittelgestützte MRT mit VSOP-C 184  | 38        |
| 4.4.6      | Blutentnahme und Bestimmung der $T_1$ -Relaxationszeit  | 39        |
| 4.4.7      | Tötung der Tiere und Entnahme der Prostatae   | 39        |
| <b>4.5</b> | <b>Histologische Untersuchungen</b>   | <b>39</b> |
| 4.5.1      | Histologische Aufarbeitung der Prostatae  | 39        |
| 4.5.2      | Hämatoxylin und Eosin (H&E)-Färbung   | 40        |
| 4.5.3      | Endothelmarkierung: Bandeiraea simplicifolia Lektin I (BSL I)                                   | 40        |
| 4.5.4      | Modifizierte Bindegewebsfärbung nach van Gieson   | 41        |
| <b>4.6</b> | <b>Auswertung der MRT-Bildgebung und Datenanalyse</b>   | <b>41</b> |
| 4.6.1      | Auswertung der morphologischen MRT-Bildgebung   | 41        |
| 4.6.2      | Auswertung der dynamischen Messungen mit dem Kontrastmittel Gadodiamid                          | 42        |
| 4.6.3      | Auswertung der MRT-Messungen mit dem Kontrastmittel VSOP-C 184                                  | 44        |
| <b>4.7</b> | <b>Qualitative und morphometrische Auswertung der histologischen Präparate</b>                  | <b>46</b> |
| 4.7.1      | Auswertung der Präparate mit Hämatoxylin und Eosin-Färbung                                      | 46        |
| 4.7.2      | Auswertung der Präparate mit Endothelmarkierung (BSL I)   | 48        |
| 4.7.3      | Auswertung der Präparate mit modifizierter Bindegewebsfärbung nach van Gieson                   | 49        |
| <b>4.8</b> | <b>Statistische Methoden, Darstellung und Berechnung</b>  | <b>50</b> |
| <b>5</b>   | <b>ERGEBNISSE</b>   | <b>51</b> |
| <b>5.1</b> | <b>Vorbereitende Untersuchungen</b>   | <b>51</b> |
| 5.1.1      | Auswahl der geeigneten Hochfrequenz-Spule für die MRT-Untersuchungen                            | 51        |
| 5.1.2      | Bestimmung der $T_1$ -Relaxationszeiten und MRT-Signalintensitäten von VSOP-C 184 im Rattenblut | 51        |
| 5.1.2.1    | $T_1$ -Relaxationszeiten  | 51        |
| 5.1.2.2    | MRT-Signalintensitäten  | 52        |
| <b>5.2</b> | <b>Tumorbildung</b>   | <b>53</b> |



|            |  |            |
|------------|--|------------|
| <b>5.3</b> | <b>MRT-Untersuchungen an Ratten</b>  | <b>55</b>  |
| 5.3.1      | Morphologische MRT   | 55         |
| 5.3.2      | Dynamische MRT mit Gadodiamid  | 57         |
| 5.3.2.1    | Interstitielles Volumen, Permeabilitäts-Oberflächenprodukt und normalisierte Permeabilität | 58         |
| 5.3.3      | Kontrastmittelgestützte MRT mit VSOP-C 184   | 59         |
| 5.3.3.1    | Blutvolumen und Zellvolumen inklusive Drüsenausführungsgänge                               | 59         |
| <b>5.4</b> | <b>Qualitative und morphometrische Auswertung der histologischen Präparate</b>             | <b>61</b>  |
| 5.4.1      | Hämatoxylin und Eosin-Färbung  | 61         |
| 5.4.1.1    | Tumorfläche und Zellvolumen inklusive Drüsenausführungsgänge                               | 65         |
| 5.4.2      | Endothelmarkierung: Bandeiraea simplicifolia Lektin I                                      | 65         |
| 5.4.2.1    | Blutvolumen, MVD, mittlere Gefäßfläche, interkapillärer Gefäßabstand und Diffusionsstrecke | 67         |
| 5.4.2.2    | Interstitielles Volumen  | 70         |
| 5.4.3      | Modifizierte Bindegewebsfärbung nach van Gieson  | 70         |
| 5.4.3.1    | Interstitielles Volumen inklusive Bindegewebe  | 72         |
| <b>5.5</b> | <b>Vergleich von MRT und histologischen Befunden</b>                                       | <b>74</b>  |
| 5.5.1      | Tumorfläche  | 74         |
| 5.5.2      | Blutvolumen  | 76         |
| 5.5.3      | Interstitielles Volumen und interstitielles Volumen inklusive Bindegewebe                  | 78         |
| 5.5.4      | Zellvolumen inklusive Drüsenausführungsgänge   | 80         |
| <b>6</b>   | <b>DISKUSSION</b>  | <b>83</b>  |
| 6.1        | Tumormodell  | 85         |
| 6.2        | Native MRT und Vergleich mit den histologischen Befunden                                   | 87         |
| 6.3        | Dynamische MRT mit Gadodiamid  | 89         |
| 6.4        | Prae- und Post-KM-Messungen mit VSOP-C 184   | 94         |
| 6.5        | Ausblick   | 99         |
| <b>7</b>   | <b>ZUSAMMENFASSUNG</b>   | <b>100</b> |
| <b>8</b>   | <b>SUMMARY</b>   | <b>102</b> |
| <b>9</b>   | <b>LITERATURVERZEICHNIS</b>  | <b>104</b> |
| <b>10</b>  | <b>ANHANG</b>  | <b>121</b> |
| <b>11</b>  | <b>DANKSAGUNG</b>  | <b>152</b> |
| <b>12</b>  | <b>SELBSTSTÄNDIGKEITSERKLÄRUNG</b>   | <b>153</b> |



# 1 VERWENDETE ABKÜRZUNGEN

|             |  |
|-------------|--|
| Abb.        | Abbildung  |
| AIF         | arterial input function, arterielle Eingangsfunktion |
| $B_0$       | Feldstärke   |
| BPH         | benigne Prostatahyperplasie                          |
| BSL I       | Bandeiraea simplicifolia Lektin I                    |
| bzw.        | beziehungsweise                                      |
| $C$         | Kontrastmittelkonzentration                          |
| $C_I$       | Konzentration im Interstitium                        |
| cm          | Zentimeter   |
| $C_p$       | Konzentration im Blutplasma                          |
| ca.         | circa  |
| $D$         | Diffusionskoeffizient                                |
| Da          | Dalton   |
| DAB         | Diaminobenzidin                                      |
| d. h.       | das heißt  |
| DNS         | Desoxyribonukleinsäure                               |
| DRU         | digitale rektale Untersuchung                        |
| $F$         | Blutfluss (Perfusion)                                |
| Fe          | Eisen  |
| FKDS        | Farbkodierte Doppler-Sonographie                     |
| FLASH       | Fast Low-Angle Shot                                  |
| FOV         | Field of View  |
| g           | Gramm  |
| Gd          | Gadolinium   |
| Gd-DTPA     | Gadolinium-(III)-Diethylentriaminpentaessigsäure     |
| Gd-DTPA-BMA | Gadolinium-Diethylentriaminessigsäure-Bismethylamid  |
| Gl.         | Gleichung  |
| GRE         | Gradienten-Echo                                      |
| HE          | Hämatoxylin und Eosin                                |
| HF          | Hochfrequenz   |

## 1 verwendete Abkürzungen

---

|                  |   |
|------------------|---|
| $^1\text{H-MRS}$ | Protonen-Magnetresonanzspektroskopie      |
| ICD              | mittlerer interkapillärer Gefäßabstand    |
| $J_s$            | Diffusionsfluss                           |
| kDa              | Kilodalton                                |
| kg               | Kilogramm                                 |
| KGW              | Körpergewicht                             |
| $k_{in}$         | Rückfluss in das intravasale Kompartiment |
| KM               | Kontrastmittel                            |
| $k_{out}$        | Extravasation                             |
| $K^{trans}$      | Austauschkonstante                        |
| l                | Liter                                     |
| M                | Matrix                                    |
| MHz              | Megahertz                                 |
| min              | Minute                                    |
| ml               | Milliliter                                |
| mm               | Millimeter                                |
| mM               | Millimolar                                |
| mmol             | Millimol                                  |
| MPS              | mononukleäres Phagozyten-System           |
| MR               | Magnetresonanz                            |
| MRS              | Magnetresonanzspektroskopie               |
| MRT              | Magnetresonanztomographie                 |
| ms               | Millisekunde                              |
| MVD              | mikrovaskuläre Dichte                     |
| nm               | Nanometer                                 |
| ng               | Nanogramm                                 |
| p                | Irrtumswahrscheinlichkeit                 |
| PBS              | phosphate buffered saline                 |
| PDS              | Powerdoppler-Sonographie                  |
| PIN              | prostatich intraepitheliale Neoplasie     |
| $PS$             | Permeabilitäts-Oberflächenprodukt         |
| PSA              | prostataspezifisches Antigen              |
| $Q_L$            | Gütefaktor einer geladenen HF-Spule       |

---

|                             |  |
|-----------------------------|--|
| r                           | Korrelationskoeffizient  |
| R <sub>1</sub>              | T <sub>1</sub> -Relaxivität  |
| R <sub>2</sub>              | T <sub>2</sub> -Relaxivität  |
| RF                          | Radiofrequenz  |
| ROI                         | Region of Interest   |
| s                           | Sekunde  |
| s. c.                       | subkutan   |
| SE                          | Spin-Echo  |
| SI                          | Signalintensität   |
| SI <sub>Post</sub>          | Signalintensität nach Kontrastmittelapplikation                      |
| SI <sub>Prae</sub>          | Signalintensität vor Kontrastmittelapplikation                       |
| SI <sub>Voll</sub>          | Signalintensität eines Vollblutvoxels                                |
| SNR                         | signal-to-noise-ratio, Signal-Rausch-Verhältnis                      |
| SPIO                        | Superparamagnetic Iron Oxide Particles                               |
| sog.                        | sogenannte   |
| t                           | Zeit   |
| T <sub>1</sub>              | T <sub>1</sub> -Relaxationszeit                                      |
| T <sub>1</sub> <sup>0</sup> | T <sub>1</sub> -Relaxationszeit in Abwesenheit eines Kontrastmittels |
| T <sub>2</sub>              | T <sub>2</sub> -Relaxationszeit                                      |
| TE                          | Echozeit   |
| TR                          | Repetitionszeit  |
| TRUS                        | transrektaler Ultraschall  |
| TSE                         | Turbo-Spin-Echo  |
| u. a.                       | unter anderem  |
| USPIO                       | Ultrasmall Superparamagnetic Iron Oxide Particles                    |
| V                           | Voxelgröße   |
| v <sub>B</sub>              | Blutvolumen  |
| v <sub>e</sub>              | relatives interstitielles Volumen                                    |
| v <sub>EE</sub>             | Zellvolumen inklusive der Ausführungsgänge                           |
| V <sub>eff</sub>            | effektives Volumen   |
| VSOP                        | Very Small Superparamagnetic Iron Oxide Particles                    |
| z. B.                       | zum Beispiel   |
| z. T.                       | zum Teil   |

## 1 verwendete Abkürzungen

---

|                  |  |
|------------------|--|
| 2D               | Zweidimensional  |
| $\alpha$         | relativer interstitieller Volumenanteil                                      |
| $\lambda$        | Gewebetorsion  |
| $\mu\text{m}$    | Mikrometer   |
| $\rho$           | Dichte des Gewebes   |
| $\omega_L$       | LAMOR-Frequenz   |
| $\nabla$         | Laplace Operator   |
| $Q$              | Quellterm, zeitliche Änderung der Kontrastmittelkonzentration in einem Gefäß |
| $^\circ$         | Grad   |
| $^\circ\text{C}$ | Grad Celsius   |
| $1/Q_0$          | Spuleneigenverlust   |
| $1/Q_m$          | magnetisch induzierter Wirbelstromverlust                                    |
| $1/Q_d$          | dielektrischer Verlust   |

## 2 EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG

In Deutschland, den USA und den westlichen Industrieländern ist das Prostatakarzinom das häufigste Malignom beim Mann und das am zweithäufigsten zum Tode führende Tumorleiden des Mannes (Dennis und Resnick 2000). Um möglichst viele Patienten in kurablen Stadien zu erreichen, empfehlen die „American Urological Association“ und die „American Cancer Society“ Männern ab dem fünfzigsten Lebensjahr eine jährliche digitale rektale Untersuchung (DRU), kombiniert mit einer Bestimmung der prostataspezifischen Antigen (PSA)-Konzentration im Serum. Da die sichere Diagnose eines Prostatakarzinoms bisher nur durch einen positiven Befund in der histologischen Untersuchung von Prostatagewebe möglich ist, wird bei Patienten mit einem suspekten Palpationsbefund und/oder erhöhter PSA-Konzentration eine transrektale Ultraschall (TRUS)-gestützte Stanzbiopsie der Prostata durchgeführt. Bei einem größeren Teil der Patienten mit erhöhtem PSA-Wert lässt sich jedoch in der Biopsie kein (Ellis und Brawer 1995) bzw. erst in der zweiten, dritten oder vierten Biopsie (Keetch et al. 1994) ein Malignom nachweisen. Ursache ist die schwierige Differenzierung des Prostatakarzinoms von normalem Prostatagewebe sowie gutartigen Prostataveränderungen in bildgebenden Verfahren, wie dem Ultraschall oder der Magnetresonanztomographie (MRT). Dies führt zu einer erschwerten Detektion des Tumoreals für die Biopsie und damit zu einem möglicherweise falsch negativen histologischen Befund. Die Folgen sind einerseits unnötig durchgeführte Biopsien bei gesunden Männern und andererseits eine verspätete Detektion des Prostatakarzinoms und somit ein verzögerter Therapiebeginn mit Verschlechterung der Prognose sowie der Lebensqualität der Patienten.

Die dynamische MRT ist eine nicht invasive klinisch einsetzbare Methode zur Bestimmung von Tumervaskularisation, Gefäßpermeabilität und Perfusion und basiert auf der intravaskulären Injektion eines Kontrastmittels und der daraus resultierenden zeitlichen Veränderung der Konzentrationen in Blut und Gewebe. Die Anstiegsgeschwindigkeit sowie der maximale Anstieg des Kontrastmittels in einem Gewebe ist abhängig von der Anzahl der Blutgefäße, der Perfusion (=Fluss) durch die Gefäße, dem Gefäßwiderstand, der Gefäßwandpermeabilität, der Zusammensetzung des Extrazellulärraumes und dem venösen Abfluss. Da diese Faktoren von Gewebe zu Gewebe differieren, unterscheiden sich auch die Anstiegskurven der Signalintensitäten (Barentsz et al. 1999). In mehreren Studien wurde deshalb versucht, durch Anwendung kontrastmittelgestützter dynamischer MR-Techniken die Spezifität dieser Methode für die Detektion des Prostatakarzinoms zu erhöhen. Bisher führten diese Studien zu einer geringgradigen Verbesserung. Es zeigten sich jedoch auch Überlappungen der Ergebnisse von Prostatakarzinom und gesundem Prostatagewebe oder eine nur mäßige Korrelation mit den histologischen Befunden (Engelbrecht et al. 2003). Die Gründe hierfür könnten eine unzureichende zeitliche Auflösung der bisher verwendeten

MRT-Sequenzen sowie eine zu große Schichtdicke der MRT im Verhältnis zu den histologischen Schnitten sein (Kiessling et al. 2004a). Ein weiteres Problem der Charakterisierung des humanen Prostatakarzinoms liegt in dem typischerweise gleichzeitigen Vorkommen verschiedener Differenzierungsstufen innerhalb eines Tumors (Riede et al. 2004a). Aus diesem Grund wird für die Verbesserung der Charakterisierung und der Differenzierung des Prostatakarzinoms gegenüber gesundem Prostatagewebe mittels dynamischer MRT ein Modell mit einem homogenen Tumor einerseits sowie mit einer MRT-Sequenz mit einer geringen Schichtdicke und einer hohen zeitlichen Auflösung andererseits benötigt.

Mittlerweile beschäftigen sich mehrere Arbeitsgruppen mit der Verbesserung der Differenzierung des Prostatakarzinoms gegenüber normalem Prostatagewebe mittels dynamischer MRT am Tiermodell (Gossmann et al. 1999, Kiessling et al. 2003b, Fan et al. 2004, Kiessling et al. 2004a, Fan et al. 2006). Dabei wird experimentell häufig die hochmaligne Mat-LyLu Sublinie des Dunning Ratten-Prostatakarzinoms eingesetzt. Bedingt durch das schnelle Wachstum dieser Tumoren und dem Auftreten von stark nekrotischen Tumorebenen können jedoch Änderungen in Perfusion und Metabolismus verdeckt werden. Für einen besseren Vergleich mit mittelgradig und gut differenzierten Prostatakarzinomen des Mannes sollten deshalb Tiermodelle mit langsam wachsenden Tumoren mit einer geringeren Malignität verwendet werden (Kiessling et al. 2003b).

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war die Etablierung eines Rattenmodells zur Differenzierung von orthotop implantiertem Prostatakarzinom und gesundem Drüsengewebe der Prostata an einem klinischen 1,5 Tesla MR-Ganzkörpertomographen mittels kontrastmittelgestützter dynamischer MRT. Weiterhin sollte die MRT als Methode zur Blutvolumenbestimmung von Prostatakarzinom und gesundem Prostatagewebe untersucht werden. Um gegenüber bisher verwendeten Tumormodellen eine bessere Übertragbarkeit der Ergebnisse auf das humane Prostatakarzinom zu gewährleisten, war eine wichtige Voraussetzung die Verwendung eines langsam wachsenden, die Größe der Prostata nicht überschreitenden Prostatakarzinoms. Aus diesem Grund sollten die Untersuchungen dieser Arbeit an Ratten mit orthotop implantiertem G-Dunning Rattenprostatakarzinom durchgeführt werden. Als Kontrastmittel für die MR tomographischen Untersuchungen sollten ein extravasierendes niedermolekulares Gd-haltiges Kontrastmittel (Gadodiamid) sowie ein lang anhaltend intravasal verbleibendes eisenoxidpartikelhaltiges Kontrastmittel (VSOP-C 184) zur Bestimmung verschiedener Perfusions- und Vaskularisationsparameter eingesetzt werden. Unmittelbar nach den MRT-Messungen sollten die Prostatae inklusive der Tumoren entnommen und zur Bestimmung verschiedener vaskulärer Parameter sowie für eine histologische Beurteilung aufgearbeitet werden und eine Korrelation der in der MRT und der in den histologischen Untersuchungen gewonnenen Daten erfolgen.



## 3 GRUNDLAGEN UND LITERATURÜBERSICHT

### 3.1 Prostata

Die Prostata, auch Vorsteherdrüse genannt, zählt neben der Samenleiterampulle (Ampulla ductus deferentis), der Samenblasendrüse (Glandula vesicularis) und der Bulbourethraldrüse (Glandula bulbourethralis) zu den akzessorischen Geschlechtsdrüsen des Mannes sowie vieler männlicher Säugetiere. Funktionell dient die Prostata der Absonderung eines dünnflüssigen, milchigen Sekrets, welches zusammen mit den Sekreten der anderen akzessorischen Geschlechtsdrüsen sowie den Spermien des Hodens als Sperma bei der Ejakulation der männlichen Säugetiere ausgestoßen wird.

#### 3.1.1 Prostata des Mannes

Die Prostata des Mannes ist eine unpaare Drüse und besitzt in etwa die Form und Größe einer Rosskastanie. Sie umschließt den Anfangsteil der Harnröhre zwischen Blasengrund und Beckenboden (Rohen und Lütjen-Decroll 2006). Anatomisch werden ein rechter und ein linker Lappen (Lobus dexter et sinister) unterschieden, welche ventral durch den Isthmus prostatae (Pars praeurethralis prostatae) und dorsal durch den Mittellappen (Lobus medius) miteinander verbunden sind. Umgeben ist die Prostata von einer festen, bindegewebigen Kapsel (Fascia prostatae) (Maurer 2003). Funktionell und entwicklungsgeschichtlich besteht die Prostata aus einer peripheren posterolateralen Zone und einer anterozentralen Transitionalzone sowie einer mehr zentral-kraniellen Zone (Riede et al. 2004a). Der kompakt erscheinende Drüsenkörper besteht aus 30 - 50 tubuloalveolären Drüsen, deren Sekret sich mit Hilfe von 12 - 20 Ausführungsgängen seitlich des Colliculus seminalis in den Sinus prostaticus der Harnröhre ergießt (Maurer 2003, Rohen und Lütjen-Decroll 2006). Die Drüsenschläuche sind verschieden weit. Zwischen ihnen befinden sich Bindegewebsstraßen unterschiedlicher Stärke mit Zügen glatter Muskulatur sowie Kollagenfasern und elastischen Fasern. Die Höhe des Drüsenepithels variiert in Abhängigkeit vom Androgenspiegel zwischen flach und hochprismatisch sowie einschichtig bis mehrreihig (Welsch 2002, Maurer 2003). Aufgebaut ist das Drüsenepithel aus fünf miteinander in Wechselbeziehung stehenden Zelltypen. Dies sind Stammzellen, basale Epithelzellen, transit amplifying cells, neuroendokrine Zellen und sekretorische lumenale Epithelzellen (Lam und Reiter 2006).

Das Prostata-Sekret des Mannes bildet ca. 15 - 30 % des Ejakulates, weist einen alkalischen pH-Wert (pH 7,3 - 7,8) auf (Rohen und Lütjen-Decroll 2006) und enthält unter anderem Zink, Zitronensäure, Magnesium, saure Phosphatase, Plasmin, Prostaglandine, Spermin und Spermidin in einer kalium- und kalziumreichen Salzlösung (Leichtweiß 1996, Maurer 2003).

Die Hauptaufgabe des Prostatasekrets ist die Aktivierung der Spermienbeweglichkeit, was durch seine Alkalität und Verdünnung des Spermas (Rohen und Lütjen-Decroll 2006) sowie durch seinen Anteil an Spermin erreicht wird (Maurer 2003).

#### **3.1.2 Prostata der Ratte**

Bei der Prostata der Ratte handelt es sich, gleich der Prostata des Mannes, um eine tubuloalveoläre Drüse mit in das Stroma eingelagerten Muskelzellen. Die Rattenprostata unterscheidet sich von der humanen Prostata in der Größe und der Konfiguration ihrer Lappen. Zwischen Geburt und Geschlechtsreife steigt das Gewicht der Prostata allmählich an, wobei zwischen dem 10. und 15. Tag post partum eine Gewichtsdegression beschrieben wird (Heckmann 1978). Unter Betrachtung der Zelldifferenzierung kann ein adultes Erscheinungsbild mit 28 Tagen post partum beobachtet werden. Mit 35 Tagen post partum ist die Zellentwicklung zum größten Teil abgeschlossen (Heckmann 1978). Anatomisch besteht die Prostata der Ratte aus den jeweils bilateral angeordneten dorsokraniellen, den dorsolateralen und den ventralen Prostatalappen (Hebel und Stromberg 1986, Komárek et al. 2000).

Die länglichen dorsokraniellen Prostatalappen (auch Koagulationsdrüse genannt) liegen an der inneren, medialen, konkaven Seite der Samenblasendrüsen, mit denen sie durch eine Ummantelung aus lockerem Bindegewebe verbunden sind. Sie besitzen einen langen englumigen Ausführungsgang, welcher lateral und ventral zum Samenleiter verläuft und dorsokraniel des Ostium ejaculatorium auf dem Colliculus seminalis mündet. Die Länge der Drüse variiert von 3 bis 6 mm (Hebel und Stromberg 1986).

Die Drüsenlappen der dorsolateralen Prostata umschließen das proximale Ende der Harnröhre, die Basis der Harnblase, die Samenblasendrüsen, die Koagulationsdrüse sowie den proximalen Teil der Samenleiter mit Ampullendrüsen (Hebel und Stromberg 1986). Die sezernierenden Anteile öffnen sich in Sammelgängen mit einer ein enges Lumen umgebenden Muskelschicht. Die Sammelgänge vereinigen sich anschließend zu ca. 15 Ausführungsgängen, welche zusammen mit denen der ventralen Prostatalappen lateral zu den Ausführungsgängen der anderen Drüsen verlaufen und im Fundus des Divertikulums in der Nähe des Colliculus seminalis münden. Einige wenige Ausführungsgänge münden etwas weiter caudal in die Urethra ein. Der gesamte Drüsenkörper hat eine Breite von 5 - 10 mm (Hebel und Stromberg 1986).

Die ventralen Prostatalappen sind der ventrolateralen Oberfläche der Harnblase angelagert. Das äußere Erscheinungsbild wird als birnen- (Heckmann 1978) bis keulenförmig mit rötlich-

grauer Farbe und welliger Oberfläche (Hebel und Stromberg 1986) beschrieben. Die Epithelzellen der tubuloalveolären Drüse sind hoch- oder isoprismatisch (Heckmann 1978). Im peripheren Bereich der Drüse finden sich durch das Epithel geformte Falten, welche das Drüsenlumen einengen. Im zentralen Drüsenbereich fehlen diese Falten, wodurch ein deutlich breiteres Drüsenlumen (ca. 3 mm) vorliegt. Die Drüsenendstücke sind umgeben von einer dünnen inkompletten Muskelschicht. Jede der Drüsen weist 5 bis 7 Ausführungsgänge auf, welche entlang der lateralen Seite der Harn-Samen-Röhre (Urethra) liegen. Die Öffnungen der Ausführungsgänge liegen entlang der Basis der zwei Schleimhautfalten, welche sich zwischen dem Colliculus seminalis und der gegenüberliegenden Seite der Harnröhre spannen (Hebel und Stromberg 1986). Die Angaben über die Länge der ventralen Prostatalappen variieren in der Literatur von 13 bis 18 mm (Heckmann 1978).

Die autonome Innervation der ventralen Prostata besteht hauptsächlich aus adrenergen und einigen noradrenergen Nerven, welche häufig mit den die Alveolen und die Ausführungsgänge umgebenden glatten Muskelzellen in engem Kontakt stehen (Vaalasti und Hervonen 1979).

## 3.2 Tumoren

Als Tumor (Synonyme u. a. Geschwulst, Blastom, Neoplasie und Neubildung) bezeichnet man eine, in der Regel umschriebene, strukturell und funktionell abnorme Wucherung körpereigener Zellen (Ausnahme Transplantationstumoren), die autonom verläuft und den Gesamtorganismus schädigt (Weiss und Karbe 1990). Die Einteilung von Tumoren erfolgt nach ihrer geweblichen Herkunft (Histogenese) und hinsichtlich ihres biologischen Verhaltens (Dignität). Grundsätzlich werden epitheliale und mesenchymale Blastome sowie Tumoren des pigmentbildenden Gewebes (Melanome) und des Neuroektoderms unterschieden. Bösartige Tumoren, die vom Epithel ausgehen, werden als Karzinome (z. B. Plattenepithelkarzinom oder Adenokarzinom) bezeichnet.

Zur Entstehung von Tumoren kommt es durch Transformation von Körperzellen zu Krebszellen (sog. Kanzerisierung). Die Krebszellen können sich primär nur an einer Stelle (lokal) oder gleichzeitig an vielen Stellen des Körpers (multipel bzw. multizentrisch, unter Umständen auch systemisch) entwickeln. Durch laufende Zellteilung kommt es zu einer Vermehrung der Krebszellen, einem Wachstum des Tumors und schließlich zur klinischen Manifestation. Das Wachstum der Tumoren kann expansiv oder invasiv (infiltrativ) erfolgen. Bei expansivem Wachstum schiebt der sich vergrößernde Tumor das benachbarte Gewebe vor sich her, welches häufig druckatrophisch zugrunde geht. Im Gegensatz dazu ist beim

invasiven Wachstum der Tumor nicht scharf abgegrenzt.

Histologisch besteht ein Tumor im Allgemeinen aus den eigentlichen Tumorzellen (Tumorparenchym) und einem gefäßhaltigen Stützgewebe (Tumorstroma) (Böcker et al. 2004). Bei gut voneinander getrennten Kompartimenten, Parenchym und Stroma, spricht man von einer organoiden Geschwulst. Sind dagegen beide Bestandteile nur schwer unterscheidbar, handelt es sich um eine histoide Geschwulst. Bezüglich ihrer Ausreifung weisen Tumoren häufig eine gewebespezifische zelluläre, histoarchitektonische und funktionelle Ausreifung auf, die sich in der Ähnlichkeit des Tumorgewebes zum Normalgewebe ausdrückt. Diese Ausreifung wird als Differenzierung bezeichnet und ist in Tumoren unterschiedlich stark ausgeprägt (Böcker et al. 2004). Bei Anwendung der üblichen histologischen Methoden lassen differenzierte Geschwülste unschwer erkennen, von welchem Gewebe sie ihren Ausgang genommen haben, während dies bei „wenig differenzierten“ oder „undifferenzierten Tumoren“ kaum oder nicht möglich ist (Weiss und Karbe 1990). Für die Therapieplanung und Therapiekontrolle ist die Bestimmung der Histogenese und des Differenzierungsgrades der Geschwulst von entscheidender Bedeutung.

Hinsichtlich des biologischen Verhaltens von Tumoren können grundsätzlich maligne (bösartige), benigne (gutartige) und semimaligne Tumoren unterschieden werden. Die bösartigen Tumoren sind im Allgemeinen durch ein invasives, häufig auch destruierendes und schnelles Wachstum, sowie durch eine unscharfe Begrenzung gekennzeichnet. Ein absolutes Kriterium für die Bösartigkeit eines Tumors stellt das Auftreten von Metastasen dar welches entscheidend für das weitere Schicksal des krebserkrankten Patienten ist. Histologisch sind die bösartigen Tumoren vor allem durch Atypie und Polymorphie der Zellen gekennzeichnet. Es kommen unterschiedlich große Zellen, Riesenzellen, eine Verschiebung der Kern-Plasmarelation zugunsten des Kernes, pathologische Mitosen, Kernpolychromasie und Nukleolenvergrößerung vor. Die Kernveränderungen beruhen auf Chromosomenaberrationen und einem unterschiedlichen Desoxyribonukleinsäure (DNS)-Gehalt (Aneuploidie) der Tumorzellen. Gutartige Tumoren wachsen im Gegensatz zu bösartigen Tumoren im Allgemeinen langsam und expansiv und metastasieren nicht. Histologisch sind sie gut differenziert und weichen hinsichtlich ihres DNS-Gehaltes nicht von normalen Zellen ab (Diploidie) (Weiss und Karbe 1990). Semimaligne Geschwülste stellen eine Sonderform dar. Sie wachsen zwar lokal invasiv und destruktiv, metastasieren jedoch nicht (Böcker et al. 2004).

### 3.2.1 Vaskularisation von Tumoren

Die Vaskularisation von Tumoren erfolgt einerseits über Gefäße, welche aus dem bestehenden Gefäßnetzwerk des Wirtsorganismus entstammen und andererseits über Gefäße, die aus der Antwort der Wirtsgefäße auf die Angiogenesefaktoren der Tumorzellen resultieren (Folkman 1985, Jain 1988).

1988 wurden die Tumorgefäße von Jain (1988) ausgehend von ihrer Ultrastruktur entlang des Blutflusses (von der arteriellen zur venösen Seite) eingeteilt. Um möglichst viele Analogien zu gesundem Gewebe darzustellen, erfolgte eine Einteilung in 9 Klassen: 1. Arterien und Arteriolen, 2. nichtfenestrierte Kapillaren, 3. fenestrierte Kapillaren, 4. diskontinuierliche Kapillaren (Sinusoide), 5. Blutkanäle ohne endotheliale Auskleidung, 6. kapilläre Sprossungen, 7. postkapilläre Venulen (Riesenskapillaren), 8. Venulen und Venen und 9. arteriovenöse Anastomosen. Mit Ausnahme der Klassen 5 und 6 existieren alle Gefäßstrukturen auch in gesundem Prostatagewebe. Im Unterschied zu dem Gefäßsystem in gesunden Geweben können sich in den endothelialen Auskleidungen von Tumorgefäßen Tumorzellen befinden. Zudem sind die Tumorgefäße häufig dilatiert, sackartig erweitert sowie stark gewunden (Hammersen et al. 1985) und sie weisen spezielle Verzweigungsmuster, blinde Endigungen und Schlaufenstrukturen auf (Less et al. 1991). Für die Beurteilung der Vaskularisation von Geweben können durch histologische Methoden die mikrovaskuläre Dichte (MVD) und das Gefäß- bzw. Blutvolumen quantifiziert werden. Es zeigte sich in verschiedenen, an Patienten mit histologisch gesicherten Prostatakarzinomen durchgeführten Studien, dass die Bestimmung der mikrovaskulären Dichte als Prognosefaktor für eine Metastasierung dem Gleason-Score (histologische Beurteilung des Malignitätsgrads) überlegen ist (Weidner et al. 1993) und dass eine positive Korrelation zwischen der Kapillardichte eines Prostatakarzinoms und einer Metastasierung in das Knochenmark besteht (Wakui et al. 1992). Andere Studien haben gezeigt, dass die Neovaskularisation eines Tumors mit einem erhöhten Risiko von Fernmetastasen und Tumorrezidiven nach operativen Eingriffen sowie einer schlechteren Überlebensrate korreliert (Weidner et al. 1993, de la Taille et al. 2000, Mehta et al. 2001).

Weitere Vaskularisationsparameter wie die Gefäßpermeabilität und die Perfusion können mittels dynamischer MRT erfasst werden, wobei die Gefäßpermeabilität üblicherweise nicht direkt gemessen, sondern als Austauschkonstante ( $K^{\text{trans}}$  oder Permeabilitäts-Oberflächenprodukt) angegeben wird. Die Perfusion ist ein Maß für das Blutvolumen, welches pro Zeiteinheit durch ein definiertes Gewebvolumen fließt. Da es sich bei der Gefäßpermeabilität und der Perfusion um funktionelle Parameter handelt, ist eine Quantifizierung anhand histologischer Untersuchungen nicht möglich.

## **3.2.2 Prostatakarzinom des Mannes**

### **3.2.2.1 Morphologie**

Das primäre Prostatakarzinom des Mannes ist eine prostatistische epitheliale Neoplasie, welche von den Stammzellen in der Basalschicht peripherer Drüsenanteile ausgeht und eine sehr unterschiedliche Malignität aufweisen kann (Riede et al. 2004a). Sekundäre Geschwülste treten in der Prostata als Metastasen auf oder haben von Nachbarorganen, wie z. B. Rektum und Harnblase auf die Prostata übergegriffen (Dohm 1991). Morphologisch nimmt das primäre Prostatakarzinom bei 70 % der Patienten seinen Ausgang von der äußeren Hälfte des Organs und entsteht meist multizentrisch. Histologisch handelt es sich in 97 % aller Prostatakrebsfälle um Adenokarzinome (bösartiger epithelialer Tumor mit drüsenartigem Phänotyp). Diese bilden verschiedene Wachstumsmuster und kommen entweder in Form von hochdifferenzierten bzw. wenig differenzierten glandulären, kribiformen oder soliden Karzinomen vor. Die hochdifferenzierten glandulären Karzinome weisen eine niedrige und die soliden eine hohe Malignität auf. Bei den meisten Prostatakarzinomen handelt es sich um pluriforme Karzinome, d. h. es befinden sich mehrere Wachstumsmuster nebeneinander (Riede et al. 2004a).

### **3.2.2.2 Einteilung**

Eine Einteilung des Prostatakarzinoms erfolgt nach Stadien im TNM-System, nach dem Maß der Entdifferenzierung der Tumorzellen (histologisches Grading) oder dem Malignitätsgrad (Gleason-Score) sowie anhand des prostataspezifischen Antigen (PSA)-Wertes im Serum (Gleason 1966, Gleason und Mellinger 1974, Riede et al. 2004a). Nach dem TNM-System wird die Tumorausbreitung (Staging) beurteilt. Dabei bezeichnet T die Tumorausbreitung in der Prostata und ihrer direkten Umgebung, N steht für die Zahl und den Ort eines Lymphknotenbefalls und M benennt das Auftreten sowie den Ort von Fernmetastasen in anderen Organen (Riede et al. 2004a, Riede et al. 2004b).

Beim histologischen Grading wird bestimmt, wie sehr sich die Tumorzellen in ihrem Aussehen (Morphologie), ihrer Anordnung im Zellverband (Histologie) sowie in der Funktion und der Teilungstendenz von einer gesunden Zelle des Ausgangsgewebes unterscheiden. Die Angabe des histologischen Gradings erfolgt in Stufen von G 1 bis G 3 und beschreibt die höchste Stufe der Entdifferenzierung in einem Tumor.

Da viele Prostatakarzinome multifokal wachsen und häufig mehrere Differenzierungsgrade innerhalb eines Tumors auftreten, hat sich eine Einteilung mittels des Gleason-Scores als

vorteilhaft erwiesen. Bei dem Gleason-Score (Gleason 1966) wird das primär und sekundär vorherrschende Wachstumsmuster des Tumors je nach Malignität von 1 bis 5 bewertet und zu einem Gesamtscore von 2 bis 10 addiert. Dabei werden der Grad der glandulären Differenzierung und die Beziehung der Drüsen zum Stroma betrachtet. Zytologische Eigenschaften, wie z. B. nukleäre Anaplasie, spielen keine Rolle. Der Vorteil des Gleason Gratings gegenüber dem dreistufigen Grading besteht in der besseren prognostischen Aussagekraft bei mäßig differenzierten Tumoren (Gleason 5-7, bzw. G 2). So hat sich gezeigt, daß Tumoren mit einem kombinierten Gleason Grad 7 eindeutig aggressiver sind als Grad 5 und 6 Tumoren. Nach dem histologischen Grading werden diese Tumoren dagegen alle unter Grad 2 zusammengefasst.

Das PSA ist eine Serinprotease und kommt im Blutserum in verschiedenen molekularen Subfraktionen vor. Eine Erhöhung des PSA-Wertes kann auf ein Prostatakarzinom hindeuten. Andererseits kann das PSA auch beim Vorliegen von gutartigen Veränderungen der Prostata, wie der benignen Prostatahyperplasie (BPH) oder einer Prostatitis, erhöht sein. Die Bestimmung des PSA-Wertes gilt dennoch als ein wertvolles Hilfsmittel, ein Prostatakarzinom frühzeitig zu erkennen (Catalona et al. 1991).

#### **3.2.2.3 Prognosekriterien und Therapiemöglichkeiten**

Als bisher anerkannte Prognosekriterien für Patienten mit einem Prostatakarzinom gelten neben den oben aufgeführten TNM-Stadien (Miller und Cygan 1994), dem Gleason-Score (Gleason und Mellinger 1974, Sgrignoli et al. 1994) und dem PSA-Wert (Berner et al. 1995) das Tumolvolumen, welches mit der Wahrscheinlichkeit einer Fernmetastasierung korreliert (McNeal et al. 1986).

Als therapeutische Maßnahmen des Prostatakarzinoms stehen, in Abhängigkeit von Stadium und Alter des Patienten, die radikale Prostatektomie bei lokal begrenztem Prostatakarzinom sowie die Strahlentherapie (Radiatio) bei lokal begrenztem oder fokal fortgeschrittenem Prostatakarzinom zur Auswahl. Bei fortgeschrittenen metastasierten Tumorstadien und bei Patienten im höheren Lebensalter bzw. beim Vorliegen von Komorbiditäten besteht die Möglichkeit einer Hormontherapie.

#### **3.2.3 G-Dunning Rattenprostatakarzinom**

Das Dunning Rattenprostatakarzinom R 3327 wurde ursprünglich 1961 von W. F. Dunning in einer 22 Monate alten männlichen Inzucht-Copenhagen-Ratte entdeckt (Isaacs et al. 1986). Durch fortlaufende in vivo Passage des originären R 3327 Tumors wurden verschiedene Sublinien mit unterschiedlichen biologischen Eigenschaften gefunden. Eine dieser Zelllinien wurde von W. F. Dunning als Sublinie G benannt. Die Zellen des G-Dunning Tumors sind charakterisiert durch ein langsames Wachstum, eine Sensitivität gegenüber Androgenen, einer geringen Metastasierungsrate (weniger als 5 % von Ratten mit subkutan implantierten Tumorzellen entwickeln Metastasen) und einem soliden Tumorwachstum. Die Tumorverdopplungsrate liegt bei subkutaner Inokulation von  $2 \times 10^6$  Zellen bei  $4,0 \pm 0,2$  Tagen in unkastrierten Ratten (Isaacs et al. 1986). Da die G-Dunning Prostatakarzinome keine Drüsenstrukturen ausbilden und ein einheitliches Wachstumsmuster vorherrscht, werden diese Tumoren auch nicht, wie das Prostatakarzinom des Menschen, nach dem histologischen Grading bzw. dem Gleason-Score eingeteilt.

#### **3.3 Magnetresonanztomographie (MRT)**

Die Magnetresonanztomographie (MRT) oder Kernspintomographie ist ein nichtinvasives bildgebendes Verfahren, das auf dem Prinzip der Kernspinresonanz beruht. Das Prinzip der magnetischen Kernresonanz wurde bereits 1946 von Bloch und Purcell (Bloch et al. 1946, Purcell et al. 1946) unabhängig voneinander entdeckt und in der Folge für physikalische Anwendungen, chemische Analysen und für biologische Fragestellungen intensiv genutzt. 1952 erhielten Bloch und Purcell für ihre Entdeckung den Nobelpreis für Physik. 1973 gelang es Lauterbur (1973) erstmals eine Versuchsanordnung zu beschreiben, die eine orts aufgelöste Abbildung eines flüssigkeitsgefüllten Phantoms ermöglichte, wofür er 2003 zusammen mit Mansfield mit dem Nobelpreis für Medizin ausgezeichnet wurde.

Seit etwa 20 Jahren stehen klinisch einsetzbare Magnetresonanztomographen für die Bildgebung zur Verfügung. Nachdem die MRT zunächst speziellen klinischen Fragestellungen im Bereich des Zentralnervensystems vorbehalten war, hat sich das Indikationsspektrum mittlerweile deutlich erweitert. Inzwischen stellt die MRT bei diversen Erkrankungen die Methode der Wahl dar (Semmler und Reiser 2002).

Die Technik der MRT ermöglicht die Darstellung von detaillierten Schnittbildern eines Körpers mit sehr gutem Weichteilkontrast und gibt einen genauen Aufschluss über die Anatomie sowie über metabolische und pathologische Veränderungen. Für die Erzeugung der MRT-Bilder wird der Patient in ein magnetisches Feld mit hoher Feldstärke gelagert.



Durch Hochfrequenz (HF)- und Gradientenspulen werden Radiofrequenz (RF)-Pulse gesendet und magnetische Zusatzfelder geschaltet. Die dadurch im Körper erzeugten Radiowellen werden mittels Empfangsspulen gemessen und über mathematische Verfahren an einem Computer in Bilder umgewandelt. Aufgrund der Nutzung von elektromagnetischen Eigenschaften entfallen in der MRT die Gefahren durch ionisierende Strahlung, wie sie bei der klassischen Röntgenuntersuchung und der Computertomographie vorhanden sind.

### 3.3.1 MRT-Bildgebung

Magnetresonanz (MR)-Untersuchungen sind immer dann möglich, wenn die Atomkerne des zu untersuchenden Gewebes ein messbares magnetisches Kernmoment besitzen. Dies ist bei Atomkernen mit ungerader Nukleonenzahl der Fall. Der einfachste dieser Atomkerne ist der Wasserstoffatomkern mit nur einem Proton. In ihrer Gesamtheit bilden die Wasserstoffatomkerne den größten Anteil der messbaren magnetischen Kernmomente in menschlichen und tierischen Körpern und werden deshalb für die MR-Bildgebung verwendet.

Für MR-tomographische Untersuchungen wird ausgenutzt, dass sich die Protonen in einem Atomkern in ständiger Drehbewegung um die eigene Achse befinden, dem so genannten Spin. Durch die Rotation der Ladungsverteilung entsteht ein elektrischer Kreisstrom, der ein magnetisches Dipolfeld induziert. Die magnetischen Momente von Atomkernen sind statistisch gesehen in einem magnetfeldfreien Raum in alle Richtungen orientiert. Nach Anlegen eines externen Magnetfeldes richten sich die magnetischen Momente der Protonen entlang dieses Magnetfeldes aus, entweder in der energetisch höheren antiparallelen oder etwas häufiger in der energetisch niedrigeren parallelen Stellung. So entsteht in Richtung des angelegten Magnetfeldes eine messbare Längsmagnetisierung. Zusätzlich führen die Protonen in einem äußeren Magnetfeld eine Kreiselbewegung um die Achse der magnetischen Ausrichtung aus, die so genannte Präzession. Die Frequenz dieser Präzessionsbewegung, die so genannte Lamorfrequenz, ist exakt proportional zu der Stärke des angelegten Magnetfeldes und Grundlage der MR-Bildgebung. Die Präzessionsfrequenz von Wasserstoffprotonen beträgt bei einer Magnetfeldstärke von 1 Tesla beispielsweise 42,5 MHz (Edelmann et al. 1990, Schild 1997).

Durch Einstrahlen eines der Lamorfrequenz entsprechenden HF-Impulses senkrecht zum Magnetfeld kann Energie auf die Protonen übertragen werden. Dieses Phänomen der Energieübertragung wird als Resonanz bezeichnet. Durch das Einstrahlen des HF-Impulses wird die Magnetisierung aus der Ruhelage (in Feldrichtung) ausgelenkt und die Protonen aus dem energetisch niedrigeren parallelen in den energetisch höheren antiparallelen Zustand gebracht. Der Anteil der Magnetisierung, der dabei senkrecht zur Feldrichtung zeigt wird als

Transversalmagnetisierung bezeichnet. Gleichzeitig sind die Präzessionsbewegungen der Protonen synchronisiert, sie präzedieren in Phase. Die Präzessionsbewegung der ausgelenkten Magnetisierung ist dann als Radiofrequenzsignal messbar. Durch Beeinflussung der Phase und der Frequenz durch zusätzlich angelegte Magnetfeldgradienten kann die Magnetisierung mit Hilfe der mathematischen Fourier-Transformation entsprechenden Bildpunkten zugeordnet werden. Mit der Zeit geben die Protonen die aufgenommene Energie wieder an ihre Umgebung ab und kehren in ihren Ausgangszustand zurück (longitudinale Magnetisierung). Die Abgabe der Energie erfolgt dabei an benachbarte Atomkerne, welche im Allgemeinen als Gitter bezeichnet werden. Dieser Vorgang heißt Spin-Gitter-Wechselwirkung. Die Geschwindigkeit mit der die Magnetisierung in den Gleichgewichtszustand zurückkehrt kann durch die Zeitkonstante  $T_1$ -Relaxationszeit beschrieben werden. Des Weiteren findet noch eine Wechselwirkung zwischen sich annähernden Spins statt. Dabei kommt es zu einer zufälligen Richtungsänderung der Transversalmagnetisierung (Spin-Spin-Wechselwirkung). Je länger dieser Prozess andauert, umso stärker zeigen die Einzelmagnetisierungen in unterschiedliche Richtungen und umso schwächer wird das resultierende Messsignal. Die Zeitkonstante, welche diesen Prozess charakterisiert, ist die so genannte  $T_2$ -Relaxationszeit. Diese charakterisiert die Dephasierung der Protonen. Im Gegensatz zur  $T_1$ -Relaxationszeit findet während der  $T_2$ -Relaxationszeit keine Energieübertragung statt und die  $T_2$ -Relaxationszeit ist nahezu unabhängig von der Magnetfeldstärke und der eingestrahlten Frequenz. Weiterhin gibt es noch die  $T_2^*$ -Relaxationszeit. Da unter realen Bedingungen das äußere Magnetfeld nicht homogen ist, z. B. bedingt durch den MR-Tomographen selbst oder den zu untersuchenden Körper, wird eine zusätzliche Dephasierung verursacht, welche die substanzspezifische  $T_2$ -Relaxationszeit zur effektiven  $T_2^*$ -Relaxationszeit reduziert.

#### **3.3.1.1 Bildqualität**

In der MRT hängt die Bildqualität, vor allem der diagnostisch verwertbare Bildkontrast, von mehreren Geräte- und Gewebeparametern ab. Bei den Geräteparametern handelt es sich um die Sequenzparameter Repetitionszeit, Echozeit und Anregungswinkel.

Die Repetitionszeit (TR) beschreibt die Zeit zwischen zwei aufeinander folgenden Anregungen einer Schicht durch das Einstrahlen eines HF-Pulses. Die TR ist entscheidend für den  $T_1$ -Kontrast eines Bildes, da innerhalb einer kurzen Repetitionszeit nur Gewebe mit einer kurzen  $T_1$ -Relaxationszeit in ihren ursprünglichen Zustand zurückkehren können und somit für eine wiederholte Anregung zur Verfügung stehen. Diese Gewebe erscheinen dann in  $T_1$ -gewichteten Bildern hell. Die Echozeit (TE) beschreibt die Zeit zwischen

Anregungsimpuls und Messung und beeinflusst vorwiegend die Wirkung der  $T_2$ -Relaxationszeit auf den Bildkontrast. Wird die Messung eines MR-Signals kurz nach dem Anregungsimpuls durchgeführt, präzedieren noch viele Spins in Phase. Je länger die Echozeit wird, desto mehr Spins dephasieren und umso stärker ist der Signalverlust. Da Gewebe mit langen  $T_2$ -Relaxationszeiten bei einer langen Echozeit nicht so schnell an Signal verlieren, erscheinen diese auf  $T_2$ -gewichteten Bildern hell.

Bei den Gewebeparametern handelt es sich um die oben beschriebenen kernresonanztypischen Parameter  $T_1$ -,  $T_2$ - und  $T_2^*$ -Relaxationszeit. Darüber hinaus spielt die Protonendichte der Gewebe, d. h. die Anzahl der anregbaren Spins pro Volumeneinheit, eine Rolle. Für die kernspintomographische Diagnostik ist dabei entscheidend, dass die meisten Gewebe bezüglich ihrer Relaxationszeiten und Protonendichten unterschieden werden können. Dies gilt allerdings nur dann, wenn für diese Parameterkonstellation die entsprechenden Geräteparameter optimal gewählt wurden. Mittlerweile wurden für die meisten Gewebearten die Relaxationszeiten ermittelt oder geschätzt und für die entsprechenden MRT-Untersuchungen die optimalen Geräteparameter bestimmt.

Ein diagnostisches Problem tritt auf, wenn sich die Gewebeparameter verschiedener Gewebe nicht ausreichend unterscheiden. Daher sind Gewebeveränderungen unterschiedlicher Art, wie z. B. ein Prostatakarzinom und eine Prostatitis, nicht voneinander zu differenzieren.

#### **3.3.1.2 Hochfrequenzspulen in der MRT**

In der MRT dienen Hochfrequenz (HF)-Spulen der Anregung der Kernspinresonanz im gewünschten Abbildungsbereich und nach Ende der Anregung als Messwertaufnehmer für die durch die rotierende transversale Magnetisierungskomponente der Spins induzierte Spannung. Dynamische kontrastmittelgestützte MRT-Messungen, wie Perfusionsmessungen an der Prostata, sind nur dann sinnvoll, wenn das gemessene Signal ein ausreichend hohes Signal-Rausch-Verhältnis (SNR, signal-to-noise-ratio) besitzt, so dass eine Auswertung der gemessenen Signal-Zeit-Kurven mit ausreichender Genauigkeit möglich ist. Die zeitliche Auflösung mit der die Signal-Zeit-Kurve abgetastet werden muss, wird durch die Geschwindigkeit der Änderung des gemessenen Signals (Signalanstieg) bestimmt, welches von verschiedenen Gewebeparametern, wie z. B. der Permeabilität bzw. dem Permeabilitäts-Oberflächenprodukt der Blutgefäße abhängt. Das SNR einer Empfangsspule lässt sich einerseits durch eine Optimierung der in der verwendeten Messsequenz auftretenden Parameter, wie Flipwinkel, Repetitions- und Echozeiten und andererseits durch die Auswahl

einer HF-Spule mit möglichst hohem Empfangwirkungsgrad verbessern. Das Rauschverhalten einer HF-Spule ist dabei von der Spulengeometrie, der Güte der Spule, dem effektiven Volumen ( $V_{\text{eff}}$ ) und der LAMOR-Frequenz  $\omega_L$  abhängig. Die Güte der (unbeladenen) Spule hängt dabei im Wesentlichen von der Induktivität, der Kapazität, der verwendeten Bandbreite und der Spulentemperatur ab (Morneburg 1995). Während magnetische Verluste im Körpergewebe unvermeidbar sind, lassen sich Spuleneigenverluste und dielektrische Verluste minimieren. Der auftretende Gesamtverlust lässt sich als Summe von drei reziproken Gütefaktoren beschreiben: dem Spuleneigenverlust  $1/Q_0$ , dem magnetisch induzierten Wirbelstromverlust  $1/Q_m$  im leitfähigen Körpergewebe und dem dielektrischen Verlust  $1/Q_d$  durch Wechselwirkung von elektrischen Spulenfeldern mit dem Körpergewebe.

So ergibt sich für das SNR einer Empfangsspule (Roschmann 1987):

$$SNR \propto \sqrt{\frac{Q_L}{V_{\text{eff}}}} \quad (\text{Gl. 3.1})$$

( $SNR$  = Signal-Rausch-Verhältnis,  $Q_L$  = Gütefaktor der geladenen Spule,  $V_{\text{eff}}$  = effektives Volumen).

#### 3.3.2 MRT-Kontrastmittel

Wie auch in anderen bildgebenden Verfahren, wie der konventionellen Radiographie, kann durch den Einsatz von Kontrastmitteln die diagnostische Aussagekraft der MRT erheblich verbessert werden. Bei den in der MRT eingesetzten Kontrastmitteln handelt es sich um magnetisch wirksame Substanzen, die selbst zwar nicht bildgebend sind, aber eine Veränderung des lokalen Magnetfeldes und somit eine Relaxationszeitverkürzung der Protonen bewirken. Dieser Effekt beruht auf einer Wechselwirkung der Kontrastmittel mit in ihrer Umgebung befindlichen Protonen der Wasser-, Fett- oder Eiweißmoleküle (Rumor 1996). Die verschiedenen Kontrastmittel in der MRT zeichnen sich durch Unterschiede in ihrer Molekülgröße, Anzahl an ungepaarten Elektronen, Oberflächenstruktur und somit in ihren pharmakologischen und pharmakokinetischen Eigenschaften im menschlichen und tierischen Organismus aus. Zu unterscheiden sind mehrere Gruppen von Kontrastmitteln mit Bedeutung in der MRT:

- I. Makromolekulare gadoliniumhaltige Kontrastmittel
- II. Niedermolekulare gadoliniumhaltige Kontrastmittel
- III. Partikuläre eisenoxidhaltige Kontrastmittel mit
  - a) Superparamagnetic Iron Oxide Particles (SPIO)
  - b) Ultrasmall Superparamagnetic Iron Oxide Particles (USPIO)
  - c) Very Small Superparamagnetic Iron Oxide Particles (VSOP)

### **3.3.2.1 Gadoliniumhaltige Kontrastmittel**

Gadolinium (Gd) ist als freies Molekül ein giftiges Schwermetall aus der Gruppe der Lanthanide. In vivo bilden die paramagnetisch (Magnetfeld verstärkend) wirksamen dreiwertigen Gadolinium ( $Gd^{3+}$ )-Ionen unlösliche hydroxykolloidale Partikel, welche sich vor allem im mononukleären Phagozyten-System (MPS) von Leber, Milz, lymphatischen Organen, der Lunge und des Knochenmarks anreichern und bereits ab Dosen von 10 - 20  $\mu$ g pro kg Körpergewicht (KGW) zu Leberzellnekrosen führen (Stark und Bradley 1992, Weinmann et al. 2002). Werden sie jedoch in Verbindung mit sehr starken Komplexbildnern als Kontrastmittel eingesetzt, kann die Einlagerung in Gewebe und die damit verbundene Toxizität verhindert werden.

$Gd^{3+}$  weist mit sieben ungepaarten Elektronen ein besonders großes effektives magnetisches Moment auf. Dies verleiht Gadolinium die höchste Relaxationsverstärkung unter den Lanthanid-Metallen (Nycomed 1994). Die Wechselwirkung von Gd-haltigen Kontrastmitteln mit den Wasserstoffkernen des jeweiligen Gewebes führt zu einer Änderung der Signalintensität im MRT. Prinzipiell können dabei zwei gegensinnig wirkende Effekte des Kontrastmittels ausgenutzt werden: Einerseits eine Signalerhöhung durch Verkürzung der  $T_1$ -Relaxationszeit (Koenig et al. 1986, Rosen et al. 1989) und andererseits eine Signalreduzierung, bedingt durch starke Suszeptibilitätsunterschiede zwischen Gefäßinnenlumen und Gewebe (Belliveau et al. 1990). In  $T_1$ -gewichteten Aufnahmen überwiegt der Effekt der Signalerhöhung und es kommt zu einer Aufhellung im MR-Bild. Man spricht daher auch von positiven Kontrastmitteln.

Als makromolekulare Gd-haltige Kontrastmittel werden Gd-Komplexe an Albumin, Dextran, Polylysin oder Liposomen gebunden, wodurch ihr Molekulargewicht in der Regel über 50 kDa liegt. Durch die Bindung mehrerer Gd-Ionen pro Molekül wird eine 40 – 200mal höhere Relaxivität der Protonen als bei MRT-Untersuchungen ohne Kontrastmittel erreicht. Durch

die Größe ihrer Struktur verweilen die makromolekularen Gd-haltigen Kontrastmittel nach intravenöser Applikation sehr viel länger im Intravasalraum (mehrere Minuten bis Stunden) und besitzen eine höhere Effektivität pro Gd-Atom. Daher sind sie für eine Darstellung der Blutgefäße besser geeignet als niedermolekulare Gd-haltige Kontrastmittel, die schneller extravasieren. Die Extravasationsrate eines Kontrastmittels wird durch die drei Faktoren Gefäßpermeabilität, Gefäßoberfläche und Molekülgröße bzw. hydrodynamischer Durchmesser der Substanz bestimmt (Laufer 1990), wobei insbesondere in hochmalignen Tumoren eine besonders hohe Extravasation festzustellen ist (Hunter et al. 1998). Aufgrund ihrer Oberflächenbeschaffenheit weisen die makromolekularen Gd-haltigen Kontrastmittel hinsichtlich der Immunogenität und der nur langsamen renalen Ausscheidung Nachteile auf, die den Einsatz bei Menschen z. T. stark einschränken.

Niedermolekulare Gd-haltige Kontrastmittel, wie das Kontrastmittel Gd-DTPA (Gadolinium-(III)-Diethylenetriaminpentaessigsäure), extravasieren nach intravenöser Injektion bereits nach wenigen Sekunden (Verstraete et al. 1995, van den Biesen et al. 1997). Zur Verbesserung der Separation der Signalanteile von intra- und extravaskulärem Kontrastmittel wird ein niedermolekulares Kontrastmittel innerhalb weniger Sekunden als Bolus peripher intravenös appliziert, so dass es hochkonzentriert durch das Kapillarbett fließt (first pass) und sich erst anschließend gleichmäßig im Blut verteilt (Miller und Cygan 1994). Zur Darstellung der Vaskularisation ist daher nur die erste Phase geeignet, in der sich das Kontrastmittel noch nicht gleichmäßig im Blut verteilt hat und sich noch überwiegend intravaskulär befindet. Die niedermolekularen Gd-haltigen Kontrastmittel bewirken eine im MRT messbare Verkürzung der beiden Parameter  $T_1$ - und  $T_2$ -Relaxationszeit. Zur Darstellung des Kontrastmittelbolus können beide Effekte herangezogen werden. So eignen sich die niedermolekularen Kontrastmittel für die Bolus-Angiographie, bei der für kurze Zeit ein maximaler Gefäß-Gewebekontrast erzielt werden kann, jedoch nicht für eine langanhaltende MR-Angiographie. Die niedermolekularen Gd-haltigen Kontrastmittel sind z. T. gut verträglich und für den klinischen Einsatz beim Menschen zugelassen. Bislang wurden Gd-haltige Kontrastmittel bei bereits bestehender Diagnose eines Prostatatumors eingesetzt. Ein routinemäßiger Einsatz in der Prostatadiagnostik erfolgt jedoch nicht (Mirowitz et al. 1993, Sommer et al. 1993, Gossmann et al. 1999).

### 3.3.2.2 Transport von niedermolekularen Verbindungen im Interstitium

Der Transport von frei diffusiblen Stoffen, wie Gd-DTPA, im Interstitium wird durch folgende Gleichung beschrieben (Nicholson et al. 2000):

$$\frac{dC}{dt} = \frac{D}{\lambda^2} \nabla^2 C + \frac{Q}{\alpha} \quad (\text{Gl. 3.2})$$

( $C$  = Kontrastmittelkonzentration,  $t$  = Zeit,  $D$  = Diffusionskoeffizient,  $\lambda$  = Gewebetorsion,  $\nabla$  = Laplace Operator,  $Q$  = Quellterm = zeitliche Änderung der Kontrastmittelkonzentration in einem Gefäß,  $\alpha$  = relativer interstitieller Volumenanteil).

Dabei wird die Konzentration eines Kontrastmittels in einem Gewebe ( $C$ ) in Abhängigkeit von der Zeit ( $t$ ) von zwei Termen beeinflusst. Der erste Term nach dem Gleichheitszeichen repräsentiert den Transport durch Diffusion. Der Diffusionskoeffizient ( $D$ ) beschreibt dabei den Transport von Molekülen des Kontrastmittels aufgrund der zufälligen Bewegung der Teilchen (Brownsche Molekularbewegung). Er ist ein Maß für die Beweglichkeit der Teilchen und lässt sich aus der Wegstrecke ermitteln, die in einer bestimmten Zeit zurückgelegt wird. Der Parameter  $\lambda$  gibt die Gewebetorsion an, d. h. den Effekt des verlängerten Diffusionsweges im Interstitium durch Diffusion um Zellen herum. Der mathematische Laplace Operator ( $\nabla$ ) beschreibt die dreidimensionale Ausbreitung des Kontrastmittels aufgrund räumlicher Konzentrationsunterschiede. Der zweite Term ist der Quellterm. Er beschreibt die zeitliche Veränderung des Kontrastmittels durch Zufuhr aus dem Gefäß in das Interstitium, wobei  $Q$  die zeitliche Änderung der Kontrastmittelkonzentration in einem Gefäß (der Quelle) angibt und der Parameter  $\alpha$  für den relativen Anteil des interstitiellen Volumens am Gewebe steht.

Der Transport von niedermolekularen Verbindungen durch das Interstitium ist im Wesentlichen von der Morphologie des Gefäßsystems eines Gewebes abhängig. Das Gefäßsystem von Tumoren unterscheidet sich im Vergleich zu gesundem Gewebe durch eine erhöhte Gefäßpermeabilität (Vaupel 1990) und es weist deutliche Unterschiede im Verzweigungsmuster, in der Gefäßdichte und in den Gefäßlängen auf (Jain 1988, Less et al. 1991). Trotz einer erhöhten Gefäßdichte in Tumoren ist die Versorgung mit Sauerstoff deutlich ineffektiver als in gesunden Geweben und es kann zum Auftreten von hypoxischen Zellen kommen (Chaplin et al. 1986, Groebe und Vaupel 1988, Baish et al. 1996). Zusätzlich

sind in Tumorgeweben größere avaskuläre Areale zu finden, welche, aufgrund der limitierten Reichweite des Transports von Sauerstoff aus den Kapillaren, größere hypoxische Areale (Mikronekrosen) im Tumorgewebe zur Folge haben (Gazit et al. 1995, Haustermans et al. 2000). So erhöht sich die Konzentration eines niedermolekularen Kontrastmittels insbesondere in Mikronekrosen nur sehr langsam. Aus Gleichung 3.2 geht hervor, dass die Diffusionszeit, eine Zylindersymmetrie vorausgesetzt, quadratisch mit der Diffusionsstrecke zunimmt. Die Gefäßpermeabilität erhöht sich linear mit abnehmender Molekülgröße. Somit ist bei größeren Gefäßabständen nicht die Gefäßpermeabilität für den Transport eines niedermolekularen hochpermeablen Stoffes limitierend, sondern der Transport durch Diffusion.

#### **3.3.2.3 Partikuläre (eisenoxidhaltige) Kontrastmittel**

Superparamagnetic Iron Oxide Particles (SPIO)- und Ultrasmall Superparamagnetic Iron Oxide Particles (USPIO)-Kontrastmittel auf Basis von Eisenoxidpartikeln zählen zu der Gruppe der partikulären Kontrastmittel. Superparamagnetische Kontrastmittel bewirken gleichzeitig eine Verkürzung der  $T_1$ - und der  $T_2$ -Relaxationszeit ihres umgebenden Mediums. Im Vergleich zu den Gd-haltigen Substanzen weisen sie eine wesentlich stärkere  $T_2$ - bzw.  $T_2^*$ -Relaxationszeit verkürzende Wirkung mit entsprechend stark signalminderndem Effekt und daraus resultierender „Schwärzung“ im Bild auf. Man spricht daher auch von negativen Kontrastmitteln (Rumor 1996). Anhand ihrer Größe können die Eisenoxidpartikel in SPIO mit einer Partikelgröße von über 50 nm und in USPIO mit einer Partikelgröße von unter 50 nm unterteilt werden. Die USPIO sind durch Größenfraktionierung aus den SPIO hervorgegangen. Die Größe des Kontrastmittelteilchens ist für die Bluthalbwertszeit, Biodistribution und das Relaxationsverhalten von entscheidender Bedeutung. Die herkömmlichen partikulären Kontrastmittel setzen sich aus mehreren, in ihrer Struktur variablen Eisenkernen und einer aus Polymeren aufgebauten Hülle (sog. coating) zusammen. Die Größe der Hülle schwankt dabei noch stärker als die der Eisenkerne und unterscheidet sich bei den einzelnen Kontrastmitteln je nach verwendetem Polymer (z. B. Dextrane oder Carboxydextrane) und der elektrischen Ladung. Die Funktion der Hülle besteht in erster Linie in der Stabilisierung der Kontrastmittelteilchen in Lösung, da diese ansonsten unter physiologischen Bedingungen ausfallen würden. Weiterhin dient die Hülle der Reduktion des Ausmaßes der Adsorption von Proteinen und Zellen sowie der Maskierung von Oberflächeneigenschaften der Partikel. Für die Erkennung durch das MPS sind die Oberflächenstruktur, die Ladung und die Größe ausschlaggebend. Je kleiner die Partikel sind, desto länger entgehen sie der Phagozytose beim Durchfluss von Leber und



Milz. So werden Partikel mit einem Durchmesser von unter 20 nm langsamer aus dem zirkulierenden Blut herausgefiltert und ermöglichen eine längere Bluthalbwertszeit. Auf der anderen Seite kann aufgrund der geringen Partikelgröße und der daraus resultierenden Bluthalbwertszeit eine Aufnahme in periphere Organe und die dortige Aufnahme durch Zellen des MPS, des Interstitiums und der Lymphknoten stattfinden. Die SPIO-Kontrastmittel werden aufgrund ihrer Größe und Oberflächenstruktur deutlich schneller von Zellen des MPS aufgenommen. Verglichen mit anderen MRT-Kontrastmitteln ist die Toxizität der SPIO-Verbindungen niedrig (Wang et al. 2001).

Eine neue Art von Eisenoxidpartikeln stellt die Substanzgruppe der Very Small Superparamagnetic Iron Oxide Particles (VSOP) dar, welche sich momentan in der Phase der klinischen Prüfung befinden (Taupitz et al. 2004). Bei den VSOP sind die Eisenkerne nicht wie bisher, mit einem Polymer ummantelt, sondern erstmalig mit einem Monomer stabilisiert. Als Monomer dient hierbei Zitrat. Dadurch ergibt sich im Gegensatz zu polymer (z. B. Dextran)-ummantelten Kontrastmitteln von physikalisch-chemischer Seite ein gut definierter Partikelbau mit günstigem Verhältnis zwischen Kern und Hülle und einem guten Austausch zwischen Kern und umgebenden Protonen. Hieraus resultiert eine Erhöhung der  $T_1$ -Relaxivität. Weiterhin sind die Eisenkerne bezüglich ihrer Größe sehr konstant. Die Größe bewegt sich zwischen 3 und 5 nm. Bei den VSOP kann der Gesamtdurchmesser zwischen 4 und 10 nm sowie deren Relaxivitäten in weiten Grenzen reproduzierbar eingestellt werden. Bisher wurden diese VSOP an Mäusen, Ratten, Kaninchen und Schweinen bezüglich ihrer Eignung unter anderem für die MR-Angiographie, die Tumordiagnostik und die Stammzellforschung getestet (Taupitz et al. 2000, Taupitz et al. 2002, Schnorr et al. 2004, Stroh et al. 2005, Schnorr et al. 2006, Stroh et al. 2006). Hinsichtlich ihrer physikalischen und biologischen Eigenschaften zeichnen sich die VSOP infolge ihrer  $T_1$ -Relaxationszeitverkürzung durch ein hohes intravasculäres Signal und infolge der geringen Extravasation durch lang anhaltenden Kontrast aus (Taupitz et al. 2000, Schnorr et al. 2002, Wagner et al. 2002). Für das in dieser Arbeit verwendete VSOP-C 184 liegt die Plasmaeliminationshalbwertszeit bei einer Dosierung von 0,045 mmol Fe/kg Körpergewicht in Ratten bei  $21,3 \pm 5,5$  min und in Schweinen bei  $36,1 \pm 4,2$  min (Wagner et al. 2002). Die VSOP-Partikel werden über das Phagozytosesystem der Leber eliminiert und haben sich nach dem derzeitigen Stand der Forschung als sehr gut verträglich erwiesen (Wagner et al. 2002, Taupitz et al. 2004).

#### 3.3.3 Dynamische MRT

Die dynamische MRT ist ein etabliertes, minimalinvasives bildgebendes Verfahren, welches auf der Messung der zeitlichen Veränderung von Konzentrationen in Blut und Gewebe nach intravenöser Injektion einer exogenen wasserlöslichen Substanz basiert. Sie liefert unter anderem Informationen zur Vaskularisation von Geweben, zur Gefäßpermeabilität und zum Blutfluss in den Gefäßen (Perfusion). Nach intravenöser Applikation befindet sich das Kontrastmittel zunächst intravaskulär, um sich dann infolge des Konzentrationsgradienten zwischen Blut und Interstitium durch Diffusion mit dem Fluss  $J_s$  zu verteilen (Jain 1987, Jain 1991):

$$J_s = PS(C_p - C_I) \quad (\text{Gl. 3.3})$$

( $J_s$  = Diffusionsfluss,  $PS$  = Permeabilitäts-Oberflächenprodukt,  $C_p$  = Konzentration im Blutplasma,  $C_I$  = Konzentration im Interstitium).

In Folge der Extravasation des Pharmakons durch das Gefäßendothel in das Interstitium eines Gewebes und durch Elimination über die Ausscheidungsorgane, kommt es zu einer Abnahme der Kontrastmittel-Konzentration im Blut und das Kontrastmittel beginnt entlang des Konzentrationsgradienten aus dem interstitiellen Kompartiment in das Blutkompartiment zurück zu diffundieren. Dieser bidirektionale Austausch bestimmt im Wesentlichen die Änderung der Kontrastmittelkonzentration in Blut und Gewebe. Bisherige Untersuchungen haben gezeigt, dass das Permeabilitäts-Oberflächenprodukt insbesondere in hochmalignen Tumoren stark erhöht ist, so dass hier eine besonders hohe Extravasation festzustellen ist (Hunter et al. 1998). Die Geschwindigkeit der Kontrastmittelaufnahme und seine maximale Anreicherung in einem Gewebe sind bestimmt durch die Anzahl der Blutgefäße, die Perfusion, den Gefäßwiderstand, die Permeabilität der Gefäßwände, die Struktur des interstitiellen (extravaskulären extrazellulären) Raums und den venösen Abfluss. Da diese Faktoren von Gewebe zu Gewebe differieren, unterscheiden sich auch die korrespondierenden Signalintensitätskurven in Abhängigkeit von der Zeit (Lucia et al. 1998).

Zur Analyse der zu ermittelnden Parameter werden in der dynamischen Kontrastmittelgestützten MRT unterschiedliche Kompartiment-Modelle herangezogen. Je nach Anzahl der berücksichtigten Verteilungsräume unterscheidet man Ein-, Zwei- oder Mehrkompartiment-Modelle. Das einfachste Modell ist ein Einkompartiment-Modell, bei dem

angenommen wird, dass sich das Kontrastmittel nur im intravasalen Raum befindet (Rosen et al. 1989, Rosen et al. 1990). Im Bereich des Gehirns mit intakter Blut-Hirn-Schranke erzielt dieses Modell gute Ergebnisse bei der Bestimmung des Blutvolumens und der Perfusion (Kety et al. 1995). Bei Geweben mit Kontrastmittelextravasation, wie es z. B. bei der Prostata der Fall ist, kommt es jedoch zu einem erhöhten Fehler bei der Berechnung von Blutfluss und Blutvolumen (Bruening et al. 1996, Wenz et al. 1996). Um die Kontrastmittelextravasation zu berücksichtigen, muss zu dem Gefäßkompartiment ein zweites Kompartiment - das interstitielle Kompartiment - hinzugefügt werden. Bei diesem Zweikompartiment-Modell wird der Austausch des Kontrastmittels zwischen Blut und Interstitium bidirektional mit zwei unterschiedlichen Geschwindigkeiten für die Extravasation  $k_{out}$  und den Rückfluss  $k_{in}$  beschrieben (Daldrup et al. 1998, Ludemann et al. 2000):

$$\frac{dC_I}{dt} = \frac{PS(C_P - C_I)}{v_e} = k_{out}C_P - k_{in}C_I \quad (\text{Gl. 3.4})$$

( $C_I$ : Konzentration im Interstitium,  $PS$  = Permeabilitäts-Oberflächenprodukt,  $C_P$  = Konzentration im Blutplasma,  $v_e$  = relatives interstitielles Volumen,  $k_{out}$  = Extravasation,  $k_{in}$  = Rückfluss in das intravasale Kompartiment).

Das Zweikompartiment-Modell wird klinisch in verschiedenen Varianten angewendet. Es ermöglicht die Bestimmung von Parametern, die mit der Kapillardichte korrelieren. Die Kapillardichte steht wiederum mit der Malignität eines Tumors im Zusammenhang.

Zweikompartiment-Modelle eignen sich deutlich besser zur gleichzeitigen Berechnung von Perfusion und Extravasation als Einkompartiment-Modelle und vermeiden die Fehler der Modelle mit nur einem Kompartiment (Li et al. 2000, Li et al. 2003b, Haroon et al. 2004, Johnson et al. 2004). Weiterhin ermöglichen sie die gleichzeitige quantitative Bestimmung des Gefäßvolumens und des interstitiellen Volumens sowie deren Austauschparameter (Donahue et al. 1995, Degani et al. 1997, Ludemann et al. 2000, Johnson et al. 2004). Wichtig ist bei der Anwendung dieser Modelle über einen längeren Zeitraum zu messen, da bei der häufig angewandten Messdauer von nur 1 bis 3 Minuten nach Kontrastmittelapplikation die späte Anreicherung des Kontrastmittels (late enhancement)

nicht erfasst werden kann (Li et al. 2000, Li und Jackson 2003a). Die späten Kontrastmittelanreicherungen sind besonders häufig bei Tumoren zu finden und es konnte indirekt gezeigt werden, dass es sich bei dem langsam anreichernden Tumoranteil um nekrotisierendes Tumorgewebe handelt (Lüdemann et al. 2002, Drees 2004).

#### **3.4 Prostatadiagnostik**

In Deutschland, den USA und den westlichen Industrieländern ist das Prostatakarzinom der am häufigsten auftretende Tumor des Mannes und das am zweithäufigsten zum Tode führende Tumorleiden des Mannes (Dennis und Resnick 2000). Ein großer Teil der Patienten hat bereits zum Zeitpunkt der Diagnosestellung einen fortgeschrittenen Tumor. Etwa 40 % der Patienten mit einer primär kurativen Therapie entwickelt ein Tumorrezidiv oder eine Metastasierung. Diese Patienten sind nicht heilbar und versterben an ihrem Prostatakarzinom. Die für das Prostatakarzinom typische Knochenmetastasierung führt zu einer stark ausgeprägten Schmerzsymptomatik, die eine hoch dosierte Dauerschmerztherapie erfordert. Darüber hinaus erleiden die Patienten einen körperlichen Verfall. Der Tod wird häufig durch eine späte Organmetastasierung (z. B. in die Leber) hervorgerufen. Nach Angaben des statistischen Bundesamtes verstarben im Jahr 2005 in der Bundesrepublik Deutschland 10276 Männer an einem Prostatakarzinom (Statistisches Bundesamt 2006). Ein möglichst früher Beginn einer Therapie ist entscheidend für den Gewinn an Lebenszeit und Lebensqualität. Eine Voraussetzung hierfür ist die frühzeitige Detektion eines Prostatakarzinoms.

Als wertvolles Hilfsmittel, ein Prostatakarzinom frühzeitig zu erkennen, dient neben der digitalen rektalen Untersuchung (DRU) die Bestimmung der prostataspezifischen Antigen (PSA)-Konzentration im Serum (Catalona et al. 1991). Um möglichst viele Patienten in kurablen Stadien zu erreichen, empfehlen die „American Urological Association“ und die „American Cancer Society“ Männern ab dem fünfzigsten Lebensjahr eine jährliche DRU, kombiniert mit einer Bestimmung der PSA-Konzentration im Serum. Bei Patienten mit erhöhtem PSA-Wert von über 4 ng/ml oder einer suspekten Ratio von freiem PSA zu totalem PSA von unter 15 % oder einem suspekten Palpationsbefund wird ein transrektaler Ultraschall (TRUS) durchgeführt (Colombo et al. 1999). Zur histologischen Sicherung eines Prostatakarzinoms sowie zur Therapieplanung erfolgt eine systematische TRUS-gesteuerte Biopsienahme von Prostatagewebe (Luboldt und Rübber 2004). Über die notwendige Anzahl der Biopsien gibt es in der Literatur unterschiedliche Angaben. Derzeit zeichnet sich ein Trend zu 10- bis 12-fach Biopsien ab (Ellis und Brawer 1995, Presti 2003, Philip et al. 2004). Problematisch erweist sich bei der Biopsienahme die vorherige Detektion des

Tumorareals in bildgebenden Verfahren, um eine gezielte Biopsie des Prostatakarzinoms vornehmen zu können. So lässt sich bei einem größeren Teil der Patienten mit erhöhtem PSA-Wert in der Biopsie kein (Ellis und Brawer 1995) bzw. erst in der zweiten, dritten oder vierten Biopsie (Keetch et al. 1994) ein Malignom nachweisen und es kommt möglicherweise zu einer falsch negativen Probengewinnung durch Biopsie eines Areals mit gutartigen, in erster Linie chronisch entzündlichen Prostataveränderungen. Die Folge sind einerseits unnötig durchgeführte Biopsien bei gesunden Männern und andererseits eine verspätete Detektion des Prostatakarzinoms und somit ein verzögerter Therapiebeginn mit Verschlechterung der Prognose sowie der Lebensqualität der Patienten. Eine sichere Detektion des Prostatakarzinoms anhand klinischer Untersuchungen, Laboranalysen und bildgebender Verfahren ist bislang nicht möglich.

#### **3.4.1 Konventionelle MRT in der Prostatadiagnostik**

Die konventionelle (native) MRT ist in der Lage, die Prostata mit ihrer zonalen Anatomie und ihre Umgebung mit hoher morphologischer Auflösung darzustellen (Rifkin et al. 1990, Nicolas et al. 1994). Im T<sub>2</sub>-gewichteten MR-Bild stellt sich die periphere Zone signalreich dar, wogegen ein Prostatakarzinom normalerweise mit verringerter Signalintensität erscheint. Ebenso kann dies jedoch auch der Fall bei Einblutungen und Narbenbildung nach einer Biopsie, bei Prostatitis sowie, die ganze Prostata betreffend, nach Hormontherapie oder Strahlentherapie sein (Schiebler et al. 1989, Schiebler et al. 1993, Naik und Carey 1999). Durch die Entwicklung und den Einsatz hochauflösender Endorektalspulen besitzt die native MRT eine höhere Sensitivität für die Detektion des Prostatakarzinoms als die DRU oder der TRUS (Perrotti et al. 1999, Beyersdorff et al. 2002). Sie ist dennoch unzureichend sensitiv und weist eine zu geringe Spezifität auf, um als primäre diagnostische Methode des Prostatakarzinoms nützlich zu sein (Hricak et al. 1994, Ikonen et al. 2001), da Prostatakarzinome nicht zuverlässig von einer Prostatitis, von Fibrosen oder einer prostatic intraepithelialen Neoplasie (PIN) differenziert werden können (Beyersdorff et al. 2002).

#### **3.4.2 Dynamische MRT in der Prostatadiagnostik**

In einer Studie an transgenen Mäusen konnte erstmalig die direkte Beziehung zwischen einer Neovaskularisation und einer Neoplasie bei Transformation einer Hyperplasie zur Neoplasie nachgewiesen werden (Folkman et al. 1989). Für die Entstehung des Prostatakarzinoms ist bekannt, dass es zu assoziierten Veränderungen des Stoffwechsels

und damit verbunden zu Veränderungen in der Vaskularisation (Weidner et al. 1993, Siegal et al. 1995, Vartanian und Weidner 1995) und der Tumorgewebeperfusion kommt (Dang und Semenza 1999, Bartsch et al. 2001). Somit ist die Untersuchung der Vaskularisation und Perfusion von Prostatakarzinom und gesundem Prostatagewebe von diagnostisch und prognostisch hoher Relevanz.

Die kontrastmittelgestützte dynamische MRT ist im Gegensatz zur konventionellen MRT eine klinisch einsetzbare Methode zur Bestimmung der Tumovaskularisation, der Gefäßpermeabilität sowie der Perfusion (Blutfluss) und basiert auf der intravaskulären Injektion eines Kontrastmittels und der daraus resultierenden zeitlichen Veränderung der Kontrastmittelkonzentration in Blut und Gewebe. Die Anstiegsgeschwindigkeit sowie der maximale Anstieg des Kontrastmittels in einem Gewebe sind abhängig von der Anzahl der Blutgefäße, der Perfusion durch die Gefäße, dem Gefäßwiderstand, der Gefäßwandpermeabilität, der Zusammensetzung des Extrazellularraums und dem venösen Abfluss. Da diese Faktoren von Gewebe zu Gewebe differieren, unterscheiden sich auch die Anstiegskurven der Signalintensitäten (Barentsz et al. 1999). In mehreren Studien wurde deshalb versucht, durch Anwendung kontrastmittelunterstützter dynamischer MR-Techniken die Spezifität dieser Methode für die Detektion des Prostatakarzinoms zu erhöhen. Bisher führten diese Studien zu einer Verbesserung, allerdings ohne statistische Signifikanz (Jager et al. 1997), da sich Überlappungen von Prostatakarzinom und gesundem Prostatagewebe oder eine nur mäßige Korrelation mit den histologischen Befunden zeigten (Engelbrecht et al. 2003). Die Gründe hierfür könnten in einer unzureichenden zeitlichen Auflösung der verwendeten MRT-Sequenzen sowie einer zu großen Schichtdicke der MRT im Verhältnis zu den histologischen Schnitten liegen (Kiessling et al. 2004a). Ein weiteres Problem der Charakterisierung des humanen Prostatakarzinoms liegt in dem typischerweise gleichzeitigen Vorkommen verschiedener Differenzierungsstufen innerhalb eines Tumors (Riede et al. 2004a).

Eine Möglichkeit das Problem der verschiedenen Differenzierungsstufen innerhalb eines Tumors zu umgehen, ist der Einsatz von tierexperimentellen Tumormodellen. Durch die Induktion eines definierten Tumors in gesundem Gewebe ist es möglich, die MRT-Messungen gezielt in diesem Tumor durchzuführen. So gibt es mittlerweile einige Studien zur Charakterisierung und Detektion des Prostatakarzinoms mittels kontrastmittelgestützter dynamischer MRT am Rattenmodell (Gossmann et al. 1999, Kiessling et al. 2003b, Fan et al. 2004, Kiessling et al. 2004a, Fan et al. 2006). In den von Gossmann et al. (1999) und Fan et al. (2006) durchgeführten Studien konnte gezeigt werden, dass sich verschiedene Sublinien des subkutan implantierten Dunning Rattenprostatakarzinoms mit unterschiedlichem histologischem Grading mittels

kontrastmittelgestützter dynamischer MRT voneinander differenzieren lassen. In einer Studie von Kiessling et al. (2003b) zur hämodynamischen und metabolischen Charakterisierung orthotoper Prostatakarzinome wurde gezeigt, dass mittels dynamischer MRT und Protonen-Magnetresonanztomographie ( $^1\text{H}$ -MRS) eine nichtinvasive Charakterisierung orthotop implantierter Prostatakarzinome der äußerst schnell wachsenden hochmalignen MatLyLu-Zelllinie des Dunning Tumors möglich ist. Es zeigte sich aber auch, dass für einen besseren Vergleich mit mittelgradig und gut differenzierten Prostatakarzinomen des Mannes Tiermodelle mit langsamer wachsenden Prostatakarzinomen mit geringerer Malignität verwendet werden sollten, da bei schneller wachsenden Tumoren Änderungen in Perfusion und Metabolismus durch schnelles Wachstum und stark nekrotische Tumorareale verdeckt werden können (Kiessling et al. 2004a).

### **3.4.3 Weitere bildgebende Verfahren in der Prostatadiagnostik**

#### **3.4.3.1 Magnetresonanztomographie (MRS)**

Die Magnetresonanztomographie (MRS) liefert eine nichtinvasive Methode zur Detektion von Metaboliten (insbesondere Cholin, Creatin und Citrat) in der Prostata und wird in Verbindung mit hochauflösender anatomischer MRT mit der Endorektalspule durchgeführt.

In einer von Stanka et al. (2000) durchgeführten Studie an 18 Patienten mit histologisch gesichertem Prostatakarzinom konnte gezeigt werden, dass sich ein Prostatakarzinom von einer benignen Prostatahyperplasie (BPH) mittels MRS abgrenzen lässt. Eine Differenzierung einer Präkanzerose, wie der PIN, ist mit dieser Methode jedoch nicht möglich. Die Addition der metabolischen Daten der MRS und der anatomischen Daten der MRT kann die Detektion und Lokalisation eines Tumors in der Prostata verbessern (Scheidler et al. 1999) sowie insgesamt die Treffsicherheit bei der Volumenbestimmung eines Prostatakarzinoms steigern (Coakley et al. 2002). Dennoch beschränken immer noch Schwankungen bei MR-spektroskopischen Messungen die Tumorumfangbestimmung, speziell für kleine Tumoren (Coakley et al. 2002). Die Kombination von MRT und MRS bietet sich für die Planung von Biopsie und Therapie sowie für die Kontrolle des Therapieerfolgs an (Mueller-Lisse und Scherr 2003). Sie kann zusammen mit PSA-Werten und Biopsieergebnissen die Charakterisierung eines Prostatakarzinoms bei einzelnen Patienten verbessern (Kurhanewicz et al. 2002). Gegenwärtig gibt es weltweit jedoch nur wenige medizinische Einrichtungen die mit der MRS Erfahrung haben. Um den tatsächlichen klinischen Nutzen der MRS für die Verbesserung des Managements von Patienten mit Prostatakrebs ermitteln zu können, muss die MRS in mehreren Institutionen eingeführt und

validiert werden (Kurhanewicz et al. 2002, Mueller-Lisse und Scherr 2003).

#### **3.4.3.2 Sonographische Verfahren**

Der transrektale Ultraschall (TRUS) ist heutzutage als Hilfsmittel zur Führung einer systematischen Nadelbiopsie der Prostata anerkannt, nicht jedoch als diagnostisches Mittel zur Differenzierung umschriebener Areale in der Prostata (Tanaka et al. 1999). In den letzten Jahren konnte durch den Einsatz von Farbdoppler- und Powerdopplersonographie für die Detektion des Prostatakarzinoms insgesamt der positive Vorhersagewert erhöht und die Detektion von Karzinomen mit einem höheren Malignitätsgrad (Gleason-Score) verbessert werden. Bisher sind die Farbdopplertechnologien jedoch für die Detektion und Lokalisation des Prostatakarzinoms nur begrenzt einsetzbar. Ein Hauptproblem liegt in der Limitation dieser Verfahren, sehr kleine Gefäße mit langsamem Blutfluss, wie man sie insbesondere bei der Tumolvaskularisation findet, erfassen zu können (Frauscher et al. 2005). So kann die Farbkodierte Doppler-Sonographie (FKDS) die Sichtbarkeit von subtil nicht tastbaren TRUS-Abnormalitäten in der Minderheit der Fälle zwar verbessern, sie verfehlt jedoch isoechogene, nicht tastbare Tumore zu detektieren (Cornud et al. 2000). Die Powerdoppler-Sonographie (PDS) ermöglicht gegenüber der Farbdoppler-Sonographie eine bessere Detektion von Blutfluss geringerer Geschwindigkeit und damit von Prostatakarzinomen (Louvar et al. 1998). Sie kann für die Biopsienahme entsprechende Regionen wie hypervaskularisierte Bereiche identifizieren und die Tumordetektionsrate im Vergleich zum TRUS und zu systematischen Biopsien verbessern. Bisher ist es durch den Einsatz der PDS-gesteuerten Biopsie nicht möglich ein Prostatakarzinom mit ausreichender Genauigkeit zu identifizieren, um die systematische Biopsie zu ersparen. So kommt es häufiger zu falsch-positiven und falsch-negativen Ergebnissen, bedingt durch entzündliche Reaktionen im Prostatagewebe und Prostatasteine (Takahashi et al. 2002). In der von Takahashi et al. (2002) durchgeführten Studie waren z. B. vier von sieben falsch positiven Fällen durch eine Prostatitis bedingt.

Durch die Entwicklung von Ultraschallkontrastmitteln ist es gelungen, eine deutliche Verbesserung der Detektion kleiner Gefäße mit sehr langsamem Blutfluss zu erreichen (Forsberg et al. 1998). So kann die kontrastmittelverstärkte Sonographie mittlerweile eine deutlich gesteigerte Erkennung der Vaskularisation im Vergleich zur herkömmlichen Farbdoppler- bzw. Powerdopplersonographie erzielen (Pelzer et al. 2005). Eine weitere Verbesserung bei der Erfassung von Blutflussveränderungen wurde durch die Entwicklung spezifischer Kontrastmittelsonographietechnologien in jüngster Vergangenheit erreicht (Frauscher et al. 2005). Das zukunftssträchtigste Verfahren in der Prostatadiagnostik stellt



derzeit das B-Bild-harmonic-Sonographieverfahren unter Ausnützung der nichtlinearen Eigenschaften von Ultraschallkontrastmitteln dar (Frauscher et al. 2005). Die gewonnenen harmonischen Frequenzen werden hierbei hauptsächlich von Mikrobläschen im Kontrastmittel durch Reflexion der ausgesendeten Pulse erzeugt. Als Zukunftsaspekte werden derzeit spezielle „targeted“ Ultraschallkontrastmittel intensiv untersucht. Diese Kontrastmittel binden selektiv am Prostatakarzinom und sollen dadurch eine exakte Trennung zwischen Prostatakarzinom und normalem Gewebe ermöglichen. Die kontrastmittelverstärkte Sonographie der Prostata befindet sich noch am Anfang ihrer Entwicklung und es liegen nur erste klinische Ergebnisse vor. Das Potential dieser Technik scheint jedoch sehr groß, um die Detektion und Lokalisation des Prostatakarzinoms deutlich zu verbessern (Frauscher et al. 2005).

## **4 MATERIAL UND METHODEN**

Die Versuche wurden im Rahmen eines vom Landesamt für Arbeitsschutz, Gesundheitsschutz und technische Sicherheit Berlin genehmigten Versuchsvorhabens durchgeführt (Genehmigungsnummer: G 0092/03).

### **4.1 Untersuchte Tiere**

In der vorliegenden Arbeit wurden insgesamt 17 männliche Ratten des Inzuchtstamms Copenhagen 2331 (Harlan Winkelmann GmbH, Borcheln, Deutschland) mit einem Körpergewicht von  $222 \text{ g} \pm 7 \text{ g}$  verwendet.

#### **4.1.1 Haltung der Tiere**

Die Ratten wurden in Makrolonkäfigen in Gruppen zu drei bis vier Tieren gehalten und erhielten das Standard-Rattenzuchtfutter der Firma Altromin (Lage, Lippe, Deutschland) und Wasser ad libidum. Als Einstreu in den Käfigen wurde Tierstreugranulat derselben Firma verwendet. Die Räume der Tierhaltung wurden mit gefilterter Frischluft klimatisiert und wiesen eine Raumtemperatur von  $22^\circ\text{C}$  sowie eine Luftfeuchtigkeit von 30 – 40 % auf. Die Beleuchtung war in einem zwölfstündigen Hell-Dunkel-Rhythmus geschaltet. Die Tiere standen während der gesamten Versuchsdauer unter tierärztlicher Kontrolle.

#### **4.1.2 Tumorzellimplantation**

##### **4.1.2.1 Narkose**

Die Implantation der Tumorzellen in die Prostatae der Tiere wurde unter Inhalationsanästhesie durchgeführt. Als Narkosegas wurde eine Mischung aus 2 – 3 % Isofluran (Forene<sup>®</sup>, Abbott GmbH, Wiesbaden, Deutschland) und medizinischem Sauerstoff verwendet. Nach Immobilisation der Ratten in einer Isofluranbox (Fa. Völker GmbH, Kaltenkirchen, Deutschland) wurden die Tiere in Rückenlage an eine Atemmaske platziert.

#### **4.1.2.2 Orthotope Tumorzellimplantation**

Die orthotope Implantation der Tumorzellen erfolgte in Rückenlage unter Inhalationsnarkose. Nach Erreichen einer ausreichenden Narkosetiefe wurde den Tieren die Implantationsstelle im Bereich des unteren Abdomens mittels Einmalrasierer enthaart und mit einem standardmäßigen Desinfektionsmittel für die Haut desinfiziert. Mit einem Einmalskalpell wurden der Unterbauch durch eine ca. 1,5 cm lange Inzision entlang der Linea alba eröffnet und die ventralen Prostatalappen hervorgezogen. 0,1 ml einer Zellsuspension mit  $1 \times 10^6$  Zellen der Sublinie G des Dunning R 3327 Rattenprostatakarzinoms wurden in den ventralen Prostatalappen injiziert. Anschließend erfolgte das Einbringen von ca. 1,0 ml Povidon-Iod-Lösung (Braunol<sup>®</sup>, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) in die Peritonealhöhle, um eventuell in den Bauchraum gelangte Tumorzellen abzutöten. Die Operationswunde wurde mit Einzelknopfheften mit einem resorbierbaren Faden (3-0 Metrik Vicryl<sup>®</sup>, Ethicon GmbH, Norderstedt, Deutschland) verschlossen und die Naht mit antibiotischer Salbe abgedeckt.

Nach dem Eingriff wurde jedem Tier vorsorglich das Schmerzmittel Tramalhydrochlorid (Tramal<sup>®</sup> 50 mg, Grünenthal GmbH, Aachen, Deutschland) in einer Dosis von 2 mg/kg KGW intramuskulär appliziert.

Die Zellsuspensionen zur Implantation der Tumorzellen mit  $1 \times 10^6$  Zellen pro ml Suspension wurden freundlicherweise von der Forschungsabteilung der Urologischen Klinik und Poliklinik der Charité Campus Mitte, Charitéplatz 1, 10117 Berlin zur Verfügung gestellt.

## **4.2 Vorbereitende Untersuchungen**

### **4.2.1 Auswahl der geeigneten Hochfrequenz-Spule für die MRT-Untersuchungen**

Da eine theoretische Analyse des Einflusses aller relevanten Parameter für das Signal-Rausch-Verhältnis (SNR, signal-to-noise-ratio) äußerst komplex ist, wurde das Rauschverhalten von drei verschiedenen Spulen experimentell bestimmt. Anschließend wurde die Spule mit dem besten SNR für die tierexperimentellen Untersuchungen ausgewählt.

Für die Auswahl der geeigneten Spule wurden Vergleichsuntersuchungen bezüglich des SNR von einer 4-Kanal Handgelenkspule (High Resolution Wrist Array Coil, MRI-Devices Europe GmbH, Würzburg, Deutschland), einer kleinen Extremitätenspule (Small Extremity Coil, MRI-Devices Europe GmbH, Würzburg, Deutschland) und einer Extremitätenspule

(Extremity Coil, Siemens, Erlangen, Deutschland) am System Magnetom Sonata (Siemens, Erlangen, Deutschland) bei einer Feldstärke von  $B_0 = 1,5$  Tesla durchgeführt. Für jede der drei Spulen wurden jeweils zwei unabhängige Messungen einer männlichen Wistar-Ratte (650 g) in koronarer und axialer Spulenrichtung aufgenommen, wobei eine  $T_1$ -gewichtete Spin-Echo (SE)-Sequenz mit Repetitionszeit (TR) 350 ms, Echozeit (TE) 13 ms und einem Field of View (FOV) von  $9,8 \times 13,8$  cm<sup>2</sup> (Bildmatrix  $224 \times 320$ ) zur Anwendung kam. Nach der Bildrekonstruktion wurden anschließend für alle drei Spulen die beiden Bilder subtrahiert. Die dabei erhaltenen Bilder stellen ein Maß für das elektronische Eigenrauschen der jeweiligen Spule dar. Anhand der Ergebnisse dieser Voruntersuchung (siehe Punkt 5.1.1; Auswahl der geeigneten Hochfrequenz-Spule für die MRT-Untersuchungen) wurde die 4-Kanal Handgelenkspule für die tierexperimentellen Untersuchungen ausgewählt.

### **4.2.2 Wachstumskontrolle der Tumoren und Bestimmung des Zeitpunkts der MRT-Untersuchungen**

Die Kontrolle der Tumorgöße erfolgte durch Messungen im MRT mittels einer  $T_2$ -gewichteten Sequenz in axialer und koronarer Schichtführung (Sequenzparameter siehe unter Punkt 4.4.3; Morphologische Darstellung von Prostata und Prostatakarzinom). Die Kontrollmessungen wurden am 45. bzw. 46. sowie am 54. bzw. 55. Tag nach Tumorzellimplantation bei je vier zufällig ausgewählten Tieren durchgeführt. Anhand der hierbei gemessenen Tumorgößen wurde der Zeitpunkt für die MRT-Untersuchungen festgelegt. Die Kriterien waren einerseits eine ausreichende Größe der Tumoren, um sie sicher im MRT identifizieren zu können, andererseits sollten sie die Größe der Prostata nicht überschreiten.

## **4.3 Verwendete Kontrastmittel**

### **4.3.1 Gadodiamid**

Als Kontrastmittel für die dynamischen MRT-Messungen wurde Gadodiamid (Gd-DTPA-BMA, Gadolinium-Diethyltriaminessäure-Bismethylamid) in einer Dosierung von 0,2 mmol/kg KGW eingesetzt, was der am Menschen zugelassenen Dosis entspricht.

Gadodiamid ist ein niedermolekulares extravasierendes Gd-haltiges Kontrastmittel, welches unter dem Handelsnamen Omniscan® (Amersham, Braunschweig, Deutschland) im Handel ist. Die Gadodiamid-Moleküle sind nach außen hin elektrisch neutral, da die drei positiven Ladungen des  $Gd^{3+}$  durch die freien negativen Ladungen der Carboxylgruppen kompensiert

werden (Abb. 4.1). Hierdurch wird Gadodiamid eine geringe Osmolarität verliehen, wobei die Komplexstabilität dabei so groß ist, dass Gadodiamid in Lösung nicht dissoziiert (Chang et al. 1992). Die Relaxivitäten (Geschwindigkeitskonstanten der Relaxation) für Gadodiamid betragen für  $R_1 = 4,6 \text{ l/mmol}\cdot\text{s}$  und  $R_2 = 5,1 \text{ l/mmol}\cdot\text{s}$  bei 10 MHz und 37°C. Gadodiamid weist ein Molekulargewicht von 573,7 Da (entwässert) auf, besitzt die empirische Formel  $\text{C}_{16}\text{H}_{28}\text{GdN}_5\text{O}_9 \cdot x\text{H}_2\text{O}$  und folgende Strukturformel:

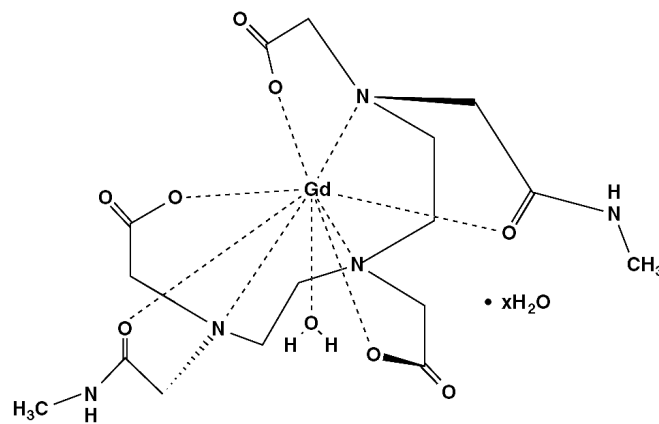


Abbildung 4.1: Strukturformel von Gadodiamid (Amersham 2002).

#### 4.3.2 VSOP-C 184

Für die MRT-Messungen zur Blutvolumenbestimmung wurde VSOP-C 184 (Very Small Superparamagnetic Iron Oxide Particles) in einer Dosierung von 0,03 mmol Eisen/kg KGW eingesetzt. Bei VSOP-C 184 handelt es sich um zitratstabilisierte superparamagnetische Eisenoxidpartikel der Firma Ferropharm GmbH (Teltow, Deutschland) (Abb. 4.2). Die Relaxivitäten betragen bei 60 MHz und 40°C in demineralisiertem Wasser für  $R_1 = 13,97 \text{ l/mmol}\cdot\text{s}$  und für  $R_2 = 33,45 \text{ l/mmol}\cdot\text{s}$ . VSOP-C 184 weist einen Kerndurchmesser von 4 nm (bestimmt durch Transmissions-Elektronenmikroskopie) und einen hydrodynamischen Durchmesser von  $7,0 \pm 0,15 \text{ nm}$  (bestimmt durch Photonen-Korrelationsmikroskopie) auf (Schnorr et al. 2006).

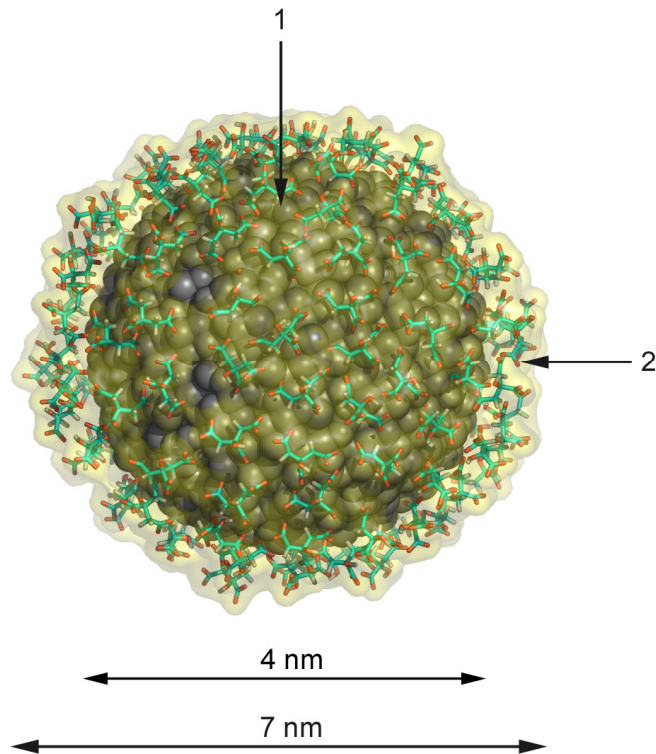


Abbildung 4.2: Darstellung eines zitratstabilisierten Moleküls VSOP-C 184 mit superparamagnetischem Eisenoxidkern (1) und Zittrathülle (2) (Schellenberger 2006).

## 4.4 MRT-Untersuchungen an Ratten

Die Untersuchungen an Ratten mittels MRT fanden am Institut für Radiologie, Charité – Universitätsmedizin Berlin, Campus Mitte in einem 1,5 Tesla MR-Ganzkörpertomographen (Magnetom Sonata, Siemens, Erlangen, Deutschland) mit einer kommerziellen 4-Kanal Handgelenkspule (High Resolution Wrist Array Coil, MRI-Devices Europe GmbH, Würzburg, Deutschland) statt. Die Untersuchungen aller 17 Ratten erfolgten zwischen dem 56. und 60. Tag nach der Tumorzellimplantation. An allen Tieren wurden nacheinander die morphologischen, die Gadodiamid-gestützten sowie die Prae- und Postkontrastmittelaufnahmen mit VSOP-C 184 durchgeführt.

### 4.4.1 Narkose

Nach Immobilisation der Tiere mittels Isofluran-Narkose (siehe Punkt 4.1.2.1; Narkose) erfolgte eine subkutane (s. c.) Injektion von 37,5 mg/kg KGW Ketaminhydrochlorid (Ketamin

500 mg Curamed, Cura MED Pharma GmbH, Karlsruhe, Deutschland) und 5 mg/kg KGW Xylazin (Rompun® 2%, Bayer Vital GmbH, Leverkusen, Deutschland) in der Mischspritze sowie 2,5 mg/kg KGW Diazepam s. c. (Diazepam-ratiopharm® 10 Injektionslösung, ratiopharm GmbH, Ulm, Deutschland). In die laterale Schwanzvene (Vena coccygealis lateralis) wurde eine Venenverweilkanüle (Vasocan Braunüle® 22 G/1, B.Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) eingebracht.

#### **4.4.2 Positionierung der Ratten**

Jeweils ein narkotisiertes Tier wurde mit dem Kopf voran in Rückenlage in der Handgelenkspule gelagert. Die Position der Prostata lag im Spulenmittelpunkt.

Für die spätere Kontrastmittelverabreichung wurde die Venenverweilkanüle über einen, mit Kontrastmittel gefüllten, 75 cm langen Perfusorschlauch mit einer MR-kompatiblen Injektionspumpe (Spectris®, Medrad, Indianola, PA, USA) verbunden.

#### **4.4.3 Morphologische Darstellung von Prostata und Prostatakarzinom**

Für die native Darstellung der anatomischen Strukturen von Prostata und Prostatakarzinom sowie die spätere Bestimmung von Lage und Größe der Tumoren innerhalb der Prostata wurde im ersten Schritt die Akquisition einer T<sub>1</sub>-gewichteten Spin-Echo (SE)-Sequenz in axialer und einer T<sub>2</sub>-gewichteten Turbo-Spin-Echo (TSE)-Sequenz in axialer und koronarer Schichtführung durchgeführt. Die Parameter der T<sub>1</sub>-gewichteten SE-Sequenz waren Repetitionszeit (TR) 400 ms, Echozeit (TE) 30 ms, Field of View (FOV) 80 × 80 mm<sup>2</sup>, Matrix (M) 192<sup>2</sup>, Schichtdicke 1 mm, Anzahl der Schichten 20 und resultierende Voxelgröße (V) 0,4 × 0,4 × 1 mm<sup>3</sup>. Die Parameter der T<sub>2</sub>-gewichteten TSE-Sequenz waren (TR) 4210 ms, (TE) 82 ms, (FOV) 80 × 80 mm<sup>2</sup>, (M) 192<sup>2</sup>, Schichtdicke 1 mm, Anzahl der Schichten 20 und (V) 0,4 × 0,4 × 1 mm<sup>3</sup>.

Anschließend wurde anhand der T<sub>2</sub>-gewichteten MR-Bilder eine axiale Referenzschicht ausgesucht, welche der Markierung ausgewählter Areale (Region of Interest, ROI) in Tumor und gesundem Prostatagewebe für die spätere Datenanalyse diente. Diese Schicht wurde dann mit einer Schichtdicke von 2 mm, gleich der Sequenz für die kontrastmittelgestützten Messungen, erneut gemessen.

Das Kriterium zur Auswahl der Referenzschicht war der größte Durchmesser des tumorsuspekten Areals.

### 4.4.4 Dynamische MRT mit Gadodiamid

Für die Generierung von Zeit-Kurven der Signalintensität sowie die Berechnung der Parameter interstitielles Volumen, normalisierte Permeabilität und Permeabilitäts-Oberflächenprodukt in Tumor und gesundem Prostatagewebe wurde eine dynamische Messung mit dem Kontrastmittel Gadodiamid durchgeführt. Verwendet wurde eine inversionspräparierte 2D Gradienten-Echo (GRE)-Sequenz (2D Fast Low-Angle Shot, FLASH) mit den Parametern Inversionszeit 320 ms, TR 610 ms, TE 2,51 ms, FOV  $80 \times 80 \text{ mm}^2$ , M  $128^2$ , Flipwinkel  $15^\circ$ , V  $0,61 \times 0,61 \times 2,0 \text{ mm}^3$  und einer Bildwiederholrate von 1,6 Bildern pro Sekunde. Die Messungen erfolgten an einer Schicht mit derselben Schichtposition wie bei der zuvor angefertigten Referenzschicht. 10 Sekunden nach Beginn der dynamischen Messung erfolgte eine bolusförmige intravenöse Kontrastmittelinjektion mittels MR-kompatibler Infusionspumpe. Verabreicht wurden  $0,2 \text{ mmol/kg KGW}$  Gadodiamid, aufgefüllt auf  $0,6 \text{ ml}$  mit Aqua ad iniectabilia (Aqua ad iniectabilia Delta-Pharma, Boehringer Ingelheim, Pfullingen, Deutschland). Die Injektionsgeschwindigkeit betrug  $0,3 \text{ ml pro Sekunde}$ .  $0,3 \text{ ml}$  einer  $0,9 \%$ igen NaCl-Lösung wurden nachgespült. Die Messdauer betrug  $12 \text{ min}$ .

### 4.4.5 Kontrastmittelgestützte MRT mit VSOP-C 184

Die Bestimmung des Blutvolumens in Tumor und gesundem Prostatagewebe erfolgte durch Aufnahme von Bildern vor und nach Gabe des Blutpool-Kontrastmittels VSOP-C 184. Um eine Übertragbarkeit der ROI zu gewährleisten wurde dieselbe inversionspräparierte 2D-GRE-Sequenz mit derselben Schichtpositionierung wie bei der dynamischen Messung mit Gadodiamid verwendet. Die Durchführung der Messung mit VSOP-C 184 erfolgte ca.  $20 \text{ min}$  nach Ende der Messung mit Gadodiamid. Somit wurde eine Beeinflussung der Messung durch im Tierkörper angereichertes Gadodiamid vermieden. Die Lagerung der Tiere wurde nicht verändert. Lediglich der an die Schwanzvene angeschlossene Perfusorschlauch wurde durch einen mit VSOP-C 184 gefüllten Perfusorschlauch ausgetauscht. Die bolusförmige Kontrastmittelinjektion erfolgte  $80 \text{ Sekunden}$  nach Beginn der Messung mittels Infusionspumpe. Verabreicht wurden  $0,03 \text{ mmol Eisen/kg KGW}$ , aufgefüllt auf  $1,8 \text{ ml}$  mit Aqua ad iniectabilia. Die Injektionsgeschwindigkeit betrug  $0,3 \text{ ml pro Sekunde}$ .  $0,3 \text{ ml}$  einer  $0,9 \%$ igen NaCl-Lösung wurden nachgespült. Die Messdauer betrug  $182,5 \text{ Sekunden}$ .



#### **4.4.6 Blutentnahme und Bestimmung der T<sub>1</sub>-Relaxationszeit**

Für die spätere Berechnung der Blutvolumina war es notwendig die T<sub>1</sub>-Relaxationszeit des Blutes jeder Ratte nach der Gabe von VSOP-C 184 zu ermitteln. Hieraus konnte dann die exakte Konzentration des Kontrastmittels im Blut berechnet werden (siehe Punkt 4.6.3; Auswertung der MRT-Messungen mit dem Kontrastmittel VSOP-C 184).

Für die Bestimmung der T<sub>1</sub>-Relaxationszeit wurde den Tieren innerhalb von 2 min nach Beendigung der letzten MRT-Sequenz Blut entnommen. Hierfür wurde die Bauchhöhle der Tiere durch eine Inzision entlang der Linea alba eröffnet und die Vena cava caudalis vorsichtig frei präpariert. Über eine in die Vena cava caudalis eingeführte Venenverweilkanüle (Vasocan Braunüle® 20 G 1/4“, B.Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) wurden ca. 7 ml Blut in eine heparinisierte 10 ml Einmalspritze aspiriert. 5 ml des entnommenen Blutes wurden in ein Messröhrchen gefüllt und die T<sub>1</sub>-Relaxationszeit in einem Relaxometer (Minispec mq40, Bruker, Karlsruhe, Deutschland) bei 0,94 Tesla und 40 MHz bestimmt.

#### **4.4.7 Tötung der Tiere und Entnahme der Prostatae**

Direkt im Anschluss an die Blutentnahme wurden die Tiere in tiefer Narkose durch intravenöse Injektion von T61 ad us. vet. (Intervet Deutschland GmbH, Unterschleißheim, Deutschland) mit 2 ml pro Tier euthanasiert. Nach der Tötung der Tiere erfolgte die Sektion und Entnahme der Prostatae zur histologischen Aufarbeitung.

### **4.5 Histologische Untersuchungen**

#### **4.5.1 Histologische Aufarbeitung der Prostatae**

Für die Anfertigung der histologischen Schnitte wurde das entnommene Prostatagewebe für 48 Stunden in einer Zink-Fixationslösung (BD Pharmingen® IHC Zinc Fixative, BD Biosciences, San Diego, CA, USA) fixiert, in einer aufsteigenden Alkoholreihe und Xylol dehydriert und anschließend in Paraffin (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Deutschland) eingebettet. Die Ausrichtung der Gewebeproben bei der Einbettung wurde so gewählt, dass die Schnittführung des Mikrotoms (Leica RM2125RT, Leica Mikrosysteme Vertrieb GmbH, Bensheim, Deutschland) der axialen Schichtführung der MRT-Messungen entsprach. Es wurden Schnitte in mehreren Ebenen, entsprechend der in der kontrastmittelgestützten MRT gemessenen Schicht angefertigt. Der Abstand der Ebenen betrug ca. 200 µm. In jeder Ebene wurden für die verschiedenen histologischen

Färbemethoden 5 aufeinander folgende Schnitte mit einer Dicke von 4 - 5  $\mu\text{m}$  geschnitten. Aus jeder Ebene wurde je ein Schnitt für eine Hämatoxylin-Eosin (HE)-, für eine Endothel (BSL I)- und für eine Bindegewebsfärbung (modifizierte van Gieson Färbung) ausgewählt. Zwei Schnitte pro Ebene verblieben als Reservepräparate.

### **4.5.2 Hämatoxylin und Eosin (HE)-Färbung**

Anhand der HE-Präparate (Färbeprotokoll nach Romeis (1989b)) wurde die qualitative Beurteilung der Prostatae und der Tumoren durchgeführt. Weiterhin erfolgten die Bestimmung der axialen Tumorfläche, der Lage der Tumoren innerhalb der Prostata und die Bestimmung des Zellvolumens inklusive der Drüsenausführungsgänge von Prostatagewebe und Tumor.

### **4.5.3 Endothelmarkierung: *Bandeiraea simplicifolia* Lektin I (BSL I)**

Für die Markierung der Endothelien wurde das spezifisch an  $\alpha$ -Galaktose bindende Biotin-konjugierte Lektin *Bandeiraea simplicifolia* Agglutinin I (BSL I) verwendet. Hierfür wurden die Paraffinschnitte für 10 Minuten in Xylol entparaffiniert und über eine absteigende Alkoholreihe (100 %, 95 %, 80 %, 70 %) und destilliertes Wasser rehydriert. Um die gewebeeigene Peroxidase zu blockieren wurden die Schnitte für 15 Minuten mit 3 %iger  $\text{H}_2\text{O}_2$ -Lösung in Methanol überschichtet und anschließend mit PBS (phosphate buffered saline, Biochrom, Berlin, Deutschland) gespült. Im nächsten Schritt wurde für 15 Minuten 1 %iges bovines Serumalbumin in PBS hinzugefügt, um die unspezifischen Proteinbindungsstellen zu blockieren. Nach dem Abspülen der Albuminlösung mit PBS wurden die Schnitte für 18 Stunden in einer Feuchtkammer bei 4° Celsius mit BSL I (Vector, Burlingame, USA) inkubiert. Im Anschluss wurden die Schnitte mit PBS gespült und für 45 Minuten mit StreptABC (Dako, Hamburg, Deutschland) überschichtet. Nach erneutem Spülen mit PBS wurden die Schnitte in eine Diaminobenzidin (DAB)-Lösung, bestehend aus DAB (Dako, Hamburg, Deutschland), Tris-Puffer (Merck, Darmstadt, Deutschland) und Wasserstoffperoxid (Roth, Karlsruhe, Deutschland) eingestellt. Nach ungefähr 15 Minuten wurde die Reaktion mit Leitungswasser gestoppt und die Schnitte umgehend für 3 Sekunden mit Mayers Hämalaun gegengefärbt. Nach Abspülen der überschüssigen Färbelösung mit destilliertem Wasser wurden die Schnitte über eine aufsteigende Alkoholreihe (70 %, 80 %, 95 %, 100 %) und Xylol entwässert und mit Kanadabalsam eingedeckelt.

Bei dieser Art der Endothelmarkierung werden das Gefäßendothel sowie eventuell nekrotische Areale braun markiert. Die übrigen Gewebestrukturen stellen sich aufgrund der

Gegenfärbung mit Mayers Hämatoxylin bläulich dar. Somit lassen sich Gefäßstrukturen sowie mögliche nekrotische Gewebeareale deutlich von den restlichen Gewebestrukturen abgrenzen.

Als Negativkontrollen dienten Schnitte mit aufgetragener Zuckerkontrolllösung (200 mM Galaktose / 200mM N-Acetyl-Galaktosamin, Sigma, Taufkirchen, Deutschland).

#### **4.5.4 Modifizierte Bindegewebsfärbung nach van Gieson**

Nach der ersten statistischen Betrachtung der in MRT und Histologie ermittelten interstitiellen Volumina ergab sich die Frage, ob der Anteil an Bindegewebsfasern im Interstitium die Kontrastmittelverteilung und somit die im MRT gemessenen Werte im interstitiellen Raum beeinflusst. Aus diesem Grund wurde zur Bestimmung des interstitiellen Bindegewebsfaseranteils eine modifizierte van Gieson-Färbung (Romeis et al. 1989b) ohne Kernfärbung durchgeführt. Diese Färbung hat sich in Vorversuchen für eine semiautomatische Detektion von Bindegewebsfasern gegenüber der modifizierten van Gieson-Färbung mit Kernfärbung (Romeis 1989b) und der Trichromfärbung nach Ladewig als überlegen gezeigt.

Für die Färbung nach Ladewig wurden die entparaffinierten und rehydrierten Schnitte für 15 Minuten in Eisenhämatoxylin nach Weigert eingestellt. Anschließend folgte ein zehnmütiges Bläuen der Schnitte unter Leitungswasser und die Entfernung der überschüssigen Färbelösung durch Spülen mit destilliertem Wasser. Im nächsten Schritt erfolgte die Behandlung der Schnitte mit 5 %iger Phosphorwolframsäure für 5 Minuten und ein erneutes Spülen mit destilliertem Wasser. Danach wurden die Schnitte für 15 Minuten in eine Färbelösung, bestehend aus wasserlöslichem Anilinblau, Goldorange, Säurefuchsin (alle Sigma-Aldrich, Taufkirchen, Deutschland), Essigsäure (Riedel de Haen, Seelze, Deutschland) und destilliertem Wasser gegeben. Nach dem Abspülen der Färbelösung mit destilliertem Wasser und Ethanol wurden die Schnitte an der Luft getrocknet, mittels Xylo entwässert und mit DePeX (Roth, Karlsruhe, Deutschland) eingedeckelt.

## **4.6 Auswertung der MRT-Bildgebung und Datenanalyse**

### **4.6.1 Auswertung der morphologischen MRT-Bildgebung**

Anhand der T<sub>2</sub>-gewichteten MRT-Bilder erfolgte die Detektion der Prostatakarzinome, wobei hypointense Areale innerhalb der Prostata als tumorsuspekte Areale eingestuft wurden. Die Tumorkalisation innerhalb der Prostata wurde dokumentiert.

Die Evaluierung der Größe der Tumoren erfolgte mittels computergestützter Messung (Software Image J<sup>®</sup>, National Institute of Health, Bethesda, USA) der axialen und koronaren T<sub>2</sub>-gewichteten Bilder.

Von jedem Tumor wurden in koronarer Schichtführung die Länge sowie in axialer Schichtführung die Breite und die Höhe bestimmt. Für die Berechnung der Tumorumfänge wurde von einer ovoiden Form der Tumoren ausgegangen und das Tumorumfang nach der Formel Länge × Breite × Höhe ×  $\pi : 6$  (Dethlefsen et al. 1968) errechnet. Die Tumorumfänge in den axialen T<sub>2</sub>-gewichteten Bildern wurden nach der Formel Länge × Breite berechnet und später mit den Ergebnissen der histologischen Auswertung linear korreliert.

Da sich die Tumoren in den nativen Bildern der T<sub>1</sub>-gewichteten SE-Sequenz nicht von normalem Drüsengewebe der Prostata differenzieren lassen, erfolgte keine quantitative Auswertung dieser Bilder.

### **4.6.2 Auswertung der dynamischen Messungen mit dem Kontrastmittel Gadodiamid**

Die dynamischen kontrastmittelgestützten MRT-Bilder wurden quantitativ mittels des „Generalized Kinetic“ Modells nach Tofts (Tofts et al. 1999) evaluiert. Dieses Modell beschreibt die Berechnung kinetischer Parameter anhand von dynamischen kontrastmittelgestützten T<sub>1</sub>-gewichteten MRT-Daten. Die Akquisition der MRT-Bilder wurde kurz vor der bolusförmigen Injektion des extravasierenden Kontrastmittels gestartet und während des Anstieges und des Abfallens (Washout) des Kontrastmittels im Gewebe fortgeführt. Anschließend wurden anhand des Zeitverlaufes der Signalintensität in einem ausgewählten Areal (ROI) die Extravasationsparameter interstitielles Volumen (auch Leckvolumen oder extravaskulärer extrazellulärer Raum genannt), Permeabilitäts-Oberflächenprodukt und die normalisierte Permeabilität ermittelt.

Die Berechnung der Extravasationsparameter erfolgte mittels eines von Lüdemann (2006) speziell für diese Arbeit entwickelten Fortran 77 Programms, basierend auf einem simplex Fit-Algorithmus (Chandler 1969). Im ersten Schritt der Auswertung wurde im T<sub>2</sub>-gewichteten Referenzbild, unter Berücksichtigung der zuvor durchgeführten histologischen Untersuchungen, ein den Tumor ausfüllendes ROI und ein ROI im gesunden Prostatagewebe platziert. Anschließend wurden die ROI des Referenzbildes auf das Bild der dynamischen Sequenz übertragen und die Signalintensität im Zeitverlauf dieser Regionen generiert. Um die arterielle Eingangsfunktion (arterial input function, AIF) des Kontrastmittels zu bestimmen, erfolgte die manuelle Platzierung eines weiteren ROI in einem Seitenast der

Arteria iliaca interna. Die Berechnung des interstitiellen Volumens und des Permeabilitäts-Oberflächenprodukts erfolgte anhand von Gleichung 4.1 und 4.2 unter der Annahme, dass die Kapillarpermeabilität für den Hin- und Rückfluss des Kontrastmittels zwischen dem Blutgefäß und dem interstitiellen Raum gleich ist (Tofts et al. 1999):

$$\frac{dC_I}{dt} = K^{trans} (C_p - C_I / v_e) \quad (\text{Gl. 4.1})$$

( $C_I$  = Kontrastmittelkonzentration im Gewebe in mM,  $t$  = Zeit,  $K^{trans}$  = Transferkonstante in 1/min,  $C_p$  = Kontrastmittelkonzentration im arteriellen Blutplasma in mM,  $v_e$  = interstitielles Volumen in ml).

Das berechnete interstitielle Volumen entspricht hierbei dem Gewebeanteil, in den das Kontrastmittel hinein diffundieren kann und wird als relativer Volumenanteil in % angegeben. Die Transferkonstante  $K^{trans}$  beschreibt den bidirektionalen Volumentransfer zwischen Blutplasma und dem interstitiellen Volumen. Sie ist abhängig von der Balance zwischen der Kapillarpermeabilität und dem Blutfluss innerhalb des interessierenden Gewebes. Bei einem Einsatz von Substanzen für die eine geringe Kapillarpermeabilität vorliegt, ist der transendotheliale Transport des Kontrastmittels permeabilitätslimitiert. In diesem Fall ist  $K^{trans}$  gleich dem so genannten Permeabilitäts-Oberflächenprodukt zwischen Blutplasma und interstitiellem Volumen pro Volumeneinheit Gewebe, unter der Annahme das  $\rho = 1$  ist (Tofts et al. 1999):

$$K^{trans} = PS\rho \quad \text{für } (PS \ll F), \quad (\text{Gl. 4.2})$$

( $K^{trans}$  = Transferkonstante in 1/min,  $PS$  = Permeabilitäts-Oberflächenprodukt in ml/min/g,  $\rho$  = Dichte des Gewebes in g/ml,  $F$  = Blutfluss (Perfusion) in ml/min/g).

So ist ein direkter Vergleich des in dieser Arbeit berechneten Permeabilitäts-Oberflächenprodukts mit den Werten der Transferkonstante  $K^{trans}$  aus anderen Arbeiten möglich. Um einen von der Anzahl der Gefäße unabhängigen Parameter zu erhalten, wurde durch Division der Permeabilität durch den mittleren Gefäßdurchmesser die normalisierte

Permeabilität mit der Einheit l/s berechnet.

### 4.6.3 Auswertung der MRT-Messungen mit dem Kontrastmittel

#### VSOP-C 184

Anhand der gemessenen Daten aus der inversionspräparierten 2D GRE-Sequenz vor und nach intravenöser Injektion von VSOP-C 184 erfolgte die Bestimmung der Blutvolumina in Tumor und gesundem Prostatagewebe.

Insgesamt wurden 300 Bilder in einer Zeit von 182,5 s akquiriert, wobei das Blutpool-Kontrastmittel (VSOP-C 184) mit der Akquisition des 130. Bildes nach etwa 80 s Messdauer appliziert wurde. Die Evaluation der Daten erfolgte durch Verwendung des Software-Paketes AmiraDev-3.1 (Template Graphics Software, Inc., San Diego, CA, USA). Aus den 300 akquirierten Bildern wurden durch Mittelwertbildung im Zeitbereich von 10 - 78 s (17. - 130. Bild) ein Prä- ( $S_{I_{Prae}}$ ) und durch Mittelwertbildung im Zeitbereich von 125 - 180 s (206. - 299. Bild) ein Postkontrastbild ( $S_{I_{Post}}$ ) berechnet. Durch die Mittelwertbildung von  $n$  Bildern erhöht sich dabei das SNR um den Faktor  $\sqrt{n}$ . Bei der Verwendung eines streng intravasal verbleibenden Kontrastmittels, wie VSOP-C 184, sind die Signalintensitäten des Differenzbildes  $S_{I_{Post}} - S_{I_{Prae}}$  proportional zum Blutvolumen. So kann bei bekannter MR-Signalintensität eines Vollblutvoxels als Referenzwert eine exakte Berechnung des Blutvolumens durchgeführt werden. Da aufgrund des geringen Durchmessers der Blutgefäße der Ratten jedoch kein Vollblutvoxel vorhanden war, musste die Signalintensität eines Vollblutvoxels für jedes Tier berechnet werden. Hierfür wurde den Tieren direkt im Anschluss an die MRT-Messungen Blut entnommen und die  $T_1$ -Relaxationszeit des Blutes mittels Relaxometrie bestimmt (siehe Punkt 4.4.6; Blutentnahme und Bestimmung der  $T_1$ -Relaxationszeit). Über die  $T_1$ -Relaxationszeiten des Rattenblutes wurde anschließend die genaue Kontrastmittelkonzentration im Blut berechnet und aus dieser wiederum die eigentliche Signalintensität eines Vollblutvoxels.

Dabei lässt sich die Abhängigkeit der  $T_1$ -Relaxationszeit von der Kontrastmittelkonzentration  $C$  mathematisch durch folgende Formel erklären:

$$\frac{1}{T_1} = \frac{1}{T_1^0} + C \cdot R_1 \quad (\text{Gl. 4.3})$$

( $T_1$  =  $T_1$ -Relaxationszeit,  $T_1^0$  =  $T_1$ -Relaxationszeit in Abwesenheit eines Kontrastmittels,  $C$  = Kontrastmittelkonzentration,  $R_1$  = longitudinale Relaxivität des Kontrastmittels).

Die Parameter  $T_1^0$  und  $R_1$  wurden im Anschluss an die Messungen durch eine mathematische Kurvenanpassung bestimmt.

Der Zusammenhang zwischen MR-Signalintensität  $SI$  und Kontrastmittelkonzentration  $C$  wird mathematisch durch folgende Funktion beschrieben:

$$SI = a \cdot (1 - b \cdot \exp\{d \cdot C + e\}) + f \quad (\text{Gl. 4.4})$$

( $SI$  = MR-Signalintensität,  $C$  = Kontrastmittelkonzentration,  $a, b, d, e, f$  = Fitparameter).

Unter Verwendung von Gleichung 4.3 und Gleichung 4.4 wurde für jedes Tier die MR-Signalintensität eines Vollblutvoxels ( $SI_{\text{Voll}}$ ) berechnet. Anschließend wurden sämtliche Signalintensitäten des Differenzbildes  $SI_{\text{Post}} - SI_{\text{Prae}}$  auf den Referenzwert  $SI_{\text{Voll}}$  bezogen und somit die Blutvolumina berechnet.

Für die Durchführung dieser Berechnung war es notwendig vor Beginn der tierexperimentellen Untersuchungen Kalibrierkurven für die  $T_1$ -Relaxationszeiten sowie die Signalintensitäten verschiedener Kontrastmittelkonzentrationen zu ermitteln. Hierfür wurden zwölf verschiedene Proben mit unterschiedlichen Konzentrationen (0,0 bis 1,25 mmol Fe/l) von VSOP-C 184 in Rattenblut verwendet. Im ersten Schritt wurden nun die  $T_1$ -Relaxationszeiten aller Proben in dem Relaxometer der in-vivo Messungen (Minispec mq40) bei 0,94 Tesla (40 MHz) bestimmt und eine mathematische Kurvenanpassung (mathematischer Fit) vorgenommen. Im zweiten Schritt wurden anschließend an einem Phantom mittels MRT-Messungen die MR-Signalintensitäten der zwölf verschiedenen Konzentrationen VSOP-C 184 in Rattenblut bestimmt und ebenfalls mathematisch angepasst. Eingesetzt wurde die inversionspräparierte 2D-GRE-Sequenz der in vivo-Messungen.

Die Berechnungen und grafischen Darstellungen der beiden Kalibrierkurven erfolgten mittels der Software Microcal Origin® (Version 6.0, Microcal Software, Inc., Northhampton, MA, USA).

## **4.7 Qualitative und morphometrische Auswertung der histologischen Präparate**

Die Auswertung der histologischen Präparate erfolgte computergestützt an einem mit einer RGB Kamera (3 CCD DXC, Sony Deutschland GmbH, Köln, Deutschland) gekoppelten Lichtmikroskop (Optiphot2, Nikon GmbH, Düsseldorf, Deutschland).

Für die morphometrische Bestimmung von regionalem Blutvolumen, Zellvolumen, interstitiellem Volumen und dem Bindegewebsanteil im Interstitium anhand der histologisch gefärbten Prostatektomiepräparate wurden mit Hilfe des Bildbearbeitungssystems Lucia M (Nikon GmbH, Düsseldorf, Deutschland) semiautomatische ProgrammROUTINEN (Makros) entwickelt. Je nach histologischer Färbung wurde, durch individuell definierte Einstellungen eines Schwellenwertes, eine semiautomatische Detektion von Gefäßendothel, Zellen des Gewebes oder Bindegewebsfasern durchgeführt. Aufgrund von Spalträumen im Gewebe und Ausführungsgängen erfolgte hiernach eine manuelle Korrektur der detektierten Areale. Nach einer anschließenden Binärbildverarbeitung wurde der detektierte Anteil des Bildes gemessen und nach einer geometrischen Filterung als Ergebnis ausgegeben.

Die auszuwertenden Regionen des histologischen Schnittes wurden, äquivalent zu den in der MRT-Auswertung platzierten ROI, anhand einer Lupenfunktion bestimmt. Die Messungen erfolgten bei 400facher Vergrößerung (40× Objektiv und 10× Okular). Gemessen wurden 20 Sichtfelder, die durch mäanderförmiges Weiterstellen der Sichtfelder zufällig ausgewählt wurden. Bis auf eine Ausnahme wurde jeweils eine Ebene pro Prostata gemessen. Bei einem Tier wurden aufgrund der geringen Tumorgröße bei zwei hintereinander liegenden Ebenen jeweils zehn Sichtfelder ausgewertet. Die Gesamtfläche der ausgewerteten 20 Sichtfelder beträgt bei 400facher Vergrößerung ca. 0,37 mm<sup>2</sup>.

### **4.7.1 Auswertung der Präparate mit Hämatoxylin und Eosin-Färbung**

Anhand der H&E gefärbten Schnitte erfolgten die Bestimmung von Lage, Größe und Wachstumsart der Prostatakarzinome sowie die morphometrische Bestimmung des Zellvolumens inklusive der Drüsenausführungsgänge und des interstiellen Volumens in Tumor und gesundem Prostatagewebe.

Die Tumorlokalisation innerhalb der Prostata wurde dokumentiert. Zur Bestimmung der Größe der Tumoren wurden zwei H&E gefärbte Schnitte aus der MRT-Schichtführung ausgewählt und die Tumorfläche mit Hilfe der Software Image J (National Institute of Health, Bethesda, USA) nach der Formel Länge × Breite berechnet und der Mittelwert aus beiden



Ebenen gebildet.

Für die morphometrische Bestimmung des interstitiellen Volumens in Tumor und gesundem Prostatagewebe wurden durch die individuelle Schwellenwertverschiebung alle zellulären Anteile sowie durch manuelle Detektion alle sich im Sichtfeld befindlichen Ausführungsgänge detektiert (Abb. 4.3). Durch das automatische Auswertungsprogramm LUCIA wurde aus den Markierungen das Zellvolumen inklusive der Ausführungsgänge berechnet. Der pro Prostatagewebe bzw. pro Tumor angegebene Wert stellt den Mittelwert aus den jeweils 20 untersuchten Sichtfeldern dar. Der verbleibende Anteil minus des separat bestimmten Blutvolumens ergibt dann den Anteil des interstitiellen Volumens. Somit wurde das interstitielle Volumen anhand der folgenden Formel bestimmt:

$$v_e = 1 - v_{EE} - v_B \quad (\text{Gl. 4.5})$$

( $v_e$  = interstitielles Volumen,  $v_{EE}$  = Zellvolumen inklusive der Ausführungsgänge,  $v_B$  = Blutvolumen).

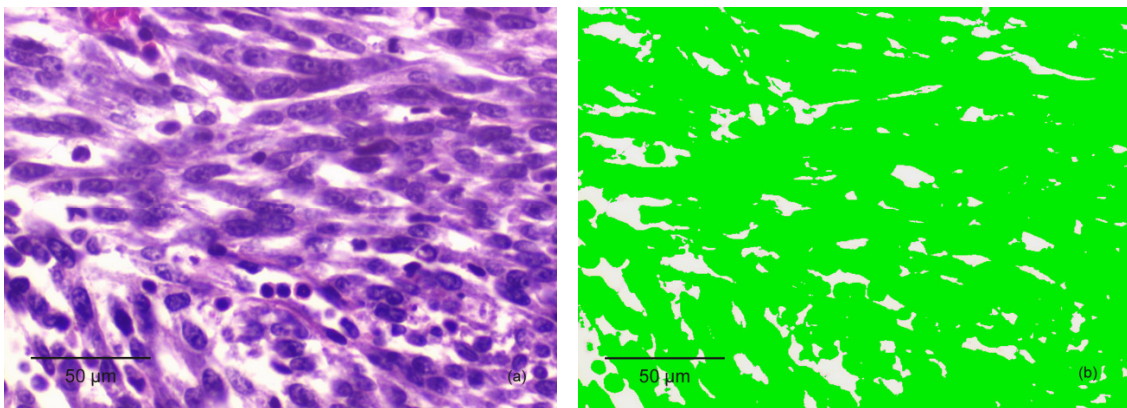


Abbildung 4.3: Tumorgewebe in der HE-Färbung ohne (a) und mit (b) Detektion (grüne Farbflächen) des Zellvolumens.

### 4.7.2 Auswertung der Präparate mit Endothelmarkierung (BSL I)

Anhand der Präparate mit der *Bandeiraea simplicifolia* Lektin I (BSL I)-Markierung erfolgte die morphometrische Bestimmung (s. o.) des Blutvolumens, der mikrovaskulären Dichte (MVD), der mittleren Gefäßfläche, des mittleren interkapillären Gefäßabstandes (intercapillar distance, ICD) und der mittleren Diffusionsstrecke für ein extravasierendes Kontrastmittel, wie z. B. Gadodiamid, in Tumor und gesundem Prostatagewebe.

Zur Berechnung des Blutvolumens wurden alle in einem Sichtfeld erkennbaren lumenhaltigen Gefäßstrukturen an der braun gefärbten endothelialen Innenauskleidung manuell detektiert (Abb. 4.4). Rote Blutzellen wurden nicht zur Definition von Lumina herangezogen. Durch das automatische Auswertungsprogramm LUCIA wurden aus den Markierungen a.) die Fläche der markierten Gefäßlumina, b.) der prozentuale Anteil der markierten Gefäßlumina an der ausgewerteten Fläche (entspricht dem Blutvolumen) und c.) die Anzahl der markierten Gefäße pro Fläche (entspricht der MVD) berechnet. Der pro Prostatagewebe bzw. pro Tumor angegebene Wert stellt den Mittelwert aus den jeweils 20 untersuchten Sichtfeldern dar. Für die Berechnung der MVD und des interkapillären Gefäßabstandes im Tumorgewebe wurden nur Sichtfelder ohne Anteile von Ausführungsgängen des gesunden Prostatagewebes berücksichtigt, um die charakteristischen Werte des Tumorgewebes zu erhalten. Für den Fall, dass Anteile eines Ausführungsgangs im Sichtfeld vorhanden waren, wurde das nächste Sichtfeld nur mit Tumorgewebe ausgewertet. Die mittleren interkapillären Gefäßabstände im Prostatagewebe wurden mittels folgender Formel berechnet:

$$ICD = \frac{1}{\sqrt{n}} \mu\text{m} \quad (\text{Gl. 4.6})$$

(ICD = mittlerer interkapillärer Gefäßabstand;  $n$  = Anzahl der Gefäße pro  $\mu\text{m}^2$ ).

Für einen besseren Vergleich mit dem Prostatagewebe wurden die Gefäßabstände im Tumor ebenfalls anhand von Gleichung 4.6 berechnet. Für die Berechnung der mittleren Diffusionsstrecken wurden die mittleren interkapillären Gefäßabstände der Tumoren und der gesunden Prostatagewebe jeweils durch 2 dividiert, da die Diffusionsstrecke für einen extravasierenden Stoff, wie z. B. Gadodiamid die Hälfte des Abstandes zwischen zwei Gefäßen beträgt.

Bei der histologischen Aufarbeitung von Gewebeproben ist, allein durch die Entwässerung, mit einer Schrumpfung des Gewebes von rund 20 Volumenprozent zu rechnen (Romeis, 1989a). Für die mittleren interkapillären Gefäßabstände sowie die mittleren Diffusionsstrecken wurde deshalb zusätzlich ein Schrumpfungsverlust von 20 % hinzu addiert und dieses Ergebnis separat als normierter Wert aufgeführt.

Weiterhin wurden die in Tumor und gesundem Prostatagewebe gemessenen Werte für die Blutvolumina der MR-tomographischen und der histologischen Untersuchungen sowie für die MVD und die mittlere Gefäßfläche der histologischen Untersuchungen ins Verhältnis gesetzt.

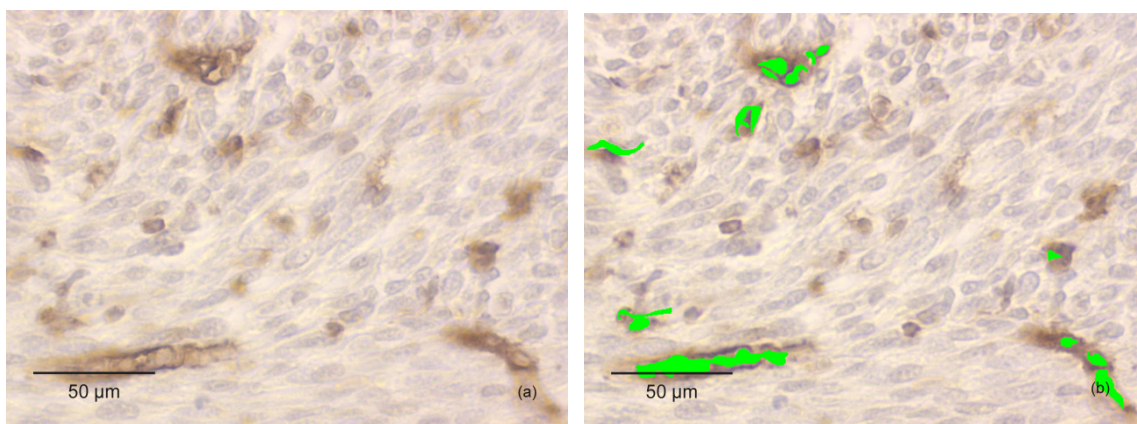


Abbildung 4.4: Tumorgewebe in der Endothelmarkierung BSL-1 (a) ohne und (b) mit Detektion (grüne Farbflächen) der Gefäßlumina.

### 4.7.3 Auswertung der Präparate mit modifizierter Bindegewebsfärbung nach van Gieson

Anhand der Präparate mit der modifizierten van Gieson-Färbung erfolgte die morphometrische Bestimmung des Bindegewebsfaseranteils im Interstitium von Prostatagewebe und Tumor. Durch individuelle Einstellung des Schwellenwertes im Analyseprogramm wurden die rotgefärbten Bindegewebsfasern im interstitiellen Raum eines Sichtfeldes detektiert (Abb. 4.5). Der Schwellenwert wurde so gesetzt, dass alle deutlich rot angefärbten Fasern detektiert wurden. Durch das automatische Auswertungsprogramm LUCIA wurde der prozentuale Anteil der Bindegewebsfasern im Interstitium berechnet. Der pro Prostatagewebe bzw. pro Tumor angegebene Wert stellt den Mittelwert aus den jeweils 20 untersuchten Sichtfeldern dar. Anschließend wurden von jedem Tier die interstitiellen Volumina inklusive der Bindegewebsfasern von Prostatagewebe und Tumor berechnet. Hierfür wurden der gemessene Bindegewebsanteil und das anhand der HE-gefärbten

Schnitte ermittelte interstitielle Volumen addiert.

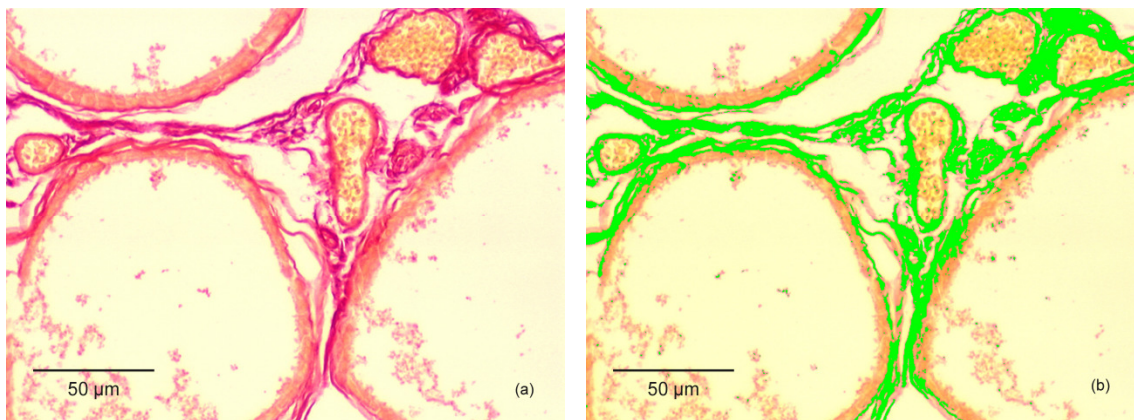


Abbildung 4.5: Gesundes Prostatagewebe mit modifizierter Bindegewebsfärbung nach van Gieson (a) ohne und (b) mit Detektion (grüne Farbflächen) der interstitiellen Bindegewebsfasern.

### 4.8 Statistische Methoden, Darstellung und Berechnung

Die Ergebnisse sind in Text und Bild wiedergegeben. Als Lagemaß wurde der Median verwendet, sofern keine andere Angabe vermerkt ist. Die Auswertung der Messergebnisse erfolgte bis auf die angegebenen Ausnahmen mit Hilfe des Statistikprogramms SPSS® (Version 11.0, SPSS Inc., Chicago, USA). Der Vergleich für die jeweils in Tumor und gesundem Prostatagewebe gemessenen Gewebeparameter erfolgte mittels Wilcoxon-Test für verbundene Stichproben. Zur graphischen Darstellung wurden mit Hilfe von SPSS (Version 11.0) Boxplots und für die interkapillären Gefäßabstände Histogramme angefertigt. Hierbei können Informationen über die Verteilung der Messwerte, Lage, Streuung und gleichzeitig Ausreißer (°) und Extremwerte (\*) dargestellt und entnommen werden. Die Boxplots setzen sich aus dem Median, den 1. und 4. Quartilen sowie dem kleinsten und dem größten Wert zusammen. Ausreißer sind mehr als eineinhalb Boxenlängen und Extremwerte mehr als drei Boxenlängen vom oberen bzw. unteren Rand der Box entfernt.

Die verschiedenen in MRT und Histologie gemessenen Parameter wurden graphisch gegeneinander aufgetragen und die Korrelationskoeffizienten sowie die p-Werte mittels Spearman-Test (SPSS, Version 11.0) ermittelt.

Das Signifikanzniveau wurde auf 5 % festgelegt.

## 5 ERGEBNISSE

### 5.1 Vorbereitende Untersuchungen

#### 5.1.1 Auswahl der geeigneten Hochfrequenz-Spule für die MRT-Untersuchungen

Ein Vergleich des Eigenrauschens der drei verwendeten Spulen zeigt, dass die Handgelenkspule im Vergleich zur Extremitätenspule ein um den Faktor  $\approx 1/3$  und im Vergleich zur kleinen Extremitätenspule ein um den Faktor  $\approx 1/2$  geringeres Eigenrauschen aufweist, was sich in einem besseren Verhältnis von Signal zu Rauschen und damit in der Bildqualität widerspiegelt. Unter dem Gesichtspunkt eines bestmöglichen Signal-Rausch-Verhältnis (SNR) und dem damit möglichen höheren zeitlichen Auflösungsvermögen wurde für die tierexperimentellen MRT-Untersuchungen die hochauflösende 4-Kanal Handgelenkspule ausgewählt.

#### 5.1.2 Bestimmung der $T_1$ -Relaxationszeiten und MRT-Signalintensitäten von VSOP-C 184 im Rattenblut

##### 5.1.2.1 $T_1$ -Relaxationszeiten

Der Zusammenhang zwischen der  $T_1$ -Relaxationszeit und der Konzentration von VSOP-C 184 in Rattenblut wurde anhand von Gleichung Gl. 4.3 beschrieben (siehe Punkt 4.6.3; Auswertung der MRT-Messungen mit dem Kontrastmittel VSOP-C 184). Die experimentell ermittelten Werte ergeben für die  $T_1$ -Relaxationszeit von Rattenblut ohne Kontrastmittel ( $T_1^0$ ) 810 ms. Bei einer Konzentration von 1 mmol beträgt die  $T_1$ -Relaxationszeit 95,5 ms. Die  $T_1$ -Relaxivität ( $R_1$ ) für VSOP-C 184 in Rattenblut ist 9,28 l/mmol/s. Die  $T_1$ -Relaxationszeit in Abhängigkeit der Kontrastmittelkonzentration ist in Abbildung 5.1 als  $T_1$ -Relaxationsrate ( $1/T_1$ ) in Abhängigkeit der Konzentration grafisch dargestellt.

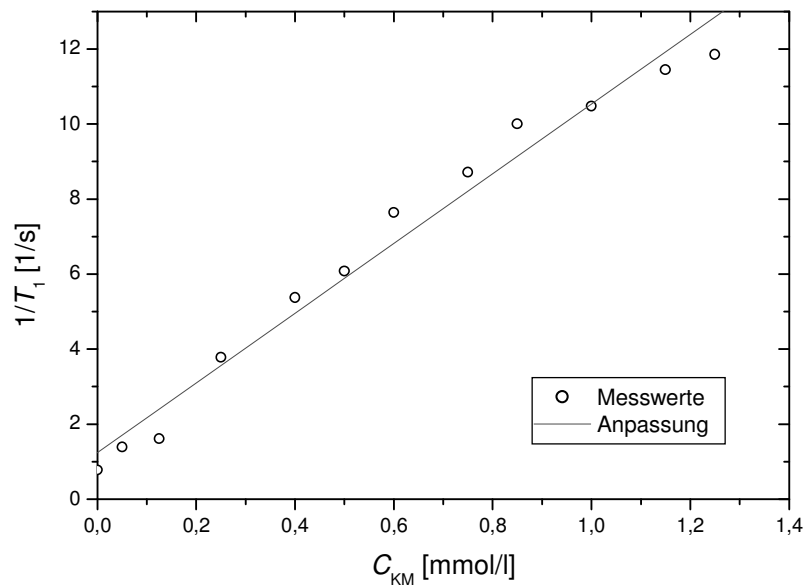


Abbildung 5.1: Phantommessung zur Bestimmung der  $T_1$ -Relaxationsrate ( $1/T_1$ ) in Abhängigkeit von der Kontrastmittel-Konzentration (VSOP-C 184) ermittelt in Rattenblut. Die Messungen erfolgten an einem Relaxometer (Minispec mq40, Bruker, Karlsruhe, Deutschland) bei 0,94 Tesla (40 MHz).

### 5.1.2.2 MRT-Signalintensitäten

Der Zusammenhang zwischen MRT-Signalintensität und der Kontrastmittelkonzentration von VSOP-C 184 wurde mathematisch anhand von Gleichung Gl. 4.4 beschrieben (siehe Punkt 4.6.3; Auswertung der MRT-Messungen mit dem Kontrastmittel VSOP-C 184). Die experimentell bestimmten Werte für die Fitparameter waren:  $a = 311.7$ ,  $b = 2.26$ ,  $d = -2.3$ ,  $e = -0.89$  und  $f = 0.99$  (Abb 5.2). Der Zusammenhang zwischen der MRT-Signalintensität und der Konzentration von VSOP-C 184 ist in Abbildung 5.2 graphisch dargestellt.

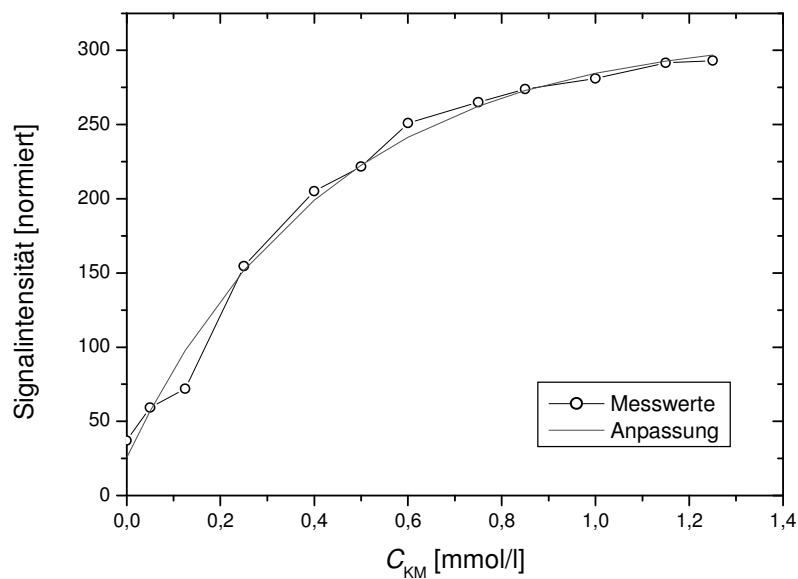


Abbildung 5.2: Durch Phantommessungen bestimmter Zusammenhang zwischen MRT-Signalintensität und Konzentration von VSOP-C 184 ( $C_{KM}$ ). Die experimentell ermittelten Datenpunkte wurden unter Verwendung von Gleichung 4.4 angepasst. Für die Messung wurde die inversionspräparierte 2D-GRE-Sequenz der kontrastmittelgestützten in-vivo Messungen (Parameter siehe unter Punkt 4.4.4; Dynamische Messungen mit Gadodiamid) verwendet.

## 5.2 Tumorbildung

Nach orthotoper Injektion von Zellen der Sublinie G des Dunning R3327 Ratten-Prostatakarzinoms bildeten alle 17 Ratten in den ventralen Prostatalappen Tumoren aus. In der Sektion der Tiere stellen sich die Tumoren als festelastische Struktur innerhalb der Prostatalappen dar (Abb. 5.3). Im Bereich der Anheftung zwischen Harnblase und Prostata ist bei einigen Tieren eine deutliche Gefäßzeichnung zu erkennen (Abb. 5.4). Mit Ausnahme der Prostatakarzinome wurden keine pathologischen Veränderungen bei den Tieren festgestellt.

Während der gesamten Versuchsdauer zeigten die Tiere einen guten Allgemeinzustand. Im Rahmen der täglichen adspektorischen Beurteilung der Tiere konnten keinerlei Auffälligkeiten sowohl in der Fellbeschaffenheit und der Körperhaltung als auch im Spontanverhalten (Bewegung und Atmung) der Tiere festgestellt werden.

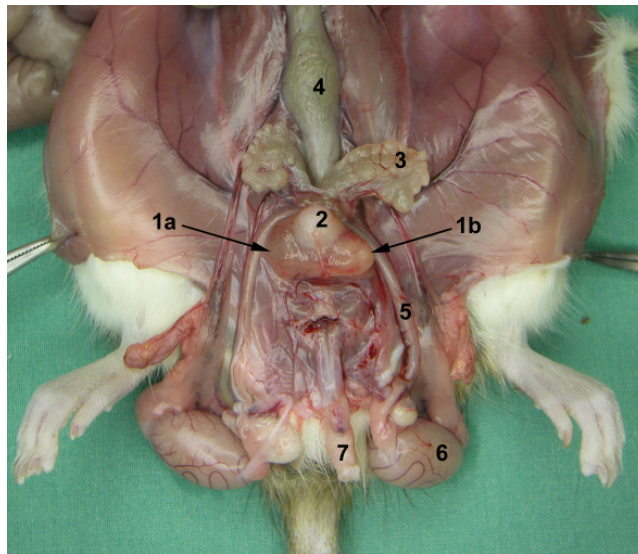


Abbildung 5.3: Ratte in Rückenlage mit eröffneter Bauch- und Beckenhöhle. Deutlich sind der gesunde rechte ventrale Prostatallappen (1a) und der linke ventrale Prostatallappen mit einem G-Dunning Tumor (1b) zu erkennen. Weitere Strukturen sind Harnblase (2), Samenblasendrüse (3), Colon (4), Samenleiter (5), Hoden (6) und Penis (7).

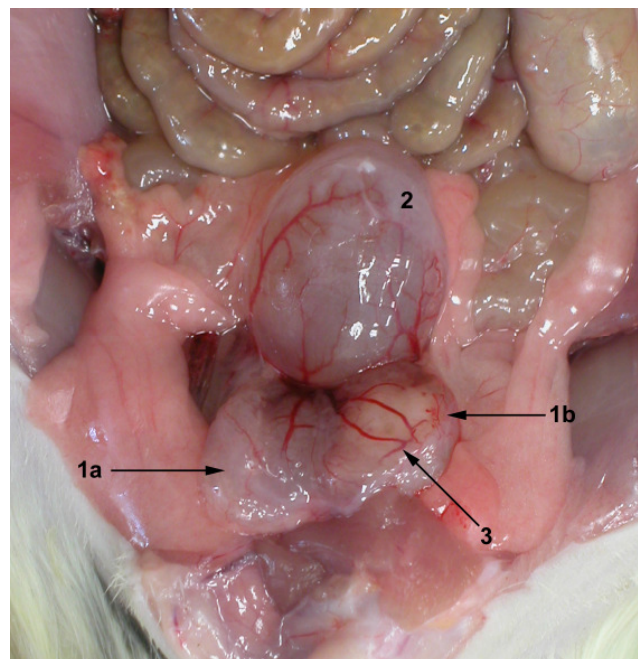


Abbildung 5.4: Gesunder rechter ventraler Prostatallappen (1a), linker ventraler Prostatallappen mit einem G-Dunning Tumor (1b), Harnblase (2) und deutliche Gefäßzeichnung im Bereich der Anheftung zwischen Prostata und Harnblase einer Ratte. Prostata und Harnblase wurden im Rahmen der Prostatektomie voneinander getrennt.



### 5.3 MRT-Untersuchungen an Ratten

Die graphischen Darstellungen der in der MRT sowie in der Histologie bestimmten Parameter interstitielles Volumen, Zellvolumen, Blutvolumen und der Tumorfläche erfolgen zusammen in Abschnitt 5.5 (Vergleich von MRT und histologischen Befunden).

#### 5.3.1 Morphologische MRT

In der  $T_1$ -gewichteten Sequenz lassen sich die Kontur der Prostata gut, die Tumoren selbst jedoch nicht darstellen (Abb 5.5). In der  $T_2$ -gewichteten Sequenz stellen sich die Tumoren in allen 17 Fällen hypointens im Vergleich zu normalem Prostatagewebe dar. Muskel-, Fett-, Tumor- und gesundes Prostatagewebe können deutlich unterschieden werden (Abb 5.6, 5.7). Somit gleicht das Erscheinungsbild des G-Dunning Rattenprostatakarzinoms in der konventionellen MRT dem Erscheinungsbild des Prostatakarzinoms beim Menschen.

56 bis 60 Tage nach Tumorzellimplantation liegt das anhand der  $T_2$ -gewichteten Bilder bestimmte Tumorumfängen im Median bei 21,46 mm<sup>3</sup>. Der kleinste Tumor weist ein Volumen von 4,92 mm<sup>3</sup> und der größte Tumor ein Volumen von 135,80 mm<sup>3</sup> auf. Die berechnete axiale Tumorfläche liegt im Median bei 10,93 mm<sup>2</sup>, wobei der kleinste Tumor eine Fläche von 3,47 mm<sup>2</sup> und der größte Tumor eine Fläche von 44,45 mm<sup>2</sup> hat.

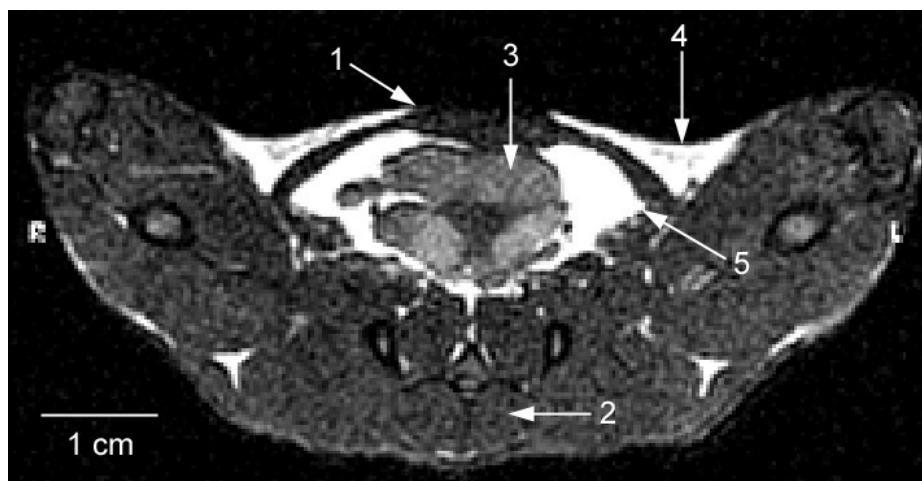


Abbildung 5.5: MRT-Bild durch das Becken einer Ratte (Tier 11) mit G-Dunning R3327 Rattenprostatakarzinom in axialer Schichtführung bei  $T_1$ -gewichteter SE-Sequenz. Das MR-Bild wurde mit einer 4-Kanal Handgelenkspule in einem 1,5 Tesla Ganzkörpertomographen 58 Tage nach Tumorzellimplantation akquiriert. Bauchdecke (1), Lendenmuskulatur (2), Prostata (3), Kniefalte (4) und Fettkörper (5) können deutlich unterschieden werden. Die Prostata lässt sich gut, der Tumor jedoch nicht darstellen.

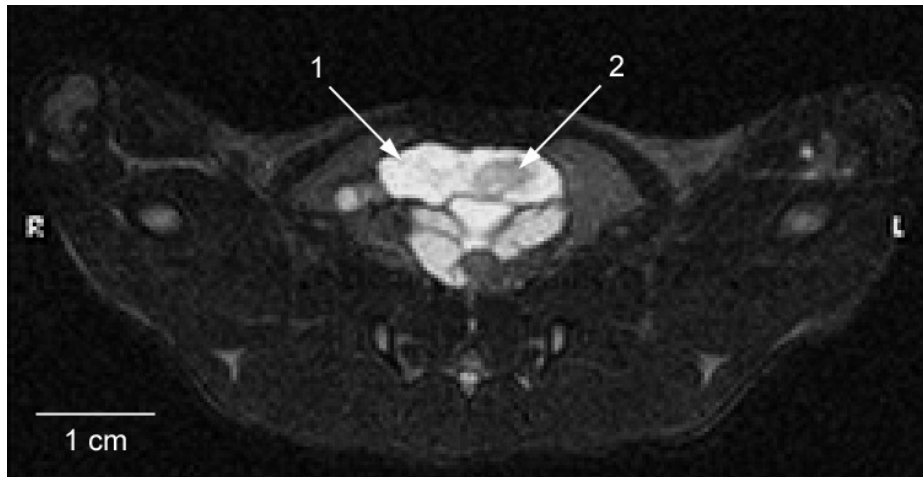


Abbildung 5.6: MRT-Bild einer Ratte (Tier 11) bei  $T_2$ -gewichteter TSE-Sequenz in axialer Schichtführung. Sowohl der ventrale Lappen der Prostata (1), als auch der Tumor (2) lassen sich deutlich vom umgebenden Gewebe abgrenzen. Die Größe des Tumors beträgt  $81,93 \text{ mm}^3$ .

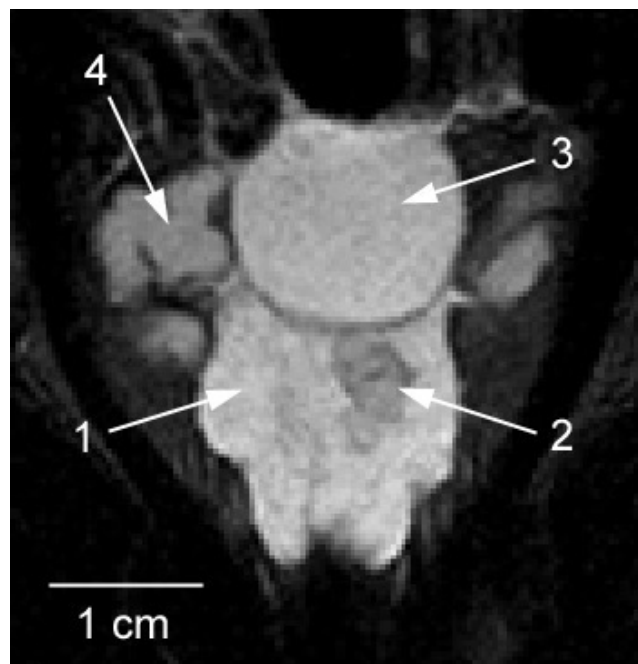


Abbildung 5.7: MRT-Bild einer Ratte (Tier 11) bei  $T_2$ -gewichteter TSE-Sequenz in koronarer Schichtführung. Wie in der axialen Schichtführung lassen sich auch hier der ventrale Lappen der Prostata (1) und das Prostatakarzinom (2) von den umgebenden Strukturen, wie z. B. der Blase (3) und der Samenblasendrüse (4) abgrenzen.

### 5.3.2 Dynamische MRT mit Gadodiamid

In den dynamischen MRT-Messungen zeigt sich in den Tumoren nach intravenöser Applikation von 0,2 mmol/kg KGW Gadodiamid ein beschleunigter sowie ein erhöhter Anstieg der Signalintensität im Vergleich zum umgebenden gesunden Prostatagewebe.

Die folgende Abbildung (Abb. 5.8) zeigt am Beispiel eines zufällig ausgewählten Tieres die extrahierten Signalintensitäten im Zeitverlauf in einem Seitenast der Arteria iliaca interna, im Tumor und in gesundem Prostatagewebe, aus denen die Parameter interstitielles Volumen, Permeabilitäts-Oberflächenprodukt und normalisierte Permeabilität berechnet wurden. Die maximale Signalintensität in der Arterie wird ca. 50 Sekunden nach der Kontrastmittelinjektion gemessen. Dies zeigt, dass eine exakte Erfassung des Kontrastmittelbolus (First-Pass) bei der Ratte nicht möglich ist, da der Kontrastmittelbolus bereits wenige Sekunden nach der Injektion das Gefäß erreicht. Somit ist die Bestimmung des Blutvolumens in einem Gewebe mittels dynamischer MRT mit einem extravasierenden Kontrastmittel trotz einer hohen zeitlichen Auflösung von 1,6 Bildern pro Sekunde nicht möglich. Hierfür ist eine gesonderte Messung mit einem Blutpool-Kontrastmittel notwendig.

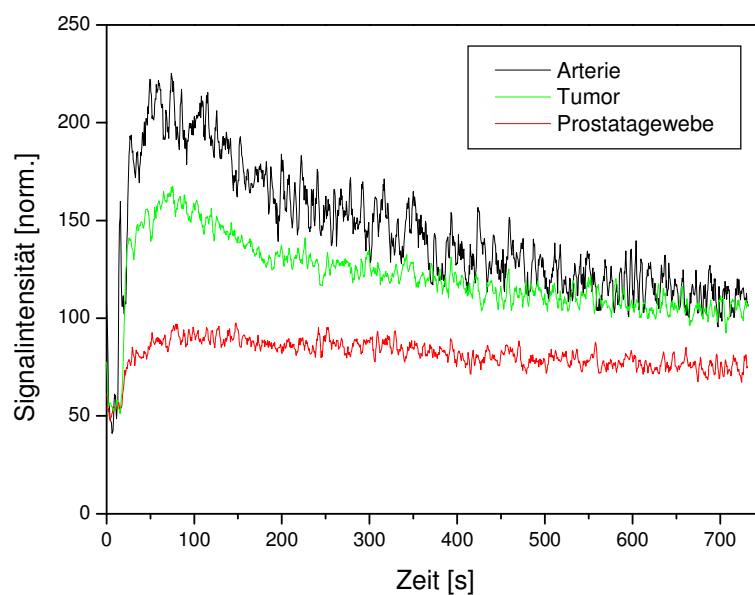


Abbildung 5.8.: Dargestellt sind die Signalintensitäten in Abhängigkeit von der Zeit in gesundem Prostatagewebe, Tumor und einem Seitenast der Arteria iliaca interna (arterial input function, AIF) nach Gabe von 0,2 mmol/kg KGW Gadodiamid bei einer Ratte (Tier 11). Die bolusförmige Applikation des Kontrastmittels erfolgte 10 Sekunden nach Beginn der Messung.

### 5.3.2.1 Interstitielles Volumen, Permeabilitäts-Oberflächenprodukt und normalisierte Permeabilität

Das aus den Signalintensität zu Zeit-Verläufen berechnete interstitielle Volumen im Prostatakarzinom liegt im Median bei 19,66 % und ist verglichen zu dem Prostatagewebe mit 4,08 % signifikant erhöht ( $p < 0,001$ ). Das Permeabilitäts-Oberflächenprodukt im Prostatakarzinom liegt bei 1,01 ml/min/g und zeigt gegenüber dem Prostatagewebe mit 0,23 ml/min/g ebenfalls eine signifikante Erhöhung ( $p = 0,001$ ) (Abb. 5.9). Für die normalisierte Permeabilität kann hingegen kein signifikanter Unterschied ( $p = 0,309$ ) zwischen Prostatakarzinom (0,034 l/s) und Prostatagewebe (0,036 l/s) festgestellt werden (Abb. 5.10).

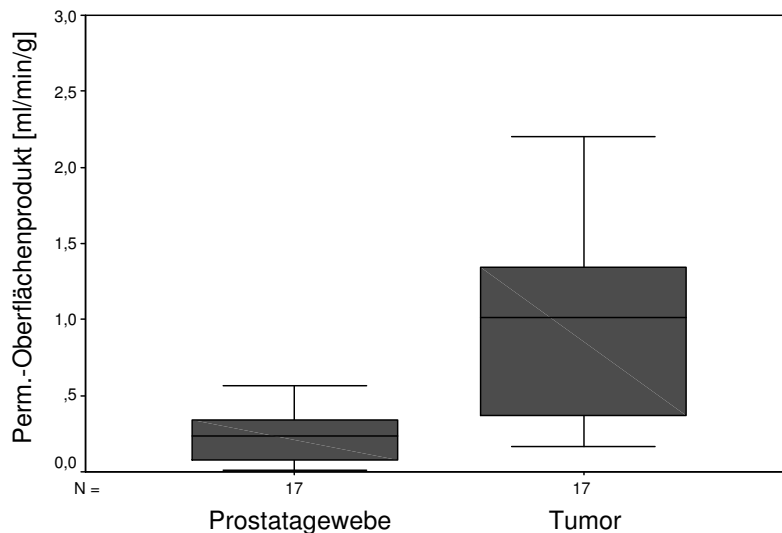


Abbildung 5.9: In der dynamischen MRT-Messung mittels Gadodiamid ermitteltes Permeabilitäts-Oberflächenprodukt in gesundem Prostatagewebe und Tumor. Das Permeabilitäts-Oberflächenprodukt im Tumor ist gegenüber dem Prostatagewebe signifikant erhöht ( $p = 0,001$ ).

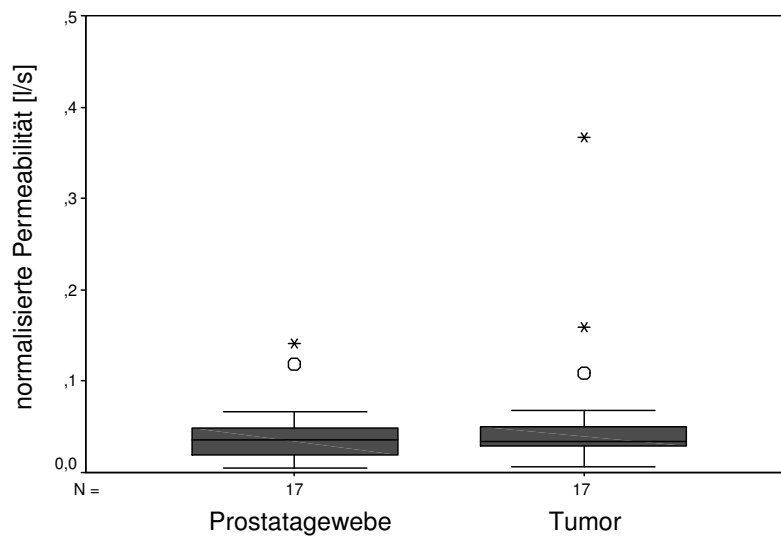


Abbildung 5.10: In der dynamischen MRT-Messung mittels Gadodiamid ermittelte normalisierte Permeabilität in gesundem Prostatagewebe und Tumor. Die normalisierten Permeabilitäten in Tumor und Prostatagewebe unterscheiden sich nicht signifikant ( $p = 0,309$ ).

### 5.3.3 Kontrastmittelgestützte MRT mit VSOP-C 184

#### 5.3.3.1 Blutvolumen und Zellvolumen inklusive Drüsenausführungsgänge

Die Messungen mit dem Blutpool-Kontrastmittel VSOP-C 184 dienen der Bestimmung des Blutvolumens von gesundem Prostatagewebe und Tumor. Nach der Gabe von VSOP-C 184 zeigt sich in den Blutgefäßen ein deutlicher Anstieg der Signalintensität (Abb. 5.11). Auf dem Differenzbild, welches durch Subtraktion der gemittelten Post- und Praekontrastbilder gebildet wurde, sind die Kontrastmittelanreicherungen als signalstarke Bereiche gut zu erkennen (Abb. 5.12).

Die ermittelten Werte für das Blutvolumen liegen im Tumor im Median bei 1,71 % und im Prostatagewebe bei 0,69 %. Die Blutvolumina unterscheiden sich signifikant ( $p < 0,001$ ). Das Blutvolumen im Tumor liegt gegenüber dem Prostatagewebe um den Faktor 2,48 höher.

Die anschließend aus dem interstitiellen Volumen und dem Blutvolumen errechneten Werte für das Zellvolumen inklusive der Drüsenausführungsgänge liegen im Tumor bei 78,95 % und im Prostatagewebe bei 95,08 % und unterscheiden sich ebenfalls signifikant ( $p < 0,001$ ).

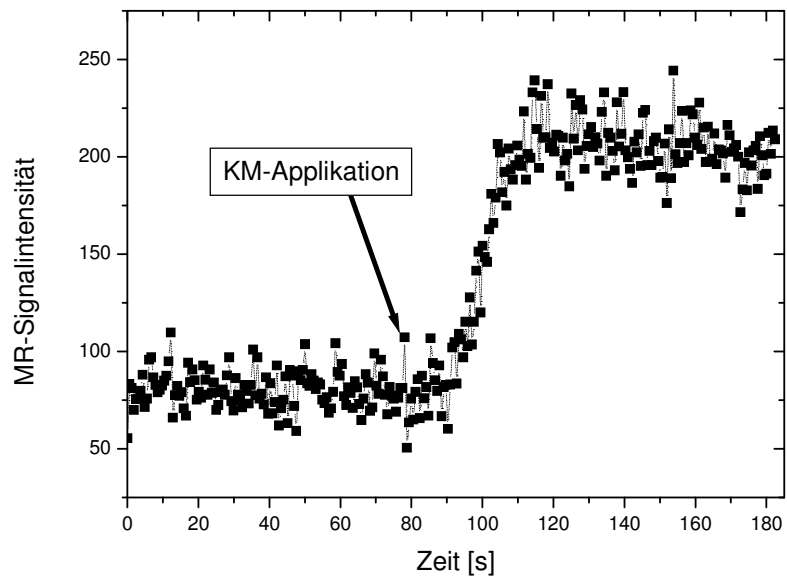
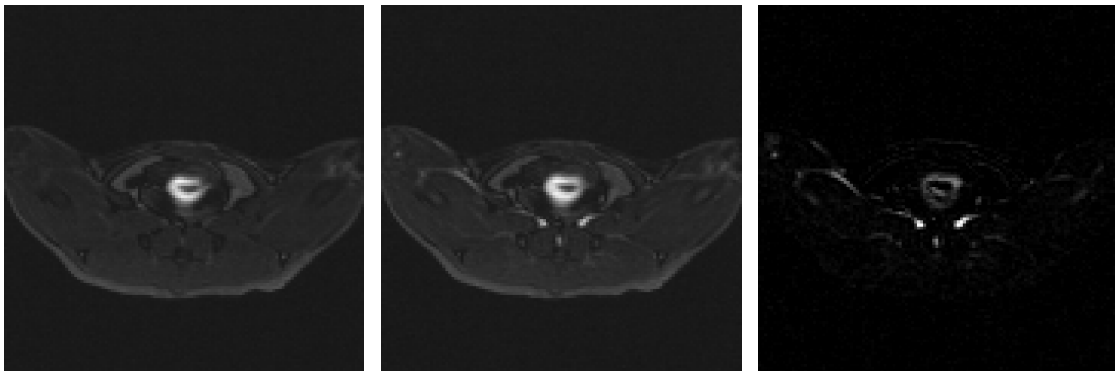


Abbildung 5.11: Zeitverlauf der Signalintensitäten in einem Ast der Arteria iliaca interna vor, während und nach Applikation des Blutpool-Kontrastmittels VSOP-C 184.



(a) gemittelttes Präkontrastbild (b) gemittelttes Postkontrastbild (c) Differenzbild

Abbildung 5.12: Darstellung eines aus 113 Bildern gemittelten Bildes einer Ratte in axialer Schichtführung vor Gabe des Kontrastmittels VSOP-C 184 (a), eines aus 93 Bildern gemittelten Bildes nach der Kontrastmittelgabe (b) und das aus durch Subtraktion von Post- und Praekontrastbild entstandene Differenzbild (c). Auf dem Differenzbild ist die Kontrastmittelanreicherung (signalstarke Bereiche) in den Gefäßen dargestellt.

## 5.4 Qualitative und morphometrische Auswertung der histologischen Präparate

### 5.4.1 Hämatoxylin und Eosin-Färbung

In den histologischen Präparaten ist die Prostata zu großen Teilen von Fettzellen umgeben (Abb. 5.13). Im Drüsengewebe der Prostatae lassen sich die Ausführungsgänge vom interstitiellen Kompartiment mit seinen Bindegewebsfasern und von den Blutgefäßen gut unterscheiden.

Die Tumoren sind in allen Präparaten vom Drüsengewebe der ventralen Prostatalappen umgeben und lassen sich gut von diesem abgrenzen (Abb. 5.14). In einigen Schnitten finden sich neben den Arealen der ventralen Prostatalappen noch Areale mit Anschnitten der dorso-lateralen Lappen (Abb. 5.15). Zwölf der 17 Tumore stellen sich als solide Tumore dar. Bei fünf Tumoren befinden sich noch mehrere Drüsenausführungsgänge innerhalb des Tumorgewebes. Alle Prostatakarzinome sind frei von Zysten oder zystenartigen Hohlräumen.

Die Prostatakarzinome können in vitales Tumorgewebe und Tumorkapsel eingeteilt werden. Die Tumorkapsel weist im Verhältnis zum Tumorgewebe einen hohen Anteil an Bindegewebsfasern und Blutgefäßen auf. Bei einigen Präparaten ziehen bindegewebige Stränge septenartig mitsamt Gefäßstrukturen in das vitale Tumorgewebe. Im Bereich der Tumorkapsel und am Übergang zum Drüsengewebe der Prostata sind mononukleäre Entzündungszellen anzutreffen, die teilweise wallartige Strukturen bilden (Abb. 5.16). Weiterhin werden Anhäufungen von Mastzellen im Bereich des Übergangs von Drüsen- zu Tumorgewebe beobachtet (Abb. 5.17). Die vitalen Tumorzellen besitzen euchromatinreiche Zellkerne und eosinophiles Plasma mit basophilen Einlagerungen. Die Kern-Plasma-Relation ist zugunsten des Zellkerns verschoben. Gelegentlich finden sich Zellen mit mitotischer Aktivität (Abb. 5.18) sowie Apoptosekörperchen mit eosinophilem Hof (Abb. 5.19). Eine Quantifizierung der verschiedenen Zellen erfolgte nicht.

Das Erkennen von vaskulären Strukturen in der HE-Färbung ist prinzipiell möglich, eine exakte Quantifizierung jedoch nicht, da besonders kleine Gefäße und deren Lumen nicht gut von den Zellen des umliegenden Gewebes zu differenzieren sind. Die Beurteilung und Quantifizierung der Vaskularisation erfolgte deshalb anhand der Schnitte mit glykohistochemischer Markierung, bei der die Gefäße deutlich zu identifizieren sind.



Abbildung 5.13: HE-gelbter axialer histologischer Schnitt der Prostata einer Ratte (Tier 11). Drüsengewebe der Prostata (1), G-Dunning Tumor (2) und das die Prostata umgebende Fettgewebe (3).

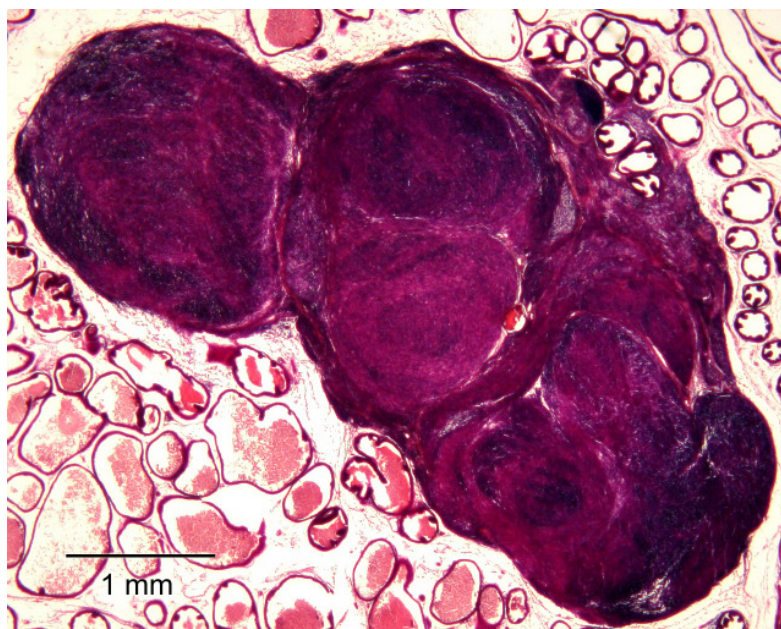


Abbildung 5.14: Das Prostatakarzinom einer Ratte (Tier 11) umgeben von Drüsengewebe der ventralen Prostatalappen in der HE-Färbung.





Abbildung 5.15: Drüsengewebe des ventralen Prostatalappens (1) und Gewebe eines Prostatakarzinoms mit Drüsenausführungsgängen innerhalb des Tumorgewebes (2) sowie Anschnitt eines dorso-lateralen Prostatalappens (3) in der HE-Färbung.

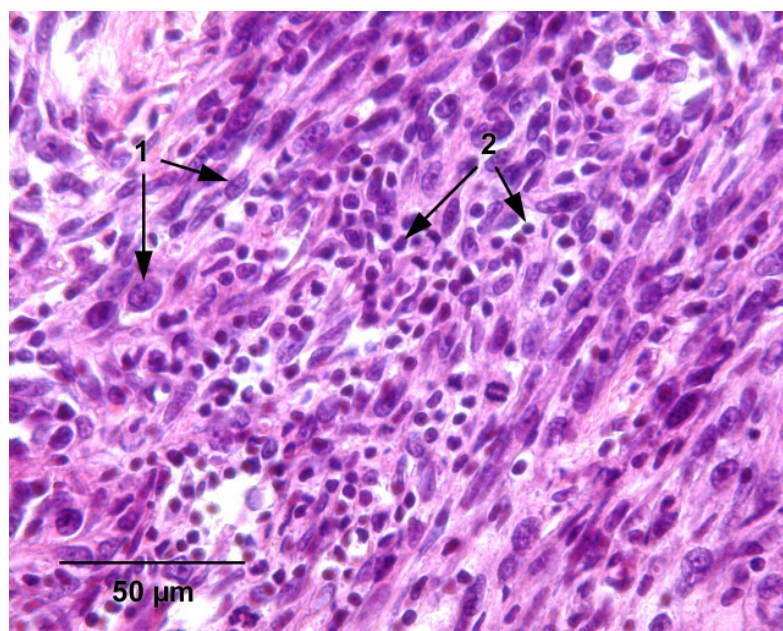


Abbildung 5.16: Vitales Tumorgewebe des G-Dunning Rattenprostatakarzinoms im Bereich der Tumorkapsel mit quer und längs angeschnittenen Tumorzellen (1) und einer wallartigen Ansammlung von mononukleären Entzündungszellen (2). HE-Färbung.

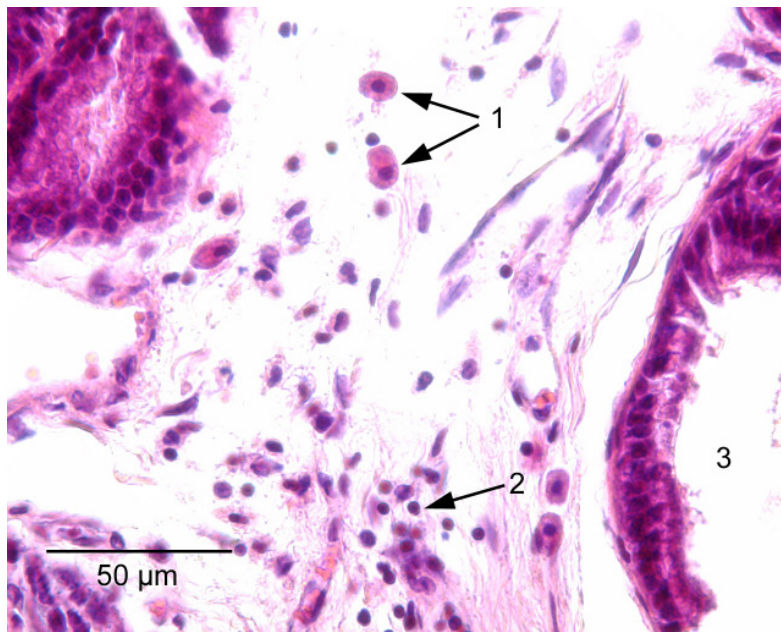


Abbildung 5.17: Vermehrtes Auftreten von Mastzellen (1) und mononukleären Entzündungszellen (2) im Bereich des Überganges von Drüsen- (3) zu Tumorgewebe. HE-Färbung.

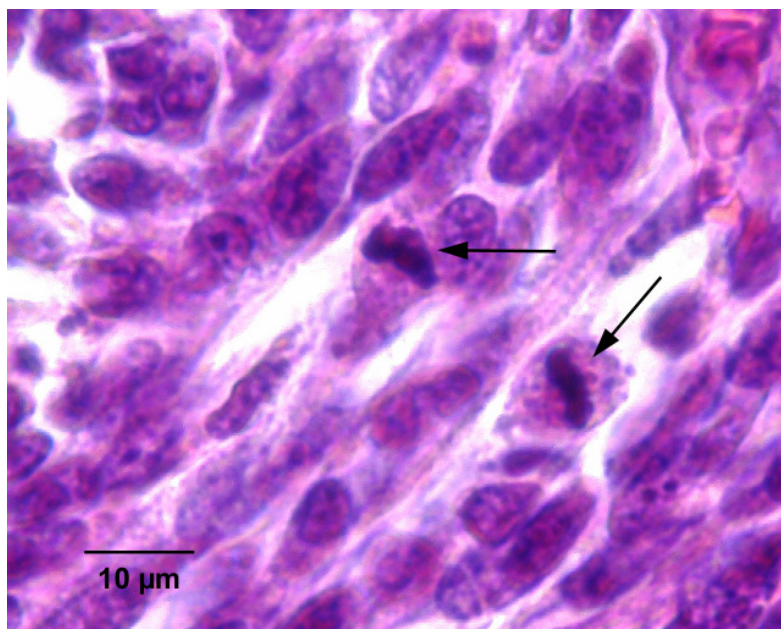


Abbildung 5.18: Tumorzellen eines G-Dunning Tumors mit Mitosefiguren (Pfeile). HE-Färbung.

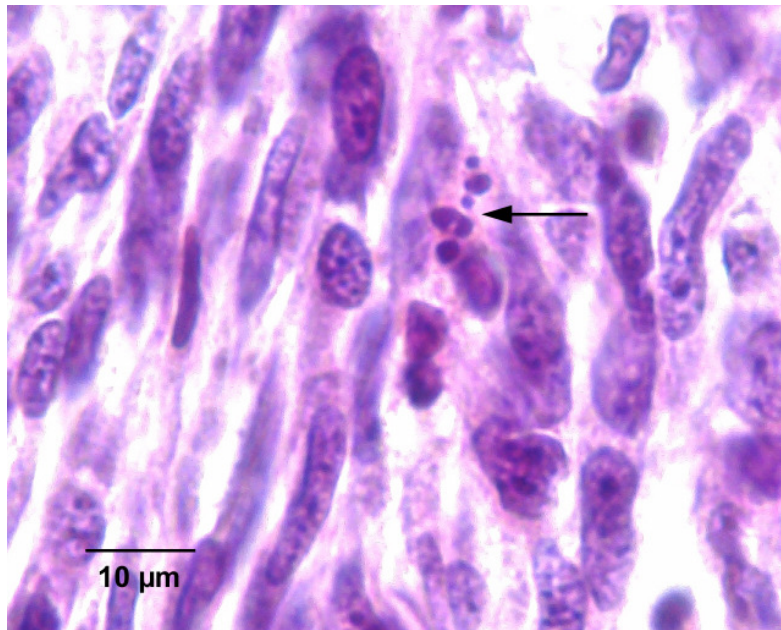


Abbildung 5.19: Tumorzellen eines G-Dunning Tumors mit Apoptosekörperchen mit eosinophilem Hof (Pfeil). HE-Färbung.

#### 5.4.1.1 Tumorfläche und Zellvolumen inklusive Drüsenausführungsgänge

Die nach der Formel  $\text{Breite} \times \text{Höhe}$  bestimmte axiale Tumorfläche liegt im Median bei  $8,53 \text{ mm}^2$ , wobei der kleinste Tumor eine Fläche von  $3,00 \text{ mm}^2$  und der größte Tumor eine Fläche von  $21,38 \text{ mm}^2$  aufweist.

Das in der Morphometrie ermittelte Zellvolumen inklusive der Drüsenausführungsgänge zeigt zwischen Tumor ( $88,61 \%$ ) und Prostatagewebe ( $87,64 \%$ ) keinen signifikanten Unterschied ( $p = 0,163$ ).

#### 5.4.2 Endothelmarkierung: Bandeiraea simplicifolia Lektin I

Weder in einem der Tumoren noch im Bereich der Drüsengewebe der 17 Prostatae liegen nekrotische Areale vor. Die Gefäßendothelien in Tumor und gesundem Prostatagewebe sind braun dargestellt (Abb. 5.20 – 5.22).



Abbildung 5.20: Das Prostatakarzinom einer Ratte (Tier 11) umgeben von Drüsengewebe der ventralen Prostatalappen in der BSL I- Markierung.

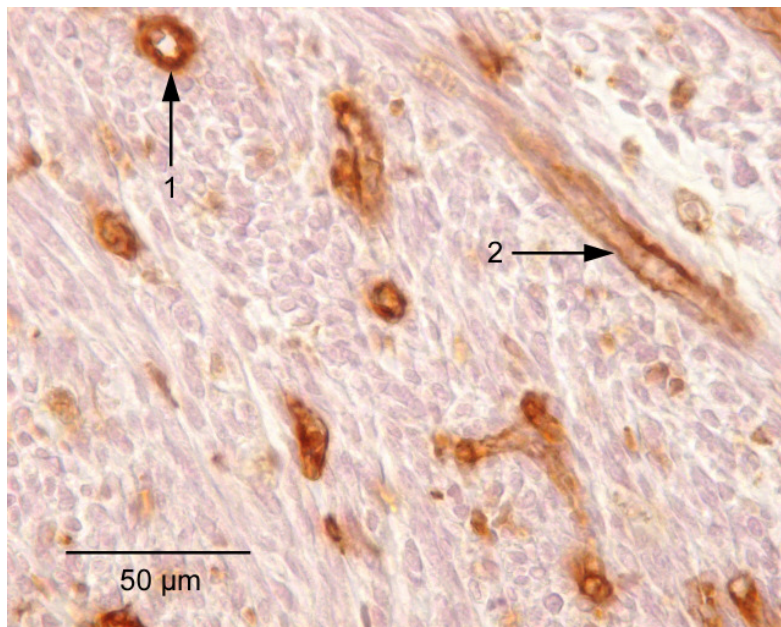


Abbildung 5.21: Quer (1) und längs (2) angeschnittene Kapillaren im Tumorgewebe. BSL I-Markierung.

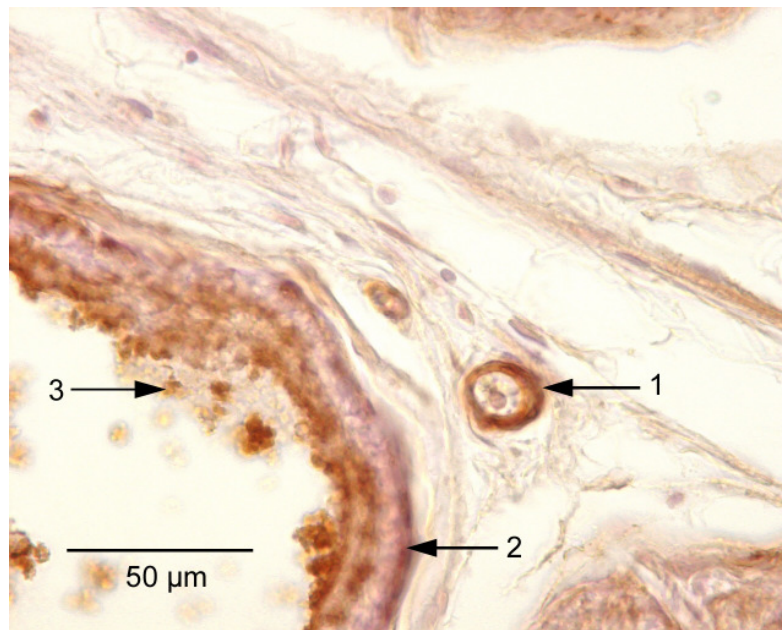


Abbildung 5.22: Interstitium mit braun angefärbtem Gefäßendothel (1) und Drüsenausführungsgang (2) mit Sekretgranula (3) im Prostatagewebe. BSL I-Markierung.

#### 5.4.2.1 Blutvolumen, MVD, mittlere Gefäßfläche, interkapillärer Gefäßabstand und Diffusionsstrecke

Die morphometrisch ermittelten Werte für das Blutvolumen liegen im Tumor im Median bei 1,03 % und in gesundem Prostatagewebe bei 0,69 %. Die Blutvolumina unterscheiden sich signifikant ( $p < 0,001$ ). Das Blutvolumen im Tumor liegt gegenüber dem Prostatagewebe um den Faktor 1,49 höher. Die ebenfalls morphometrisch gemessene mikrovaskuläre Dichte (MVD) entspricht der Anzahl der markierten Gefäße pro  $\text{mm}^2$ . Im Tumorgewebe ist die MVD mit 483 Gefäßen pro  $\text{mm}^2$  signifikant ( $p < 0,001$ ) erhöht, gegenüber der MVD des Prostatagewebes mit 34 Gefäßen pro  $\text{mm}^2$  (Abb. 5.23). Die MVD im Tumor ist gegenüber dem Prostatagewebe um den Faktor 14,21 erhöht.

Aufgrund der Schrumpfung der Prostatapräparate bei der histologischen Aufarbeitung der Proben von ca. 20 % sind im Folgenden immer zwei Werte angegeben. Der erste ist der direkt ermittelte Wert. In Klammern steht der Wert, der dem Originalwert vor der Fixierung (ermittelter Wert plus 25 %) gleicht. In den Grafiken sind die direkt ermittelten Werte dargestellt.

Die mittlere Fläche eines Gefäßes liegt im Tumor bei  $23,06 \mu\text{m}^2$  ( $28,83 \mu\text{m}^2$ ) und im gesunden Prostatagewebe bei  $193,98 \mu\text{m}^2$  ( $242,48 \mu\text{m}^2$ ) (Abb. 5.24). Die mittleren

Gefäßflächen unterscheiden sich signifikant ( $p < 0,001$ ). Sie liegen im gesunden Prostatagewebe um den Faktor 8,41 höher als im Tumorgewebe.

Der berechnete mittlere interkapilläre Gefäßabstand liegt im Tumorgewebe bei 45,49  $\mu\text{m}$  (56,86  $\mu\text{m}$ ) und im Prostatagewebe bei 170,99  $\mu\text{m}$  (213,74  $\mu\text{m}$ ) (Abb. 5.25). Daraus ergibt sich eine mittlere Diffusionsstrecke für ein extravasierendes Kontrastmittel, wie z. B. Gadodiamid, von 22,74  $\mu\text{m}$  (28,43  $\mu\text{m}$ ) im Tumorgewebe bzw. 85,50  $\mu\text{m}$  (106,87  $\mu\text{m}$ ) im Prostatagewebe.

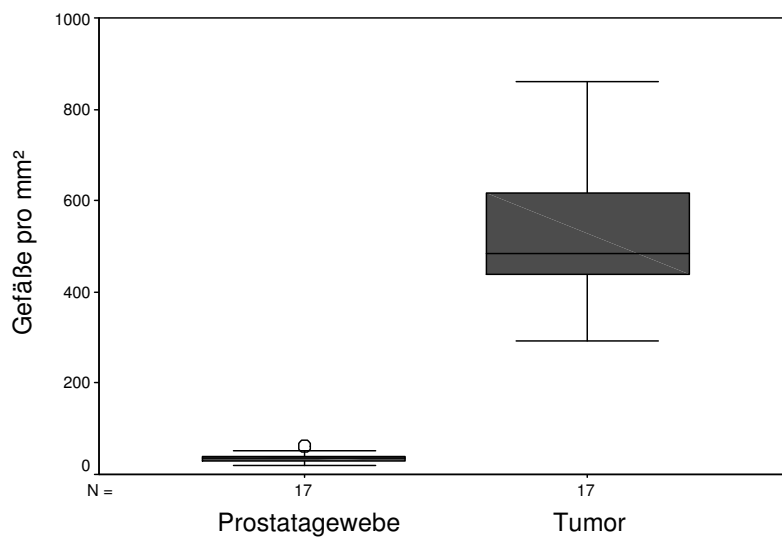


Abbildung 5.23: Morphometrisch bestimmte Anzahl von GefäÙen pro mm² (mikrovaskuläre Dichte, MVD) in Prostatagewebe und Tumor. Die MVDs unterscheiden sich signifikant ( $p < 0,001$ ).

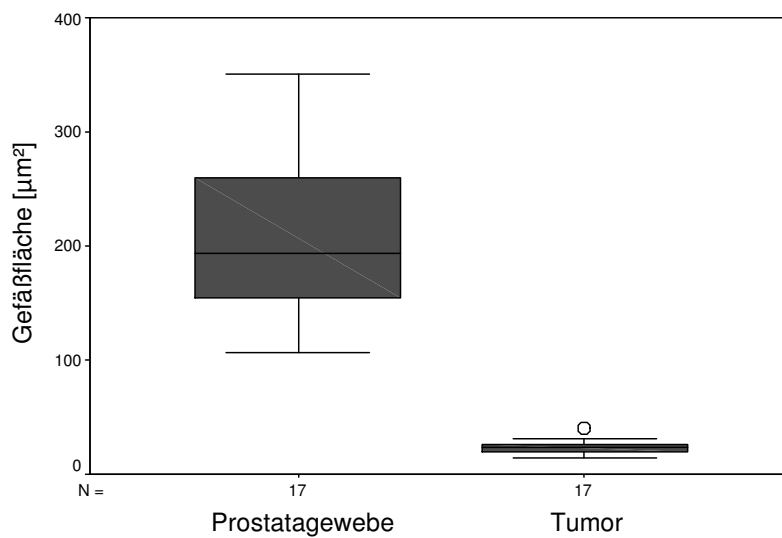


Abbildung 5.24: Morphometrisch bestimmte mittlere Gefäßflächen in  $\mu\text{m}^2$  in Prostatagewebe und Tumor. Die mittleren Gefäßflächen unterscheiden sich signifikant ( $p < 0,001$ ).

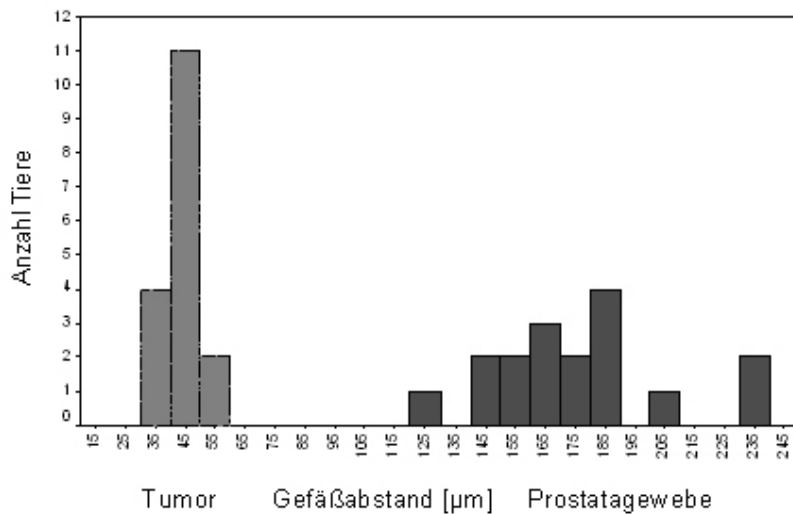


Abbildung 5.25: Verteilung der mittleren interkapillären Gefäßabstände in  $\mu\text{m}$  in Prostatagewebe (rote Balken) und Tumor (graue Balken). Jeder Balken umfasst einen Bereich von  $10 \mu\text{m}$  Gefäßabstand und stellt die Anzahl der Tiere in diesem Bereich dar.

#### **5.4.2.2 Interstitielles Volumen**

Die aus dem Zellvolumen inklusive der Drüsenausführungsgänge und dem Blutvolumen errechneten Werte für das interstitielle Volumen liegen im Tumor im Median bei 10,28 % und im Prostatagewebe bei 11,50 %. Ein signifikanter Unterschied liegt nicht vor ( $p = 0,102$ ).

#### **5.4.3 Modifizierte Bindegewebsfärbung nach van Gieson**

Die Bestimmung des Bindegewebsanteils im interstitiellen Raum des vitalen Tumorgewebes und des Drüsengewebes der Prostata wurde an den Präparaten mit der modifizierten Bindegewebsfärbung nach van Gieson ohne Kernfärbung durchgeführt.

Deutlich stellen sich bei dieser Färbung der starke Anteil an Bindegewebsfasern im Bereich der Tumorkapsel und die septenartig in das Tumorgewebe ziehenden Bindegewebsstränge dar (Abb. 5.26 – 5.28).



*Abbildung 5.26: Das Prostatakarzinom einer Ratte (Tier 11) umgeben von Drüsengewebe der ventralen Prostatalappen in der modifizierten Bindegewebsfärbung nach Van Gieson.*



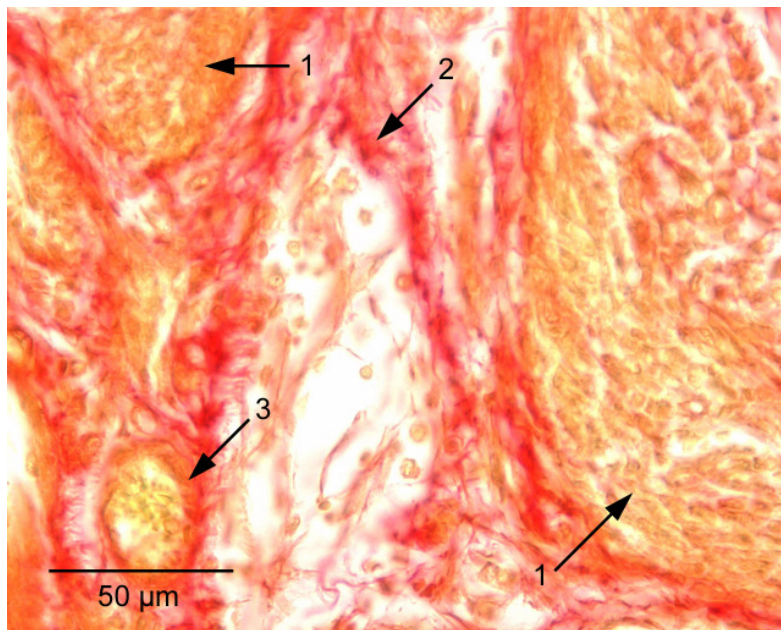


Abbildung 5.27: Vitales Tumorgewebe (1) mit septenartigen, leuchtend rot angefärbten Bindegewebsfasern (2) und Blutgefäß (3). Modifizierte Van Gieson-Färbung.

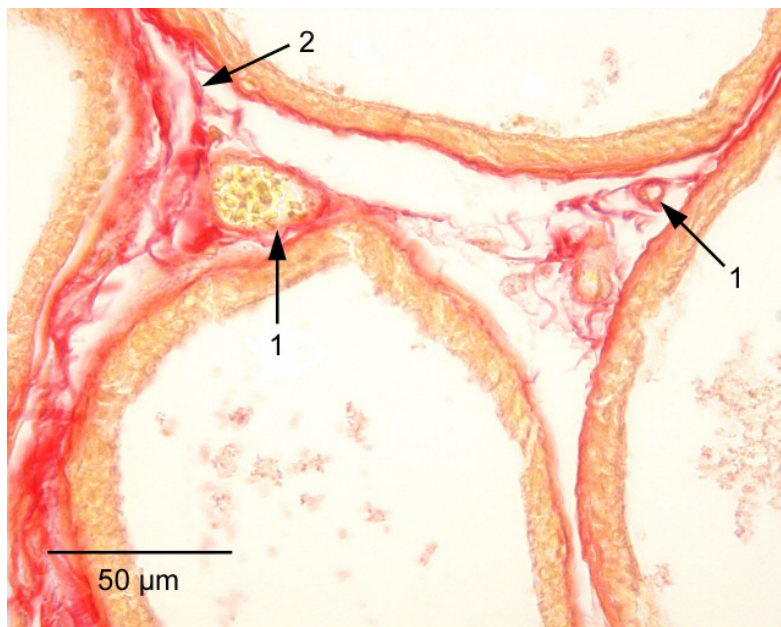


Abbildung 5.28: Gesundes Prostatagewebe mit Gefäßen (1) und rot angefärbten Bindegewebsfasern (2) im interstitiellen Raum zwischen Drüsenausführungsgängen. Modifizierte Van Gieson-Färbung.

#### 5.4.3.1 Interstitielles Volumen inklusive Bindegewebe

Die in der Morphometrie ermittelten Werte für den interstitiellen Bindegewebsanteil liegen im Tumor im Median bei 4,04 % und im Prostatagewebe bei 3,65 % (Abb. 5.29). In 10 Fällen lag der Wert für den Tumor über dem Wert des Prostatagewebes und in 7 Fällen war der Wert für das Drüsengewebe größer. Die interstitiellen Bindegewebsanteile im Tumor und im Prostatagewebe unterscheiden sich nicht signifikant ( $p = 0,210$ ). Im Tumor unterliegen die Werte jedoch größeren Schwankungen.

Nach Einbeziehen der interstitiellen Bindegewebsanteile zum interstitiellen Volumen ergeben sich interstitielle Volumina im Median von 16,64 % im Tumor und 15,43 % im Prostatagewebe (Abb. 5.30). Ein signifikanter Unterschied zwischen Tumor und Prostatagewebe liegt nicht vor ( $p = 0,523$ ).

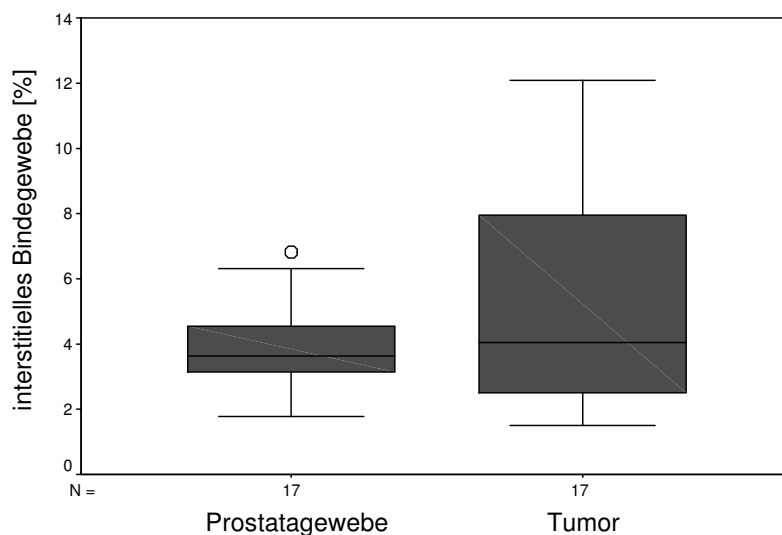


Abbildung 5.29: Morphometrisch bestimmter Anteil des interstitiellen Bindegewebes am Gesamtvolumen in Prostatagewebe und Tumor.

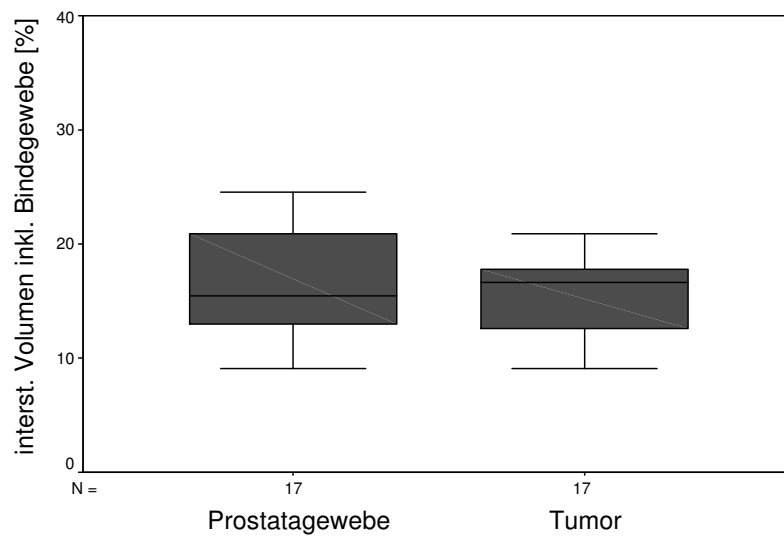


Abbildung 5.30: Anhand der histologischen Präparate ermitteltes interstitielles Volumen inklusive der Bindegewebsfasern des Interstitiums.

## 5.5 Vergleich von MRT und histologischen Befunden

Alle 17 Tumoren finden sich histologisch in den Prostatalappen, in denen sie auch in den MRT-Untersuchungen lokalisiert sind (Abb. 5.31).

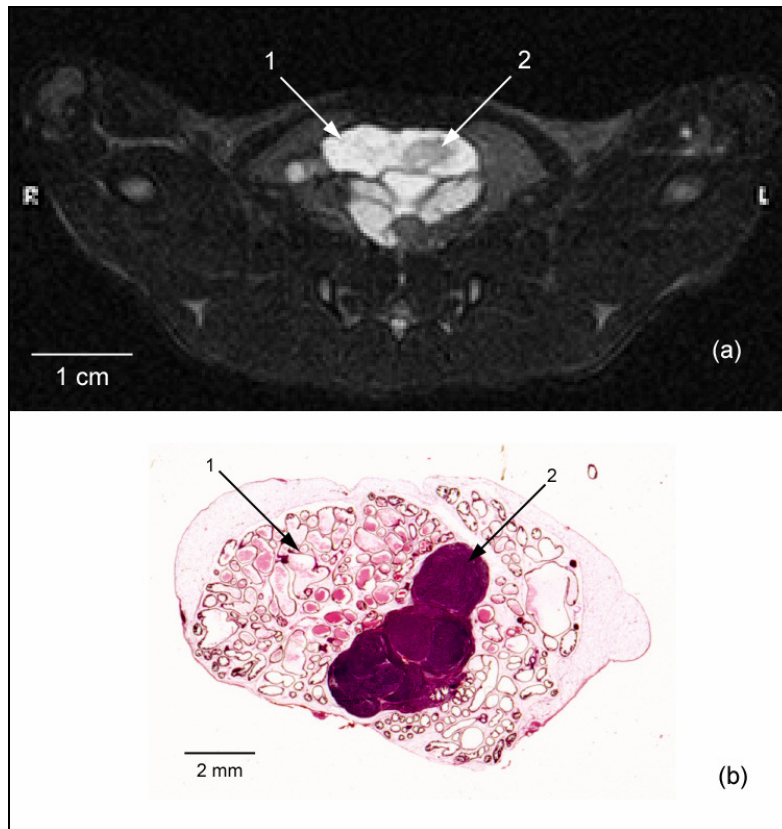


Abbildung 5.31: Mit  $T_2$ -gewichteter TSE-Sequenz aufgenommenes MRT-Bild in axialer Schichtführung durch das Becken einer Ratte (Tier 11) (a) und dem der Schichtführung entsprechendem histologischen Schnitt in der HE-Färbung (b). Es zeigt sich die in MRT und histologischem Präparat übereinstimmende Lage des innerhalb des ventralen Prostatalappens (1) gelegenen Tumors (2).

### 5.5.1 Tumorfläche

Die Größe der in den axialen histologischen Schnitten gemessenen Tumorflächen ( $8,53 \text{ mm}^2$ ) liegt bei 78 % der Größe der in den axialen  $T_2$ -gewichteten MRT-Bildern ( $10,93 \text{ mm}^2$ ) (Abb. 5.32). Die Korrelationsanalyse der Größen der Tumorflächen in den histologischen Präparaten und der MRT ergibt eine hohe Korrelation ( $r = 0,75$ ;  $p < 0,001$ ) (Abb. 5.33).

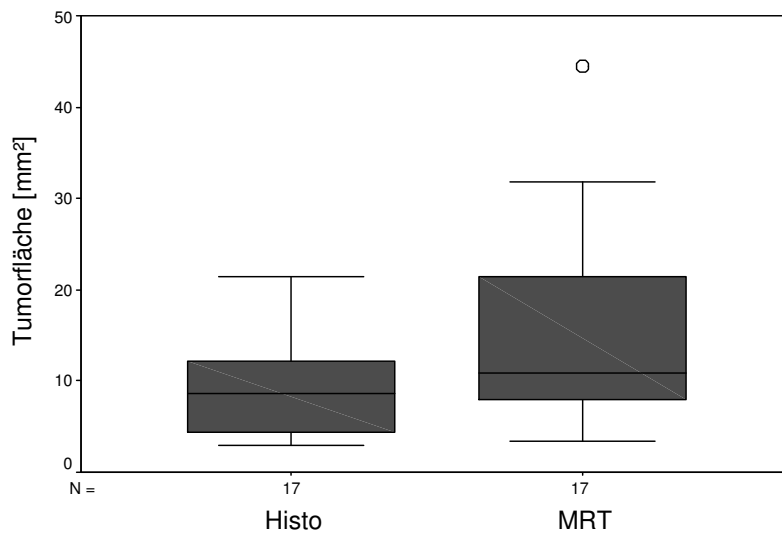


Abbildung 5.32: Die in der MRT und der entsprechenden Schicht der histologischen Präparate gemessenen axialen Tumorflächen im Bereich des größten Tumordurchmessers. Die Tumorflächen der histologischen Präparate liegen bei 78 % der in der MRT gemessenen Tumorflächen.

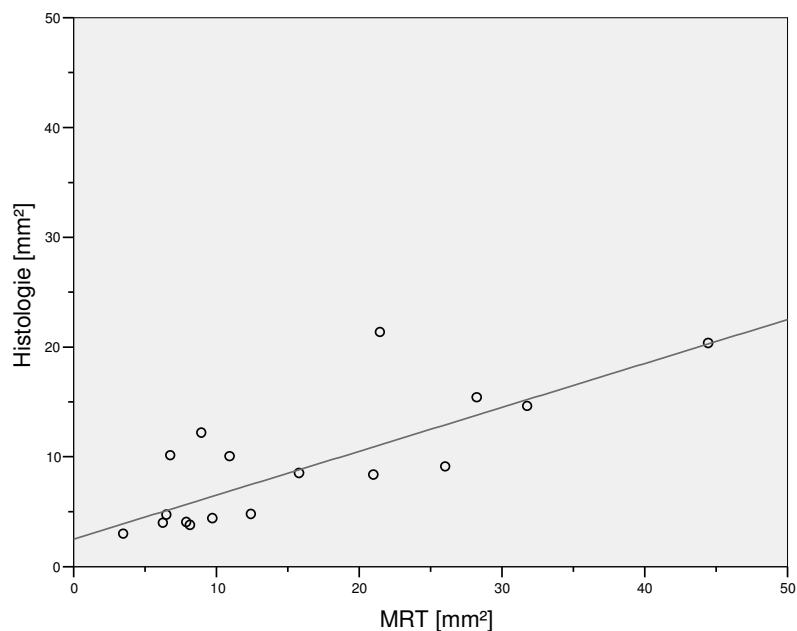


Abbildung 5.33: Korrelationsanalyse der in der MRT und anhand der histologischen Präparate bestimmten axialen Tumorflächen. Zwischen den Werten der MRT und der histologischen Präparate gibt es eine hohe Korrelation ( $r = 0,75$ ;  $p < 0,001$ ).

### 5.5.2 Blutvolumen

Die im gesunden Prostatagewebe gemessenen Blutvolumina sind mit 0,69 % in der MRT und 0,69 % in histologischen Präparaten gleich groß. Die im Tumor bestimmten Werte liegen in den histologischen Präparaten (1,03 %) bei 60 % der in der MRT (1,71 %) gemessenen (Abb. 5.34).

Eine Korrelationsanalyse der mittels MRT und Morphometrie bestimmten Blutvolumina ergibt sowohl für das gesunde Prostatagewebe ( $r = 0,15$ ;  $p = 0,556$ ), als auch für das Tumorgewebe ( $r = 0,30$ ;  $p = 0,235$ ) keine Korrelation (Abb. 5.35, 5.36). Das Verhältnis der Blutvolumina von Tumor zu gesundem Prostatagewebe liegt in der MRT bei 2,48 gegenüber 1,50 in der Morphometrie.

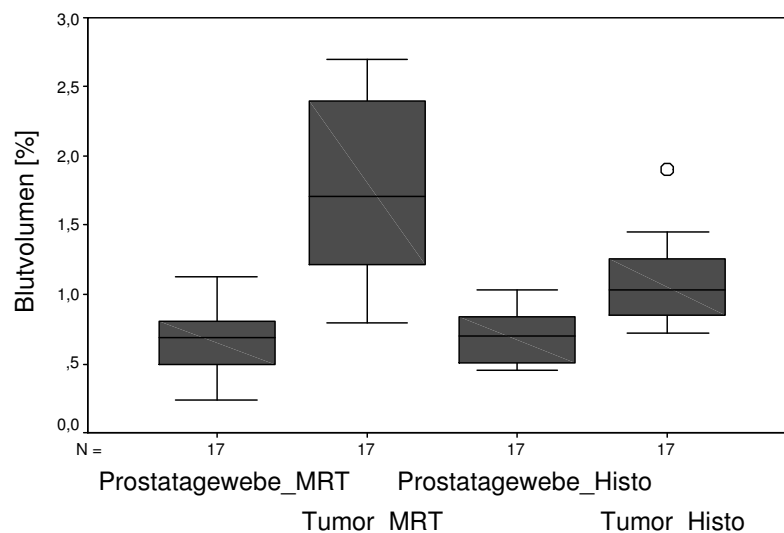


Abbildung 5.34: In der MRT und anhand der histologischen Präparate gemessene Blutvolumina in gesundem Prostatagewebe und im Tumor.

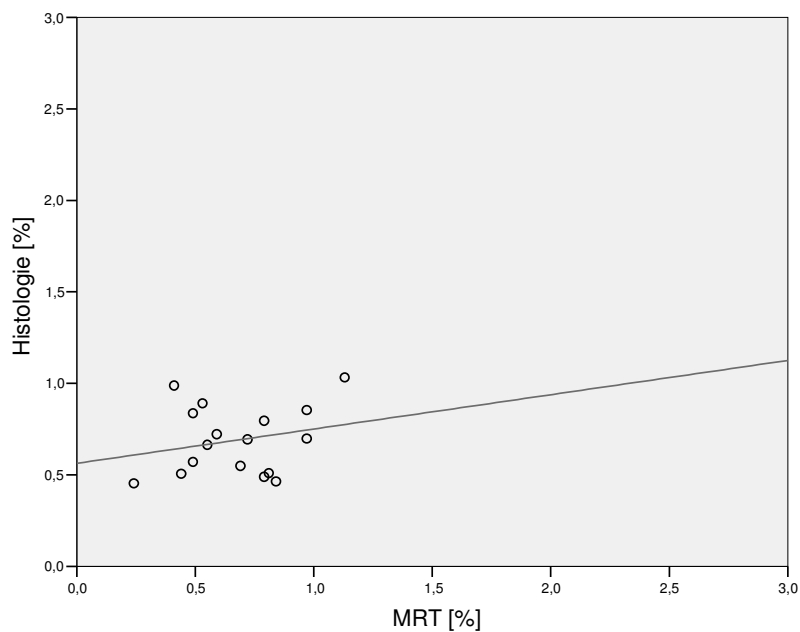


Abbildung 5.35: Korrelationsanalyse der in der MRT und anhand der histologischen Präparate gemessenen Blutvolumina in gesundem Prostatagewebe. Zwischen den Werten der MRT und der histologischen Präparate gibt es keine Korrelation ( $r = 0,15$ ;  $p = 0,556$ ).

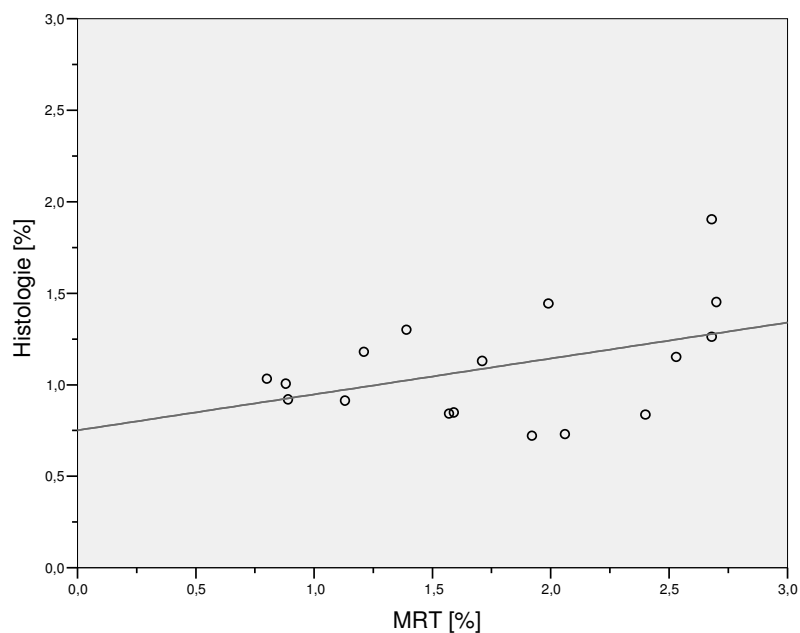


Abbildung 5.36: Korrelationsanalyse der in der MRT und anhand der histologischen Präparate gemessenen Blutvolumina im Tumor. Zwischen den Werten der MRT und der histologischen Präparate gibt es keine Korrelation ( $r = 0,30$ ;  $p = 0,235$ ).

### **5.5.3 Interstitielles Volumen und interstitielles Volumen inklusive Bindegewebe**

Die im gesunden Prostatagewebe gemessenen interstitiellen Volumina liegen in den histologischen Präparaten bei 281 % der in der MRT ermittelten Werte. Die Korrelationsanalyse der in der MRT und anhand der histologischen Präparate bestimmten Werte ergibt eine hohe Korrelation ( $r = 0,76$ ;  $p < 0,001$ ) (Abb. 5.37, 5.38).

Die im Tumor gemessenen interstitiellen Volumina liegen in den histologischen Präparaten bei 52 % der in der MRT ermittelten Werte. Nach linearer Korrelationsanalyse der in MRT und mittels der morphometrischen Messungen bestimmten interstitiellen Volumina gibt es keine Korrelation ( $r = 0,07$ ;  $p = 0,794$ ) (Abb. 5.37, 5.39).

Der Vergleich der in Tumor und gesundem Prostatagewebe bestimmten interstitiellen Volumina zeigt, dass die in der MRT ermittelten Werte stärker differieren (4,08 % im Prostatagewebe gegenüber 19,66 % im Tumor), als die der histologischen Präparate (10,28 % im Prostatagewebe und 11,50 % im Tumor).

Die Einbeziehung der interstitiellen Bindegewebsfasern ergibt, dass im gesunden Prostatagewebe das in den morphometrischen Messungen bestimmte interstitielle Volumen inklusive der interstitiellen Bindegewebsfasern bei 378 % des in der MRT bestimmten interstitiellen Volumens liegt. Im Tumor liegt das interstitielle Volumen inklusive der interstitiellen Bindegewebsfasern der histologischen Präparate bei 85 % des in der MRT bestimmten interstitiellen Volumens.

Die Korrelationsanalyse der in der MRT und der anhand der histologischen Präparate bestimmten interstitiellen Volumina inklusive der interstitiellen Bindegewebsfasern ergibt für das Prostatagewebe eine hohe ( $r = 0,85$ ;  $p < 0,001$ ) und für das Tumorgewebe keine Korrelation ( $r = -0,015$ ;  $p = 0,580$ ).



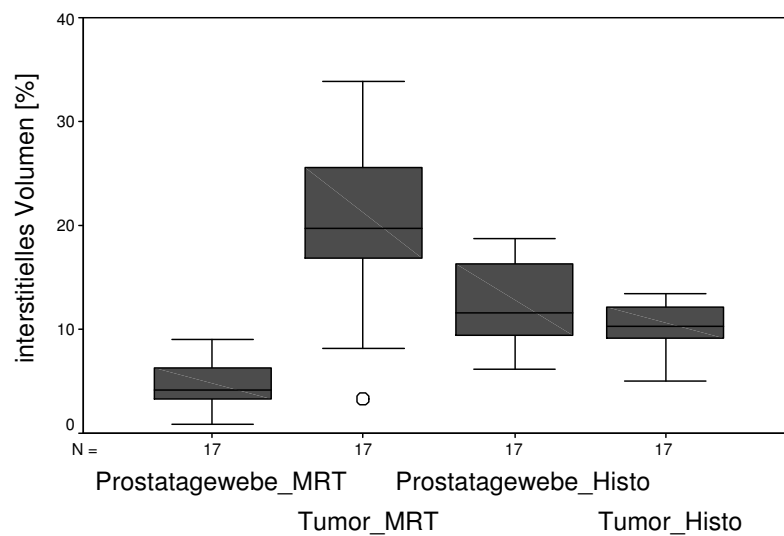


Abbildung 5.37: In der MRT und anhand der histologischen Präparate bestimmte interstitielle Volumina in gesundem Prostatagewebe und im Tumor.

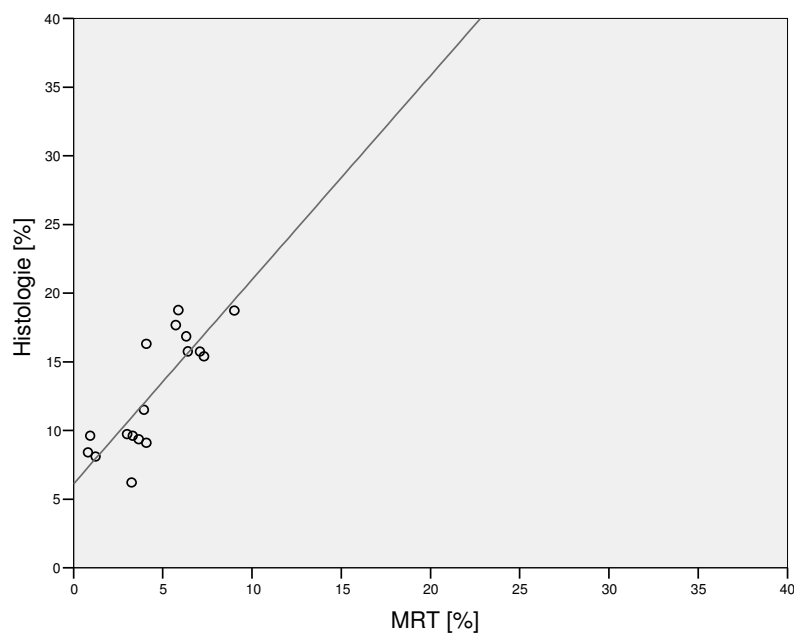


Abbildung 5.38: Korrelationsanalyse der in der MRT und anhand der histologischen Präparate gemessenen interstitiellen Volumina im Prostatagewebe. Zwischen den Werten der MRT und der histologischen Präparate gibt es eine hohe Korrelation ( $r = 0,76$ ;  $p < 0,001$ ), wobei die Werte der histologischen Präparate bei 281 % der in der MRT

gemessenen Werte liegen.

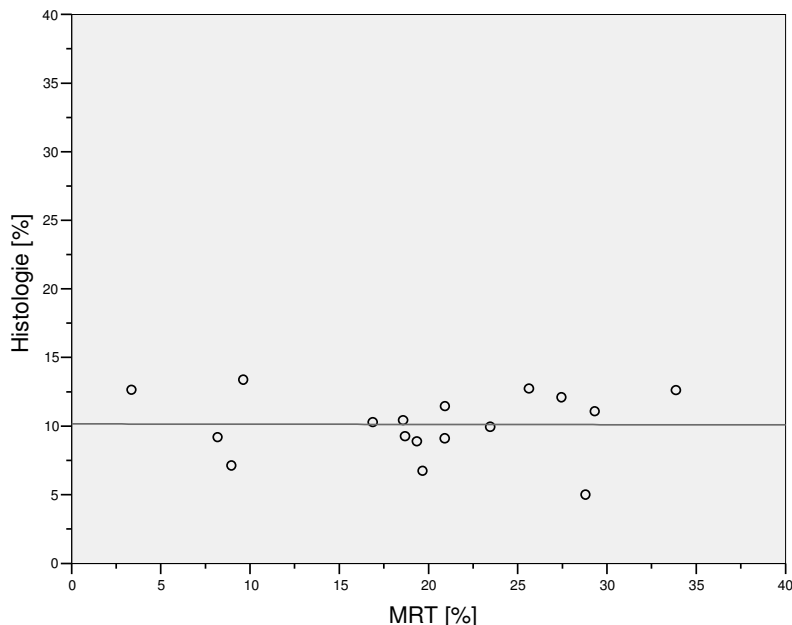


Abbildung 5.39: Korrelationsanalyse der in der MRT und anhand der histologischen Präparate gemessenen interstitiellen Volumina im Tumor. Zwischen den Werten der MRT und der histologischen Präparate gibt es keine Korrelation ( $r = 0,07$ ;  $p = 0,794$ ).

### 5.5.4 Zellvolumen inklusive Drüsenausführungsgänge

Das im gesunden Prostatagewebe gemessene Zellvolumen inklusive der Drüsenausführungsgänge liegt in den histologischen Präparaten bei 92 % der in der MRT ermittelten Werte (Abb. 5.40). Die Korrelationsanalyse der in MRT und anhand der histologischen Präparate bestimmten Zellvolumina inklusive der Drüsenausführungsgänge ergibt eine hohe Korrelation ( $r = 0,75$ ;  $p < 0,001$ ) (Abb. 5.41).

Die im Tumor gemessenen Zellvolumina inklusive der Drüsenausführungsgänge liegen in den histologischen Präparaten bei 112 % der in der MRT gemessenen Werte (Abb. 5.40). Nach linearer Korrelationsanalyse der in MRT und anhand der histologischen Präparate bestimmten Zellvolumina gibt es keine Korrelation ( $r = 0,12$ ;  $p = 0,649$ ) (Abb. 5.42).

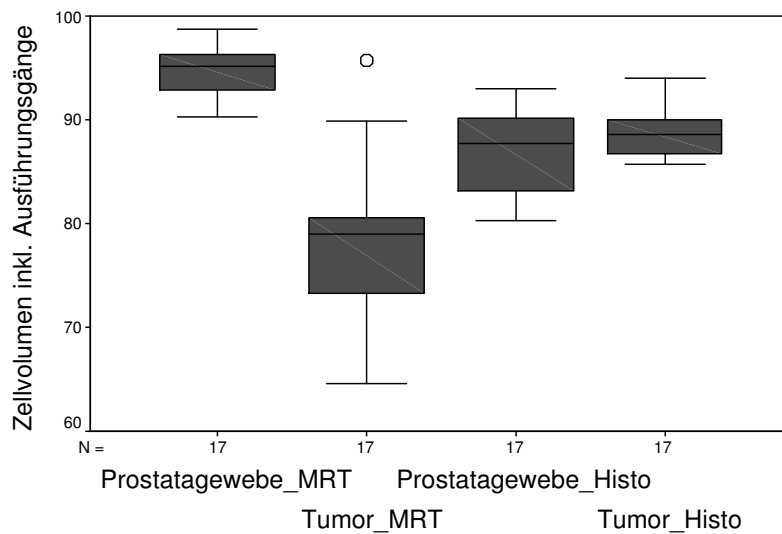


Abbildung 5.40: In der MRT und anhand der histologischen Präparate bestimmte Zellvolumina inklusive der Drüsenausführungsgänge in Tumor und gesundem Prostatagewebe.

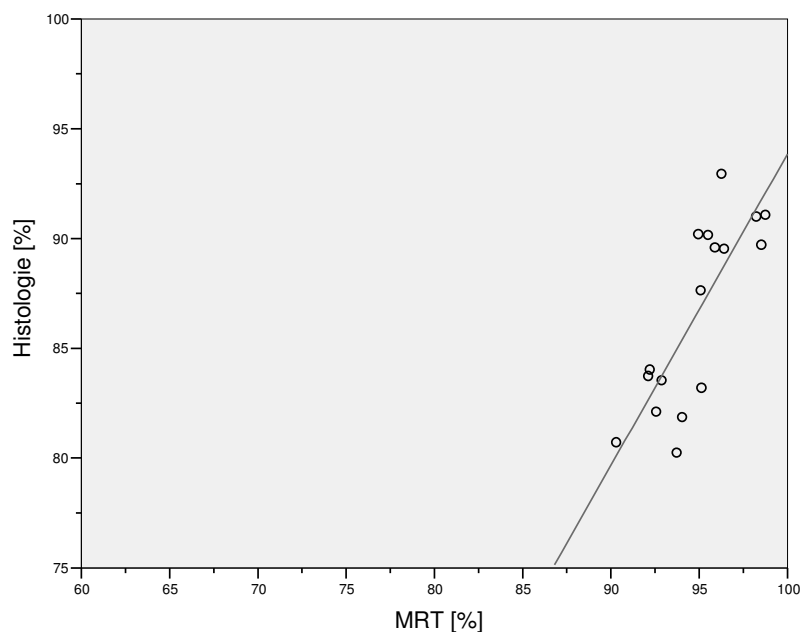


Abbildung 5.41: Korrelationsanalyse der in der MRT und anhand der histologischen Präparate gemessenen Zellvolumina im gesunden Prostatagewebe. Zwischen den Werten der MRT und der histologischen Präparate gibt es eine hohe Korrelation ( $r = 0,75$ ;  $p < 0,001$ ).

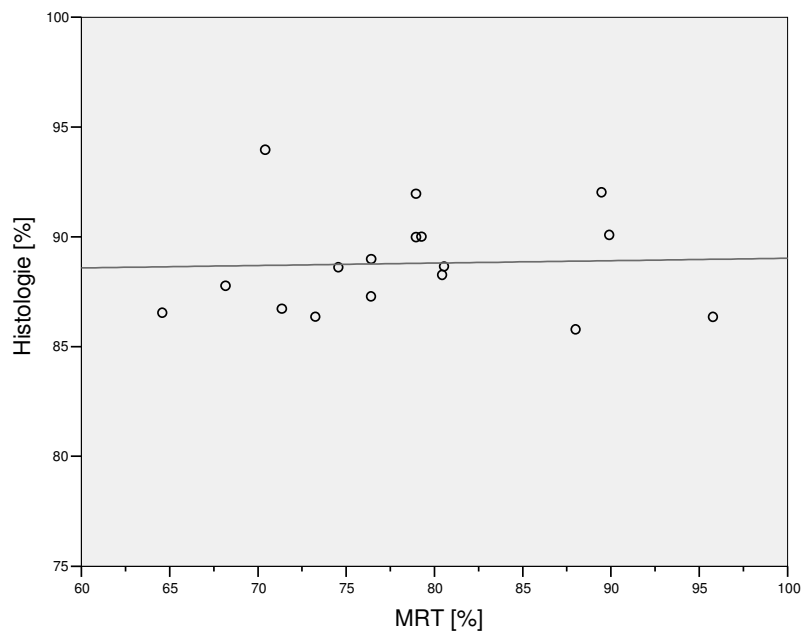


Abbildung 5.42: Korrelationsanalyse der in der MRT und anhand der histologischen Präparate gemessenen Zellvolumina im Tumor. Zwischen den Werten der MRT und der histologischen Präparate gibt es keine Korrelation ( $r = 0,12$ ;  $p = 0,649$ ).

## 6 DISKUSSION

Nach Angaben des Robert Koch-Instituts wurden im Jahr 2002 in Deutschland 48.642 Prostatakarzinome diagnostiziert. Somit ist die Prostata die häufigste Lokalisation bösartiger Neubildungen beim Mann (Robert Koch-Institut 2006). Für Männer bis zum 85. Lebensjahr liegt das kumulative Risiko, dass ein Prostatakarzinom diagnostiziert wird, bei 24 %. Als wertvolle Hilfsmittel, ein Prostatakarzinom frühzeitig zu erfassen, dienen die digitale rektale Untersuchung (DRU), der transrektale Ultraschall (TRUS) und die Bestimmung des prostataspezifischen Antigen (PSA)-Wertes im Serum. Die Detektion sowie die Festlegung des Differenzierungsgrades eines Prostatakarzinoms sind jedoch nur anhand einer histologischen Untersuchung von Prostatagewebe möglich (Perrotti et al. 1999, Durkan und Greene 2000, Cam et al. 2002). So wird bei suspekten Befunden in der DRU oder einem erhöhten PSA-Wert im Screening zur Sicherung eines Prostatakarzinoms und zur Therapieplanung eine systematische TRUS-gesteuerte Stanzbiopsie durchgeführt (Luboldt und Rübben 2004). Bei einer größeren Anzahl der Patienten mit erhöhtem PSA-Wert lässt sich in der Biopsie jedoch kein Malignom nachweisen (Ellis und Brawer 1995). So liegt die Rate von initial negativen Biopsien bei PSA-Werten dicht oberhalb des Grenzwertes bei 66 bis 71% (Keetch et al. 1994, Ellis und Brawer 1995, Roehl et al. 2002). Die Folgen sind einerseits unnötig durchgeführte Biopsien bei gesunden Männern und andererseits eine verspätete Detektion des Prostatakarzinoms und somit ein verzögerter Therapiebeginn mit Verschlechterung der Prognose sowie der Lebensqualität der Patienten.

Die MRT stellt derzeit die viel versprechenste bildgebende Technik für die Detektion und das Staging des Prostatakarzinoms dar, obwohl sie gegenwärtig noch Einschränkungen bezüglich der Sensitivität und Spezifität aufweist (el-Gabry et al. 2001). In der nativen T<sub>2</sub>-gewichteten Bildgebung lässt sich die Prostata mit ihrem zonalen anatomischen Aufbau gut darstellen. Dennoch ist die Detektion und Lokalisation eines Prostatakarzinoms innerhalb der Prostata stark limitiert, da eine zuverlässige Differenzierung des Prostatakarzinoms von einer Prostatitis, Fibrosen, Einblutungen nach einer Biopsie sowie von dystrophischen Veränderungen nach einer Radiatio (Strahlentherapie) oder einer Hormontherapie nicht möglich ist (Quint et al. 1991, Lovett et al. 1992, Schiebler et al. 1993).

Nachdem zunächst Folkmann et al. (1989) die direkte Beziehung zwischen der Angiogenese und einer Neoplasie bei transgenen Mäusen nachweisen konnten, wurde durch weitere Untersuchungen gezeigt, dass mit zunehmender Malignität eine Erhöhung von Vaskularisation und Gefäßpermeabilität bei Tumoren auftritt (Gerlowski und Jain 1986, Daldrup et al. 1998, Su et al. 1998). Dieser Zusammenhang fand sich auch beim humanen Prostatakarzinom (Weidner et al. 1993, Siegal et al. 1995, Vartanian und Weidner 1995).

Weiterhin wurde in diversen Studien berichtet, dass eine hohe Gefäßdichte im Prostatakarzinom mit einer schlechten Prognose einhergeht (Silberman et al. 1997, Bettencourt et al. 1998, Borre et al. 1998, Offersen et al. 1998). Somit ist die Untersuchung der Vaskularisation von Prostata und Prostatakarzinom von diagnostisch und prognostisch hoher Relevanz. Um die Prognosekriterien der Vaskularisation und der Perfusion für die Detektion und die Diagnostik des Prostatakarzinoms zu nutzen, ist eine Darstellung der Mikrogefäßdichte und funktioneller Parameter wie Blutfluss, Blutvolumen und Extravasation mittels bildgebender Verfahren wünschenswert. Eine Voraussetzung zur Darstellung dieser Parameter sind der Einsatz extrazellulärer Tracer, wie z. B. Gd-DTPA, die mit Bildgebungsverfahren dargestellt werden können (Barentsz et al. 1999). So erhofft man sich in der Prostatadiagnostik einen Fortschritt durch den Einsatz von MRT-Kontrastmitteln und speziellen dynamischen MR-Techniken.

Die dynamische kontrastmittelgestützte MRT ist ein viel versprechendes Hilfsmittel für die klinische Detektion und die Diagnose von Tumoren. Durch die Analyse mittels dynamischer MRT gewonnener Daten über physiologische Parameter verschiedener Gewebe, könnte die Bestimmung des Tumorgrades und der Nachweis des Ansprechens einer Therapie erreicht werden (den Boer et al. 1997, Kuhl et al. 1999, Padhani et al. 2000, Martincich et al. 2004). Da die zu gewinnenden Parameter von dem jeweils eingesetzten Kontrastmittel abhängig sind (Brix et al. 2004, Preda et al. 2004, Turetschek et al. 2004, Pathak et al. 2005, Preda et al. 2005), kommen in der Tumordiagnostik verschiedene Kontrastmittel mit unterschiedlichen Molekulargewichten und Molekülgrößen zum Einsatz. Das am häufigsten eingesetzte Kontrastmittel, das niedermolekulare Gd-DTPA, extravasiert nach intravenöser Injektion bereits nach wenigen Sekunden (Verstraete et al. 1995, van den Biesen et al. 1997). Dies bedingt den Einsatz von MRT-Sequenzen mit einer hohen zeitlichen Auflösung (Henderson et al. 1998), wodurch es aber oftmals nicht möglich ist, einen Tumor mit einer ausreichend hohen räumlichen Auflösung vollständig zu erfassen (Rouviere et al. 2003, Kuhl et al. 2005). In verschiedenen Studien wurde berichtet, dass die dynamische kontrastmittelgestützte MRT-Bildgebung für die Detektion und das Staging des Prostatakarzinoms nützlich ist (Brown et al. 1995, Jager et al. 1997, Engelbrecht et al. 2003, Buckley et al. 2004). Es zeigte sich jedoch auch, dass es bei den Ergebnissen zu Überlappungen von Prostatakarzinom und gesundem Prostatagewebe oder einer nur mäßigen Korrelation mit den histologischen Befunden kommt (Engelbrecht et al. 2003).

Die Anwendung von Tiermodellen mit orthotopem Prostatakarzinom stellt einen wichtigen Ansatz dar, um klinisch relevante Daten über Diagnostik und Therapie des Prostatakarzinoms zu erhalten. Als Versuchsmodell für die MRT-Bildgebung haben sich Prostatakarzinommodelle der Ratte als geeignet erwiesen, da sich der histologische Aufbau

der Prostata der Ratte und der des Menschen vergleichbar darstellt. Es handelt sich jeweils um eine tubuloalveoläre Drüse mit in das Stroma eingelagerten Muskelzellen.

In der vorliegenden Arbeit wurde die kontrastmittelgestützte MRT auf ihre Eignung zur Differenzierung von orthotopem Prostatakarzinom und gesundem Prostatagewebe am Rattenmodell untersucht. Eingesetzt wurden ein extravasierendes niedermolekulares Gd-haltiges sowie ein streng intravasal verbleibendes eisenoxidpartikelhaltiges Kontrastmittel zur Bestimmung verschiedener Perfusions- und Vaskularisationsparameter. Die Untersuchungen erfolgten an Ratten mit orthotop implantierten Zellen des G-Dunning Rattenprostatakarzinoms. Die Tumoren wurden unmittelbar nach den MRT-Messungen entnommen und zur Evaluierung verschiedener vaskulärer Parameter sowie einer pathomorphologischen Beurteilung histologisch aufgearbeitet. Anschließend erfolgte eine Korrelation der in der MRT und der in den histologischen Untersuchungen gewonnenen Daten.

Die vorliegende Arbeit ist die erste Studie, in der die Vaskularisationsparameter interstitielles Volumen, Permeabilitäts-Oberflächenprodukt, normalisierte Permeabilität und Blutvolumen von Prostatakarzinom und gesundem Prostatagewebe mittels der MRT bestimmt und zudem mit Vaskularisationsparametern der Histologie korreliert werden.

## 6.1 Tumormodell

Das Modell des Dunning Rattenprostatakarzinoms ist ein gut untersuchtes Tiermodell. Durch in vivo Passage der originären R3327 Tumorzellen wurden diverse Sublinien gewonnen, welche ein breites Spektrum von Tumorcharakteristika aufweisen (Isaacs und Hukku 1988). Die verschiedenen Sublinien variieren bezüglich ihrer Wachstumsrate, Differenzierung, Hormonsensitivität und ihrem Metastasierungsverhalten (Lubaroff et al. 1980).

In den letzten Jahren beschäftigten sich mehrere Arbeitsgruppen mit der Erforschung des Prostatakarzinoms am Rattenmodell mittels kontrastmittelgestützter dynamischer MRT. Dabei kamen sowohl subkutan (Gossmann et al. 1999, Fan et al. 2004, Fan et al. 2006) als auch orthotop (Kiessling et al. 2003b) implantierte Sublinien des Dunning Rattenprostatakarzinoms R3327 zum Einsatz. In einer aktuellen Studie von Fan et al. (2006) gelang die Differenzierung von metastasierenden und nicht metastasierenden subkutan implantierten Prostatakarzinomen mittels dynamischer kontrastmittelgestützter MRT mit einer geringen zeitlichen Auflösung. Eingesetzt wurden die beiden schnell wachsenden Sublinien AT 3.1 (metastasierend) und AT 2.1 (nicht metastasierend) des Dunning Tumors. Eine Differenzierung der beiden Tumortypen gelang anhand eines stärkeren durchschnittlichen

Kontrastmittelanstieges sowie anhand einer niedrigeren wash-out-Rate in den metastasierenden gegenüber den nicht metastasierenden Tumoren. Von Gossmann et al. (1999) wurden ein äußerst schnell wachsender Mat-Lylu- und ein langsam wachsender PAP-Dunning Tumor als Tumormodell für die native und die dynamische MRT-Bildgebung eingesetzt. Es zeigte sich, dass die beiden Tumoren sowohl mit einem makromolekularen als auch mit einem niedermolekularen Kontrastmittel anhand eines endothelialen Transferkoeffizienten differenziert werden können. Als Schlussfolgerung aus dieser Studie postuliert Gossmann jedoch auch, dass die Ergebnisse von subkutan implantierten Prostatakarzinomen eventuell nicht auf humane Neoplasien zutreffen. Kiessling et al. (2003b) verwandten in einer Studie zur hämodynamischen und metabolischen Charakterisierung orthotoper Prostatakarzinome die MatLylu Sublinie des Dunning Tumors. Diese Tumoren kennzeichnen sich neben ihrem äußerst schnellen Wachstum durch eine hohe Malignität und ähneln dem schlecht differenzierten und anaplastischen humanen Prostatakarzinom vom metastasierenden Typ. Ein Ergebnis dieser Studie war, dass mittels dynamischer MRT und  $^1\text{H}$ -MR-Spektroskopie (MRS) eine nichtinvasive Charakterisierung orthotop implantierter Prostatakarzinome möglich ist. Es zeigte sich jedoch auch, dass bei den MatLylu-Tumoren, bedingt durch das schnelle Wachstum sowie dem Auftreten von stark nekrotischen Tumorarealen, Änderungen in Perfusion und Metabolismus verdeckt werden können. Für einen besseren Vergleich mit mittelgradig und gut differenzierten Prostatakarzinomen des Mannes sollten deshalb Tiermodelle mit langsamer wachsenden Tumoren mit einer geringeren Malignität verwendet werden (Kiessling et al. 2003b). Weiterhin zeigte sich in der MRS, dass es bei den kleineren Tumoren zu einer Signalkontamination durch periprostatiches Gewebe kommt, da sie unter der Voxelgröße ( $1\text{ cm}^3$ ) der verwendeten Sequenz lagen. Aus diesem Grund eignet sich das in der vorliegenden Arbeit eingesetzte Tumormodell auch nicht für MR-spektroskopische Untersuchungen, da es bisher nicht möglich ist, MRS-Sequenzen mit ausreichend kleinen Voxeln einzusetzen.

Im Gegensatz zu den bisher an subkutan implantierten Prostatakarzinomen durchgeführten dynamischen MRT-Studien von Gossmann (1999) und Fan (2004, 2006), wurde für die vorliegende Arbeit die orthotope Implantation gewählt. Diese Methode der Tumorimplantation stellt sicherlich eine initial größere Belastung für die Tiere dar, als eine subkutane Implantation. Da aber die Eigenschaften des verwendeten Tumormodells denen des humanen Prostatakarzinoms möglichst ähneln sollen, schließt das die orthotope Lokalisation des experimentellen Tumors ein, da Tumorstadium, Differenzierung und Metastasierung stark vom umliegenden Gewebe abhängen (Killian et al. 1998). Zur Vermeidung von wachstumsbedingten Nekrosen innerhalb der Tumoren wurde ein Tumormodell mit einem



langsam wachsenden Prostatakarzinom ausgewählt. Weiterhin sollten die Tumoren die Größe der Prostata nicht überschreiten, um einen Vergleich von Tumorgewebe und gesundem Prostatagewebe innerhalb einer Prostata zu gewährleisten. Da das Prostatakarzinom des Mannes ein Tumor des höheren Lebensalters ist (Sakr et al. 1993), wurden für die vorliegende Arbeit Ratten mit einem Alter von 9 Wochen zum Zeitpunkt der Tumorzellimplantation ausgewählt. Zu diesem Zeitpunkt ist davon auszugehen, dass die Entwicklung der Rattenprostata vollständig abgeschlossen ist, da ein erwachsenes Erscheinungsbild der Rattenprostata unter Betracht der Zelldifferenzierung mit 4 Wochen post partum beobachtet werden kann und die Zellentwicklung mit 5 Wochen post partum zum größten Teil abgeschlossen ist (Heckmann 1978).

Das in dieser Arbeit angewandte Tumormodell der Sublinie G des Dunning Rattenprostatakarzinoms zeichnete sich durch eine gute Anwendbarkeit und zuverlässige Eigenschaften aus. Der durchgehend gute Gesundheitszustand der Tiere sowie das Fehlen pathologischer Veränderungen am Tierkörper nach der Tumorentnahme sprechen für eine nur minimale Beeinträchtigung der Tiere während des Versuches. Die Tumorzellimplantation war problemlos im Rahmen einer 15 bis 20 Minuten dauernden Inhalationsnarkose durchzuführen. Nach orthotoper Injektion von  $1 \times 10^6$  G-Tumorzellen bildeten alle 17 Ratten in den ventralen Prostatalappen Tumoren aus. 56 bis 60 Tage nach Tumorzellimplantation lag das anhand der T<sub>2</sub>-gewichteten MRT-Bilder bestimmte Tumolvolumen im Median bei 21,46 mm<sup>3</sup>. Dies entspricht einer durchschnittlichen Wachstumsrate von 0,37 mm<sup>3</sup> pro Woche und liegt damit deutlich unter der Wachstumsrate der in der Studie von Kiessling et al. (2003b) verwendeten orthotopen MatLylu-Tumoren, welche nach bereits vierzehntägigem Wachstum eine durchschnittliche Größe von 7,5 cm<sup>3</sup> aufwiesen, was einer Wachstumsrate von 3,8 cm<sup>3</sup> pro Woche entspricht. Im Gegensatz zu den von Kiessling et al. (2003b) eingesetzten MatLylu-Tumoren waren in der vorliegenden Arbeit alle Tumoren frei von nekrotischen Arealen.

## 6.2 Native MRT und Vergleich mit den histologischen Befunden

Für die Beurteilung der Patientenprognose und des Tumorstaging ist die präzise Lokalisation des Prostatakarzinoms innerhalb der Prostata von großer Bedeutung. Aufgrund ihrer guten Möglichkeiten, die zonale Anatomie der Prostata und ihre Beziehung zu den umliegenden Beckenstrukturen darzustellen, ist die native MRT derzeit als das beste bildgebende Verfahren für das Staging des Prostatakarzinoms anerkannt. Üblicherweise werden für das Staging und die Detektion eines Prostatakarzinoms schnelle T<sub>2</sub>-gewichtete Spin Echo-Sequenzen eingesetzt. Bei diesen Sequenzen stellt sich die gesunde periphere

Zone der Prostata signalreich dar, wogegen ein Prostatakarzinom normalerweise mit verringerter Signalintensität erscheint (Rifkin et al. 1990, Tempany et al. 1991, Nicolas et al. 1994, Perrotti et al. 1999). Diese Hypointensität kann jedoch auch beim Vorliegen von Prostatitiden, Fibrosen und infolge von Einblutungen nach einer Prostatabiopsie sowie nach einer Strahlentherapie oder einer Hormontherapie auftreten (Quint et al. 1991, Lovett et al. 1992, Schiebler et al. 1993).

Um eine eventuelle Übertragbarkeit der MRT-Sequenzen und Ergebnisse der vorliegenden Arbeit auf den Menschen zu ermöglichen, wurde ein in der Diagnostik am Menschen routinemäßig eingesetzter 1,5 Tesla MR-Tomograph verwendet. Die native MR-Bildgebung erfolgte anhand einer T<sub>1</sub>-gewichteten Spin-Echo (SE) in axialer Schichtführung und einer T<sub>2</sub>-gewichteten Turbo-Spin-Echo (TSE) Sequenz in coronarer und axialer Schichtführung. In beiden Sequenzen stellten sich die G-Dunning Tumoren dem menschlichen Prostatakarzinom gleichartig dar. In der T<sub>1</sub>-gewichteten SE-Sequenz ließen sich die Konturen der Prostata gut, die Tumoren selbst jedoch nicht darstellen. In den T<sub>2</sub>-gewichteten MR-Bildern konnten Muskulatur, Fett, Tumor und gesundes Prostatagewebe gut voneinander differenziert werden. Das Tumorgewebe stellte sich in allen 17 Fällen als hypointenses Areal im Vergleich zu normalem Prostatagewebe dar. Ebenso war in allen Fällen ausreichend gesundes Prostatagewebe für die Auswertung und den Vergleich mit dem Tumorgewebe vorhanden. Mit der eingesetzten 4-Kanal Handgelenkspule war das Signal-Rausch-Verhältnis, bei der gewählten Schichtdicke von 1 mm ausreichend, um auch die kleinsten Tumoren mit einem Volumen von bis zu 4,92 mm<sup>3</sup> abgrenzen zu können.

In den histologischen Schnitten waren die Tumoren in allen Präparaten vom Drüsengewebe der ventralen Prostatalappen umgeben und ließen sich gut von diesem abgrenzen. Bei zwölf der Tumoren handelte es sich um solide Tumoren. Bei fünf Tumoren befanden sich dagegen noch mehrere Drüsenausführungsgänge des ursprünglichen Prostatagewebes innerhalb des Tumorgewebes.

In den MR tomographischen Untersuchungen fanden sich die Tumoren in allen Fällen in den Prostatalappen, in denen sie in der histologischen Untersuchung lokalisiert wurden. Ein Vergleich der Tumorflächen in den axialen T<sub>2</sub>-gewichteten MR-Bildern und den axialen histologischen Schnitten ergab eine hohe Korrelation, wobei die gemessenen Tumorflächen in den histologischen Schnitten mit durchschnittlich 8,53 mm<sup>2</sup> um 22 % unter den Tumorflächen in der MRT mit durchschnittlich 10,93 mm<sup>2</sup> lagen. Diese Unterschiede in der Tumorgröße lassen sich durch eine Schrumpfung des Tumorgewebes bei der histologischen Aufarbeitung erklären. So sind Volumenveränderungen des Parenchyms von Organen durch osmotische Effekte bei der Interaktion mit der Fixierlösung bedingt. Weiterhin kommt es bei

der Entwässerung der Gewebe vor der Einbettung generell sowie bei der Einbettung in Paraffin zu beträchtlichen Schrumpfungen. Allein die durch die Entwässerung hervorgerufenen Schrumpfungen sind auf rund 20 % festzusetzen. Insgesamt ist vor der Einbettung der Präparate mit einer Schrumpfung von 20 % bis 25 % zu rechnen (Romeis1989a). Andere Autoren, wie z. B. Greene et al. (1991), nehmen eine Gewebeschrumpfung bei der histologischen Aufarbeitung eines Prostatakarzinoms von 25 % an.

### 6.3 Dynamische MRT mit Gadodiamid

Die kontrastmittelgestützte dynamische MRT wird als eine effektive Methode zur Bestimmung pharmakokinetischer Parameter der Prostata beschrieben (Donahue et al. 1995, Huisman et al. 2001, Kiessling et al. 2003a). Mit einer hohen zeitlichen Auflösung ermöglicht sie insbesondere die Quantifizierung von kontrastanreichernden Charakteristiken verschiedener Gewebe und die Beurteilung von Parametern der Mikrozirkulation. Die Mechanismen, welche den unterschiedlichen Anreicherungskurven von Kontrastmitteln nach intravenöser Injektion zu Grunde liegen, sind sehr komplex und von gewebespezifischen Faktoren abhängig. Zu diesen Faktoren zählen u. a. Anzahl, Perfusion und Permeabilität der Mikrogefäße in Addition mit Dichte und Größe der Zellen sowie die physiochemische Zusammensetzung des extrazellulären Raumes, in den sich ein Kontrastmittel verteilt (Oyen 2003). Üblicherweise wird die dynamische MRT mit Applikation eines Kontrastmittels, wie z. B. Gd-DTPA, anhand von  $T_1$ -gewichteten Sequenzen durchgeführt (Barentsz et al. 1999, Turnbull et al. 1999, Preziosi et al. 2003). Zur Analyse der aus diesen dynamischen Daten gewonnenen Signalintensität zu Zeit-Kurven werden Parameter ermittelt, die entweder direkt aus der Kurvenanalyse hervorgehen (z. B. Anstiegssteilheit, relative Signalintensitätszunahme und Zeit bis zum Maximum) oder es erfolgt eine komplexere Auswertung mit Kompartimentierungsmodellen (Namimoto et al. 1998, Turnbull et al. 1999, Ogura et al. 2001, Schlemmer et al. 2004). Je nach Anzahl der hierbei berücksichtigten Verteilungsräume werden Ein-, Zwei-, oder Mehrkompartiment-Modelle herangezogen.

Die dynamischen MRT-Untersuchungen an der Rattenprostata gelten generell als schwierig, da durch die geringe Größe der Prostata und die geringe örtliche Auflösung vergleichsweise geringe Signalintensitätsunterschiede zu beobachten sind. So sind dynamische Messungen nur dann sinnvoll, wenn das gemessene Signal ein ausreichend hohes Signal-Rausch-Verhältnis (SNR, signal-to-noise-ratio) besitzt und eine Auswertung der gemessenen Signalintensität zu Zeit-Kurven mit ausreichender Genauigkeit möglich ist. Eine Verbesserung des SNR durch Akkumulation verschiedener Einzelmessungen, wie sie häufig

in statischen Messungen angewandt wird, ist bei einer dynamischen Perfusionsmessung nicht sinnvoll. Ein sich bietender Ausweg liegt in der Optimierung einerseits der Geräteparameter, wie dem Nutzvolumen der Empfangsspule, und andererseits der Sequenzparameter. Die experimentellen Beobachtungen in dieser Arbeit zur Auswahl der geeigneten HF-Spule, stehen in Übereinstimmung mit Gleichung 3.1, die besagt, dass sich mit kleiner werdendem effektivem Volumen das SNR vergrößert (Roschmann 1987).

Die dynamischen Untersuchungen (T1-gewichtete GRE-Sequenz, 1,6 Bilder pro Sekunde) zur Generierung von Signalintensität zu Zeit-Kurven und zur Berechnung der Perfusionsparameter interstitielles Volumen, Permeabilitäts-Oberflächenprodukt und normalisierte Permeabilität in Tumor und gesundem Prostatagewebe wurden nach intravenöser Bolusapplikation von Gadodiamid durchgeführt. Anschließend wurden die Kurven der Signalintensitäten in Abhängigkeit von der Zeit in Tumor und gesundem Gewebe generiert. Das Ziel war es, zu erkennen, ob sich das Anreicherungsverhalten des Kontrastmittels in beiden Gewebearten unterscheidet. Bei der Betrachtung der beiden Kurven zeigt sich ein deutlich schnellerer sowie stärkerer Signalintensitätsanstieg im Tumor gegenüber dem gesunden Prostatagewebe. Dieses Anreicherungsverhalten deckt sich mit Beobachtungen aus diversen, an Prostatakarzinom und gesunder peripherer Zone der Prostata des Menschen durchgeführten Studien (Jager et al. 1997, Barentsz et al. 1999, Turnbull et al. 1999, Padhani et al. 2000, Engelbrecht et al. 2003, Noworolski et al. 2005, Kozlowski et al. 2006). Als limitierender Faktor erweist sich in diesen Studien jedoch der Mangel an Gewissheit, dass die Messungen in dem gewünschten Gewebe durchgeführt wurden. Die Ursachen hierfür liegen u. a. in einer zu geringen Spezifität der verwendeten T<sub>2</sub>-gewichteten Bildgebung zur Identifikation des zu messenden Gewebeareals sowie dem Auftreten von Bewegungsartefakten. Ein Vergleich der in den verschiedenen Studien gemessenen absoluten Signalintensitäten sowie deren Anstieg und Abfall (wash-out) ist, bedingt durch die Verwendung unterschiedlicher dynamischer Sequenzen (Kozlowski et al. 2006) und unterschiedlicher Kontrastmittel, äußerst problematisch. Hierfür sind dynamische Parameter prinzipiell besser geeignet. Häufig werden jedoch dieselben Parameter von verschiedenen Arbeitsgruppen mit unterschiedlichen Namen oder Symbolen verwendet, wodurch ein Vergleich von Arbeiten der verschiedenen Arbeitsgruppen untereinander fast unmöglich ist (Tofts et al. 1999). Weiterhin wird ein Vergleich durch die Anwendung unterschiedlicher Kompartimentierungsmodelle und Fit-Algorithmen erschwert.

Die Bestimmungen der Perfusionsparameter in der vorliegenden Arbeit ergeben sowohl für das interstitielle Volumen mit 19,66 % zu 4,08 % als auch für das Permeabilitäts-Oberflächenprodukt mit 1,01 ml/min/g zu 0,23 ml/min/g eine signifikante Erhöhung um 482 % bzw. 439 % im Prostatakarzinom gegenüber dem gesunden Prostatagewebe. Die

normalisierten Permeabilitäten sind dagegen mit 0,034 l/s im Prostatakarzinom und 0,036 l/s im gesunden Prostatagewebe nahezu gleich groß. Sowohl der signifikant erhöhte Anstieg des interstitiellen Volumens (Padhani et al. 2000, Buckley et al. 2004) als auch der für das Permeabilitäts-Oberflächenprodukt resp.  $K^{\text{trans}}$  (Buckley et al. 2004, Kozlowski et al. 2006) wurden ebenfalls in Studien am Menschen ermittelt. So liegen die Werte für  $K^{\text{trans}}$  in den von Kozlowski et al. (2006) und Buckley et al. (2004) durchgeführten Studien im Tumor 187 % und 210 % über denen des gesunden Gewebes der peripheren Zone. Für das interstitielle Volumen haben sowohl Padhani et al. (2000) als auch Buckley et al. (2004) Werte ermittelt, die im Tumor mit 45 % und 42 % (um 173 % bzw. 156 %) deutlich über denen des gesunden Gewebes mit 26 % und 27 % lagen. Dagegen haben Kozlowski et al. (2006) im gesunden Gewebe ein höheres interstitielles Volumen mit 38 % gegenüber dem Prostatakarzinom mit 33 % gemessen. Eine histologische Bestimmung des interstitiellen Volumens erfolgte in keiner der vorgenannten Studien. Somit wurde in der vorliegenden Arbeit erstmals das interstitielle Volumen in Prostatakarzinom und gesundem Prostatagewebe sowohl mittels MRT als auch histologisch bestimmt. Die Ergebnisse zeigen, dass die in der MRT ermittelten Werte deutlich differieren, wogegen bei den Werten der histologischen Messungen mit 11,50 % im Tumorgewebe und 10,28 % im gesunden Prostatagewebe kein signifikanter Unterschied vorhanden ist.

Ein direkter Vergleich der interstitiellen Volumina zwischen der MRT und den histologischen Schnitten ergibt, dass die im Prostatakarzinom ermittelten Werte in den histologischen Schnitten bei 52 % der in der MRT gemessenen Werte liegen und keine Korrelation zwischen den histologischen Ergebnissen und der MRT vorliegt. Im gesunden Gewebe stellen sich die Verhältnisse der ermittelten interstitiellen Volumina dagegen anders dar. Der Wert der histologischen Schnitte liegt um 281 % über dem der MRT, wobei der in der MRT ermittelte Wert mit 4,08 % deutlich unter dem der bisher durchgeführten Studien liegt. Die hohe Korrelation zwischen MRT und histologischer Präparate könnte auf eine systemische Messabweichung hinweisen. Um herauszufinden, ob dabei die im Interzellularräum befindlichen Bindegewebsfasern einen Einfluss auf die Kontrastmittelverteilung im interstitiellen Raum haben, wurde der Anteil der Bindegewebsfasern anhand der histologischen Schnitte mit der modifizierten Bindegewebsfärbung nach van Gieson morphometrisch bestimmt und anschließend zum interstitiellen Volumen hinzugezogen. Der Vergleich der in MRT und anhand der histologischen Präparate morphometrisch bestimmten interstitiellen Volumina mit sowie ohne Bindegewebsfasern ergibt, dass sich die Korrelationen nicht signifikant verändern. Für das Tumorgewebe gleichen sich die Mediane unter Berücksichtigung der Bindegewebsfasern etwas an, wogegen die sehr geringe Korrelation noch weiter abfällt. Für das Prostatagewebe verhält es sich dagegen umgekehrt.

Die anhand der histologischen Schnitte und der mittels MRT gemessenen Werte für das interstitielle Volumen entfernen sich im Median noch etwas weiter voneinander. Die Korrelation erhöht sich dagegen leicht. Ein signifikanter Einfluss der Präsenz der Bindegewebsfasern auf die Messungen der dynamischen MRT ist somit nicht nachzuweisen. Eine denkbare Erklärung für das in der MRT sehr niedrig bestimmte interstitielle Volumen des gesunden Prostatagewebes mit 4,08 % könnte das Diffusionsverhalten des Kontrastmittels in Kombination mit der Gefäßanordnung in der Prostata sein. So liegen die Gefäße in der gesunden Prostata mit einem mittleren interkapillären Gefäßabstand von 170,99  $\mu\text{m}$  sehr weit auseinander gegenüber 45,49  $\mu\text{m}$  im Tumor. Hierdurch bedingt müssen die Kontrastmittelmoleküle eine sehr große Diffusionsstrecke zurücklegen, um in den gesamten interstitiellen Raum zu diffundieren. Unter Berücksichtigung der bei der histologischen Aufarbeitung entstehenden Gewebeschrumpfung von 20 % lässt sich der mittlere interkapilläre Gefäßabstand im Prostatagewebe in vivo auf 213,74  $\mu\text{m}$  schätzen. Daraus ergibt sich eine mittlere Diffusionsstrecke für ein Kontrastmittel von 106,87  $\mu\text{m}$  in vivo. Zusätzlich erhöht sich die Diffusionsstrecke, da die Drüsenendstücke und -ausführungsgänge nicht relevant für die Versorgung des Prostatagewebes sind. So bauen sich die Gradienten für den Kontrastmitteltransport nicht geradlinig zwischen den Gefäßen auf, sondern folgen den Bindegewebsformationen, welche die Drüse durchziehen und netzförmig umgeben.

Wird nun der Kontrastmittelbolus intravenös injiziert, kann das Kontrastmittel zunächst entlang des Konzentrationsgradienten in den interstitiellen Raum extravasieren (Jain 1987, Jain 1991). Da die Kontrastmittelkonzentration mit zunehmendem Abstand zum Gefäß kleiner wird, verringert sich auch der Konzentrationsgradient in den weiter entfernten Gewebearealen und folglich die Diffusionsgeschwindigkeit. Gleichzeitig nimmt die Kontrastmittelkonzentration im Blut ab. Dies geschieht einerseits aufgrund der Extravasation und andererseits durch die Elimination des Kontrastmittels aus dem Blutkreislauf, so dass sich der Konzentrationsgradient umkehrt und das Kontrastmittel in das Blut rückdiffundiert. In Geweben mit einem geringen interkapillären Gefäßabstand beginnt die Rückdiffusion normalerweise erst, nachdem das Kontrastmittel sich im gesamten interstitiellen Raum verteilt hat. Sind die Gefäßabstände allerdings sehr groß, so ist anzunehmen, dass die Rückdiffusion in das Blut beginnt, bevor sich das gesamte Kontrastmittel im Interstitium verteilt hat, da nach Nicholson et al. (2000) die Diffusionszeit quadratisch mit der Diffusionsstrecke zunimmt. Die Folge ist, dass das Kontrastmittel während der MRT-Untersuchung nur in Teilbereichen des Interstitiums verteilt ist und somit das interstitielle Volumen in der MRT unterschätzt wird. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit deuten darauf hin, dass dies im gesunden Prostatagewebe der Ratte der Fall sein könnte.

Das Permeabilitäts-Oberflächenprodukt ist ein Parameter, der den Austausch des Kontrastmittels zwischen Blut und interstitiellem Raum beschreibt und ist abhängig von der Balance zwischen Perfusion und Gefäßpermeabilität (Tofts et al. 1999). Bisher erweist sich die Interpretation von gemessenen Veränderungen des Permeabilitäts-Oberflächenprodukts als schwierig. So ist bei einer auftretenden Veränderung nicht bekannt, ob diese aufgrund von einer Änderung der Gefäßanzahl, des Blutvolumens oder der Permeabilität bzw. des Abtransports des Kontrastmittels im interstitiellen Raum zustande kommt. Folglich ist nicht bekannt, ob sich das Gefäßwachstum (Anzahl und Größe der Gefäße) oder die Gefäßmorphologie verändert hat. Für einen optimalen Therapieansatz ist dies jedoch von entscheidender Bedeutung. In bisher durchgeführten Studien wurden lediglich entweder das Permeabilitäts-Oberflächenprodukt (resp.  $K^{\text{trans}}$ ) oder die Gefäßpermeabilität (Padhani et al. 2000, Padhani et al. 2001, Buckley et al. 2004, Kiessling et al. 2004a, Kershaw und Buckley 2006, Kozlowski et al. 2006) gemessen, wobei die alleinige Bestimmung der Gefäßpermeabilität in der MRT durch den Einsatz makromolekularer Kontrastmittel erfolgte. Diese Kontrastmittel extravasieren nach intravenöser Bolusapplikation sehr langsam, wodurch ein hoher Konzentrationsgradient zwischen intravasalem und interstitiellem Raum über einen längeren Zeitraum bestehen bleibt. Das Konzentrationsgefälle zwischen diesen beiden Kompartimenten kann somit über einen längeren Zeitraum ausgeglichen werden. Da es zu keinen größeren Kontrastmittelanreicherungen im Bereich um die Gefäße kommt, kann die weitere Diffusion des Kontrastmittels in das Interstitium ungehindert ablaufen. Für die Extravasation der makromolekularen Kontrastmittel ist somit die Permeabilität der limitierende Parameter und weniger die Diffusion (Tofts et al. 1999).

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie mit einem deutlich größeren Permeabilitäts-Oberflächenprodukt im Tumor gegenüber dem Prostatagewebe bei nahezu gleichgroßer normalisierter Permeabilität bestätigen die Annahme, dass die Permeabilität für die Extravasation von niedermolekularen Gd-DTPA-haltigen Kontrastmitteln keinen limitierenden Einfluss hat (Tofts et al. 1999, Kiessling et al. 2004a). Vielmehr zeigt sich, dass der Transport durch Diffusion limitierend wirkt. Bedingt durch eine schnelle Extravasation wird nach intravenöser Applikation der Konzentrationsgradient zwischen intravasalem und interstitiellem Kompartiment schnell ausgeglichen und es kommt zu einer vermehrten Anreicherung des Kontrastmittels im interstitiellen Raum. Erfolgt nun der weitere Transport des Kontrastmittels innerhalb des Interstitiums nicht ausreichend schnell und/oder ist die Diffusionsstrecke für das Kontrastmittel zu groß, beginnt die Rückdiffusion in das intravasale Kompartiment bevor das Kontrastmittel im gesamten Interstitium verteilt ist. Dies würde bestätigen, dass eine erhöhte Gefäßpermeabilität im Prostatakarzinom gegenüber gesundem Gewebe für die dynamischen Messungen mit niedermolekularen

Gd-DTPA-haltigen Kontrastmitteln, keine entscheidende Rolle spielt. Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen vielmehr, dass die Erhöhung des Permeabilitäts-Oberflächenprodukts im Tumor eher in einer verstärkten Perfusion, bedingt durch ein erhöhtes Blutvolumen liegt.

Bisher gibt es noch keine Studien zur Messung der maximalen Diffusionsstrecken von Gd-DTPA-haltigen Kontrastmitteln in der Prostata sowie zur Bestimmung der durch histologische Aufarbeitung bedingten Schrumpfung des interstitiellen Volumens in Tumor und Prostatagewebe. Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen, dass es für das weitere Verständnis der dynamischen kontrastmittelgestützten MRT und der Auswertung mittels Mehrkompartimentmodellen von großem Interesse ist, weitere Studien auf diesem Gebiet durchzuführen.

Aufgrund der hohen Herzfrequenz und des schnellen Blutflusses der Ratte ist es bis heute noch nicht möglich, den Kontrastmittelbolus und somit die arterielle Eingangsfunktion (AIF) bei der Ratte in der MRT zu messen. Die vorliegende Arbeit hat gezeigt, dass selbst eine zeitliche Auflösung von 1,6 Bildern pro Sekunde noch zu gering ist, den Kontrastmittelbolus nach der intravenösen Injektion exakt zu erfassen. Hierfür wäre der Einsatz von dynamischen Sequenzen mit kürzeren Messintervallen notwendig, was technisch bedingt jedoch nicht möglich ist. Einen Ansatz, dieses ebenfalls am Menschen bestehende Problem zu lösen, könnte der Einsatz einer Dual-Kontrast-Sequenz sein, welche eine Quantifizierung der AIF in der dynamischen MRT ermöglicht. Bei dieser Technik werden in einem Messintervall von 1,5 Sekunden die quasisimultane Akquisition eines  $T_1$ - und eines  $T_2^*$ -gewichteten Bildes gestattet. Durch die Messung des  $T_2^*$ -Kontrastes ist beim Menschen die präzise Bestimmung des Bolusgipfels möglich. Durch einen an die Prostata angepassten Nachverarbeitungsalgorithmus lassen sich dann die gesuchten Perfusionsparameter inklusive des Blutvolumens berechnen (Prochnow et al. 2005). Bisher war mit den so genannten Dual-Echo-Sequenzen mit größeren Messintervallen und einer kürzeren Gesamtmesszeit lediglich eine semiquantitative Analyse möglich (Muramoto et al. 2002). Eine klinische Studie mit einer Dual-Kontrast-Sequenz steht derzeit noch aus.

### **6.4 Prae- und Post-KM-Messungen mit VSOP-C 184**

Die Gefäßversorgung eines Tumors stellt die Grundlage für das Tumorwachstum, für die metastatische Tumorausbreitung und den Transport von Pharmaka dar (Jain 1987, Jain 1994). Nach Campbell (1997) ist kein Tumor in der Lage, ohne die Bildung neuer Gefäße über einen Durchmesser von 2-3 mm hinaus zu wachsen. Von anderen Autoren wird vermutet, dass bereits ein Wachstum über ein Volumen von  $1,0 \text{ mm}^3$  hinaus nicht möglich



ist, ohne die Bildung eines eigenen Netzwerkes, das aus morphologisch und funktionell primitiven sowie abnormalen Mikrogefäßen besteht (Neovaskularisation) (Vaupel et al. 1989, Denekamp 1993). Für das Prostatakarzinom hat sich zudem gezeigt, dass die Neovaskularisation des Tumors mit einem erhöhten Risiko von Fernmetastasen und Tumorrezidiven nach operativen Eingriffen sowie einer schlechteren Überlebensrate korreliert (Weidner et al. 1993, Bettencourt et al. 1998, de la Taille et al. 2000, Mehta et al. 2001). So werden mittlerweile immer häufiger mikrovaskuläre Parameter, wie die mikrovaskuläre Dichte oder das relative Blutvolumen zur Tumorcharakterisierung herangezogen. Da die Erfassung der Angiogenese von Tumorgeweben bisher eine Untersuchung von histologischen Proben voraussetzt, ist es von erheblichem Interesse, neue nichtinvasive Methoden für die in vivo Charakterisierung mikrovaskulärer Parameter des Prostatakarzinoms zu entwickeln (Lee et al. 2003). Einen Ansatz hierfür bietet die kontrastmittelgestützte MRT.

Bisher gibt es erst eine veröffentlichte Studie zur Bestimmung des Blutvolumens in humanem Prostatakarzinom und gesundem Prostatagewebe mittels dynamischer MRT (Buckley et al. 2004). In dieser Studie erfolgte die Akquisition der dynamischen MRT-Daten für die Blutvolumenmessung mittels einer  $T_1$ -gewichteten 3D spoiled Gradienten-Echo Sequenz. Als Kontrastmittel wurde Gadodiamid in einer Dosis von 0,1 mmol/kg KGW verabreicht. Entgegen den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit ermittelten Buckley et al. (2004) für das Prostatakarzinom ein kleineres Blutvolumen mit  $1,0 \pm 1,4$  % gegenüber dem gesunden Prostatagewebe der peripheren Zone mit  $1,5 \pm 2,4$  %. Weiterhin wurde das Blutvolumen für Muskelgewebe bestimmt. Dieses lag bei  $1,8 \pm 2,0$  %. Eine histologische Ermittlung der Blutvolumina erfolgte nicht, so dass es keine Korrelation der Ergebnisse mit einem Referenzwert gibt. Weiterhin fallen die großen Standardabweichungen der Ergebnisse auf und zwar nicht nur für das heterogene Tumorgewebe sondern auch für die gesunde Prostata und die Muskulatur. Somit bleibt die Frage, in wieweit die niedermolekularen extravasierenden Kontrastmittel, in Kombination mit den derzeit zur Verfügung stehenden Kompartimentierungsmodellen und technischen Voraussetzungen überhaupt zur exakten Bestimmung des Blutvolumens geeignet sind. Aus diesem Grund beschäftigen sich mittlerweile mehrere Arbeitsgruppen mit der Entwicklung und dem Einsatz von intravasal verbleibenden Kontrastmitteln (so genannte Blutpool-Kontrastmittel). Im Verhältnis zu dynamischen MRT-Messungen mit extravasierenden Kontrastmitteln ermöglicht der Einsatz von Blutpool-Kontrastmitteln eine technisch einfachere und exaktere Quantifizierung des Blutvolumens eines Gewebes. Dabei können Sequenzen mit längerer Messzeit und höherer räumlicher Auflösung verwendet werden als bei den dynamischen MRT-Messungen mit (niedermolekularen) extravasierenden Kontrastmitteln. Aus diesem Grund gibt es große

Bestrebungen, Kontrastmittel mit einer lang anhaltenden intravaskulären Verweildauer zu entwickeln.

Für die MR tomographische Bestimmung des Blutvolumens in Tumoren mittels Blutpool-Kontrastmitteln gibt es bisher verschiedene Studien an Tiermodellen (van Dijke et al. 1996, Pham et al. 1998, Okuhata et al. 1999, Bhujwalla et al. 2001, Turetschek et al. 2001a, Turetschek et al. 2001b, Preda et al. 2004, Pathak et al. 2005). Die Studie von Bhujwalla et al. (2001) ist dabei die einzige, die bisher am Rattenprostatakarzinom durchgeführt wurde. Für drei verschiedene Tumortypen wurden dabei Blutvolumina von 6,5 % bis 23,0 % ermittelt. Diese sehr hoch erscheinenden Werte erklären sich daraus, dass für die Messungen die Gewebereiche mit der höchsten Vaskularisation ausgewählt wurden. Die anderen Studien (van Dijke et al. 1996, Pham et al. 1998, Okuhata et al. 1999, Turetschek et al. 2001a, Turetschek et al. 2001b, Preda et al. 2004, Pathak et al. 2005) erfolgten am Mammakarzinom der Ratte, wobei sowohl niedermolekulare als auch makromolekulare Kontrastmittel mit einer verlängerten intravasalen Verweildauer eingesetzt wurden. Die in diesen Studien ermittelten Blutvolumina für die Mammatumoren variieren dabei in Abhängigkeit von den eingesetzten Tumorarten und Kontrastmitteln sowie von den Auswertemodellen mit Werten von  $1,7 \pm 1,4$  % bis  $24,3 \pm 1,7$  % z. T. erheblich. In einer dieser Studien (Okuhata et al. 1999) konnte dabei gezeigt werden, dass die kontrastgestützte MRT mit einem makromolekularen Kontrastmittel in der Lage ist, unterschiedliche Blutvolumina von verschiedenen Subtypen eines Mammakarzinoms zu erfassen. In einer von Preda et al. (2004) durchgeführten Studie, bei der drei verschiedene Kontrastmittel eingesetzt wurden, wurde herausgefunden, dass Kontrastmittel, die weiterhin eine geringe Extravasation aufweisen, zu einer deutlichen Überschätzung des Blutvolumens führen können. Dies zeigt, dass ein für die Vaskularisationsbestimmung eingesetztes Blutpool-Kontrastmittel strikt intravaskulär verweilen sollte.

Das bisher einzige in Europa für die klinische Anwendung am Menschen zugelassene Blutpool-Kontrastmittel Vasovist® (Gadofosveset, Schering AG, Berlin, Deutschland) ist ein Gd-haltiges Kontrastmittel, welches reversibel an humanes Serumalbumin bindet (Shamsi et al. 2006). Durch diese Bindung weist Vasovist eine verlängerte intravasale Verweildauer auf. Trotzdem kommt es weiterhin zur Extravasation von Kontrastmittelmolekülen in das Interstitium. Ferner gibt es diverse Blutpool-Kontrastmittel, die in tierexperimentellen Studien eingesetzt werden, jedoch für eine spätere klinische Anwendung beim Menschen aufgrund ihrer verlängerten Eliminationszeit oder einer möglichen immunologischen Inkompatibilität ungeeignet sind. Zu diesen Kontrastmitteln zählt z. B. das häufig zur Charakterisierung von Tumorgefäßeigenschaften als Referenzkontrastmittel eingesetzte Albumin-(Gd-DTPA)<sub>30</sub> (Schwickert et al. 1995, Brasch et al. 1997, Turetschek et al. 2001a, Turetschek et al.

2001b).

In der vorliegenden Arbeit erfolgte die Blutvolumenbestimmung in Prostatakarzinom und gesundem Prostatagewebe durch die Aufnahme von MRT-Bildern vor und nach Gabe des Blutpool-Kontrastmittels VSOP-C 184. Dieses Kontrastmittel zählt zu den ferromagnetischen eisenoxidhaltigen Kontrastmitteln und zeichnet sich durch eine praktisch fehlende Extravasation sowie durch einen lang anhaltenden Kontrast und eine gute Verträglichkeit aus (Taupitz et al. 2004).

Im Gegensatz zu den Ergebnissen von Buckley et al. (2004), liegt in der vorliegenden Arbeit das in der MRT ermittelte Blutvolumen im Tumor mit 1,71 % signifikant über dem der Prostata mit 0,69 %. In den histologischen Untersuchungen zeigt sich, dass die Blutgefäße im Tumorgewebe deutlich kleiner sind, dafür aber in wesentlich höherer Zahl vorkommen als im Prostatagewebe. So liegt das histologisch ermittelte Blutvolumen im Tumor mit 1,03 % bei 149 % des Blutvolumens der gesunden Prostata mit 0,69 %. Diese Werte bestätigen die häufiger am humanen Prostatakarzinom festgestellten Ergebnisse, in denen die histologisch gemessenen Blutvolumina im Prostatakarzinom signifikant über denen der gesunden Prostata liegen. So liegen die Blutvolumina im Tumor gegenüber dem gesunden Prostatagewebe in bisherigen Studien bei 253 % (Schlemmer et al. 2004), 231 % (Kießling et al. 2003a) bzw. 137 % (Kießling et al. 2004b). Die exakten histologisch bestimmten Blutvolumina betragen in Tumor und gesunder Prostata 4,33 % und 1,71 % (Schlemmer et al. 2004), 4,40 % und 1,90 % (Kießling et al. 2003a) sowie 3,25 % und 2,38 % (Kießling et al. 2004b). In einer tierexperimentellen Studie zur Radiotherapie am Rattenprostatakarzinom von Kießling et al. (2004a) wurde das Blutvolumen histologisch an drei unbehandelten Tieren mit 1,37 % quantifiziert. Eingesetzt wurde das Tiermodell der orthotop implantierten MatLylu-Dunning Tumoren. Eine Untersuchung von gesundem Prostatagewebe erfolgte nicht.

Ein Vergleich der in diversen Studien histologisch gemessenen absoluten Mikrogefäßdichten (MVD) stellt sich problematisch dar, da in diesen Studien sowohl unterschiedliche Färbemethoden als auch verschiedene Zählmethoden und verschiedene Vergrößerungen beim Mikroskopieren verwendet wurden.

Bei Betrachtung der in MRT und Histologie gemessenen Blutvolumina für die gesunde Prostata fällt auf, dass die Werte im Median gleich groß sind, jedoch nicht miteinander korrelieren. Für das Prostatakarzinom liegen die Werte in der MRT um 66 % über denen der histologischen Untersuchungen und es gibt keine Korrelation zwischen den beiden Messmethoden. Im Gegensatz zu den Studien am Menschen kann als Begründung für die mangelnden Korrelationen das Vorliegen von mehreren Differentialdiagnosen innerhalb des

gemessenen Arealen ausgeschlossen werden. Ein Grund könnte dagegen in den unterschiedlichen Schichtdicken der MRT-Sequenzen und der histologischen Schnitte liegen (Kießling et al. 2004a). Durch die Messung einer 2 mm dicken Schicht wird in der MRT ein Mittelwert über diese Schicht bestimmt. Somit werden die Schwankungen der Vaskularisation stärker gemittelt, als bei den Messungen der ca. 4 - 5  $\mu\text{m}$  dünnen histologischen Schicht. Auf der anderen Seite können in der MRT Partialvolumeneffekte auftreten. Ein Partialvolumeneffekt tritt dann auf, wenn ein in der MRT gemessener Voxel nur teilweise ein Gewebe einer bestimmten Signalintensität erfasst. So erscheint der Voxel mit der Intensität des Gewebes, welches den größten Teil des Voxels ausfüllt. Je kleiner die Tumoren sind, umso größer kann auch die Auswirkung dieses Effektes sein. Einen weiteren Einfluss auf das in der MRT bestimmte Blutvolumen könnten Flussartefakte des Blutes und der Protonen- resp. Wasseraustausch zwischen intra- und extravasalem Kompartiment haben. So fanden Larsson et al. (2001), dass bei dynamischen MRT-Messungen am Gehirn, bei denen ein Kontrastmittel aufgrund der vorliegenden Blut-Hirn-Schranke nicht extravasieren kann, der Protonenaustausch die Messung von Perfusionsparametern beeinflussen kann. Es ist denkbar, dass dies auch für Messungen in anderen Geweben, wie z. B. der Prostata, bei Verwendung eines streng intravasal verbleibenden Kontrastmittels zutrifft. Da die Vaskularisation im Prostatakarzinom aus vielen kleinen Gefäßen besteht, ist dort die Gefäßoberfläche und damit der Protonenaustausch deutlich größer als in dem gesunden Prostatagewebe mit den wenigen, dafür aber sehr großen Gefäßen. Dies könnte eine Überschätzung des Blutvolumens im Tumor durch die MRT erklären. In welchem Ausmaß der Protonenaustausch die Ergebnisse der Messungen beeinflusst, ist bisher noch nicht bekannt. Um dies herauszufinden, ist die Durchführung weiterer Studien wünschenswert.

Die Bestimmung des Zellvolumens inklusive der Drüsenausführungsgänge in der MRT stellt eine aus Blutvolumen und interstitiellem Volumen berechnete Größe dar. Da bei der Berechnung des Zellvolumens der Blutvolumenanteil mit unter 2 % im Tumor und unter 1 % im gesunden Gewebe nur eine geringe Auswirkung hat, kommt es dazu, dass sich in der MRT der Zellvolumenanteil und das interstitielle Volumen entgegengesetzt zueinander verhalten. An den histologischen Schnitten wurde das Zellvolumen dagegen direkt gemessen. Diese Messung war notwendig, um das interstitielle Volumen histologisch zu verifizieren. Aufgrund dieser Messungen konnte festgestellt werden, dass das in der gesunden Prostata mittels der Gadodiamid-gestützten dynamischen MRT gemessene interstitielle Volumen deutlich unterschätzt wurde.

## 6.5 Ausblick

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zeigen, dass sich sowohl die quantitative Analyse von Gadodiamid-gestützten dynamischen MRT-Daten als auch die Blutvolumenbestimmung anhand von MRT-Daten vor und nach der Applikation des Blutpool-Kontrastmittels VSOP-C 184 dazu eignet, ein die Größe der Prostata nicht überschreitendes, langsam wachsendes orthotopes Prostatakarzinom der Ratte von gesundem Prostatagewebe zu differenzieren. Dies ermöglicht den Einsatz dieses Modells für Studien zur Entwicklung neuer Therapien des Prostatakarzinoms sowie zur Therapiekontrolle. Ebenfalls ist ein Einsatz dieses Tumormodells für die Erforschung neuartiger Kontrastmittel für die MRT und anderer bildgebender Verfahren (z. B. Ultraschall) vorstellbar. Im Gegensatz zu früheren tierexperimentellen Studien wurde in dieser Arbeit ein Tumormodell verwendet, welches den Vergleich eines orthotopen Prostatakarzinoms mit gesundem Prostatagewebe innerhalb eines Tieres ermöglicht.

Eine Anwendung der hier verwendeten MRT-Techniken beim Menschen könnte in Zukunft dazu dienen, die Differenzierung des Prostatakarzinoms gegenüber gesundem Prostatagewebe sowie seinen Differentialdiagnosen, wie der Prostatitis oder der benignen Prostatahyperplasie, zu verbessern.

Um die nichtinvasive Differenzierung des Prostatakarzinoms gegenüber den differentialdiagnostisch relevanten Veränderungen zu verbessern, sollten Studien zur Charakterisierung der Prostatitis und der benignen Prostatahyperplasie mittels kontrastmittelgestützter MRT an Tiermodellen durchgeführt werden. Außerdem sind weitere Untersuchungen bezüglich des Diffusionsverhaltens von Gd-DTPA-haltigen Kontrastmitteln im Prostatagewebe notwendig. Hierbei wäre interessant aufzuklären, in wie weit ein extravasierendes Kontrastmittel wie Gadodiamid in der Lage ist, in den gesamten interstitiellen Raum des Prostatagewebes zu diffundieren. Bezüglich der MRT-Messungen mit einem Blutpool-Kontrastmittel wäre von Interesse, ob eventuelle Flussartefakte sowie der Protonenaustausch zwischen intra- und extravaskulärem Kompartiment Einfluss auf das gemessene Blutvolumen in einem Gewebe haben. Auf histologischer Ebene sind Studien zur weiteren Erforschung der Neoangiogenese des Prostatakarzinoms wünschenswert. Hierzu sind unter anderem morphologische Untersuchungen auf der ultrastrukturellen Ebene sowie die Entwicklung von in vitro Modellen, wie z. B. „Challenge-Modelle“ (Kokulturen von Tumor- und Endothelzellen) notwendig. Diese Studien könnten dazu beitragen, die in der kontrastmittelgestützten MRT gemessenen Vaskularisationsparameter zu erklären und die verschiedenen Auswertmodelle zu verbessern.

## 7 ZUSAMMENFASSUNG

In den westlichen Industrieländern ist das Prostatakarzinom das häufigste Malignom beim Mann und das am zweithäufigsten zum Tode führende Tumorleiden des Mannes. Die bisher einzige Möglichkeit, ein Prostatakarzinom frühzeitig zu diagnostizieren, ist die histologische Untersuchung von Prostatagewebe. Eine sichere Differenzierung des Prostatakarzinoms gegenüber gesundem und gutartig verändertem Prostatagewebe anhand klinischer Untersuchungen, Laboranalysen und bildgebender Verfahren ist bislang nicht möglich. Dies führt zu einer erschwerten Detektion des Tumoreals für die Prostatabiopsie und damit bei einem größeren Teil der Patienten zu falsch negativen histologischen Befunden.

Zielsetzung dieser Arbeit war die Etablierung eines Rattenmodells zur Differenzierung eines langsam wachsenden, orthotop implantierten Prostatakarzinoms gegenüber gesundem Drüsengewebe der Prostata an einem klinischen 1,5 Tesla MR-Ganzkörpertomographen mittels kontrastmittelgestützter dynamischer MRT. Ein weiteres Ziel war die Untersuchung der MRT als Methode zur Blutvolumenbestimmung von Prostatakarzinom und gesundem Prostatagewebe.

Die vorliegende Arbeit ist die erste Studie, in der die Perfusionsparameter interstitielles Volumen, Permeabilitäts-Oberflächenprodukt, normalisierte Permeabilität und relatives Blutvolumen von Prostatakarzinom und gesundem Prostatagewebe mittels MRT bestimmt und zudem mit histologischen Vaskularisationsparametern korreliert wurden.

Erfolgreich eingesetzt wurde das Tumormodell des G-Dunning Rattenprostatakarzinoms. Die Tumorinduktion erfolgte an 17 Copenhagen-Ratten durch orthotope Implantation von jeweils  $1 \times 10^6$  Tumorzellen. Die MRT-Untersuchungen erfolgten 56 bis 60 Tage nach der Tumorzellimplantation mittels nativer  $T_1$ -gewichteter SE und  $T_2$ -gewichteter TSE sowie einer  $T_1$ -gewichteten GRE-Sequenz für die kontrastmittelgestützten Untersuchungen. Verwendet wurden ein extravasierendes niedermolekulares Gd-haltiges Kontrastmittel (Gadodiamid) für die dynamischen Messungen sowie ein lang anhaltend intravasal verbleibendes eisenoxidpartikelhaltiges Kontrastmittel (VSOP-C 184) zur Blutvolumenbestimmung. Nach Durchführung der dynamischen Messungen wurden Kurven der Signalintensität in Abhängigkeit von der Zeit in Tumor und gesundem Gewebe generiert und quantitativ mittels pharmakokinetischer Modellierung ausgewertet. Die Bestimmung der relativen Blutvolumina von Tumor und gesundem Prostatagewebe erfolgte aus dem Verhältnis des Signalintensitätsanstieges nach der Gabe von VSOP-C 184 und der Signalintensität im Vollblut der Tiere. Für die anschließende histologische und morphometrische Auswertung von Tumor und gesundem Prostatagewebe wurden eine H&E-Färbung, eine modifizierte van

Gieson-Färbung ohne Kernfärbung sowie eine Markierung der Gefäßendothelien mittels BSL I eingesetzt.

In den nativen  $T_2$ -gewichteten MRT-Bildern stellten sich die Tumoren bei allen Tieren, als hypointense Areale gegenüber dem gesunden Prostatagewebe und somit gleich einem humanen Prostatakarzinom dar. Die durchschnittliche Tumorgröße in der MRT lag in der axialen Schicht bei  $10,93 \text{ mm}^2$  und zeigte eine hohe Korrelation ( $r = 0,75$ ;  $p < 0,001$ ) mit den Ergebnissen der histologischen Untersuchung. In den dynamischen MRT-Messungen zeigte sich ein deutlich beschleunigter sowie ein erhöhter Anstieg der Signalintensität im Tumor gegenüber dem gesunden Prostatagewebe. Das interstitielle Volumen und das Permeabilitäts-Oberflächenprodukt im Tumor waren gegenüber dem gesunden Prostatagewebe um 482 % ( $p < 0,001$ ) und 439 % ( $p < 0,001$ ) signifikant erhöht. Die in dieser Arbeit erstmals sowohl in der MRT als auch histologisch bestimmten interstitiellen Volumina weisen darauf hin, dass die Diffusionsstrecken in gesundem Prostatagewebe zu groß sind, um eine Verteilung des MRT-Kontrastmittels im gesamten Interstitium zu gewährleisten. Die Folge ist eine deutliche Unterschätzung des interstitiellen Volumens in MRT-Messungen, selbst mit einem stark extravasierenden Kontrastmittel. Die weiteren Ergebnisse zeigen, dass die Erhöhung des Permeabilitäts-Oberflächenprodukts im Tumor gegenüber dem gesunden Prostatagewebe in einer verstärkten Perfusion, bedingt durch ein erhöhtes Blutvolumen liegt und nicht, wie teilweise vermutet, in einer erhöhten Gefäßpermeabilität.

Die ermittelten relativen Blutvolumina im Tumor lagen sowohl in der MRT mit 1,71 % zu 0,69 % als auch in den histologischen Schnitten mit 1,03 % zu 0,69 % signifikant über denen des gesunden Prostatagewebes. Die Gefäßanordnung im Gewebe zeigte viele kleine Gefäße im Tumor gegenüber wenigen Gefäßen mit einem größeren Durchmesser im gesunden Prostatagewebe. Dies könnte auf einen stärkeren Protonenaustausch im Tumor hindeuten und somit die im Tumor größere Überschätzung des Blutvolumens in der MRT im Vergleich zum gesunden Prostatagewebe erklären.

In der vorliegenden Arbeit ist es erstmals gelungen, ein Rattenmodell zu etablieren, welches dazu geeignet ist, sowohl mit quantitativer Analyse von dynamischen MRT-Daten als auch durch eine Blutvolumenbestimmung in der MRT mittels eines lang anhaltend intravasal verweilenden Kontrastmittels ein kleines, langsam gewachsenes, orthotopes Prostatakarzinom von gesundem Drüsengewebe der Prostata zu differenzieren.

Eine Anwendung der hier verwendeten MRT-Techniken beim Menschen könnte in Zukunft dazu dienen, die Differenzierung des Prostatakarzinoms gegenüber gesundem Prostatagewebe sowie seinen Differentialdiagnosen, wie der Prostatitis oder der benignen Prostatahyperplasie, zu verbessern.

## 8 SUMMARY

### **Functional imaging of the vascularization and perfusion of prostate cancer with dynamic MRI: Correlation with morphometric parameters**

Prostate cancer is still the most common malignant tumor in men in Western countries and the second most common cause of cancer death in men. Histological examination is currently the only method that enables early diagnosis of prostate cancer. Clinical examination, laboratory tests, and imaging techniques do not allow reliable differentiation of prostate cancer from normal prostate tissue or benign processes. The lack of a reliable diagnostic tool may lead to a false-negative histological diagnosis in some patients because suspicious areas are missed by prostate biopsy.

The aim of this study was to establish a rat model for the differentiation of slow-growing, orthotopically implanted prostate cancer from healthy prostate tissue by means of contrast-enhanced dynamic magnetic resonance imaging (MRI) on a 1.5-Tesla clinical whole-body scanner. Another aim was to test the capability of MRI in determining the blood volume of prostate cancer and healthy prostate tissue.

This is the first study that uses MRI to determine the perfusion parameters interstitial volume, permeability surface area product, normalized permeability, and relative blood volume in prostate cancer and healthy prostate tissue and correlates the results with histologic parameters of vascularization.

The tumor model successfully used in this study was the G-Dunning rat prostatic cancer. Tumors were induced in 17 Copenhagen rats by means of orthotopic implantation of  $1 \times 10^6$  tumor cells per animal. The MRI studies were performed 56 to 60 days after tumor cell implantation using unenhanced  $T_1$ -weighted SE and  $T_2$ -weighted TSE sequences and a contrast-enhanced  $T_1$ -weighted GRE sequence. Two contrast agents were used, an extravasating low-molecular-weight gadolinium-based contrast agent (gadodiamide) for dynamic studies and an iron oxide particle agent (VSOP-C 184) with a long intravascular residence time for blood volume determination. Following dynamic MRI, signal intensity-time curves were generated for tumor and healthy prostate tissue and quantitatively analyzed using a pharmacokinetic model. The relative blood volumes of tumor and healthy prostate tissue were determined from the ratio of the signal intensity increase after VSOP-C 184 administration and the signal intensity of whole blood. The tissue specimens for histologic and morphometric analysis of tumor and prostate tissue were prepared using H&E and modified Van Gieson stain without nuclear staining and labeling of the vascular endothelium with BSL I.



The unenhanced T<sub>2</sub>-weighted MR images depicted the tumors as low-signal-intensity areas relative to normal surrounding prostate tissue in all rats, which corresponds to the signal pattern of human prostate cancer. The mean tumor size determined on axial MR images was 10.93 mm<sup>2</sup> and highly correlated ( $r = 0.75$ ;  $p < 0.001$ ) with the results of the histological determined size. On contrast-enhanced dynamic MRI the tumors enhanced much earlier and more intensely than healthy prostate tissue. The interstitial volumes and permeability-surface area products of the tumors were significantly higher compared with normal prostate tissue (482 % and 439 %, respectively; both  $p < 0.001$ ). The interstitial volumes, which were determined in the present study for the first time using both MRI and histology, suggest that the diffusion pathways in healthy prostate tissue are too long for distribution of the MR contrast agent throughout the interstitial space. As a consequence, MRI markedly underestimates interstitial volume even if a contrast agent with pronounced extravasation is used. The results show that the higher permeability surface area product of prostate tumors compared with normal prostate tissue is due to increased perfusion secondary to an increased blood volume rather than an increased vessel permeability, as suggested by some investigators.

The relative tumor blood volumes determined by MRI and histologic examination were significantly higher than in healthy prostate tissue (1.71 % versus 0.69 % and 1.03 % versus 0.69 %, respectively). Analysis of vascular patterns revealed many small vessels in the tumor while there were fewer but larger vessels in the normal prostate. These patterns might suggest a higher proton exchange rate in prostate tumors and possibly explain the greater overestimation by MRI of the tumor blood volumes compared with normal prostate tissue.

This study for the first time established a rat model that can be used to differentiate slow-growing orthotopic prostate cancer from healthy prostate tissue by using quantitative analysis of dynamic MRI data as well as MRI blood volume determination following administration of a contrast agent with a long intravascular half-life.

The MRI technique investigated here might in the future improve the differentiation of prostate cancer from healthy prostate tissue and from the differential diagnosis of prostate cancer such as prostatitis or benign prostate hyperplasia in humans.

## 9 LITERATURVERZEICHNIS

Amersham (2002). Omniscan Datenblatt. A. H. Inc. Princeton, NJ 08540, USA.

Baish, J. W., Gazit, Y., Berk, D. A., Nozue, M., Baxter, L. T. und Jain, R. K. (1996). "Role of tumor vascular architecture in nutrient and drug delivery: an invasion percolation-based network model." *Microvasc Res* 51(3): 327-46.

Barentsz, J. O., Engelbrecht, M., Jager, G. J., Witjes, J. A., de LaRosette, J., van Der Sanden, B. P., Huisman, H. J. und Heerschap, A. (1999). "Fast dynamic gadolinium-enhanced MR imaging of urinary bladder and prostate cancer." *J Magn Reson Imaging* 10(3): 295-304.

Bartsch, G., Horninger, W., Klocker, H., Reissigl, A., Oberaigner, W., Schonitzer, D., Severi, G., Robertson, C. und Boyle, P. (2001). "Prostate cancer mortality after introduction of prostate-specific antigen mass screening in the Federal State of Tyrol, Austria." *Urology* 58(3): 417-24.

Belliveau, J. W., Rosen, B. R., Kantor, H. L., Rzedzian, R. R., Kennedy, D. N., McKinstry, R. C., Vevea, J. M., Cohen, M. S., Pykett, I. L. und Brady, T. J. (1990). "Functional cerebral imaging by susceptibility-contrast NMR." *Magn Reson Med* 14(3): 538-46.

Berner, A., Waere, H., Nesland, J. M., Paus, E., Danielsen, H. E. und Fossa, S. D. (1995). "DNA ploidy, serum prostate specific antigen, histological grade and immunohistochemistry as predictive parameters of lymph node metastases in T1-T3/M0 prostatic adenocarcinoma." *Br J Urol* 75(1): 26-32.

Bettencourt, M. C., Bauer, J. J., Sesterhenn, I. A., Connelly, R. R. und Moul, J. W. (1998). "CD34 immunohistochemical assessment of angiogenesis as a prognostic marker for prostate cancer recurrence after radical prostatectomy." *J Urol* 160(2): 459-65.

Beyersdorff, D., Taupitz, M., Winkelmann, B., Fischer, T., Lenk, S., Loening, S. A. und Hamm, B. (2002). "Patients with a history of elevated prostate-specific antigen levels and negative transrectal US-guided quadrant or sextant biopsy results: value of MR imaging." *Radiology* 224(3): 701-6.

Bhujwala, Z. M., Artemov, D., Natarajan, K., Ackerstaff, E. und Solaiyappan, M. (2001). "Vascular differences detected by MRI for metastatic versus nonmetastatic breast and prostate cancer xenografts." *Neoplasia* 3(2): 143-53.

Bloch, F., Hansen, W. W., et al. (1946). "Nuclear Induction." *Phys. Rev.* 69: 127.

Böcker, W., Kleihues, P., Höfler, H. K., Lax, S., Poremba, C. und Moll, R. (2004). *Allgemeine Tumorphathologie*. In: W. Böcker, H. Denk und P. U. Heitz: *Pathologie*. München, Urban & Fischer Verlag. 3. Auflage: 169-218.

Borre, M., Offersen, B. V., Nerstrom, B. und Overgaard, J. (1998). "Microvessel density predicts survival in prostate cancer patients subjected to watchful waiting." *Br J Cancer* 78(7): 940-4.

- Brasch, R., Pham, C., Shames, D., Roberts, T., van Dijke, K., van Bruggen, N., Mann, J., Ostrowitzki, S. und Melnyk, O. (1997). "Assessing tumor angiogenesis using macromolecular MR imaging contrast media." *J Magn Reson Imaging* 7(1): 68-74.
- Brix, G., Kiessling, F., Lucht, R., Darai, S., Wasser, K., Delorme, S. und Griebel, J. (2004). "Microcirculation and microvasculature in breast tumors: pharmacokinetic analysis of dynamic MR image series." *Magn Reson Med* 52(2): 420-9.
- Brown, G., Macvicar, D. A., Ayton, V. und Husband, J. E. (1995). "The role of intravenous contrast enhancement in magnetic resonance imaging of prostatic carcinoma." *Clin Radiol* 50(9): 601-6.
- Bruening, R., Kwong, K. K., Vevea, M. J., Hochberg, F. H., Cher, L., Harsh, G. R. t., Niemi, P. T., Weisskoff, R. M. und Rosen, B. R. (1996). "Echo-planar MR determination of relative cerebral blood volume in human brain tumors: T1 versus T2 weighting." *Am J Neuroradiol* 17(5): 831-40.
- Buckley, D. L., Roberts, C., Parker, G. J., Logue, J. P. und Hutchinson, C. E. (2004). "Prostate cancer: evaluation of vascular characteristics with dynamic contrast-enhanced T1-weighted MR imaging--initial experience." *Radiology* 233(3): 709-15.
- Cam, K., Yucel, S., Turkeri, L. und Akdas, A. (2002). "Accuracy of transrectal ultrasound guided prostate biopsy: histopathological correlation to matched prostatectomy specimens." *Int J Urol* 9(5): 257-60.
- Campbell, S. C. (1997). "Advances in angiogenesis research: relevance to urological oncology." *J Urol* 158(5): 1663-74.
- Catalona, W. J., Smith, D. S., Ratliff, T. L., Dodds, K. M., Coplen, D. E., Yuan, J. J., Petros, J. A. und Andriole, G. L. (1991). "Measurement of prostate-specific antigen in serum as a screening test for prostate cancer." *New Engl J Med* 324(17): 1156-61.
- Chandler, J. D. (1969). "Subroutine STEPIT: Finds local minima of a smooth function of several parameters." *Behav Science* 14: 81-82.
- Chang, C. A., Sieving, P. F., Watson, A. D., Dewey, T. M., Karpishin, T. B. und Raymond, K. N. (1992). "Ionic versus nonionic MR imaging contrast media: operational definitions." *J Magn Reson Imaging* 2(1): 95-8.
- Chaplin, D. J., Durand, R. E. und Olive, P. L. (1986). "Acute hypoxia in tumors: implications for modifiers of radiation effects." *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 12(8): 1279-82.
- Coakley, F. V., Kurhanewicz, J., Lu, Y., Jones, K. D., Swanson, M. G., Chang, S. D., Carroll, P. R. und Hricak, H. (2002). "Prostate cancer tumor volume: measurement with endorectal MR and MR spectroscopic imaging." *Radiology* 223(1): 91-7.
- Colombo, T., Schips, L., Augustin, H., Gruber, H., Hebel, P., Petritsch, P. H. und Hubmer, G. (1999). "Value of transrectal ultrasound in preoperative staging of prostate cancer." *Minerva-Urol-Nefrol* 51(1): 1-4.

- Cornud, F., Hamida, K., Flam, T., Helenon, O., Chretien, Y., Thiounn, N., Correas, J. M., Casanova, J. M. und Moreau, J. F. (2000). "Endorectal color doppler sonography and endorectal MR imaging features of nonpalpable prostate cancer: correlation with radical prostatectomy findings." *Am J Roentgenol* 175(4): 1161-8.
- Daldrup, H., Shames, D. M., Wendland, M., Okuhata, Y., Link, T. M., Rosenau, W., Lu, Y. und Brasch, R. C. (1998). "Correlation of dynamic contrast-enhanced MR imaging with histologic tumor grade: comparison of macromolecular and small-molecular contrast media." *Am J Roentgenol* 171(4): 941-9.
- Dang, C. V. und Semenza, G. L. (1999). "Oncogenic alterations of metabolism." *Trends Biochem Sci* 24(2): 68-72.
- de la Taille, A., Katz, A. E., Bagiella, E., Buttyan, R., Sharir, S., Olsson, C. A., Burchardt, T., Ennis, R. D. und Rubin, M. A. (2000). "Microvessel density as a predictor of PSA recurrence after radical prostatectomy. A comparison of CD34 and CD31." *Am J Clin Pathol* 113(4): 555-62.
- Degani, H., Gusic, V., Weinstein, D., Fields, S. und Strano, S. (1997). "Mapping pathophysiological features of breast tumors by MRI at high spatial resolution." *Nat Med* 3(7): 780-2.
- den Boer, J. A., Hoenderop, R. K., Smink, J., Dornseiffen, G., Koch, P. W., Mulder, J. H., Slump, C. H., Volker, E. D. und de Vos, R. A. (1997). "Pharmacokinetic analysis of Gd-DTPA enhancement in dynamic three-dimensional MRI of breast lesions." *J Magn Reson Imaging* 7(4): 702-15.
- Denekamp, J. (1993). "Review article: angiogenesis, neovascular proliferation and vascular pathophysiology as targets for cancer therapy." *Br J Radiol* 66(783): 181-96.
- Dennis, L. K. und Resnick, M. I. (2000). "Analysis of recent trends in prostate cancer incidence and mortality." *Prostate* 42(4): 247-52.
- Dethlefsen, L. A., Prewitt, J. M. und Mendelsohn, M. L. (1968). "Analysis of tumor growth curves." *J Natl Cancer Inst* 40(2): 389-405.
- Dohm, G. (1991). Tumoren der Prostata. In: W. Doerr und G. Seifert: *Spezielle pathologische Anatomie Bd. 21: Pathologie des männlichen Genitale*. Berlin, Springer-Verlag: 525-621.
- Donahue, K. M., Weisskoff, R. M., Parmelee, D. J., Callahan, R. J., Wilkinson, R. A., Mandeville, J. B. und Rosen, B. R. (1995). "Dynamic Gd-DTPA enhanced MRI measurement of tissue cell volume fraction." *Magn Reson Med* 34(3): 423-32.
- Drees, R. (2004). "Peripheres Washout am Colocarzinom CC531 der Ratte: Vergleichende Untersuchung durch Magnetresonanztomographie, interstitielle Druckmessung und Histologie". *Vet med Dissertation, Freie Universität Berlin*.

- Durkan, G. C. und Greene, D. R. (2000). "Diagnostic dilemmas in detection of prostate cancer in patients undergoing transrectal ultrasound-guided needle biopsy of the prostate." *Prostate Cancer Prostatic Dis* 3(1): 13-20.
- Edelmann, R. R., J., K., Wentz, K. U. und Atkinson, D. J. (1990). *Basic Principles of Magnetic Resonance Imaging*. In: R. R. Edelmann und J. R. Hesselink: *Clinical Magnetic Resonance Imaging*. Philadelphia, Saunders. 10-12.
- el-Gabry, E. A., Halpern, E. J., Strup, S. E. und Gomella, L. G. (2001). "Imaging prostate cancer: current and future applications." *Oncology (Williston Park)* 15(3): 325-36.
- Ellis, W. J. und Brawer, M. K. (1995). "Repeat prostate needle biopsy: who needs it?" *J Urol* 153(5): 1496-8.
- Engelbrecht, M. R., Huisman, H. J., Laheij, R. J., Jager, G. J., van Leenders, G. J., Hulsbergen-Van De Kaa, C. A., de la Rosette, J. J., Blickman, J. G. und Barentsz, J. O. (2003). "Discrimination of prostate cancer from normal peripheral zone and central gland tissue by using dynamic contrast-enhanced MR imaging." *Radiology* 229(1): 248-54.
- Fan, X., Medved, M., Foxley, S., River, J. N., Zamora, M., Karczmar, G. S., Corot, C., Robert, P. und Bourrinet, P. (2006). "Multi-slice DCE-MRI data using P760 distinguishes between metastatic and non-metastatic rodent prostate tumors." *Magma* 19(1): 15-21.
- Fan, X., Medved, M., River, J. N., Zamora, M., Corot, C., Robert, P., Bourrinet, P., Lipton, M., Culp, R. M. und Karczmar, G. S. (2004). "New model for analysis of dynamic contrast-enhanced MRI data distinguishes metastatic from nonmetastatic transplanted rodent prostate tumors." *Magn Reson Med* 51(3): 487-94.
- Folkman, J. (1985). "Tumor angiogenesis." *Adv Cancer Res* 43: 175-203.
- Folkman, J., Watson, K., Ingber, D. und Hanahan, D. (1989). "Induction of angiogenesis during the transition from hyperplasia to neoplasia." *Nature* 339(6219): 58-61.
- Forsberg, F., Merton, D. A., Liu, J. B., Needleman, L. und Goldberg, B. B. (1998). "Clinical applications of ultrasound contrast agents." *Ultrasonics* 36(1-5): 695-701.
- Frauscher, F., Pallwein, L., Klauser, A., Berger, A. P., Koppelstaetter, F., Gradl, J., Schurich, M., Bektic, J., Pinggera, G. M., Halpern, E. J., Horninger, W., Bartsch, G. und Zur Nedden, D. (2005). "Ultrasound contrast agents and prostate cancer." *Radiologe* 45(6): 544-51.
- Gazit, Y., Berk, D. A., Leunig, M., Baxter, L. T. und Jain, R. K. (1995). "Scale-invariant behavior and vascular network formation in normal and tumor tissue." *Physical Review Letters* 75(12): 2428-2431.
- Gerlowski, L. E. und Jain, R. K. (1986). "Microvascular permeability of normal and neoplastic tissues." *Microvasc Res* 31(3): 288-305.

- Gleason, D. F. (1966). "Classification of prostatic carcinomas." *Cancer Chemother Rep.* 50(3): 125-28
- Gleason, D. F. und Mellinger, G. T. (1974). "Prediction of prognosis for prostatic adenocarcinoma by combined histological grading and clinical staging." *J Urol* 111(1): 58-64.
- Gossmann, A., Okuhata, Y., Shames, D. M., Helbich, T. H., Roberts, T. P., Wendland, M. F., Huber, S. und Brasch, R. C. (1999). "Prostate cancer tumor grade differentiation with dynamic contrast-enhanced MR imaging in the rat: comparison of macromolecular and small-molecular contrast media--preliminary experience." *Radiology* 213(1): 265-72.
- Greene, D. R., Egawa, S., Neerhut, G., Flanagan, W., Wheeler, T. M. und Scardino, P. T. (1991). "The distribution of residual cancer in radical prostatectomy specimens in stage A prostate cancer." *J Urol* 145(2): 324-8.
- Groebe, K. und Vaupel, P. (1988). "Evaluation of oxygen diffusion distances in human breast cancer xenografts using tumor-specific in vivo data: role of various mechanisms in the development of tumor hypoxia." *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 15(3): 691-7.
- Hammersen, F., Endrich, B. und Messmer, K. (1985). "The fine structure of tumor blood vessels. I. Participation of non-endothelial cells in tumor angiogenesis." *Int J Microcirc Clin Exp* 4(1): 31-43.
- Haroon, H. A., Buckley, D. L., Patankar, T. A., Dow, G. R., Rutherford, S. A., Baleriaux, D. und Jackson, A. (2004). "A comparison of Ktrans measurements obtained with conventional and first pass pharmacokinetic models in human gliomas." *J Magn Reson Imaging* 19(5): 527-36.
- Haustermans, K., Hofland, I., Van de Pavert, L., Geboes, K., Varia, M., Raleigh, J. und Begg, A. C. (2000). "Diffusion limited hypoxia estimated by vascular image analysis: comparison with pimonidazole staining in human tumors." *Radiother Oncol* 55(3): 325-33.
- Hebel, R. und Stromberg, M. W. (1986). *Anatomy and Embryology of the Laboratory Rat.* Wörthsee, BioMed Verlag.
- Heckmann, B. (1978). "Anatomie, Histologie und Embryologie der akzessorischen Geschlechtsdrüsen bei Ratte und Maus". *Vet med Dissertation, Tierärztliche Hochschule Hannover.*
- Henderson, E., Rutt, B. K. und Lee, T. Y. (1998). "Temporal sampling requirements for the tracer kinetics modeling of breast disease." *Magn Reson Imaging* 16(9): 1057-73.
- Hricak, H., White, S., Vigneron, D., Kurhanewicz, J., Kosco, A., Levin, D., Weiss, J., Narayan, P. und Carroll, P. R. (1994). "Carcinoma of the prostate gland: MR imaging with pelvic phased-array coils versus integrated endorectal--pelvic phased-array coils." *Radiology* 193(3): 703-9.

- Huisman, H. J., Engelbrecht, M. R. und Barentsz, J. O. (2001). "Accurate estimation of pharmacokinetic contrast-enhanced dynamic MRI parameters of the prostate." *J Magn Reson Imaging* 13(4): 607-14.
- Hunter, G. J., Hamberg, L. M., Choi, N., Jain, R. K., McCloud, T. und Fischman, A. J. (1998). "Dynamic T1-weighted magnetic resonance imaging and positron emission tomography in patients with lung cancer: correlating vascular physiology with glucose metabolism." *Clin Cancer Res* 4(4): 949-55.
- Ikonen, S., Kivisaari, L., Tervahartiala, P., Vehmas, T., Taari, K. und Rannikko, S. (2001). "Prostatic MR imaging. Accuracy in differentiating cancer from other prostatic disorders." *Acta Radiol* 42(4): 348-54.
- Isaacs, J. T. und Hukku, B. (1988). "Nonrandom involvement of chromosome 4 in the progression of rat prostatic cancer." *Prostate* 13(2): 165-88.
- Isaacs, J. T., Isaacs, W. B., Feitz, W. F. und Scheres, J. (1986). "Establishment and characterization of seven Dunning rat prostatic cancer cell lines and their use in developing methods for predicting metastatic abilities of prostatic cancers." *Prostate* 9(3): 261-81.
- Jager, G. J., Ruijter, E. T., van de Kaa, C. A., de la Rosette, J. J., Oosterhof, G. O., Thornbury, J. R., Ruijs, S. H. und Barentsz, J. O. (1997). "Dynamic TurboFLASH subtraction technique for contrast-enhanced MR imaging of the prostate: correlation with histopathologic results." *Radiology* 203(3): 645-52.
- Jain, R. K. (1987). "Transport of molecules across tumor vasculature." *Cancer Metastasis Rev* 6(4): 559-93.
- Jain, R. K. (1988). "Determinants of tumor blood flow: a review." *Cancer Res* 48(10): 2641-58.
- Jain, R. K. (1991). "Therapeutic implications of tumor physiology." *Curr Opin Oncol* 3(6): 1105-8.
- Jain, R. K. (1994). "Barriers to drug delivery in solid tumors." *Sci Am* 271(1): 58-65.
- Johnson, G., Wetzel, S. G., Cha, S., Babb, J. und Tofts, P. S. (2004). "Measuring blood volume and vascular transfer constant from dynamic, T(2)\*-weighted contrast-enhanced MRI." *Magn Reson Med* 51(5): 961-8.
- Keetch, D. W., Catalona, W. J. und Smith, D. S. (1994). "Serial prostatic biopsies in men with persistently elevated serum prostate specific antigen values." *J Urol* 151(6): 1571-4.
- Kershaw, L.E. und Buckley, D.L. (2006). "Precision in Measurements of Perfusion and Microvascular Permeability With T1-Weighted Dynamic Contrast-Enhanced MRI." *Magn Reson Med* 56(5): 986-92.

- Kety, S. S., Axel, L. und Hoop, B. (1995). "Principles of conventional techniques. Diffusion and Perfusion Magnetic Resonance Imaging." L. Bihan-D. New York, Raven Press: 201-215.
- Kiessling, F., Huber, P. E., Grobholz, R., Heilmann, M., Meding, J., Lichy, M. P., Fink, C., Krix, M., Peschke, P. und Schlemmer, H. P. (2004a). "Dynamic magnetic resonance tomography and proton magnetic resonance spectroscopy of prostate cancers in rats treated by radiotherapy." *Invest Radiol* 39(1): 34-44.
- Kiessling, F., Lichy, M., Grobholz, R., Farhan, N., Heilmann, M., Michel, M. S., Trojan, L., Werner, A., Rabe, J., Delorme, S., Kauczor, H. U. und Schlemmer, H. P. (2003a). "Detection of prostate carcinomas with T1-weighted dynamic contrast-enhanced MRI. Value of two-compartment model." *Radiologe* 43(6): 474-80.
- Kiessling, F., Lichy, M., Grobholz, R., Heilmann, M., Farhan, N., Michel, M. S., Trojan, L., Ederle, J., Abel, U., Kauczor, H. U., Semmler, W. und Delorme, S. (2004b). "Simple models improve the discrimination of prostate cancers from the peripheral gland by T1-weighted dynamic MRI." *Eur Radiol* 14(10): 1793-801.
- Kiessling, F., Lichy, M., Grobholz, R., Heilmann, M., Huber, P. E., Meding, J., Peschke, P., Kauczor, H. U. und Schlemmer, H. P. (2003b). "Hemodynamic and metabolic characterization of orthotopic rat prostate carcinomas using dynamic MRI and proton magnetic resonance spectroscopy." *Radiologe* 43(6): 489-94.
- Killion, J. J., Radinsky, R. und Fidler, I. J. (1998). "Orthotopic models are necessary to predict therapy of transplantable tumors in mice." *Cancer Metastasis Rev* 17(3): 279-84.
- Koenig, S. H., Spiller, M., Brown, R. D., 3rd und Wolf, G. L. (1986). "Relaxation of water protons in the intra- and extracellular regions of blood containing Gd(DTPA)." *Magn Reson Med* 3(5): 791-5.
- Komárek, V., Gemhardt, C., Krinke, A., Mahrous, T. und Schaetti, P. (2000). Synopsis of the Organ Anatomy - Prostate gland. In: G. J. Krinke: *The Laboratory Rat*. London, San Diego, Academic Press: 307.
- Kozlowski, P., Chang, S. D., Jones, E. C., Berean, K. W., Chen, H. und Goldenberg, S. L. (2006). "Combined diffusion-weighted and dynamic contrast-enhanced MRI for prostate cancer diagnosis--correlation with biopsy and histopathology." *J Magn Reson Imaging* 24(1): 108-13.
- Kuhl, C. K., Mielcareck, P., Klaschik, S., Leutner, C., Wardelmann, E., Gieseke, J. und Schild, H. H. (1999). "Dynamic breast MR imaging: are signal intensity time course data useful for differential diagnosis of enhancing lesions?" *Radiology* 211(1): 101-10.
- Kuhl, C. K., Schild, H. H. und Morakkabati, N. (2005). "Dynamic bilateral contrast-enhanced MR imaging of the breast: trade-off between spatial and temporal resolution." *Radiology* 236(3): 789-800.



- Kurhanewicz, J., Swanson, M. G., Nelson, S. J. und Vigneron, D. B. (2002). "Combined magnetic resonance imaging and spectroscopic imaging approach to molecular imaging of prostate cancer." *J Magn Reson Imaging* 16(4): 451-63.
- Lam, J. S. und Reiter, R. E. (2006). "Stem cells in prostate and prostate cancer development." *Urol Oncol* 24(2): 131-40.
- Larsson, H. B., Rosenbaum, S. und Fritz-Hansen, T. (2001). "Quantification of the effect of water exchange in dynamic contrast MRI perfusion measurements in the brain and heart." *Magn Reson Med* 46(2): 272-81.
- Lauffer, R. B. (1990). "Magnetic resonance contrast media: principles and progress." *Magn Reson Q* 6(2): 65-84.
- Lauterbur, P. C. (1973). "Image formation by induced local interactions: Examples employing nuclear magnetic resonance." *Nature* 242: 190-191.
- Lee, T. Y., Purdie, T. G. und Stewart, E. (2003). "CT imaging of angiogenesis." *Q J Nucl Med* 47(3): 171-87.
- Leichtweiß, H.-P. (1996). Sexualfunktionen, Schwangerschaft und Geburt. In: R. Klinke und S. Silbernagl: *Lehrbuch der Physiologie*. Stuttgart, Georg Thieme Verlag. 485-508.
- Less, J. R., Skalak, T. C., Sevick, E. M. und Jain, R. K. (1991). "Microvascular architecture in a mammary carcinoma: branching patterns and vessel dimensions." *Cancer Res* 51(1): 265-73.
- Li, K. L. und Jackson, A. (2003a). "New hybrid technique for accurate and reproducible quantitation of dynamic contrast-enhanced MRI data." *Magn Reson Med* 50(6): 1286-95.
- Li, K. L., Zhu, X. P., Checkley, D. R., Tessier, J. J., Hillier, V. F., Waterton, J. C. und Jackson, A. (2003b). "Simultaneous mapping of blood volume and endothelial permeability surface area product in gliomas using iterative analysis of first-pass dynamic contrast enhanced MRI data." *Br J Radiol* 76(901): 39-50.
- Li, K. L., Zhu, X. P., Waterton, J. und Jackson, A. (2000). "Improved 3D quantitative mapping of blood volume and endothelial permeability in brain tumors." *J Magn Reson Imaging* 12(2): 347-57.
- Louvar, E., Littrup, P. J., Goldstein, A., Yu, L., Sakr, W. und Grignon, D. (1998). "Correlation of color Doppler flow in the prostate with tissue microvascularity." *Cancer* 83(1): 135-40.
- Lovett, K., Rifkin, M. D., McCue, P. A. und Choi, H. (1992). "MR imaging characteristics of noncancerous lesions of the prostate." *J Magn Reson Imaging* 2(1): 35-9.
- Lubaroff, D. M., Canfield, L. und Reynolds, C. W. (1980). "The Dunning tumors." *Prog Clin Biol Res* 37: 243-63.

- Luboldt, H.-J. und Rübben, H. (2004). "Früherkennung des Prostatakarzinoms." Deutsches Ärzteblatt (101): 1443-45.
- Lucia, M. S., Bostwick, D. G., Bosland, M., Cockett, A. T., Knapp, D. W., Leav, I., Pollard, M., Rinker-Schaeffer, C., Shirai, T. und Watkins, B. A. (1998). "Workgroup I: rodent models of prostate cancer." Prostate 36(1): 49-55.
- Lüdemann, L. (2006). Persönliche Mitteilung; Charité - Universitätsmedizin Berlin, CVK. Berlin.
- Ludemann, L., Hamm, B. und Zimmer, C. (2000). "Pharmacokinetic analysis of glioma compartments with dynamic Gd-DTPA-enhanced magnetic resonance imaging." Magn Reson Imaging 18(10): 1201-14.
- Lüdemann, L., Wurm, R. und Zimmer, C. (2002). "Pharmacokinetic modeling of Gd-DTPA extravasation in brain tumors." Invest Radiol 37(10): 562-70.
- Martincich, L., Montemurro, F., De Rosa, G., Marra, V., Ponzzone, R., Cirillo, S., Gatti, M., Biglia, N., Sarotto, I., Sismondi, P., Regge, D. und Aglietta, M. (2004). "Monitoring response to primary chemotherapy in breast cancer using dynamic contrast-enhanced magnetic resonance imaging." Breast Cancer Res Treat 83(1): 67-76.
- Maurer, H. (2003). Becken, Pelvis, Beckenhöhle, Cavitas Pelvis. In: J. Fanghänel, F. Pera, F. Anderhuber und R. Nitsch: Waldeyer, Anatomie des Menschen. Berlin, Walter de Gruyter GmbH & Co. KG: 1027-1218.
- McNeal, J. E., Bostwick, D. G., Kindrachuk, R. A., Redwine, E. A., Freiha, F. S. und Stamey, T. A. (1986). "Patterns of progression in prostate cancer." Lancet 1(8472): 60-3.
- Mehta, R., Kyshtoobayeva, A., Kurosaki, T., Small, E. J., Kim, H., Stroup, R., McLaren, C. E., Li, K. T. und Fruehauf, J. P. (2001). "Independent association of angiogenesis index with outcome in prostate cancer." Clin Cancer Res 7(1): 81-8.
- Miller, G. J. und Cygan, J. M. (1994). "Morphology of prostate cancer: the effects of multifocality on histological grade, tumor volume and capsule penetration." J-Urol 152(5 Pt 2).
- Mirowitz, S. A., Brown, J. J. und Heiken, J. P. (1993). "Evaluation of the prostate and prostatic carcinoma with gadolinium-enhanced endorectal coil MR imaging." Radiology 186(1): 153-7.
- Morneburg, H. (1995). Bildgebende Systeme für die medizinische Diagnostik. Erlangen, Publics MDC Verlag.
- Mueller-Lisse, U. G. und Scherr, M. (2003). "1H magnetic resonance spectroscopy of the prostate." Radiologe 43(6): 481-8.

- Muramoto, S., Uematsu, H., Kimura, H., Ishimori, Y., Sadato, N., Oyama, N., Matsuda, T., Kawamura, Y., Yonekura, Y., Okada, K., Itoh, H. (2002). "Differentiation of prostate cancer from benign prostate hypertrophy using dual-echo dynamic contrast MR imaging." *Eur J Radiol* 44(1): 52-8.
- Naik, K. S. und Carey, B. M. (1999). "The transrectal ultrasound and MRI appearances of granulomatous prostatitis and its differentiation from carcinoma." *Clin Radiol* 54(3): 173-5.
- Namimoto, T., Morishita, S., Saitoh, R., Kudoh, J., Yamashita, Y. und Takahashi, M. (1998). "The value of dynamic MR imaging for hypointensity lesions of the peripheral zone of the prostate." *Comput Med Imaging Graph* 22(3): 239-45.
- Nicholson, C., Chen, K. C., Hrabetova, S. und Tao, L. (2000). "Diffusion of molecules in brain extracellular space: theory and experiment." *Prog Brain Res* 125: 129-54.
- Nicolas, V., Beese, M., Keulers, A., Bressel, M., Kastendieck, H. und Huland, H. (1994). "MR tomography in prostatic carcinoma: comparison of conventional and endorectal MRT." *Röfo* 161(4): 319-26.
- Noworolski, S. M., Henry, R. G., Vigneron, D. B. und Kurhanewicz, J. (2005). "Dynamic contrast-enhanced MRI in normal and abnormal prostate tissues as defined by biopsy, MRI, and 3D MRSI." *Magn Reson Med* 53(2): 249-55.
- Nycomed (1994). *Omniscan - Das nicht ionische Kontrastmittel für die MRT*. München, Nycomed Arzneimittel GmbH München.
- Offersen, B. V., Borre, M. und Overgaard, J. (1998). "Immunohistochemical determination of tumor angiogenesis measured by the maximal microvessel density in human prostate cancer." *Apmis* 106(4): 463-9.
- Ogura, K., Maekawa, S., Okubo, K., Aoki, Y., Okada, T., Oda, K., Watanabe, Y., Tsukayama, C. und Arai, Y. (2001). "Dynamic endorectal magnetic resonance imaging for local staging and detection of neurovascular bundle involvement of prostate cancer: correlation with histopathologic results." *Urology* 57(4): 721-6.
- Okuhata, Y., Brasch, R. C., Pham, C. D., Daldrup, H., Wendland, M. F., Shames, D. M. und Roberts, T. P. (1999). "Tumor blood volume assays using contrast-enhanced magnetic resonance imaging: regional heterogeneity and postmortem artifacts." *J Magn Reson Imaging* 9(5): 685-90.
- Oyen, R. H. (2003). "Dynamic contrast-enhanced MRI of the prostate: is this the way to proceed for characterization of prostatic carcinoma?" *Eur Radiol* 13(5): 921-4.
- Padhani, A. R., Gapinski, C. J., Macvicar, D. A., Parker, G. J., Suckling, J., Revell, P. B., Leach, M. O., Dearnaley, D. P. und Husband, J. E. (2000). "Dynamic contrast enhanced MRI of prostate cancer: correlation with morphology and tumour stage, histological grade and PSA." *Clin Radiol* 55(2): 99-109.

- Padhani, A. R., MacVicar, D. A., Gapinski, C. J., Dearnaley, D. P., Parker, G. J., Suckling, J., Leach, M. O. und Husband, J. E. (2001). "Effects of androgen deprivation on prostatic morphology and vascular permeability evaluated with mr imaging." *Radiology* 218(2): 365-74.
- Pathak, A. P., Artemov, D., Ward, B. D., Jackson, D. G., Neeman, M. und Bhujwala, Z. M. (2005). "Characterizing extravascular fluid transport of macromolecules in the tumor interstitium by magnetic resonance imaging." *Cancer Res* 65(4): 1425-32.
- Pelzer, A., Bektic, J., Berger, A. P., Pallwein, L., Halpern, E. J., Horninger, W., Bartsch, G. und Frauscher, F. (2005). "Prostate cancer detection in men with prostate specific antigen 4 to 10 ng/ml using a combined approach of contrast enhanced color Doppler targeted and systematic biopsy." *J Urol* 173(6): 1926-9.
- Perrotti, M., Han, K. R., Epstein, R. E., Kennedy, E. C., Rabbani, F., Badani, K., Pantuck, A. J., Weiss, R. E. und Cummings, K. B. (1999). "Prospective evaluation of endorectal magnetic resonance imaging to detect tumor foci in men with prior negative prostatic biopsy: a pilot study." *J Urol* 162(4): 1314-7.
- Pham, C. D., Roberts, T. P., van Bruggen, N., Melnyk, O., Mann, J., Ferrara, N., Cohen, R. L., Brasch, R. C. (1998). "Magnetic resonance imaging detects suppression of tumor vascular permeability after administration of antibody to vascular endothelial growth factor." *Cancer Invest* 16(4): 225-30.
- Philip, J., Ragavan, N., Desouza, J., Foster, C. S. und Javle, P. (2004). "Effect of peripheral biopsies in maximising early prostate cancer detection in 8-, 10- or 12-core biopsy regimens." *BJU Int* 93(9): 1218-20.
- Preda, A., Novikov, V., Moglich, M., Floyd, E., Turetschek, K., Shames, D. M., Roberts, T. P., Corot, C., Carter, W. O. und Brasch, R. C. (2005). "Magnetic resonance characterization of tumor microvessels in experimental breast tumors using a slow clearance blood pool contrast agent (carboxymethyldextran-A2-Gd-DOTA) with histopathological correlation." *Eur Radiol* 15(11): 2268-75.
- Preda, A., Novikov, V., Moglich, M., Turetschek, K., Shames, D. M., Brasch, R. C., Cavagna, F. M. und Roberts, T. P. (2004). "MRI monitoring of Avastin antiangiogenesis therapy using B22956/1, a new blood pool contrast agent, in an experimental model of human cancer." *J Magn Reson Imaging* 20(5): 865-73.
- Presti, J. C., Jr. (2003). "Prostate biopsy: how many cores are enough?" *Urol Oncol* 21(2): 135-40.
- Preziosi, P., Orlacchio, A., Di Giambattista, G., Di Renzi, P., Bortolotti, L., Fabiano, A., Cruciani, E. und Pasqualetti, P. (2003). "Enhancement patterns of prostate cancer in dynamic MRI." *Eur Radiol* 13(5): 925-30.
- Prochnow, D., Beyersdorff, D., Warmuth, C., Taupitz, M., Gemeinhardt, O. und Ludemann, L. (2005). "Implementation of a rapid inversion-prepared dual-contrast gradient echo sequence for quantitative dynamic contrast-enhanced magnetic resonance imaging of the human prostate." *Magn Reson Imaging* 23(10): 983-90.

- Purcell, E. M., Torrey, H. C., et al. (1946). "Resonance absorption by nuclear magnetic moments in a solid." *Phys. Rev.* 69: 37-38.
- Quint, L. E., Van Erp, J. S., Bland, P. H., Del Buono, E. A., Mandell, S. H., Grossman, H. B. und Gikas, P. W. (1991). "Prostate cancer: correlation of MR images with tissue optical density at pathologic examination." *Radiology* 179(3): 837-42.
- Riede, U.-N., Böcking, A. und Böhm, N. (2004a). Männliches Genitalsystem. In: U.-N. Riede, M. Werner und H.-E. Schäfer: *Allgemeine und spezielle Pathologie*. 5. komplett überarbeitete Auflage. Stuttgart, Georg Thieme Verlag. 912-940.
- Riede, U.-N., Walch, A. und Wiestler, O. D. (2004b). Störungen des Zellwachstums. In: U.-N. Riede, M. Werner und H.-E. Schäfer: *Allgemeine und spezielle Pathologie*. 5. komplett überarbeitete Auflage. Stuttgart, Georg Thieme Verlag. 329-384.
- Rifkin, M. D., Zerhouni, E. A., Gatsonis, C. A., Quint, L. E., Paushter, D. M., Epstein, J. I., Hamper, U., Walsh, P. C. und McNeil, B. J. (1990). "Comparison of magnetic resonance imaging and ultrasonography in staging early prostate cancer. Results of a multi-institutional cooperative trial." *New Engl J Med* 323(10): 621-6.
- Robert Koch-Institut (2006). *Krebs in Deutschland, Häufigkeiten und Trends*. Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e.V. und R. K. Institut. Saarbrücken: 68.
- Roehl, K. A., Antenor, J. A. und Catalona, W. J. (2002). "Serial biopsy results in prostate cancer screening study." *J Urol* 167(6): 2435-9.
- Rohen und Lütjen-Decroll (2006). *Fortpflanzungsorgane*. In: Rohen und Lütjen-Decroll: *Funktionelle Anatomie des Menschen*. Stuttgart, Schattauer GmbH: 213-230.
- Romeis, B. (1989a). *Mikroskopische Technik*. 17., neu bearbeitete Auflage. München-Wien-Baltimore, Urban und Schwarzenberg. 75-76.
- Romeis, B. (1989b). *Mikroskopische Technik*. 17., neu bearbeitete Auflage. München-Wien-Baltimore, Urban und Schwarzenberg. 235-36.
- Roschmann, P. (1987). "Radiofrequency penetration and absorption in the human body: limitations to high-field whole-body nuclear magnetic resonance imaging." *Med Phys* 14(6): 922-31.
- Rosen, B. R., Belliveau, J. W. und Chien, D. (1989). "Perfusion imaging by nuclear magnetic resonance." *Magn Reson Q* 5(4): 263-81.
- Rosen, B. R., Belliveau, J. W., Vevea, J. M. und Brady, T. J. (1990). "Perfusion imaging with NMR contrast agents." *Magn Reson Med* 14(2): 249-65.

- Rouviere, O., Raudrant, A., Ecochard, R., Colin-Pangaud, C., Pasquiou, C., Bouvier, R., Marechal, J. M. und Lyonnet, D. (2003). "Characterization of time-enhancement curves of benign and malignant prostate tissue at dynamic MR imaging." *Eur Radiol* 13(5): 931-42.
- Rumor, D. (1996). "Eisenoxidpartikel als Kontrastmittel in der Magnet-Resonanz-Tomographie: In vitro- und in vivo-Untersuchungen zur Abhängigkeit der bildgebenden Eigenschaften von der Konzentration und der Partikelgröße." Med Dissertation, Freie Universität Berlin.
- Sakr, W. A., Haas, G. P., Cassin, B. F., Pontes, J. E. und Crissman, J. D. (1993). "The frequency of carcinoma and intraepithelial neoplasia of the prostate in young male patients." *J Urol* 150(2 Pt 1): 379-85.
- Scheidler, J., Hricak, H., Vigneron, D. B., Yu, K. K., Sokolov, D. L., Huang, L. R., Zaloudek, C. J., Nelson, S. J., Carroll, P. R. und Kurhanewicz, J. (1999). "Prostate cancer: localization with three-dimensional proton MR spectroscopic imaging--clinicopathologic study." *Radiology* 213(2): 473-80.
- Schellenberger, E. (2006). Persönliche Mitteilung; Charité - Universitätsmedizin Berlin, CCM. Berlin.
- Schiebler, M. L., Schnall, M. D., Pollack, H. M., Lenkinski, R. E., Tomaszewski, J. E., Wein, A. J., Whittington, R., Rauschnig, W. und Kressel, H. Y. (1993). "Current role of MR imaging in the staging of adenocarcinoma of the prostate." *Radiology* 189(2): 339-52.
- Schiebler, M. L., Tomaszewski, J. E., Bezzi, M., Pollack, H. M., Kressel, H. Y., Cohen, E. K., Altman, H. G., Gefter, W. B., Wein, A. J. und Axel, L. (1989). "Prostatic carcinoma and benign prostatic hyperplasia: correlation of high-resolution MR and histopathologic findings." *Radiology* 172(1): 131-7.
- Schild, H. H. (1997). MRI made easy. Berlin, Schering AG.
- Schlemmer, H. P., Merkle, J., Grobholz, R., Jaeger, T., Michel, M. S., Werner, A., Rabe, J. und van Kaick, G. (2004). "Can pre-operative contrast-enhanced dynamic MR imaging for prostate cancer predict microvessel density in prostatectomy specimens?" *Eur Radiol* 14(2): 309-17.
- Schnorr, J., Wagner, S., Abramjuk, C., Drees, R., Schink, T., Schellenberger, E. A., Pilgrimm, H., Hamm, B. und Taupitz, M. (2006). "Focal liver lesions: SPIO-, gadolinium-, and ferucarbotran-enhanced dynamic T1-weighted and delayed T2-weighted MR imaging in rabbits." *Radiology* 240(1): 90-100.
- Schnorr, J., Wagner, S., Abramjuk, C., Wojner, I., Schink, T., Kroencke, T. J., Schellenberger, E., Hamm, B., Pilgrimm, H. und Taupitz, M. (2004). "Comparison of the iron oxide-based blood-pool contrast medium VSOP-C184 with gadopentetate dimeglumine for first-pass magnetic resonance angiography of the aorta and renal arteries in pigs." *Invest Radiol* 39(9): 546-53.

- Schnorr, J., Wagner, S., Pilgrimm, H., Hamm, B. und Taupitz, M. (2002). "Preclinical characterization of monomer-stabilized very small superparamagnetic iron oxide particles (VSOP) as a blood pool contrast medium for MR angiography." *Acad Radiol* 9 Suppl 2: S307-9.
- Schwickert, H. C., Stiskal, M., van Dijke, C. F., Roberts, T. P., Mann, J. S., Demsar, F. und Brasch, R. C. (1995). "Tumor angiography using high-resolution, three-dimensional magnetic resonance imaging: comparison of gadopentetate dimeglumine and a macromolecular blood-pool contrast agent." *Acad Radiol* 2(10): 851-8.
- Semmler, W. und Reiser, M. (2002). Einleitung. In: M. Reiser und W. Semmler: *Magnetresonanztomographie*. Berlin, Springer-Verlag. 1.
- Sgrignoli, A. R., Walsh, P. C., Steinberg, G. D., Steiner, M. S. und Epstein, J. I. (1994). "Prognostic factors in men with stage D1 prostate cancer: identification of patients less likely to have prolonged survival after radical prostatectomy." *J Urol* 152(4): 1077-81.
- Shamsi, K., Yucel, E. K. und Chamberlin, P. (2006). "A Summary of safety of gadofosveset (MS-325) at 0.03 mmol/kg body weight dose: Phase II and Phase III clinical trials data." *Invest Radiol* 41(11): 822-30.
- Siegal, J. A., Yu, E. und Brawer, M. K. (1995). "Topography of neovascularity in human prostate carcinoma." *Cancer* 75(10): 2545-51.
- Silberman, M. A., Partin, A. W., Veltri, R. W. und Epstein, J. I. (1997). "Tumor angiogenesis correlates with progression after radical prostatectomy but not with pathologic stage in Gleason sum 5 to 7 adenocarcinoma of the prostate." *Cancer* 79(4): 772-9.
- Sommer, F. G., Nghiem, H. V., Herfkens, R. und McNeal, J. (1993). "Gadolinium-enhanced MRI of the abnormal prostate." *Magn Reson Imaging* 11(7): 941-8.
- Stanka, M., Eltze, E., Semjonow, A., Sievert, K. D., Maier, A. und Pfeleiderer, B. (2000). "Spectroscopic imaging (1H-2D-CSI) of the prostate: sequence optimization and correlation with histopathological results." *Röfo Fortschr Geb Röntgenstr Neuen Bildgeb Verfahr* 172(7): 623-9.
- Stark, D. D. und Bradley, W. G. (1992). *Magnetic Resonance Imaging*. St. Louis, Mosby Year Book.
- Statistisches-Bundesamt (2006). *Todesursachen in Deutschland, 2005*. Fachserie 12, Reihe 4. Wiesbaden, Statistisches Bundesamt.
- Stroh, A., Faber, C., Neuberger, T., Lorenz, P., Sieland, K., Jakob, P. M., Webb, A., Pilgrimm, H., Schober, R., Pohl, E. E. und Zimmer, C. (2005). "In vivo detection limits of magnetically labeled embryonic stem cells in the rat brain using high-field (17.6 T) magnetic resonance imaging." *Neuroimage* 24(3): 635-45.

- Stroh, A., Zimmer, C., Werner, N., Gertz, K., Weir, K., Kronenberg, G., Steinbrink, J., Mueller, S., Sieland, K., Dirnagl, U., Nickenig, G. und Endres, M. (2006). "Tracking of systemically administered mononuclear cells in the ischemic brain by high-field magnetic resonance imaging." *Neuroimage* 33(3): 886-97.
- Su, M. Y., Muhler, A., Lao, X. und Nalcioglu, O. (1998). "Tumor characterization with dynamic contrast-enhanced MRI using MR contrast agents of various molecular weights." *Magn Reson Med* 39(2): 259-69.
- Takahashi, S., Yamada, Y., Homma, Y., Horie, S., Hosaka, Y. und Kitamura, T. (2002). "Power Doppler ultrasonography-directed prostate biopsy in men with elevated serum PSA levels: an evaluation of the clinical utility and limitations." *Urology* 60(2): 248-52.
- Tanaka, N., Samma, S., Joko, M., Akiyama, T., Takewa, M., Kitano, S. und Okajima, E. (1999). "Diagnostic usefulness of endorectal magnetic resonance imaging with dynamic contrast-enhancement in patients with localized prostate cancer: mapping studies with biopsy specimens." *Int J Urol* 6(12): 593-9.
- Taupitz, M., Schnorr, J., Abramjuk, C., Wagner, S., Pilgrim, H., Hunigen, H. und Hamm, B. (2000). "New generation of monomer-stabilized very small superparamagnetic iron oxide particles (VSOP) as contrast medium for MR angiography: preclinical results in rats and rabbits." *J Magn Reson Imaging* 12(6): 905-11.
- Taupitz, M., Schnorr, J., Wagner, S., Abramjuk, C., Pilgrim, H., Kivelitz, D., Schink, T., Hansel, J., Laub, G., Hunigen, H. und Hamm, B. (2002). "Coronary MR angiography: experimental results with a monomer-stabilized blood pool contrast medium." *Radiology* 222(1): 120-6.
- Taupitz, M., Wagner, S., Schnorr, J., Kravec, I., Pilgrim, H., Bergmann-Fritsch, H. und Hamm, B. (2004). "Phase I clinical evaluation of citrate-coated monocrySTALLINE very small superparamagnetic iron oxide particles as a new contrast medium for magnetic resonance imaging." *Invest Radiol* 39(7): 394-405.
- Tempany, C. M., Rahmouni, A. D., Epstein, J. I., Walsh, P. C. und Zerhouni, E. A. (1991). "Invasion of the neurovascular bundle by prostate cancer: evaluation with MR imaging." *Radiology* 181(1): 107-12.
- Tofts, P. S., Brix, G., Buckley, D. L., Evelhoch, J. L., Henderson, E., Knopp, M. V., Larsson, H. B., Lee, T. Y., Mayr, N. A., Parker, G. J., Port, R. E., Taylor, J. und Weisskoff, R. M. (1999). "Estimating kinetic parameters from dynamic contrast-enhanced T(1)-weighted MRI of a diffusable tracer: standardized quantities and symbols." *J Magn Reson Imaging* 10(3): 223-32.
- Turetschek, K., Huber, S., Floyd, E., Helbich, T., Roberts, T. P., Shames, D. M., Tarlo, K. S., Wendland, M. F. und Brasch, R. C. (2001a). "MR imaging characterization of microvessels in experimental breast tumors by using a particulate contrast agent with histopathologic correlation." *Radiology* 218(2): 562-9.



- Turetschek, K., Preda, A., Novikov, V., Brasch, R. C., Weinmann, H. J., Wunderbaldinger, P. und Roberts, T. P. (2004). "Tumor microvascular changes in antiangiogenic treatment: assessment by magnetic resonance contrast media of different molecular weights." *J Magn Reson Imaging* 20(1): 138-44.
- Turetschek, K., Roberts, T. P., Floyd, E., Preda, A., Novikov, V., Shames, D. M., Carter, W. O. und Brasch, R. C. (2001b). "Tumor microvascular characterization using ultrasmall superparamagnetic iron oxide particles (USPIO) in an experimental breast cancer model." *J Magn Reson Imaging* 13(6): 882-8.
- Turnbull, L. W., Buckley, D. L., Turnbull, L. S., Liney, G. P. und Knowles, A. J. (1999). "Differentiation of prostatic carcinoma and benign prostatic hyperplasia: correlation between dynamic Gd-DTPA-enhanced MR imaging and histopathology." *J Magn Reson Imaging* 9(2): 311-6.
- Vaalasti, A. und Hervonen, A. (1979). "Innervation of the ventral prostate of the rat." *Am J Anat* 154(2): 231-43.
- van den Biesen, P. R., Hermens, W. T. und Slaaf, D. W. (1997). "Dye extravasation and the nature of background fluorescence in sodium fluorescein angiography." *Retina* 17(6): 540-6.
- van Dijke, C. F., Brasch, R. C., Roberts, T. P., Weidner, N., Mathur, A., Shames, D. M., Mann, J. S., Demsar, F., Lang, P., Schwickert, H. C. (1996). "Mammary carcinoma model: correlation of macromolecular contrast-enhanced MR imaging characterizations of tumor microvasculature and histologic capillary density." *Radiology* 198(3): 813-8.
- Vartanian, R. K. und Weidner, N. (1995). "Endothelial cell proliferation in prostatic carcinoma and prostatic hyperplasia: correlation with Gleason's score, microvessel density, and epithelial cell proliferation." *Lab Invest* 73(6): 844-50.
- Vaupel, P. (1990). "Oxygenation of human tumors." *Strahlenther Onkol* 166(6): 377-86.
- Vaupel, P., Kallinowski, F. und Okunieff, P. (1989). "Blood flow, oxygen and nutrient supply, and metabolic microenvironment of human tumors: a review." *Cancer Res* 49(23): 6449-65.
- Verstraete, K. L., Vanzieleghem, B., De Deene, Y., Palmans, H., De Greef, D., Kristoffersen, D. T., Uyttendaele, D., Roels, H., Hamers, J. und Kunnen, M. (1995). "Static, dynamic and first-pass MR imaging of musculoskeletal lesions using gadodiamide injection." *Acta Radiol* 36(1): 27-36.
- Wagner, S., Schnorr, J., Pilgrimm, H., Hamm, B. und Taupitz, M. (2002). "Monomer-coated very small superparamagnetic iron oxide particles as contrast medium for magnetic resonance imaging: preclinical in vivo characterization." *Invest Radiol* 37(4): 167-77.

- Wakui, S., Furusato, M., Itoh, T., Sasaki, H., Akiyama, A., Kinoshita, I., Asano, K., Tokuda, T., Aizawa, S. und Ushigome, S. (1992). "Tumour angiogenesis in prostatic carcinoma with and without bone marrow metastasis: a morphometric study." *J Pathol* 168(3): 257-62.
- Wang, Y. X., Hussain, S. M. und Krestin, G. P. (2001). "Superparamagnetic iron oxide contrast agents: physicochemical characteristics and applications in MR imaging." *Eur Radiol* 11(11): 2319-31.
- Weidner, N., Carroll, P. R., Flax, J., Blumenfeld, W. und Folkman, J. (1993). "Tumor angiogenesis correlates with metastasis in invasive prostate carcinoma." *Am J Pathol* 143(2): 401-9.
- Weinmann, H. J., Mühler, A. und Radüchel, B. Gadolinium Chelates: Chemistry, Safety, Behavior. Berlin, Schering AG.
- Weiss, E. und Karbe, E. (1990). *Geschwülste. Allgemeine Pathologie für Tierärzte und Studierende der Tiermedizin.* H. Stünzi und E. Weiss. Berlin, Paul Parey Verlag: 316-77.
- Welsch, U. (2002). *Männliche Geschlechtsorgane.* München, Urban & Fischer.
- Wenz, F., Rempp, K., Brix, G., Knopp, M. V., Guckel, F., Hess, T. und van Kaick, G. (1996). "Age dependency of the regional cerebral blood volume (rCBV) measured with dynamic susceptibility contrast MR imaging (DSC)." *Magn Reson Imaging* 14(2): 157-62.

## **10 ANHANG**

Hier erfolgt die Auflistung der verwendeten Rohdaten in Tabellenform. Die einzelnen Untersuchungsergebnisse sind den entsprechenden Tiernummern zugeordnet.

**T<sub>1</sub>-Relaxationszeit, T<sub>1</sub>-Relaxationsrate und MRT-Signalintensität  
bei verschiedenen Konzentrationen VSOP-C 184 in Rattenblut**

| Konz. VSOP-C 184<br>[mmol/l]  | T1-Relaxationszeit |               | MRT-Signalintensität (SI)  |                                      |
|---|--------------------|---------------|--|--------------------------------------|
|   | T1 [ms]<br>[ms]    | 1/T1<br>[1/s] | SI<br>(normiert; gemessen)   | SI<br>(normiert; mathematischer Fit) |
| 0   | 1280               | 0,781         | 37,09  | 25,53                                |
| 0,05  | 720                | 1,389         | 59,3   | 57                                   |
| 0,125   | 620                | 1,613         | 71,88  | 97,84                                |
| 0,25  | 264,5              | 3,78          | 154,57   | 151,95                               |
| 0,4   | 186,2              | 5,371         | 205,1  | 199,21                               |
| 0,5   | 164,5              | 6,079         | 221,69   | 222,72                               |
| 0,6   | 130,9              | 7,639         | 250,9  | 241,36                               |
| 0,75  | 114,8              | 8,711         | 265,01   | 262,34                               |
| 0,85  | 100                | 10            | 273,82   | 272,78                               |
| 1   | 95,5               | 10,471        | 281  | 284,53                               |
| 1,15  | 87,4               | 11,442        | 291,55   | 292,82                               |
| 1,25  | 84,4               | 11,848        | 293,1  | 296,94                               |
| Daraus ergibt sich bei $1/T1 = 1/T1^\circ + KM\text{-Konz.} \cdot R1$ |                    |               | Fit-Parameter bei $SI = a \cdot (1 - b \cdot \exp(d \cdot KM\text{-Konz.} + e)) + f$ |                                      |
|   | T1° =              | 810 ms        | a =  | 311,74                               |
|   | R1 =               | 9,28 l/mmol/s | b =  | 2,26                                 |
|   |                    |               | d =  | -2,32                                |
|   |                    |               | e =  | -0,9                                 |
|   |                    |               | f =  | 1                                    |

**Körpergewicht, Tumorgröße, Wachstumdauer und –art der Tumoren sowie die T1-Relaxationszeit des Rattenblutes nach der MRT-Messung**

| Tiernr. | Körpergewicht |                        | Tumor                   | Tumor                         | T1-Relaxationszeit       | Tumorgröße                |                           |                                  |
|---------|---------------|------------------------|-------------------------|-------------------------------|--------------------------|---------------------------|---------------------------|----------------------------------|
|         | intial<br>[g] | vor MRT-Messung<br>[g] | Wachstumdauer<br>[Tage] | Wachstumsart<br>solide/diffus | nach MRT-Messung<br>[ms] | MRT<br>[mm <sup>3</sup> ] | MRT<br>[mm <sup>2</sup> ] | Histologie<br>[mm <sup>2</sup> ] |
| 1       | 218           | 267                    | 60                      | solide                        | 99,8 +- 0,3              | 17,57                     | 8,95                      | 12,21                            |
| 2       | 209           | 262                    | 56                      | diffus                        | 110,8 +- 0,3             | 4,92                      | 3,47                      | 3,00                             |
| 3       | 227           | 270                    | 58                      | solide                        | 102,1 +- 0,4             | 15,52                     | 6,78                      | 10,15                            |
| 4       | 212           | 278                    | 58                      | solide                        | 106,2 +- 0,4             | 9,54                      | 6,25                      | 3,99                             |
| 5       | 211           | 303                    | 58                      | diffus                        | 107,2 +- 0,3             | 12,76                     | 6,50                      | 4,73                             |
| 6       | 224           | 275                    | 58                      | solide                        | 109,2 +- 0,2             | 12,08                     | 7,90                      | 4,07                             |
| 7       | 220           | 285                    | 56                      | solide                        | 107,2 +- 0,4             | 92,41                     | 28,24                     | 15,43                            |
| 8       | 235           | 297                    | 58                      | solide                        | 104,2 +- 0,4             | 41,23                     | 21,00                     | 8,39                             |
| 9       | 218           | 291                    | 58                      | solide                        | 107,2 +- 0,5             | 31,14                     | 12,42                     | 4,80                             |
| 10      | 230           | 244                    | 58                      | diffus                        | 110,8 +- 0,3             | 34,48                     | 15,79                     | 8,53                             |
| 11      | 231           | 318                    | 58                      | solide                        | 105,1 +- 0,5             | 81,93                     | 21,46                     | 21,38                            |
| 12      | 231           | 263                    | 57                      | solide                        | 105,2 +- 0,3             | 135,80                    | 44,45                     | 20,37                            |
| 13      | 223           | 271                    | 58                      | diffus                        | 102,6 +- 0,3             | 21,46                     | 10,93                     | 10,07                            |
| 14      | 218           | 283                    | 58                      | solide                        | 100,7 +- 0,3             | 116,37                    | 26,03                     | 9,14                             |
| 15      | 222           | 266                    | 59                      | solide                        | 104,5 +- 0,3             | 93,57                     | 31,77                     | 14,64                            |
| 16      | 218           | 261                    | 57                      | diffus                        | 101,4 +- 0,3             | 19,09                     | 9,72                      | 4,42                             |
| 17      | 229           | 240                    | 57                      | solide                        | 97,8 +- 0,4              | 16,00                     | 8,15                      | 3,80                             |

### mittels MRT bestimmte Parameter in Tumor und gesunder Prostata

| Tiernr. | MRT-Tumor                      |                                       |   |                                 |                              | MRT- gesunde Prostata          |                                       |   |                                 |                              |
|---------|--------------------------------|---------------------------------------|---|---------------------------------|------------------------------|--------------------------------|---------------------------------------|---|---------------------------------|------------------------------|
|         | interstitielles<br>Vol.<br>[%] | Zellvol.<br>(inkl. Ausf.gänge)<br>[%] | Perm.-Oberfl.-<br>Produkt<br>[ml/min*g] | norm.<br>Permeabilität<br>[l/s] | relatives<br>Blutvol.<br>[%] | interstitielles<br>Vol.<br>[%] | Zellvol.<br>(inkl. Ausf.gänge)<br>[%] | Perm.-Oberfl.-<br>Produkt<br>[ml/min*g] | norm.<br>Permeabilität<br>[l/s] | relatives<br>Blutvol.<br>[%] |
| 1       | 33,86                          | 64,57                                 | 1,27                                    | 0,0313                          | 1,57                         | 0,93                           | 98,52                                 | 0,01                                    | 0,0050                          | 0,55                         |
| 2       | 19,34                          | 78,95                                 | 0,68                                    | 0,0291                          | 1,71                         | 7,08                           | 92,11                                 | 0,31                                    | 0,0367                          | 0,81                         |
| 3       | 16,87                          | 80,43                                 | 2,20                                    | 0,1088                          | 2,70                         | 6,31                           | 92,56                                 | 0,50                                    | 0,0661                          | 1,13                         |
| 4       | 18,57                          | 80,54                                 | 1,12                                    | 0,0503                          | 0,89                         | 5,73                           | 94,03                                 | 0,14                                    | 0,0200                          | 0,24                         |
| 5       | 19,66                          | 78,95                                 | 0,17                                    | 0,0070                          | 1,39                         | 4,08                           | 94,95                                 | 0,24                                    | 0,0488                          | 0,97                         |
| 6       | 23,45                          | 74,55                                 | 1,01                                    | 0,0360                          | 1,99                         | 5,87                           | 93,72                                 | 0,34                                    | 0,0483                          | 0,41                         |
| 7       | 25,63                          | 73,25                                 | 0,91                                    | 0,0296                          | 1,13                         | 3,32                           | 95,89                                 | 0,11                                    | 0,0285                          | 0,79                         |
| 8       | 29,31                          | 68,16                                 | 1,34                                    | 0,0382                          | 2,53                         | 3,00                           | 96,41                                 | 0,08                                    | 0,0227                          | 0,59                         |
| 9       | 20,91                          | 76,40                                 | 1,72                                    | 0,0686                          | 2,68                         | 3,95                           | 95,08                                 | 0,56                                    | 0,1186                          | 0,97                         |
| 10      | 8,18                           | 89,90                                 | 0,35                                    | 0,0359                          | 1,92                         | 3,65                           | 95,50                                 | 0,08                                    | 0,0183                          | 0,84                         |
| 11      | 28,79                          | 70,41                                 | 1,16                                    | 0,0335                          | 0,80                         | 9,01                           | 90,30                                 | 0,39                                    | 0,0360                          | 0,69                         |
| 12      | 8,95                           | 89,46                                 | 0,37                                    | 0,0344                          | 1,59                         | 7,31                           | 92,20                                 | 0,37                                    | 0,0425                          | 0,49                         |
| 13      | 20,90                          | 76,41                                 | 0,65                                    | 0,0257                          | 2,68                         | 3,25                           | 96,26                                 | 0,04                                    | 0,0104                          | 0,49                         |
| 14      | 9,62                           | 87,99                                 | 1,83                                    | 0,1584                          | 2,40                         | 4,08                           | 95,13                                 | 0,29                                    | 0,0595                          | 0,79                         |
| 15      | 27,44                          | 71,35                                 | 0,34                                    | 0,0104                          | 1,21                         | 1,23                           | 98,23                                 | 0,02                                    | 0,0143                          | 0,53                         |
| 16      | 18,68                          | 79,26                                 | 0,33                                    | 0,0149                          | 2,06                         | 6,40                           | 92,87                                 | 0,23                                    | 0,0299                          | 0,72                         |
| 17      | 3,35                           | 95,77                                 | 1,48                                    | 0,3672                          | 0,88                         | 0,81                           | 98,75                                 | 0,14                                    | 0,1412                          | 0,44                         |

**mittels histologischer Untersuchung bestimmte Volumina in Tumor und gesunder Prostata**

| Tiernr. | Histologie-Tumor |                    |           | Histologie- gesunde Prostata |                    |           |
|---------|------------------|--------------------|-----------|------------------------------|--------------------|-----------|
|         | interstitielles  | Zellvol.           | relatives | interstitielles              | Zellvolumen        | relatives |
|         | Vol.             | (inkl. Ausf.gänge) | Blutvol.  | Vol.                         | (inkl. Ausf.gänge) | Blutvol.  |
|         | [%]              | [%]                | [%]       | [%]                          | [%]                | [%]       |
| 1       | 12,62            | 86,54              | 0,84      | 9,62                         | 89,72              | 0,66      |
| 2       | 8,89             | 89,98              | 1,13      | 15,75                        | 83,74              | 0,51      |
| 3       | 10,28            | 88,26              | 1,45      | 16,85                        | 82,12              | 1,03      |
| 4       | 10,43            | 88,65              | 0,92      | 17,68                        | 81,87              | 0,45      |
| 5       | 6,74             | 91,96              | 1,30      | 9,10                         | 90,20              | 0,70      |
| 6       | 9,95             | 88,61              | 1,44      | 18,76                        | 80,25              | 0,99      |
| 7       | 12,73            | 86,36              | 0,91      | 9,61                         | 89,59              | 0,80      |
| 8       | 11,08            | 87,77              | 1,15      | 9,74                         | 89,54              | 0,72      |
| 9       | 11,45            | 87,28              | 1,26      | 11,50                        | 87,64              | 0,85      |
| 10      | 9,20             | 90,08              | 0,72      | 9,37                         | 90,17              | 0,46      |
| 11      | 5,01             | 93,96              | 1,03      | 18,73                        | 80,72              | 0,55      |
| 12      | 7,13             | 92,02              | 0,85      | 15,39                        | 84,04              | 0,57      |
| 13      | 9,11             | 88,99              | 1,90      | 6,21                         | 92,95              | 0,84      |
| 14      | 13,38            | 85,78              | 0,84      | 16,31                        | 83,20              | 0,49      |
| 15      | 12,10            | 86,72              | 1,18      | 8,11                         | 91,00              | 0,89      |
| 16      | 9,26             | 90,01              | 0,73      | 15,76                        | 83,55              | 0,69      |
| 17      | 12,64            | 86,35              | 1,01      | 8,41                         | 91,08              | 0,51      |

## Zellvolumen (inkl. Ausführungsgänge) in den histologischen Schnitten der Tumoren

| Sichtfeld | Tier 1             |                                | Tier 2             |                                | Tier 3             |                                | Tier 4             |                                |
|-----------|--------------------|--------------------------------|--------------------|--------------------------------|--------------------|--------------------------------|--------------------|--------------------------------|
|           | relativ<br>[1/100] | absolut<br>[ $\mu\text{m}^2$ ] | relativ<br>[1/100] | absolut<br>[ $\mu\text{m}^2$ ] | relativ<br>[1/100] | absolut<br>[ $\mu\text{m}^2$ ] | relativ<br>[1/100] | absolut<br>[ $\mu\text{m}^2$ ] |
| 1         | 0,8599             | 15923                          | 0,9086             | 16825                          | 0,8515             | 15767                          | 0,7294             | 13507                          |
| 2         | 0,9284             | 17192                          | 0,9112             | 16873                          | 0,8319             | 15405                          | 0,7889             | 14608                          |
| 3         | 0,9013             | 16689                          | 0,9077             | 16808                          | 0,9050             | 16759                          | 0,8433             | 15615                          |
| 4         | 0,8174             | 15136                          | 0,9484             | 17563                          | 0,8491             | 15723                          | 0,9122             | 16893                          |
| 5         | 0,8645             | 16009                          | 0,9386             | 17381                          | 0,9007             | 16678                          | 0,9042             | 16744                          |
| 6         | 0,8813             | 16319                          | 0,8653             | 16023                          | 0,8707             | 16123                          | 0,9180             | 17000                          |
| 7         | 0,8670             | 16055                          | 0,8591             | 15908                          | 0,8545             | 15823                          | 0,8800             | 16296                          |
| 8         | 0,8164             | 15118                          | 0,8738             | 16180                          | 0,9160             | 16961                          | 0,8726             | 16159                          |
| 9         | 0,8269             | 15312                          | 0,8877             | 16438                          | 0,8678             | 16069                          | 0,9314             | 17247                          |
| 10        | 0,8396             | 15547                          | 0,8995             | 16658                          | 0,8893             | 16467                          | 0,8754             | 16211                          |
| 11        | 0,8156             | 15103                          | 0,7890             | 14611                          | 0,8917             | 16512                          | 0,8804             | 16302                          |
| 12        | 0,8280             | 15333                          | 0,7820             | 14481                          | 0,8947             | 16568                          | 0,9340             | 17296                          |
| 13        | 0,8855             | 16398                          | 0,9474             | 17544                          | 0,8588             | 15903                          | 0,9296             | 17214                          |
| 14        | 0,8496             | 15733                          | 0,9553             | 17689                          | 0,8852             | 16392                          | 0,9601             | 17778                          |
| 15        | 0,8955             | 16583                          | 0,9507             | 17605                          | 0,9460             | 17518                          | 0,9475             | 17546                          |
| 16        | 0,8934             | 16543                          | 0,8510             | 15759                          | 0,8742             | 16189                          | 0,9376             | 17363                          |
| 17        | 0,8878             | 16440                          | 0,9366             | 17344                          | 0,8884             | 16450                          | 0,8777             | 16253                          |
| 18        | 0,8814             | 16321                          | 0,9377             | 17365                          | 0,8446             | 15641                          | 0,8968             | 16606                          |
| 19        | 0,8500             | 15740                          | 0,8990             | 16648                          | 0,9274             | 17173                          | 0,8386             | 15528                          |
| 20        | 0,9117             | 16883                          | 0,9477             | 17549                          | 0,8887             | 16458                          | 0,8722             | 16151                          |
| 21        | 0,8720             | 16148                          |                    |                                | 0,8806             | 16306                          |                    |                                |
| 22        |                    |                                |                    |                                | 0,9013             | 16690                          |                    |                                |



## Zellvolumen (inkl. Ausführungsgänge) in den histologischen Schnitten der Tumoren

| Sichtfeld | Tier 5             |                                | Tier 6             |                                | Tier 7             |                                | Tier 8             |                                |
|-----------|--------------------|--------------------------------|--------------------|--------------------------------|--------------------|--------------------------------|--------------------|--------------------------------|
|           | relativ<br>[1/100] | absolut<br>[ $\mu\text{m}^2$ ] | relativ<br>[1/100] | absolut<br>[ $\mu\text{m}^2$ ] | relativ<br>[1/100] | absolut<br>[ $\mu\text{m}^2$ ] | relativ<br>[1/100] | absolut<br>[ $\mu\text{m}^2$ ] |
| 1         | 0,9282             | 17188                          | 0,8591             | 15908                          | 0,8108             | 15013                          | 0,9193             | 17023                          |
| 2         | 0,9667             | 17902                          | 0,8838             | 16365                          | 0,8255             | 15286                          | 0,8344             | 15451                          |
| 3         | 0,9670             | 17907                          | 0,8591             | 15908                          | 0,8819             | 16331                          | 0,7920             | 14667                          |
| 4         | 0,8941             | 16556                          | 0,9238             | 17107                          | 0,9112             | 16873                          | 0,8656             | 16029                          |
| 5         | 0,9158             | 16958                          | 0,8294             | 15358                          | 0,8855             | 16398                          | 0,8082             | 14967                          |
| 6         | 0,9492             | 17578                          | 0,8921             | 16520                          | 0,9321             | 17261                          | 0,8876             | 16436                          |
| 7         | 0,8238             | 15256                          | 0,8512             | 15762                          | 0,8912             | 16503                          | 0,9264             | 17154                          |
| 8         | 0,9046             | 16751                          | 0,8794             | 16284                          | 0,9109             | 16867                          | 0,8937             | 16548                          |
| 9         | 0,8782             | 16262                          | 0,9014             | 16692                          | 0,8663             | 16042                          | 0,8753             | 16209                          |
| 10        | 0,9364             | 17340                          | 0,9034             | 16728                          | 0,9134             | 16913                          | 0,8816             | 16324                          |
| 11        | 0,8916             | 16510                          | 0,9216             | 17066                          | 0,8112             | 15021                          | 0,8823             | 16339                          |
| 12        | 0,9384             | 17376                          | 0,8993             | 16653                          | 0,8313             | 15393                          | 0,8542             | 15818                          |
| 13        | 0,9025             | 16711                          | 0,8963             | 16597                          | 0,8532             | 15800                          | 0,8074             | 14951                          |
| 14        | 0,8905             | 16490                          | 0,8995             | 16656                          | 0,8758             | 16217                          | 0,9186             | 17011                          |
| 15        | 0,9355             | 17323                          | 0,8782             | 16263                          | 0,8765             | 16231                          | 0,8476             | 15695                          |
| 16        | 0,9319             | 17257                          | 0,9127             | 16900                          | 0,8368             | 15496                          | 0,9141             | 16927                          |
| 17        | 0,9242             | 17113                          | 0,8597             | 15920                          | 0,8597             | 15920                          | 0,8805             | 16305                          |
| 18        | 0,8904             | 16488                          | 0,9414             | 17432                          | 0,9138             | 16922                          | 0,9026             | 16714                          |
| 19        | 0,9398             | 17404                          | 0,8656             | 16029                          | 0,8928             | 16532                          | 0,9290             | 17203                          |
| 20        | 0,9834             | 18210                          | 0,9420             | 17443                          | 0,8619             | 15961                          | 0,9331             | 17278                          |
| 21        |                    |                                | 0,8650             | 16018                          | 0,8093             | 14986                          |                    |                                |
| 22        |                    |                                | 0,8306             | 15380                          | 0,8340             | 15443                          |                    |                                |
| 23        |                    |                                |                    |                                | 0,8260             | 15295                          |                    |                                |
| 24        |                    |                                |                    |                                | 0,8144             | 15080                          |                    |                                |

## Zellvolumen (inkl. Ausführungsgänge) in den histologischen Schnitten der Tumoren

| Sichtfeld                  | Tier 9             |                                | Tier 10            |                                | Tier 11            |                                | Tier 12            |                                |
|----------------------------|--------------------|--------------------------------|--------------------|--------------------------------|--------------------|--------------------------------|--------------------|--------------------------------|
|                            | relativ<br>[1/100] | absolut<br>[ $\mu\text{m}^2$ ] | relativ<br>[1/100] | absolut<br>[ $\mu\text{m}^2$ ] | relativ<br>[1/100] | absolut<br>[ $\mu\text{m}^2$ ] | relativ<br>[1/100] | absolut<br>[ $\mu\text{m}^2$ ] |
| [18517,6 $\mu\text{m}^2$ ] |                    |                                |                    |                                |                    |                                |                    |                                |
| 1                          | 0,8517             | 15772                          | 0,9647             | 17865                          | 0,8819             | 16331                          | 0,9498             | 17589                          |
| 2                          | 0,9631             | 17834                          | 0,9628             | 17829                          | 0,9280             | 17184                          | 0,9112             | 16874                          |
| 3                          | 0,9601             | 17778                          | 0,8891             | 16465                          | 0,9905             | 18341                          | 0,9521             | 17632                          |
| 4                          | 0,7806             | 14455                          | 0,9346             | 17307                          | 0,9928             | 18384                          | 0,8968             | 16607                          |
| 5                          | 0,7535             | 13953                          | 0,9214             | 17063                          | 0,9677             | 17919                          | 0,9233             | 17096                          |
| 6                          | 0,7682             | 14224                          | 0,9278             | 17180                          | 0,9642             | 17854                          | 0,9118             | 16884                          |
| 7                          | 0,8562             | 15856                          | 0,9488             | 17570                          | 0,8797             | 16291                          | 0,9143             | 16930                          |
| 8                          | 0,8773             | 16245                          | 0,9229             | 17089                          | 0,9267             | 17160                          | 0,9183             | 17005                          |
| 9                          | 0,8610             | 15943                          | 0,9656             | 17881                          | 0,9695             | 17954                          | 0,9119             | 16886                          |
| 10                         | 0,8745             | 16193                          | 0,9095             | 16842                          | 0,9866             | 18270                          | 0,8618             | 15958                          |
| 11                         | 0,9154             | 16951                          | 0,9167             | 16976                          | 0,9949             | 18423                          | 0,8992             | 16652                          |
| 12                         | 0,8294             | 15358                          | 0,8907             | 16494                          | 0,9311             | 17241                          | 0,8977             | 16623                          |
| 13                         | 0,9099             | 16850                          | 0,8383             | 15523                          | 0,8702             | 16114                          | 0,9462             | 17521                          |
| 14                         | 0,9297             | 17216                          | 0,8315             | 15397                          | 0,9078             | 16810                          | 0,9376             | 17362                          |
| 15                         | 0,9408             | 17421                          | 0,8633             | 15987                          | 0,8979             | 16626                          | 0,8882             | 16448                          |
| 16                         | 0,9471             | 17538                          | 0,9017             | 16697                          | 0,9051             | 16760                          | 0,9485             | 17563                          |
| 17                         | 0,9143             | 16930                          | 0,9044             | 16747                          | 0,9704             | 17970                          | 0,8963             | 16597                          |
| 18                         | 0,9766             | 18084                          | 0,8916             | 16511                          | 0,8951             | 16575                          | 0,9163             | 16969                          |
| 19                         | 0,7899             | 14627                          | 0,8897             | 16476                          | 0,9570             | 17720                          | 0,9784             | 18118                          |
| 20                         | 0,7574             | 14025                          | 0,8874             | 16433                          | 0,9304             | 17229                          | 0,9112             | 16873                          |
| 21                         |                    |                                |                    |                                | 0,9844             | 18229                          | 0,9541             | 17667                          |

## Zellvolumen (inkl. Ausführungsgänge) in den histologischen Schnitten der Tumoren

| Sichtfeld                  | Tier 13            |                                | Tier 14            |                                | Tier 15            |                                | Tier 16            |                                |
|----------------------------|--------------------|--------------------------------|--------------------|--------------------------------|--------------------|--------------------------------|--------------------|--------------------------------|
|                            | relativ<br>[1/100] | absolut<br>[ $\mu\text{m}^2$ ] | relativ<br>[1/100] | absolut<br>[ $\mu\text{m}^2$ ] | relativ<br>[1/100] | absolut<br>[ $\mu\text{m}^2$ ] | relativ<br>[1/100] | absolut<br>[ $\mu\text{m}^2$ ] |
| [18517,6 $\mu\text{m}^2$ ] |                    |                                |                    |                                |                    |                                |                    |                                |
| 1                          | 0,8909             | 16498                          | 0,9091             | 16834                          | 0,8207             | 15198                          | 0,8484             | 15710                          |
| 2                          | 0,9065             | 16787                          | 0,8552             | 15836                          | 0,8624             | 15970                          | 0,9575             | 17731                          |
| 3                          | 0,8341             | 15445                          | 0,9779             | 18109                          | 0,8455             | 15656                          | 0,8570             | 15869                          |
| 4                          | 0,9122             | 16893                          | 0,8585             | 15898                          | 0,8463             | 15671                          | 0,8795             | 16286                          |
| 5                          | 0,9562             | 17707                          | 0,7928             | 14681                          | 0,8269             | 15312                          | 0,9414             | 17433                          |
| 6                          | 0,8952             | 16576                          | 0,9229             | 17091                          | 0,8516             | 15770                          | 0,9680             | 17925                          |
| 7                          | 0,8387             | 15531                          | 0,8743             | 16190                          | 0,8796             | 16288                          | 0,8979             | 16627                          |
| 8                          | 0,8417             | 15586                          | 0,7555             | 13990                          | 0,8829             | 16350                          | 0,9389             | 17387                          |
| 9                          | 0,8860             | 16406                          | 0,8499             | 15739                          | 0,8908             | 16496                          | 0,8761             | 16223                          |
| 10                         | 0,9153             | 16948                          | 0,8273             | 15320                          | 0,8695             | 16102                          | 0,8636             | 15993                          |
| 11                         | 0,8964             | 16599                          | 0,8730             | 16165                          | 0,8630             | 15981                          | 0,9015             | 16693                          |
| 12                         | 0,8667             | 16048                          | 0,8283             | 15338                          | 0,8645             | 16008                          | 0,7858             | 14551                          |
| 13                         | 0,8455             | 15656                          | 0,8318             | 15402                          | 0,8571             | 15872                          | 0,8353             | 15469                          |
| 14                         | 0,9275             | 17176                          | 0,8792             | 16280                          | 0,8432             | 15613                          | 0,9110             | 16869                          |
| 15                         | 0,9475             | 17545                          | 0,8356             | 15473                          | 0,9268             | 17162                          | 0,9019             | 16701                          |
| 16                         | 0,8766             | 16233                          | 0,7905             | 14638                          | 0,9028             | 16718                          | 0,9797             | 18143                          |
| 17                         | 0,8639             | 15997                          | 0,8752             | 16207                          | 0,8721             | 16150                          | 0,9157             | 16957                          |
| 18                         | 0,9199             | 17034                          | 0,8816             | 16325                          | 0,7965             | 14750                          | 0,8877             | 16439                          |
| 19                         | 0,8675             | 16064                          | 0,8344             | 15451                          | 0,8697             | 16105                          | 0,9209             | 17053                          |
| 20                         | 0,8369             | 15498                          | 0,8631             | 15983                          | 0,9183             | 17004                          | 0,9338             | 17292                          |
| 21                         | 0,9712             | 17985                          | 0,8983             | 16634                          | 0,8635             | 15990                          |                    |                                |
| 22                         | 0,8808             | 16310                          |                    |                                | 0,9015             | 16694                          |                    |                                |
| 23                         |                    |                                |                    |                                | 0,8905             | 16489                          |                    |                                |

## Zellvolumen (inkl. Ausführungsgänge) in den histologischen Schnitten der Tumoren

| Sichtfeld                  | Tier 17            |                                |
|----------------------------|--------------------|--------------------------------|
|                            | relativ<br>[1/100] | absolut<br>[ $\mu\text{m}^2$ ] |
| [18517,6 $\mu\text{m}^2$ ] |                    |                                |
| 1                          | 0,8737             | 16179                          |
| 2                          | 0,9016             | 16696                          |
| 3                          | 0,9173             | 16986                          |
| 4                          | 0,8396             | 15548                          |
| 5                          | 0,8312             | 15391                          |
| 6                          | 0,9403             | 17412                          |
| 7                          | 0,8824             | 16339                          |
| 8                          | 0,8410             | 15573                          |
| 9                          | 0,7935             | 14694                          |
| 10                         | 0,8052             | 14911                          |
| 11                         | 0,8467             | 15678                          |
| 12                         | 0,9022             | 16706                          |
| 13                         | 0,8500             | 15739                          |
| 14                         | 0,7698             | 14255                          |
| 15                         | 0,8152             | 15095                          |
| 16                         | 0,8184             | 15155                          |
| 17                         | 0,9572             | 17724                          |
| 18                         | 0,8841             | 16372                          |
| 19                         | 0,8690             | 16092                          |
| 20                         | 0,9318             | 17255                          |

## Zellvolumen (inkl. Ausführungsgänge) in den histologischen Schnitten der gesunden Prostata

| Sichtfeld<br>[18517,6 $\mu\text{m}^2$ ] | Tier 1             |                                | Tier 2             |                                | Tier 3             |                                | Tier 4             |                                |
|---|--------------------|--------------------------------|--------------------|--------------------------------|--------------------|--------------------------------|--------------------|--------------------------------|
|   | relativ<br>[1/100] | absolut<br>[ $\mu\text{m}^2$ ] | relativ<br>[1/100] | absolut<br>[ $\mu\text{m}^2$ ] | relativ<br>[1/100] | absolut<br>[ $\mu\text{m}^2$ ] | relativ<br>[1/100] | absolut<br>[ $\mu\text{m}^2$ ] |
| 1                                       | 0,6019             | 11145                          | 0,9646             | 17863                          | 0,8278             | 15329                          | 0,9441             | 17483                          |
| 2                                       | 0,9500             | 17592                          | 0,8732             | 16169                          | 0,9465             | 17528                          | 1,0000             | 18518                          |
| 3                                       | 0,9931             | 18389                          | 0,7106             | 13159                          | 0,3022             | 5597                           | 0,9537             | 17660                          |
| 4                                       | 0,8970             | 16609                          | 0,8242             | 15263                          | 0,1764             | 3266                           | 0,6829             | 12645                          |
| 5                                       | 0,9389             | 17387                          | 0,8972             | 16614                          | 0,6705             | 12417                          | 0,8976             | 16621                          |
| 6                                       | 1,0000             | 18518                          | 0,9078             | 16810                          | 0,9354             | 17322                          | 0,5742             | 10632                          |
| 7                                       | 1,0000             | 18518                          | 0,9441             | 17483                          | 0,7054             | 13061                          | 0,9686             | 17937                          |
| 8                                       | 0,6949             | 12867                          | 0,9712             | 17984                          | 0,9271             | 17167                          | 0,2661             | 4927                           |
| 9                                       | 0,9992             | 18503                          | 1,0000             | 18518                          | 0,7816             | 14474                          | 0,5123             | 9486                           |
| 10                                      | 0,9910             | 18351                          | 0,9762             | 18078                          | 0,9995             | 18508                          | 1,0000             | 18517                          |
| 11                                      | 0,9523             | 17634                          | 0,6952             | 12873                          | 0,7907             | 14641                          | 0,6628             | 12273                          |
| 12                                      | 1,0000             | 18518                          | 0,8588             | 15903                          | 1,0000             | 18518                          | 0,9681             | 17928                          |
| 13                                      | 1,0000             | 18518                          | 0,8866             | 16417                          | 1,0000             | 18518                          | 0,5193             | 9616                           |
| 14                                      | 0,4198             | 7773                           | 0,4189             | 7758                           | 1,0000             | 18518                          | 1,0000             | 18518                          |
| 15                                      | 0,8502             | 15743                          | 0,8795             | 16286                          | 0,9512             | 17613                          | 0,7985             | 14786                          |
| 16                                      | 0,9324             | 17265                          | 0,8996             | 16659                          | 0,8243             | 15265                          | 0,9222             | 17077                          |
| 17                                      | 0,8309             | 15387                          | 0,5763             | 10671                          | 0,4260             | 7889                           | 0,9143             | 16931                          |
| 18                                      | 0,9802             | 18151                          | 0,8998             | 16662                          | 1,0000             | 18518                          | 1,0000             | 18518                          |
| 19                                      | 0,9123             | 16894                          | 0,6165             | 11417                          | 1,0000             | 18518                          | 0,8640             | 15999                          |
| 20                                      | 1,0000             | 18518                          | 0,9476             | 17547                          | 1,0000             | 18518                          | 0,9255             | 17138                          |
| 21                                      |                    |                                |                    |                                | 0,9798             | 18144                          |                    |                                |

## Zellvolumen (inkl. Ausführungsgänge) in den histologischen Schnitten der gesunden Prostata

| Sichtfeld                  | Tier 5             |                                | Tier 6             |                                | Tier 7             |                                | Tier 8             |                                |
|----------------------------|--------------------|--------------------------------|--------------------|--------------------------------|--------------------|--------------------------------|--------------------|--------------------------------|
|                            | relativ<br>[1/100] | absolut<br>[ $\mu\text{m}^2$ ] | relativ<br>[1/100] | absolut<br>[ $\mu\text{m}^2$ ] | relativ<br>[1/100] | absolut<br>[ $\mu\text{m}^2$ ] | relativ<br>[1/100] | absolut<br>[ $\mu\text{m}^2$ ] |
| [18517,6 $\mu\text{m}^2$ ] |                    |                                |                    |                                |                    |                                |                    |                                |
| 1                          | 0,9976             | 18473                          | 0,7716             | 14288                          | 0,8834             | 16359                          | 0,9604             | 17784                          |
| 2                          | 0,9796             | 18139                          | 0,9798             | 18144                          | 1,0000             | 18518                          | 1,0000             | 18518                          |
| 3                          | 1,0000             | 18518                          | 0,9368             | 17347                          | 0,7169             | 13276                          | 1,0000             | 18518                          |
| 4                          | 0,9742             | 18040                          | 0,2186             | 4049                           | 1,0000             | 18518                          | 0,7707             | 14271                          |
| 5                          | 0,9014             | 16692                          | 1,0000             | 18518                          | 0,9743             | 18041                          | 0,9896             | 18325                          |
| 6                          | 1,0000             | 18518                          | 0,9802             | 18151                          | 0,8365             | 15490                          | 1,0000             | 18518                          |
| 7                          | 1,0000             | 18518                          | 1,0000             | 18518                          | 0,7473             | 13839                          | 0,4172             | 7725                           |
| 8                          | 0,8723             | 16153                          | 0,9182             | 17002                          | 0,9200             | 17035                          | 0,7647             | 14160                          |
| 9                          | 0,5615             | 10399                          | 0,8105             | 15009                          | 0,8235             | 15250                          | 0,9921             | 18372                          |
| 10                         | 0,4259             | 7887                           | 0,3939             | 7294                           | 0,9976             | 18474                          | 0,9914             | 18358                          |
| 11                         | 0,9861             | 18260                          | 0,0962             | 1781                           | 1,0000             | 18518                          | 0,9898             | 18329                          |
| 12                         | 0,7831             | 14500                          | 0,3401             | 6299                           | 1,0000             | 18518                          | 0,9987             | 18493                          |
| 13                         | 0,8685             | 16083                          | 0,8178             | 15143                          | 0,6952             | 12874                          | 0,9959             | 18441                          |
| 14                         | 1,0000             | 18518                          | 0,8902             | 16484                          | 0,9054             | 16767                          | 0,7226             | 13382                          |
| 15                         | 1,0000             | 18518                          | 0,8769             | 16238                          | 1,0000             | 18518                          | 0,9281             | 17186                          |
| 16                         | 0,9720             | 18000                          | 0,9480             | 17555                          | 1,0000             | 18518                          | 0,9944             | 18414                          |
| 17                         | 0,8747             | 16198                          | 0,7656             | 14177                          | 0,6588             | 12200                          | 0,9354             | 17321                          |
| 18                         | 0,9305             | 17230                          | 0,9418             | 17441                          | 0,9086             | 16826                          | 0,4658             | 8625                           |
| 19                         | 0,9996             | 18511                          | 0,8272             | 15318                          | 1,0000             | 18518                          | 0,9871             | 18278                          |
| 20                         | 0,9136             | 16917                          | 0,6914             | 12803                          | 0,9298             | 17217                          | 0,8999             | 16665                          |
| 21                         |                    |                                | 0,7951             | 14723                          | 0,8173             | 15134                          | 1,0000             | 18518                          |
| 22                         |                    |                                | 1,0000             | 18518                          |                    |                                |                    |                                |
| 23                         |                    |                                | 0,9419             | 17441                          |                    |                                |                    |                                |
| 24                         |                    |                                | 0,9979             | 18478                          |                    |                                |                    |                                |
| 25                         |                    |                                | 0,9844             | 18229                          |                    |                                |                    |                                |
| 26                         |                    |                                | 0,9408             | 17422                          |                    |                                |                    |                                |

## Zellvolumen (inkl. Ausführungsgänge) in den histologischen Schnitten der gesunden Prostata

| Sichtfeld                  | Tier 9             |                                | Tier 10            |                                | Tier 11            |                                | Tier 12            |                                |
|----------------------------|--------------------|--------------------------------|--------------------|--------------------------------|--------------------|--------------------------------|--------------------|--------------------------------|
|                            | relativ<br>[1/100] | absolut<br>[ $\mu\text{m}^2$ ] | relativ<br>[1/100] | absolut<br>[ $\mu\text{m}^2$ ] | relativ<br>[1/100] | absolut<br>[ $\mu\text{m}^2$ ] | relativ<br>[1/100] | absolut<br>[ $\mu\text{m}^2$ ] |
| [18517,6 $\mu\text{m}^2$ ] |                    |                                |                    |                                |                    |                                |                    |                                |
| 1                          | 0,8359             | 15479                          | 0,8344             | 15452                          | 0,8795             | 16286                          | 0,9905             | 18341                          |
| 2                          | 0,9863             | 18263                          | 0,9969             | 18461                          | 0,9376             | 17362                          | 1,0000             | 18518                          |
| 3                          | 0,9171             | 16982                          | 0,8850             | 16388                          | 0,1110             | 2055                           | 0,9861             | 18259                          |
| 4                          | 0,9585             | 17748                          | 0,9859             | 18257                          | 0,8151             | 15094                          | 0,6092             | 11281                          |
| 5                          | 0,3966             | 7344                           | 0,8119             | 15035                          | 0,6693             | 12395                          | 0,9723             | 18004                          |
| 6                          | 0,9536             | 17658                          | 0,6310             | 11685                          | 1,0000             | 18518                          | 0,9218             | 17069                          |
| 7                          | 0,7707             | 14271                          | 0,9747             | 18049                          | 1,0000             | 18518                          | 0,8098             | 14995                          |
| 8                          | 1,0000             | 18518                          | 0,6642             | 12300                          | 0,8414             | 15581                          | 1,0000             | 18518                          |
| 9                          | 1,0000             | 18518                          | 0,7427             | 13752                          | 0,8942             | 16559                          | 0,3729             | 6906                           |
| 10                         | 1,0000             | 18518                          | 0,9302             | 17226                          | 0,7733             | 14319                          | 0,8956             | 16584                          |
| 11                         | 0,9506             | 17603                          | 0,9651             | 17871                          | 0,8819             | 16331                          | 0,9978             | 18476                          |
| 12                         | 0,5148             | 9533                           | 0,9461             | 17520                          | 1,0000             | 18518                          | 0,2487             | 4605                           |
| 13                         | 0,6757             | 12512                          | 0,9790             | 18129                          | 1,0000             | 18518                          | 1,0000             | 18518                          |
| 14                         | 0,8705             | 16120                          | 0,9202             | 17040                          | 0,4461             | 8260                           | 0,7166             | 13269                          |
| 15                         | 0,9979             | 18480                          | 0,9688             | 17941                          | 0,9502             | 17595                          | 0,8501             | 15741                          |
| 16                         | 0,8148             | 15088                          | 1,0000             | 18518                          | 1,0000             | 18518                          | 0,6681             | 12371                          |
| 17                         | 0,9682             | 17930                          | 0,6551             | 12130                          | 0,2519             | 4665                           | 1,0000             | 18518                          |
| 18                         | 0,9963             | 18449                          | 0,9959             | 18442                          | 0,9332             | 17280                          | 0,9826             | 18195                          |
| 19                         | 0,9432             | 17465                          | 0,7729             | 14313                          | 0,7861             | 14557                          | 0,8241             | 15260                          |
| 20                         | 0,9656             | 17880                          | 1,0000             | 18518                          | 0,4508             | 8349                           | 0,9613             | 17802                          |
| 21                         | 0,8892             | 16465                          | 1,0000             | 18518                          | 0,9994             | 18507                          |                    |                                |
| 22                         |                    |                                | 0,9904             | 18341                          | 1,0000             | 18518                          |                    |                                |
| 23                         |                    |                                | 0,9990             | 18499                          | 0,9446             | 17492                          |                    |                                |
| 24                         |                    |                                | 0,9912             | 18354                          |                    |                                |                    |                                |

## Zellvolumen (inkl. Ausführungsgänge) in den histologischen Schnitten der gesunden Prostata

| Sichtfeld | Tier 13            |                                | Tier 14            |                                | Tier 15            |                                | Tier 16            |                                |
|-----------|--------------------|--------------------------------|--------------------|--------------------------------|--------------------|--------------------------------|--------------------|--------------------------------|
|           | relativ<br>[1/100] | absolut<br>[ $\mu\text{m}^2$ ] | relativ<br>[1/100] | absolut<br>[ $\mu\text{m}^2$ ] | relativ<br>[1/100] | absolut<br>[ $\mu\text{m}^2$ ] | relativ<br>[1/100] | absolut<br>[ $\mu\text{m}^2$ ] |
| 1         | 0,8359             | 15478                          | 0,9353             | 17320                          | 0,9657             | 17883                          | 0,7917             | 14660                          |
| 2         | 1,0000             | 18518                          | 0,9815             | 18175                          | 1,0000             | 18518                          | 0,9279             | 17183                          |
| 3         | 1,0000             | 18518                          | 0,8834             | 16358                          | 0,7816             | 14474                          | 0,6571             | 12167                          |
| 4         | 1,0000             | 18518                          | 0,8330             | 15425                          | 0,6463             | 11969                          | 0,9931             | 18390                          |
| 5         | 0,9951             | 18427                          | 0,9351             | 17316                          | 0,4691             | 8686                           | 0,5917             | 10958                          |
| 6         | 0,8498             | 15735                          | 0,8773             | 16245                          | 0,9659             | 17887                          | 0,5966             | 11048                          |
| 7         | 0,8546             | 15825                          | 0,9004             | 16674                          | 1,0000             | 18518                          | 0,9081             | 16817                          |
| 8         | 0,9890             | 18314                          | 0,8791             | 16280                          | 0,9525             | 17639                          | 1,0000             | 18518                          |
| 9         | 1,0000             | 18518                          | 0,9995             | 18509                          | 0,7811             | 14465                          | 0,9967             | 18457                          |
| 10        | 0,3590             | 6648                           | 0,9386             | 17380                          | 0,9897             | 18327                          | 0,6412             | 11874                          |
| 11        | 1,0000             | 18518                          | 0,9130             | 16907                          | 0,9936             | 18399                          | 1,0000             | 18518                          |
| 12        | 0,9961             | 18446                          | 0,5720             | 10592                          | 1,0000             | 18518                          | 0,4808             | 8903                           |
| 13        | 0,9740             | 18036                          | 0,6430             | 11908                          | 0,9606             | 17788                          | 0,9737             | 18032                          |
| 14        | 0,9963             | 18449                          | 0,9251             | 17130                          | 0,9961             | 18446                          | 0,4315             | 7991                           |
| 15        | 0,9995             | 18509                          | 0,1459             | 2701                           | 0,9630             | 17832                          | 0,4605             | 8528                           |
| 16        | 0,9838             | 18218                          | 0,9703             | 17967                          | 0,9905             | 18341                          | 0,8538             | 15811                          |
| 17        | 0,8021             | 14853                          | 0,9104             | 16858                          | 0,9978             | 18478                          | 0,9574             | 17728                          |
| 18        | 1,0000             | 18518                          | 0,8233             | 15246                          | 0,9680             | 17925                          | 0,9564             | 17710                          |
| 19        | 0,9627             | 17826                          | 0,6603             | 12227                          | 0,9561             | 17704                          | 0,9017             | 16697                          |
| 20        | 0,9540             | 17665                          | 0,9141             | 16927                          | 0,8229             | 15238                          | 0,9391             | 17390                          |
| 21        | 0,9686             | 17936                          |                    |                                |                    |                                | 1,0000             | 18518                          |
| 22        |                    |                                |                    |                                |                    |                                | 1,0000             | 18518                          |
| 23        |                    |                                |                    |                                |                    |                                | 0,9747             | 18050                          |
| 24        |                    |                                |                    |                                |                    |                                | 0,8029             | 14868                          |
| 25        |                    |                                |                    |                                |                    |                                | 0,9122             | 16892                          |
| 26        |                    |                                |                    |                                |                    |                                | 0,9335             | 17287                          |
| 27        |                    |                                |                    |                                |                    |                                | 0,8754             | 16211                          |



## Zellvolumen (inkl. Ausführungsgänge) in den histologischen Schnitten der gesunden Prostata

| Sichtfeld                  | Tier 17            |                                |
|----------------------------|--------------------|--------------------------------|
|                            | relativ<br>[1/100] | absolut<br>[ $\mu\text{m}^2$ ] |
| [18517,6 $\mu\text{m}^2$ ] |                    |                                |
| 1                          | 0,4513             | 8358                           |
| 2                          | 0,6215             | 11508                          |
| 3                          | 0,7627             | 14123                          |
| 4                          | 0,9765             | 18082                          |
| 5                          | 1,0000             | 18518                          |
| 6                          | 1,0000             | 18518                          |
| 7                          | 0,9421             | 17445                          |
| 8                          | 0,7785             | 14416                          |
| 9                          | 1,0000             | 18518                          |
| 10                         | 1,0000             | 18518                          |
| 11                         | 0,9751             | 18056                          |
| 12                         | 0,9682             | 17929                          |
| 13                         | 1,0000             | 18518                          |
| 14                         | 0,9948             | 18421                          |
| 15                         | 0,9167             | 16976                          |
| 16                         | 0,9501             | 17593                          |
| 17                         | 0,8170             | 15129                          |
| 18                         | 1,0000             | 18518                          |
| 19                         | 0,9884             | 18302                          |
| 20                         | 1,0000             | 18518                          |
| 21                         | 0,9845             | 18231                          |

## Bindegewebe in den histologischen Schnitten der Tumoren

| Sichtfeld                  | Tier 1             |                                | Tier 2             |                                | Tier 3             |                                | Tier 4             |                                |
|----------------------------|--------------------|--------------------------------|--------------------|--------------------------------|--------------------|--------------------------------|--------------------|--------------------------------|
|                            | relativ<br>[1/100] | absolut<br>[ $\mu\text{m}^2$ ] | relativ<br>[1/100] | absolut<br>[ $\mu\text{m}^2$ ] | relativ<br>[1/100] | absolut<br>[ $\mu\text{m}^2$ ] | relativ<br>[1/100] | absolut<br>[ $\mu\text{m}^2$ ] |
| [18517,6 $\mu\text{m}^2$ ] |                    |                                |                    |                                |                    |                                |                    |                                |
| 1                          | 0,0269             | 499                            | 0,0634             | 1175                           | 0,0233             | 431                            | 0,1103             | 2042                           |
| 2                          | 0,0705             | 1305                           | 0,1063             | 1968                           | 0,0250             | 463                            | 0,1413             | 2617                           |
| 3                          | 0,0389             | 721                            | 0,0794             | 1470                           | 0,0076             | 142                            | 0,1438             | 2662                           |
| 4                          | 0,0417             | 772                            | 0,0488             | 903                            | 0,0072             | 134                            | 0,0649             | 1201                           |
| 5                          | 0,0626             | 1158                           | 0,0549             | 1017                           | 0,0134             | 248                            | 0,0814             | 1507                           |
| 6                          | 0,0557             | 1031                           | 0,1415             | 2621                           | 0,0225             | 417                            | 0,0593             | 1099                           |
| 7                          | 0,0382             | 707                            | 0,1013             | 1876                           | 0,0032             | 60                             | 0,1495             | 2768                           |
| 8                          | 0,0311             | 576                            | 0,0627             | 1160                           | 0,0023             | 43                             | 0,0465             | 861                            |
| 9                          | 0,0905             | 1676                           | 0,0946             | 1752                           | 0,0097             | 180                            | 0,0193             | 358                            |
| 10                         | 0,0328             | 608                            | 0,0899             | 1665                           | 0,0139             | 257                            | 0,0420             | 778                            |
| 11                         | 0,0308             | 570                            | 0,0363             | 671                            | 0,0131             | 242                            | 0,1074             | 1989                           |
| 12                         | 0,0380             | 704                            | 0,0668             | 1236                           | 0,0208             | 385                            | 0,0004             | 7                              |
| 13                         | 0,0673             | 1245                           | 0,1906             | 3529                           | 0,0404             | 748                            | 0,0508             | 940                            |
| 14                         | 0,0199             | 369                            | 0,0957             | 1771                           | 0,0231             | 428                            | 0,0665             | 1232                           |
| 15                         | 0,0181             | 335                            | 0,1281             | 2372                           | 0,0308             | 571                            | 0,0339             | 628                            |
| 16                         | 0,0318             | 589                            | 0,1372             | 2541                           | 0,0162             | 299                            | 0,0870             | 1612                           |
| 17                         | 0,0286             | 530                            | 0,1318             | 2440                           | 0,0187             | 347                            | 0,1257             | 2328                           |
| 18                         | 0,0270             | 500                            | 0,0293             | 542                            | 0,0372             | 689                            | 0,0174             | 323                            |
| 19                         | 0,0622             | 1151                           | 0,1011             | 1871                           | 0,0746             | 1382                           | 0,0404             | 749                            |
| 20                         | 0,0371             | 688                            | 0,0263             | 487                            | 0,0227             | 421                            | 0,0245             | 454                            |
| 21                         |                    |                                |                    |                                | 0,0159             | 295                            |                    |                                |
| 22                         |                    |                                |                    |                                | 0,0220             | 408                            |                    |                                |

## Bindegewebe in den histologischen Schnitten der Tumoren

| Sichtfeld | Tier 5             |                                | Tier 6             |                                | Tier 7             |                                | Tier 8             |                                |
|-----------|--------------------|--------------------------------|--------------------|--------------------------------|--------------------|--------------------------------|--------------------|--------------------------------|
|           | relativ<br>[1/100] | absolut<br>[ $\mu\text{m}^2$ ] | relativ<br>[1/100] | absolut<br>[ $\mu\text{m}^2$ ] | relativ<br>[1/100] | absolut<br>[ $\mu\text{m}^2$ ] | relativ<br>[1/100] | absolut<br>[ $\mu\text{m}^2$ ] |
| 1         | 0,3299             | 6108                           | 0,0195             | 362                            | 0,0058             | 107                            | 0,0043             | 79                             |
| 2         | 0,2469             | 4573                           | 0,0223             | 414                            | 0,0005             | 9                              | 0,0110             | 204                            |
| 3         | 0,2400             | 4444                           | 0,0125             | 232                            | 0,0291             | 540                            | 0,0151             | 279                            |
| 4         | 0,0096             | 177                            | 0,0159             | 294                            | 0,0082             | 152                            | 0,0058             | 107                            |
| 5         | 0,1012             | 1874                           | 0,0371             | 688                            | 0,0113             | 209                            | 0,0127             | 236                            |
| 6         | 0,1393             | 2579                           | 0,0147             | 272                            | 0,0228             | 421                            | 0,0093             | 173                            |
| 7         | 0,1267             | 2346                           | 0,0198             | 366                            | 0,0075             | 139                            | 0,0206             | 381                            |
| 8         | 0,0457             | 847                            | 0,0060             | 112                            | 0,0274             | 508                            | 0,0123             | 227                            |
| 9         | 0,1092             | 2022                           | 0,0137             | 254                            | 0,0093             | 173                            | 0,0085             | 158                            |
| 10        | 0,1216             | 2252                           | 0,0315             | 584                            | 0,0440             | 816                            | 0,0109             | 202                            |
| 11        | 0,0770             | 1426                           | 0,0099             | 183                            | 0,0286             | 529                            | 0,0214             | 395                            |
| 12        | 0,1586             | 2937                           | 0,0292             | 542                            | 0,0156             | 289                            | 0,0117             | 217                            |
| 13        | 0,2463             | 4561                           | 0,0214             | 397                            | 0,0121             | 224                            | 0,0132             | 245                            |
| 14        | 0,0986             | 1827                           | 0,0097             | 180                            | 0,0146             | 269                            | 0,0145             | 269                            |
| 15        | 0,0713             | 1321                           | 0,0132             | 244                            | 0,0121             | 224                            | 0,0131             | 243                            |
| 16        | 0,0918             | 1699                           | 0,0155             | 287                            | 0,0069             | 127                            | 0,0170             | 314                            |
| 17        | 0,0781             | 1446                           | 0,0346             | 641                            | 0,0143             | 265                            | 0,0294             | 544                            |
| 18        | 0,0720             | 1334                           | 0,0232             | 430                            | 0,0100             | 186                            | 0,0239             | 442                            |
| 19        | 0,0172             | 319                            | 0,0288             | 534                            | 0,0057             | 105                            | 0,0249             | 461                            |
| 20        | 0,0337             | 624                            | 0,0468             | 867                            | 0,0100             | 185                            | 0,0269             | 498                            |

## Bindegewebe in den histologischen Schnitten der Tumoren

| Sichtfeld                  | Tier 9             |                               | Tier 10            |                               | Tier 11            |                               | Tier 12            |                               |
|----------------------------|--------------------|-------------------------------|--------------------|-------------------------------|--------------------|-------------------------------|--------------------|-------------------------------|
|                            | relativ<br>[1/100] | absolut<br>[µm <sup>2</sup> ] | relativ<br>[1/100] | absolut<br>[µm <sup>2</sup> ] | relativ<br>[1/100] | absolut<br>[µm <sup>2</sup> ] | relativ<br>[1/100] | absolut<br>[µm <sup>2</sup> ] |
| [18517,6 µm <sup>2</sup> ] |                    |                               |                    |                               |                    |                               |                    |                               |
| 1                          | 0,0111             | 205                           | 0,0625             | 1158                          | 0,0235             | 435                           | 0,0098             | 181                           |
| 2                          | 0,1693             | 3135                          | 0,0625             | 1157                          | 0,0130             | 240                           | 0,0174             | 322                           |
| 3                          | 0,0500             | 926                           | 0,0787             | 1457                          | 0,0237             | 438                           | 0,0294             | 544                           |
| 4                          | 0,0709             | 1313                          | 0,0881             | 1631                          | 0,0175             | 324                           | 0,0687             | 1273                          |
| 5                          | 0,0361             | 668                           | 0,0418             | 774                           | 0,0467             | 865                           | 0,0139             | 256                           |
| 6                          | 0,0704             | 1304                          | 0,0966             | 1790                          | 0,0409             | 757                           | 0,0105             | 194                           |
| 7                          | 0,0643             | 1190                          | 0,0681             | 1261                          | 0,0198             | 367                           | 0,0153             | 284                           |
| 8                          | 0,0109             | 203                           | 0,0390             | 721                           | 0,0149             | 277                           | 0,0576             | 1067                          |
| 9                          | 0,0673             | 1246                          | 0,0299             | 554                           | 0,0283             | 524                           | 0,0169             | 314                           |
| 10                         | 0,0071             | 132                           | 0,1630             | 3019                          | 0,0862             | 1596                          | 0,0528             | 979                           |
| 11                         | 0,1454             | 2692                          | 0,0546             | 1012                          | 0,0846             | 1566                          | 0,0184             | 341                           |
| 12                         | 0,1212             | 2244                          | 0,0411             | 761                           | 0,0455             | 843                           | 0,0383             | 709                           |
| 13                         | 0,1745             | 3231                          | 0,0354             | 655                           | 0,0924             | 1710                          | 0,0160             | 297                           |
| 14                         | 0,0371             | 687                           | 0,0339             | 628                           | 0,0763             | 1413                          | 0,0634             | 1174                          |
| 15                         | 0,1783             | 3303                          | 0,0321             | 595                           | 0,0335             | 620                           | 0,0299             | 554                           |
| 16                         | 0,0590             | 1092                          | 0,0191             | 353                           | 0,0509             | 943                           | 0,0112             | 208                           |
| 17                         | 0,0408             | 755                           | 0,0579             | 1071                          | 0,0326             | 604                           | 0,0091             | 169                           |
| 18                         | 0,1085             | 2008                          | 0,0500             | 926                           | 0,0480             | 889                           | 0,0499             | 924                           |
| 19                         | 0,1446             | 2678                          | 0,1328             | 2459                          | 0,0192             | 355                           | 0,0522             | 967                           |
| 20                         | 0,0239             | 443                           | 0,0097             | 180                           | 0,0109             | 202                           | 0,0224             | 415                           |
| 21                         |                    |                               |                    |                               |                    |                               | 0,0175             | 323                           |

## Bindegewebe in den histologischen Schnitten der Tumoren

| Sichtfeld | Tier 13            |                                | Tier 14            |                                | Tier 15            |                                | Tier 16            |                                |
|-----------|--------------------|--------------------------------|--------------------|--------------------------------|--------------------|--------------------------------|--------------------|--------------------------------|
|           | relativ<br>[1/100] | absolut<br>[ $\mu\text{m}^2$ ] | relativ<br>[1/100] | absolut<br>[ $\mu\text{m}^2$ ] | relativ<br>[1/100] | absolut<br>[ $\mu\text{m}^2$ ] | relativ<br>[1/100] | absolut<br>[ $\mu\text{m}^2$ ] |
| 1         | 0,0669             | 1238                           | 0,0360             | 667                            | 0,0179             | 331                            | 0,0238             | 440                            |
| 2         | 0,0533             | 988                            | 0,0447             | 827                            | 0,0290             | 537                            | 0,0179             | 332                            |
| 3         | 0,0710             | 1314                           | 0,0696             | 1288                           | 0,0503             | 931                            | 0,0588             | 1088                           |
| 4         | 0,0619             | 1146                           | 0,0210             | 390                            | 0,0239             | 443                            | 0,1862             | 3449                           |
| 5         | 0,0246             | 456                            | 0,0169             | 312                            | 0,0157             | 291                            | 0,0865             | 1602                           |
| 6         | 0,0314             | 582                            | 0,0055             | 102                            | 0,0313             | 579                            | 0,1082             | 2004                           |
| 7         | 0,0290             | 537                            | 0,0429             | 794                            | 0,0061             | 112                            | 0,1257             | 2327                           |
| 8         | 0,0158             | 293                            | 0,0518             | 960                            | 0,0036             | 66                             | 0,1373             | 2543                           |
| 9         | 0,1664             | 3081                           | 0,0190             | 351                            | 0,0326             | 603                            | 0,1949             | 3609                           |
| 10        | 0,1979             | 3666                           | 0,0043             | 79                             | 0,0234             | 432                            | 0,3452             | 6391                           |
| 11        | 0,0971             | 1798                           | 0,0184             | 340                            | 0,0105             | 195                            | 0,1441             | 2669                           |
| 12        | 0,1064             | 1971                           | 0,0414             | 767                            | 0,0099             | 184                            | 0,1233             | 2282                           |
| 13        | 0,1266             | 2345                           | 0,0200             | 371                            | 0,0524             | 970                            | 0,0209             | 388                            |
| 14        | 0,1132             | 2097                           | 0,0985             | 1824                           | 0,0353             | 654                            | 0,0955             | 1768                           |
| 15        | 0,1097             | 2032                           | 0,0730             | 1351                           | 0,0472             | 874                            | 0,2035             | 3769                           |
| 16        | 0,0863             | 1597                           | 0,0531             | 984                            | 0,0195             | 361                            | 0,0819             | 1516                           |
| 17        | 0,1027             | 1901                           | 0,0529             | 980                            | 0,0309             | 573                            | 0,1048             | 1941                           |
| 18        | 0,1031             | 1909                           | 0,0390             | 722                            | 0,0376             | 696                            | 0,0406             | 752                            |
| 19        | 0,1439             | 2665                           | 0,0370             | 685                            | 0,0141             | 262                            | 0,1039             | 1924                           |
| 20        | 0,1459             | 2701                           | 0,0293             | 543                            | 0,0261             | 484                            | 0,1228             | 2274                           |
| 21        |                    |                                | 0,0494             | 915                            | 0,0354             | 656                            |                    |                                |
| 22        |                    |                                |                    |                                | 0,0183             | 339                            |                    |                                |
| 23        |                    |                                |                    |                                | 0,0158             | 292                            |                    |                                |
| 24        |                    |                                |                    |                                | 0,0170             | 314                            |                    |                                |

## Bindegewebe in den histologischen Schnitten der Tumoren

| Sichtfeld                  | Tier 17 |                     |
|----------------------------|---------|---------------------|
|                            | relativ | absolut             |
| [18517,6 $\mu\text{m}^2$ ] | [1/100] | [ $\mu\text{m}^2$ ] |
| 1                          | 0,0189  | 350                 |
| 2                          | 0,0207  | 382                 |
| 3                          | 0,0096  | 179                 |
| 4                          | 0,0100  | 186                 |
| 5                          | 0,0053  | 98                  |
| 6                          | 0,0229  | 425                 |
| 7                          | 0,0138  | 255                 |
| 8                          | 0,0108  | 199                 |
| 9                          | 0,1111  | 2058                |
| 10                         | 0,0761  | 1409                |
| 11                         | 0,0500  | 926                 |
| 12                         | 0,0262  | 484                 |
| 13                         | 0,0713  | 1320                |
| 14                         | 0,0182  | 336                 |
| 15                         | 0,1186  | 2196                |
| 16                         | 0,0653  | 1210                |
| 17                         | 0,0216  | 400                 |
| 18                         | 0,0239  | 442                 |
| 19                         | 0,0192  | 356                 |
| 20                         | 0,0859  | 1592                |

## Bindegewebe in den histologischen Schnitten der gesunden Prostata

| Sichtfeld | Tier 1             |                                | Tier 2             |                                | Tier 3             |                                | Tier 4             |                                |
|-----------|--------------------|--------------------------------|--------------------|--------------------------------|--------------------|--------------------------------|--------------------|--------------------------------|
|           | relativ<br>[1/100] | absolut<br>[ $\mu\text{m}^2$ ] | relativ<br>[1/100] | absolut<br>[ $\mu\text{m}^2$ ] | relativ<br>[1/100] | absolut<br>[ $\mu\text{m}^2$ ] | relativ<br>[1/100] | absolut<br>[ $\mu\text{m}^2$ ] |
| 1         | 0,0437             | 809                            | 0,1433             | 2653,07                        | 0,0267             | 494                            | 0,0980             | 1815                           |
| 2         | 0,0172             | 319                            | 0,0796             | 1474                           | 0,0507             | 939                            | 0,0803             | 1488                           |
| 3         | 0,0125             | 232                            | 0,0457             | 846                            | 0,0105             | 195                            | 0,0005             | 9                              |
| 4         | 0,1136             | 2103                           | 0,0845             | 1564                           | 0,0280             | 518                            | 0,2054             | 3803                           |
| 5         | 0,0621             | 1150                           | 0,0340             | 630                            | 0,0046             | 85                             | 0,0350             | 649                            |
| 6         | 0,0231             | 427                            | 0,0838             | 1551                           | 0,0153             | 283                            | 0,0703             | 1303                           |
| 7         | 0,0482             | 893                            | 0,0152             | 282                            | 0,0138             | 255                            | 0,0669             | 1239                           |
| 8         | 0,0000             | 0                              | 0,1378             | 2552                           | 0,0004             | 8                              | 0,0626             | 1159                           |
| 9         | 0,0509             | 943                            | 0,0922             | 1707                           | 0,0046             | 86                             | 0,1124             | 2081                           |
| 10        | 0,0604             | 1118                           | 0,0143             | 265                            | 0,0214             | 396                            | 0,1001             | 1853                           |
| 11        | 0,0395             | 731                            | 0,0764             | 1415                           | 0,0379             | 702                            | 0,0920             | 1704                           |
| 12        | 0,0003             | 6                              | 0,0037             | 69                             | 0,0287             | 531                            | 0,0002             | 3                              |
| 13        | 0,0000             | 1                              | 0,0042             | 78                             | 0,0074             | 137                            | 0,0784             | 1452                           |
| 14        | 0,0287             | 532                            | 0,0325             | 601                            | 0,0155             | 287                            | 0,0331             | 612                            |
| 15        | 0,0338             | 626                            | 0,0739             | 1369                           | 0,0478             | 885                            | 0,0000             | 0                              |
| 16        | 0,0737             | 1364                           | 0,0185             | 343                            | 0,0007             | 13                             | 0,0701             | 1298                           |
| 17        | 0,0379             | 702                            | 0,1038             | 1923                           | 0,0001             | 1                              | 0,0938             | 1738                           |
| 18        | 0,0168             | 310                            | 0,0000             | 0                              | 0,0226             | 419                            | 0,0545             | 1008                           |
| 19        | 0,0037             | 69                             | 0,1100             | 2037                           | 0,0147             | 272                            | 0,0415             | 769                            |
| 20        | 0,0000             | 0                              | 0,0778             | 1441                           | 0,0138             | 256                            | 0,0711             | 1317                           |
| 21        |                    |                                |                    |                                | 0,0108             | 199                            |                    |                                |

## Bindegewebe in den histologischen Schnitten der gesunden Prostata

| Sichtfeld | Tier 5             |                                | Tier 6             |                                | Tier 7             |                                | Tier 8             |                                |
|-----------|--------------------|--------------------------------|--------------------|--------------------------------|--------------------|--------------------------------|--------------------|--------------------------------|
|           | relativ<br>[1/100] | absolut<br>[ $\mu\text{m}^2$ ] | relativ<br>[1/100] | absolut<br>[ $\mu\text{m}^2$ ] | relativ<br>[1/100] | absolut<br>[ $\mu\text{m}^2$ ] | relativ<br>[1/100] | absolut<br>[ $\mu\text{m}^2$ ] |
| 1         | 0,1158             | 2145                           | 0,0577             | 1069                           | 0,0249             | 460                            | 0,0418             | 774                            |
| 2         | 0,1552             | 2874                           | 0,0361             | 669                            | 0,0889             | 1646                           | 0,0050             | 93                             |
| 3         | 0,0279             | 516                            | 0,0169             | 313                            | 0,0897             | 1661                           | 0,0000             | 0                              |
| 4         | 0,0000             | 0                              | 0,0499             | 924                            | 0,0289             | 535                            | 0,0000             | 0                              |
| 5         | 0,0811             | 1501                           | 0,0480             | 888                            | 0,0568             | 1052                           | 0,0000             | 0                              |
| 6         | 0,0529             | 980                            | 0,0012             | 23                             | 0,0285             | 527                            | 0,0707             | 1310                           |
| 7         | 0,0493             | 913                            | 0,0251             | 465                            | 0,0430             | 797                            | 0,0601             | 1112                           |
| 8         | 0,0859             | 1591                           | 0,0329             | 608                            | 0,0000             | 0                              | 0,0300             | 555                            |
| 9         | 0,0844             | 1564                           | 0,0150             | 278                            | 0,0135             | 250                            | 0,0098             | 181                            |
| 10        | 0,0535             | 991                            | 0,0024             | 44                             | 0,0340             | 629                            | 0,0031             | 58                             |
| 11        | 0,0438             | 811                            | 0,0354             | 655                            | 0,0209             | 387                            | 0,0000             | 0                              |
| 12        | 0,0846             | 1566                           | 0,0607             | 1124                           | 0,0607             | 1123                           | 0,0097             | 180                            |
| 13        | 0,1036             | 1918                           | 0,0271             | 501                            | 0,0381             | 705                            | 0,0408             | 756                            |
| 14        | 0,0426             | 790                            | 0,0646             | 1196                           | 0,0405             | 749                            | 0,0611             | 1132                           |
| 15        | 0,0784             | 1451                           | 0,0492             | 911                            | 0,0001             | 1                              | 0,0578             | 1071                           |
| 16        | 0,0549             | 1017                           | 0,0486             | 900                            | 0,0543             | 1005                           | 0,0849             | 1573                           |
| 17        | 0,0390             | 721                            | 0,0248             | 459                            | 0,0325             | 601                            | 0,0911             | 1687                           |
| 18        | 0,0232             | 429                            | 0,0376             | 697                            | 0,0044             | 81                             | 0,0530             | 982                            |
| 19        | 0,0736             | 1364                           | 0,0343             | 636                            | 0,0625             | 1157                           | 0,0084             | 155                            |
| 20        | 0,0173             | 321                            | 0,0599             | 1109                           | 0,1917             | 3549                           | 0,0000             | 0                              |



## Bindegewebe in den histologischen Schnitten der gesunden Prostata

| Sichtfeld | Tier 9             |                                | Tier 10            |                                | Tier 11            |                                | Tier 12            |                                |
|-----------|--------------------|--------------------------------|--------------------|--------------------------------|--------------------|--------------------------------|--------------------|--------------------------------|
|           | relativ<br>[1/100] | absolut<br>[ $\mu\text{m}^2$ ] | relativ<br>[1/100] | absolut<br>[ $\mu\text{m}^2$ ] | relativ<br>[1/100] | absolut<br>[ $\mu\text{m}^2$ ] | relativ<br>[1/100] | absolut<br>[ $\mu\text{m}^2$ ] |
| 1         | 0,0065             | 120                            | 0,0210             | 389                            | 0,0000             | 0                              | 0,0234             | 433                            |
| 2         | 0,0002             | 3                              | 0,0007             | 13                             | 0,0377             | 697                            | 0,0334             | 619                            |
| 3         | 0,0345             | 640                            | 0,1144             | 2118                           | 0,0901             | 1669                           | 0,0000             | 0                              |
| 4         | 0,0000             | 0                              | 0,0159             | 294                            | 0,0148             | 274                            | 0,0627             | 1161                           |
| 5         | 0,0395             | 731                            | 0,0688             | 1274                           | 0,0349             | 647                            | 0,0536             | 993                            |
| 6         | 0,0657             | 1216                           | 0,0535             | 991                            | 0,0038             | 70                             | 0,0947             | 1753                           |
| 7         | 0,0147             | 272                            | 0,0579             | 1072                           | 0,0929             | 1721                           | 0,0037             | 68                             |
| 8         | 0,0594             | 1100                           | 0,0634             | 1175                           | 0,0528             | 977                            | 0,0000             | 0                              |
| 9         | 0,0635             | 1176                           | 0,0437             | 810                            | 0,0750             | 1389                           | 0,0400             | 741                            |
| 10        | 0,0154             | 285                            | 0,0187             | 346                            | 0,0105             | 195                            | 0,0043             | 79                             |
| 11        | 0,0068             | 125                            | 0,0413             | 764                            | 0,0557             | 1032                           | 0,0401             | 742                            |
| 12        | 0,0428             | 793                            | 0,0958             | 1774                           | 0,0412             | 763                            | 0,0208             | 386                            |
| 13        | 0,0263             | 486                            | 0,0000             | 0                              | 0,0708             | 1311                           | 0,0000             | 0                              |
| 14        | 0,0000             | 0                              | 0,0185             | 343                            | 0,0324             | 600                            | 0,1101             | 2038                           |
| 15        | 0,0268             | 496                            | 0,0174             | 322                            | 0,0212             | 392                            | 0,0043             | 79                             |
| 16        | 0,0269             | 498                            | 0,0000             | 0                              | 0,1096             | 2029                           | 0,0413             | 764                            |
| 17        | 0,0200             | 371                            | 0,0533             | 987                            | 0,0676             | 1251                           | 0,0253             | 468                            |
| 18        | 0,0000             | 0                              | 0,0000             | 0                              | 0,0214             | 397                            | 0,0000             | 0                              |
| 19        | 0,0619             | 1147                           | 0,0182             | 338                            | 0,0205             | 379                            | 0,0397             | 735                            |
| 20        | 0,0290             | 537                            | 0,0272             | 504                            | 0,0511             | 946                            | 0,0716             | 1326                           |

## Bindegewebe in den histologischen Schnitten der gesunden Prostata

| Sichtfeld | Tier 13            |                                | Tier 14            |                                | Tier 15            |                                | Tier 16            |                                |
|-----------|--------------------|--------------------------------|--------------------|--------------------------------|--------------------|--------------------------------|--------------------|--------------------------------|
|           | relativ<br>[1/100] | absolut<br>[ $\mu\text{m}^2$ ] | relativ<br>[1/100] | absolut<br>[ $\mu\text{m}^2$ ] | relativ<br>[1/100] | absolut<br>[ $\mu\text{m}^2$ ] | relativ<br>[1/100] | absolut<br>[ $\mu\text{m}^2$ ] |
| 1         | 0,0354             | 656                            | 0,0500             | 925                            | 0,0000             | 0                              | 0,0729             | 1350                           |
| 2         | 0,0233             | 431                            | 0,0000             | 0                              | 0,1099             | 2035                           | 0,1138             | 2108                           |
| 3         | 0,0787             | 1457                           | 0,0080             | 149                            | 0,0121             | 224                            | 0,0459             | 850                            |
| 4         | 0,0185             | 343                            | 0,0501             | 929                            | 0,0222             | 411                            | 0,0993             | 1839                           |
| 5         | 0,0054             | 100                            | 0,0181             | 335                            | 0,0745             | 1380                           | 0,0000             | 0                              |
| 6         | 0,0402             | 745                            | 0,0250             | 462                            | 0,0238             | 440                            | 0,0264             | 488                            |
| 7         | 0,1018             | 1886                           | 0,0748             | 1386                           | 0,0138             | 256                            | 0,0427             | 791                            |
| 8         | 0,0000             | 0                              | 0,0112             | 207                            | 0,0563             | 1043                           | 0,0399             | 739                            |
| 9         | 0,0293             | 543                            | 0,0461             | 854                            | 0,0506             | 937                            | 0,0369             | 683                            |
| 10        | 0,0000             | 0                              | 0,0076             | 140                            | 0,0609             | 1128                           | 0,0087             | 162                            |
| 11        | 0,0000             | 0                              | 0,0536             | 993                            | 0,0631             | 1168                           | 0,0061             | 113                            |
| 12        | 0,0244             | 452                            | 0,0532             | 985                            | 0,0657             | 1217                           | 0,0376             | 696                            |
| 13        | 0,0068             | 126                            | 0,0376             | 696                            | 0,0283             | 523                            | 0,0414             | 767                            |
| 14        | 0,0206             | 382                            | 0,1885             | 3490                           | 0,0075             | 139                            | 0,0145             | 268                            |
| 15        | 0,0283             | 524                            | 0,0190             | 351                            | 0,0261             | 484                            | 0,0532             | 986                            |
| 16        | 0,0414             | 766                            | 0,1084             | 2008                           | 0,0740             | 1371                           | 0,0522             | 967                            |
| 17        | 0,0370             | 686                            | 0,0000             | 0                              | 0,0129             | 238                            | 0,0214             | 396                            |
| 18        | 0,0771             | 1428                           | 0,0966             | 1788                           | 0,0304             | 563                            | 0,0547             | 1013                           |
| 19        | 0,0000             | 0                              | 0,0311             | 575                            | 0,1153             | 2136                           | 0,0218             | 404                            |
| 20        | 0,0000             | 0                              | 0,0294             | 545                            | 0,0437             | 810                            | 0,0540             | 999                            |

## Bindegewebe in den histologischen Schnitten der gesunden Prostata

| Sichtfeld                  | Tier 17 |                     |
|----------------------------|---------|---------------------|
|                            | relativ | absolut             |
| [18517,6 $\mu\text{m}^2$ ] | [1/100] | [ $\mu\text{m}^2$ ] |
| 1                          | 0,0778  | 1440                |
| 2                          | 0,0321  | 595                 |
| 3                          | 0,0698  | 1292                |
| 4                          | 0,0000  | 0                   |
| 5                          | 0,0169  | 313                 |
| 6                          | 0,0000  | 0                   |
| 7                          | 0,0376  | 697                 |
| 8                          | 0,0059  | 109                 |
| 9                          | 0,0000  | 0                   |
| 10                         | 0,0000  | 0                   |
| 11                         | 0,0000  | 0                   |
| 12                         | 0,0509  | 943                 |
| 13                         | 0,0455  | 843                 |
| 14                         | 0,0186  | 345                 |
| 15                         | 0,0145  | 269                 |
| 16                         | 0,0405  | 751                 |
| 17                         | 0,0000  | 0                   |
| 18                         | 0,0000  | 0                   |
| 19                         | 0,0113  | 209                 |
| 20                         | 0,0151  | 279                 |

### Blutgefäße in den histologischen Schnitten der Tumoren

|   | Tier 1  | Tier 2  | Tier 3  | Tier 4  | Tier 5  | Tier 6  | Tier 7  | Tier 8  | Tier 9  |
|---|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| Gefäße pro Sichtfeld                    | 5       | 12      | 9       | 6       | 15      | 8       | 8       | 9       | 13      |
| mittlere Gefäßgröße [ $\mu\text{m}^2$ ] | 29      | 24      | 29      | 25      | 23      | 31      | 21      | 22      | 18      |
| MVD (Gefäße pro $\mu\text{m}^2$ )       | 0,00029 | 0,00070 | 0,00051 | 0,00037 | 0,00086 | 0,00046 | 0,00044 | 0,00052 | 0,00071 |
| ICD [ $\mu\text{m}$ ]                   | 58      | 38      | 44      | 52      | 34      | 46      | 48      | 44      | 38      |
| (= mittl. interkap. Abstand)            |         |         |         |         |         |         |         |         |         |
| ICD + 20%                               | 73      | 47      | 55      | 65      | 43      | 58      | 59      | 55      | 47      |
| rel. Blutvolumen [1/100]                | 0,0084  | 0,0113  | 0,0145  | 0,0092  | 0,0131  | 0,0144  | 0,0091  | 0,0115  | 0,0126  |

146

### Blutgefäße in den histologischen Schnitten der gesunden Prostata

|   | Tier 1  | Tier 2  | Tier 3  | Tier 4  | Tier 5  | Tier 6  | Tier 7  | Tier 8  | Tier 9  |
|---|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| Gefäße pro Sichtfeld                    | 1       | 0       | 0       | 0       | 0       | 0       | 0       | 0       | 0       |
| mittlere Gefäßgröße [ $\mu\text{m}^2$ ] | 107     | 126     | 287     | 117     | 239     | 193     | 184     | 155     | 351     |
| MVD (Gefäße pro $\mu\text{m}^2$ )       | 0,00006 | 0,00004 | 0,00004 | 0,00004 | 0,00003 | 0,00005 | 0,00004 | 0,00005 | 0,00002 |
| ICD [ $\mu\text{m}$ ]                   | 127     | 157     | 167     | 161     | 185     | 140     | 152     | 146     | 203     |
| (= mittl. interkap. Abstand)            |         |         |         |         |         |         |         |         |         |
| ICD + 20%                               | 159     | 196     | 208     | 201     | 231     | 175     | 190     | 183     | 254     |
| rel. Blutvolumen [1/100]                | 0,0066  | 0,0051  | 0,0103  | 0,0045  | 0,0070  | 0,0099  | 0,0080  | 0,0072  | 0,0085  |

### Blutgefäße in den histologischen Schnitten der Tumoren

|   | Tier 10 | Tier 11 | Tier 12 | Tier 13 | Tier 14 | Tier 15 | Tier 16 | Tier 17 |
|---|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| Gefäße pro Sichtfeld                    | 8       | 7       | 8       | 11      | 8       | 8       | 10      | 13      |
| mittlere Gefäßgröße [ $\mu\text{m}^2$ ] | 23      | 26      | 19      | 40      | 19      | 25      | 17      | 14      |
| MVD (Gefäße pro $\mu\text{m}^2$ )       | 0,00048 | 0,00040 | 0,00044 | 0,00062 | 0,00043 | 0,00047 | 0,00057 | 0,00071 |
| ICD [ $\mu\text{m}$ ]                   | 45      | 50      | 48      | 40      | 48      | 46      | 42      | 38      |
| (= mittl. interkap. Abstand)            |         |         |         |         |         |         |         |         |
| ICD + 20%                               | 57      | 62      | 60      | 50      | 60      | 57      | 52      | 47      |
| rel. Blutvolumen [1/100]                | 0,0072  | 0,0103  | 0,0085  | 0,0190  | 0,0084  | 0,0118  | 0,0073  | 0,0101  |

147

### Blutgefäße in den histologischen Schnitten der gesunden Prostata

|   | Tier 10 | Tier 11 | Tier 12 | Tier 13 | Tier 14 | Tier 15 | Tier 16 | Tier 17 |
|---|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| Gefäße pro Sichtfeld                    | 0       | 0       | 0       | 0       | 0       | 0       | 0       | 0       |
| mittlere Gefäßgröße [ $\mu\text{m}^2$ ] | 143     | 194     | 302     | 282     | 260     | 254     | 203     | 170     |
| MVD (Gefäße pro $\mu\text{m}^2$ )       | 0,00003 | 0,00003 | 0,00002 | 0,00003 | 0,00002 | 0,00004 | 0,00003 | 0,00003 |
| ICD [ $\mu\text{m}$ ]                   | 176     | 188     | 230     | 183     | 231     | 169     | 171     | 183     |
| (= mittl. interkap. Abstand)            |         |         |         |         |         |         |         |         |
| ICD + 20%                               | 220     | 235     | 288     | 229     | 288     | 211     | 214     | 229     |
| rel. Blutvolumen [1/100]                | 0,0046  | 0,0055  | 0,0057  | 0,0084  | 0,0049  | 0,0089  | 0,0069  | 0,0051  |

**mittlere Gefäßgröße pro Sichtfeld in den histologischen Schnitten der Tumoren [ $\mu\text{m}^2$ ]**

| Sichtfeld                  | Tier 1 | Tier 2 | Tier 3 | Tier 4 | Tier 5 | Tier 6 | Tier 7 | Tier 8 | Tier 9 |
|----------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| [18517,6 $\mu\text{m}^2$ ] |        |        |        |        |        |        |        |        |        |
| 1                          | 11     | 21     | 28     | 12     | 21     | 66     | 18     | 25     | 9      |
| 2                          | 20     | 17     | 43     | 25     | 24     | 24     | 27     | 17     | 22     |
| 3                          | 17     | 42     | 103    | 31     | 21     | 33     | 14     | 43     | 23     |
| 4                          | 17     | 23     | 30     | 67     | 29     | 25     | 41     | 24     | 21     |
| 5                          | 62     | 58     | 16     | 27     | 29     | 26     | 28     | 21     | 17     |
| 6                          | 27     | 18     | 32     | 14     | 16     | 19     | 19     | 21     | 24     |
| 7                          | 38     | 23     | 37     | 11     | 16     | 104    | 18     | 42     | 25     |
| 8                          | 15     | 25     | 16     | 23     | 24     | 17     | 23     | 22     | 28     |
| 9                          | 15     | 14     | 45     | 41     | 17     | 40     | 23     | 15     | 56     |
| 10                         | 18     | 77     | 19     | 16     | 17     | 19     | 10     | 22     | 21     |
| 11                         | 45     | 14     | 33     | 15     | 30     | 24     | 15     | 12     | 10     |
| 12                         | 13     | 31     | 26     | 10     | 18     | 23     | 28     | 32     | 8      |
| 13                         | 47     | 18     | 22     | 42     | 40     | 20     | 26     | 16     | 9      |
| 14                         | 17     | 8      | 34     | 22     | 32     | 24     | 49     | 24     | 13     |
| 15                         | 57     | 12     | 24     | 23     | 27     | 38     | 31     | 14     | 8      |
| 16                         | 46     | 9      | 17     | 21     | 15     | 28     | 24     | 16     | 8      |
| 17                         | 11     | 16     | 12     | 43     | 52     | 42     | 16     | 15     | 18     |
| 18                         | 24     | 29     | 34     | 54     | 23     | 53     | 16     | 28     | 15     |
| 19                         | 48     | 21     | 32     | 11     | 17     | 18     | 11     | 29     | 8      |
| 20                         | 42     | 33     | 42     | 33     | 22     | 60     | 11     | 13     | 15     |
| 21                         | 31     |        | 11     |        | 17     | 24     | 13     |        |        |
| 22                         |        |        | 12     |        |        | 25     | 19     |        |        |
| 23                         |        |        |        |        |        |        | 18     |        |        |

**mittlere Gefäßgröße pro Sichtfeld in den histologischen Schnitten der Tumoren [ $\mu\text{m}^2$ ]**

| Sichtfeld                  | Tier 10 | Tier 11 | Tier 12 | Tier 13 | Tier 14 | Tier 15 | Tier 16 | Tier 17 |
|----------------------------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| [18517,6 $\mu\text{m}^2$ ] |         |         |         |         |         |         |         |         |
| 1                          | 13      | 43      | 46      | 17      | 18      | 38      | 28      | 15      |
| 2                          | 17      | 27      | 18      | 30      | 30      | 12      | 17      | 10      |
| 3                          | 61      | 13      | 17      | 24      | 21      | 8       | 9       | 14      |
| 4                          | 15      | 48      | 10      | 14      | 20      | 35      | 13      | 6       |
| 5                          | 26      | 16      | 29      | 10      | 23      | 49      | 14      | 13      |
| 6                          | 10      | 54      | 15      | 18      | 13      | 21      | 14      | 13      |
| 7                          | 23      | 21      | 38      | 22      | 13      | 33      | 15      | 11      |
| 8                          | 13      | 28      | 47      | 16      | 62      | 33      | 20      | 10      |
| 9                          | 18      | 46      | 26      | 23      | 15      | 36      | 11      | 9       |
| 10                         | 15      | 23      | 20      | 37      | 12      | 25      | 15      | 15      |
| 11                         | 22      | 16      | 11      | 20      | 11      | 57      | 9       | 12      |
| 12                         | 21      | 47      | 15      | 34      | 20      | 16      | 31      | 10      |
| 13                         | 17      | 22      | 20      | 47      | 13      | 10      | 25      | 21      |
| 14                         | 16      | 27      | 27      | 79      | 25      | 15      | 11      | 28      |
| 15                         | 11      | 24      | 7       | 140     | 20      | 25      | 33      | 26      |
| 16                         | 12      | 33      | 17      | 81      | 15      | 38      | 16      | 17      |
| 17                         | 39      | 24      | 14      | 30      | 17      | 11      | 11      | 26      |
| 18                         | 16      | 23      | 21      | 51      | 15      | 28      | 17      | 9       |
| 19                         | 57      | 12      | 25      | 67      | 20      | 18      | 20      | 13      |
| 20                         | 14      | 26      | 36      | 97      | 45      | 25      | 21      | 9       |
| 21                         |         | 15      | 9       | 42      | 9       | 24      |         |         |
| 22                         |         |         |         |         |         | 42      |         |         |

**mittlere Gefäßgröße pro Sichtfeld in den histologischen Schnitten der gesunden Prostata [ $\mu\text{m}^2$ ]**

| Sichtfeld                  | Tier 1 | Tier 2 | Tier 3 | Tier 4 | Tier 5 | Tier 6 | Tier 7 | Tier 8 | Tier 9 |
|----------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| [18517,6 $\mu\text{m}^2$ ] |        |        |        |        |        |        |        |        |        |
| 1                          | 129    | 434    | 40     | 25     | 0      | 0      | 31     | 384    | 0      |
| 2                          | 61     | 0      | 625    | 151    | 544    | 102    | 158    | 0      | 194    |
| 3                          | 41     | 0      | 45     | 0      | 296    | 380    | 0      | 310    | 623    |
| 4                          | 75     | 72     | 0      | 0      | 33     | 339    | 0      | 0      | 0      |
| 5                          | 185    | 4      | 0      | 122    | 0      | 0      | 197    | 156    | 76     |
| 6                          | 0      | 90     | 0      | 173    | 0      | 0      | 99     | 0      | 0      |
| 7                          | 74     | 119    | 0      | 0      | 0      | 107    | 0      | 0      | 0      |
| 8                          | 15     | 86     | 424    | 1135   | 0      | 0      | 243    | 0      | 45     |
| 9                          | 242    | 0      | 0      | 116    | 0      | 33     | 0      | 14     | 0      |
| 10                         | 0      | 0      | 19     | 0      | 0      | 35     | 155    | 88     | 0      |
| 11                         | 118    | 0      | 0      | 0      | 77     | 0      | 803    | 140    | 0      |
| 12                         | 0      | 96     | 72     | 0      | 64     | 0      | 146    | 0      | 258    |
| 13                         | 0      | 262    | 0      | 0      | 714    | 370    | 0      | 0      | 0      |
| 14                         | 349    | 0      | 194    | 0      | 0      | 0      | 0      | 39     | 0      |
| 15                         | 0      | 0      | 0      | 35     | 0      | 78     | 56     | 166    | 128    |
| 16                         | 28     | 0      | 0      | 36     | 131    | 0      | 338    | 0      | 0      |
| 17                         | 0      | 95     | 0      | 0      | 31     | 190    | 0      | 0      | 1088   |
| 18                         | 0      | 0      | 0      | 0      | 94     | 45     | 121    | 283    | 127    |
| 19                         | 48     | 132    | 0      | 25     | 0      | 0      | 0      | 111    | 0      |
| 20                         | 30     | 0      | 0      | 96     | 221    | 301    | 0      | 0      | 0      |
| 21                         |        |        | 255    | 116    | 0      |        |        | 197    |        |
| 22                         |        |        | 0      | 0      | 0      |        |        | 38     |        |
| 23                         |        |        | 804    | 11     | 0      |        |        |        |        |
| 24                         |        |        | 1486   | 24     | 0      |        |        |        |        |
| 25                         |        |        |        | 0      |        |        |        |        |        |
| 26                         |        |        |        | 0      |        |        |        |        |        |
| 27                         |        |        |        | 0      |        |        |        |        |        |
| 28                         |        |        |        | 29     |        |        |        |        |        |



**mittlere Gefäßgröße pro Sichtfeld in den histologischen Schnitten der gesunden Prostata [ $\mu\text{m}^2$ ]**

| Sichtfeld                  | Tier 10 | Tier 11 | Tier 12 | Tier 13 | Tier 14 | Tier 15 | Tier 16 | Tier 17 |
|----------------------------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| [18517,6 $\mu\text{m}^2$ ] |         |         |         |         |         |         |         |         |
| 1                          | 80      | 176     | 0       | 20      | 0       | 0       | 0       | 13      |
| 2                          | 188     | 0       | 1279    | 575     | 0       | 0       | 104     | 205     |
| 3                          | 243     | 0       | 0       | 0       | 9       | 0       | 0       | 0       |
| 4                          | 605     | 0       | 0       | 146     | 0       | 1013    | 0       | 159     |
| 5                          | 0       | 0       | 0       | 0       | 545     | 0       | 191     | 0       |
| 6                          | 43      | 17      | 0       | 89      | 0       | 0       | 0       | 362     |
| 7                          | 0       | 0       | 0       | 0       | 0       | 0       | 0       | 0       |
| 8                          | 148     | 0       | 182     | 0       | 0       | 326     | 699     | 17      |
| 9                          | 0       | 0       | 289     | 41      | 326     | 78      | 42      | 0       |
| 10                         | 0       | 0       | 81      | 591     | 0       | 180     | 0       | 0       |
| 11                         | 0       | 880     | 0       | 0       | 167     | 0       | 134     | 266     |
| 12                         | 29      | 0       | 0       | 151     | 86      | 0       | 67      | 0       |
| 13                         | 0       | 101     | 0       | 38      | 0       | 0       | 0       | 0       |
| 14                         | 0       | 114     | 166     | 1255    | 0       | 0       | 0       | 0       |
| 15                         | 0       | 0       | 0       | 0       | 410     | 32      | 41      | 0       |
| 16                         | 62      | 27      | 0       | 0       | 360     | 0       | 286     | 0       |
| 17                         | 0       | 450     | 0       | 0       | 0       | 166     | 533     | 100     |
| 18                         | 80      | 41      | 0       | 0       | 0       | 0       | 0       | 0       |
| 19                         | 0       | 75      | 34      | 0       | 0       | 69      | 172     | 0       |
| 20                         | 0       | 153     | 0       | 42      | 179     | 110     | 0       | 0       |
| 21                         |         | 0       |         |         | 0       |         | 0       |         |
| 22                         |         |         |         |         | 0       |         | 0       |         |
| 23                         |         |         |         |         | 0       |         | 154     |         |
| 24                         |         |         |         |         |         |         | 33      |         |
| 25                         |         |         |         |         |         |         | 0       |         |
| 26                         |         |         |         |         |         |         | 241     |         |
| 27                         |         |         |         |         |         |         | 0       |         |
| 28                         |         |         |         |         |         |         | 0       |         |
| 29                         |         |         |         |         |         |         | 55      |         |
| 30                         |         |         |         |         |         |         | 0       |         |

## 11 DANKSAGUNG

Bei Frau Univ.-Prof. Dr. habil. J. Plendl und PD Dr. med. Dipl.-Phys. M. Taupitz möchte ich mich recht herzlich für die Überlassung des Themas dieser Dissertation bedanken.

Ebenfalls bedanke ich mich herzlich bei Herrn Univ.-Prof. Dr. habil. B. Hamm, der mir die Möglichkeit gegeben hat, die räumliche und technische Ausstattung am Institut für Radiologie der Charité – Universitätsmedizin Berlin zu nutzen.

PD Dr. med. D. Beyersdorff und Dr. rer. nat. L. Lüdemann sowie Dr. rer. nat. D. Prochnow und Dr. rer. nat. C. Warmuth danke ich für ihre fachliche Unterstützung und die stets interessanten Diskussionen im Rahmen der Prostata-Arbeitsgruppe, die wesentlich zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Mein ganz besonderer Dank gilt Herrn Dr. med. vet. J. Schnorr, der mich über den gesamten Zeitraum dieser Arbeit unterstützt hat und mich mit seiner freundlichen und kompetenten Art immer wieder motiviert hat, mit Spaß weiter zu forschen.

Ganz herzlich möchte ich mich auch bei Frau Dr. med. vet. H. Hünigen für ihre Unterstützung bei der Auswertung der histologischen Untersuchungen bedanken. Durch ihre immer wunderbar optimistische und freundliche Art, gepaart mit ihrer großen fachlichen Kompetenz, war es mir stets eine große Freude, die Auswertung der histologischen Präparate vorzunehmen.

Frau Dipl.-Stat. T. Schink danke ich für die freundliche und ausführliche statistische Beratung.

Meiner Frau Ines und meinen beiden Kindern Lasse und Lina danke ich, dass sie da sind und mir jeden Tag aufs Neue große Freude bereiten. Ines danke ich weiterhin ganz besonders für ihre Geduld, sich selbst spät abends noch meine Gedanken und Ausführungen über diese Arbeit anzuhören.

Zum Schluss möchte ich noch einen speziellen Dank an meine Eltern und meine Familie sowie an meine Freunde und Kollegen richten, die mir durch ihre Hilfe und immer wiederkehrenden Aufmunterungen hervorragend über Phasen geringerer Kreativität hinweggeholfen haben.

## **12 SELBSTSTÄNDIGKEITSERKLÄRUNG**

Hiermit bestätige ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig angefertigt habe. Ich versichere, dass ich ausschließlich die angegebenen Quellen und Hilfen in Anspruch genommen habe.

Ole Gemeinhardt

Berlin, den 18.03.2008





