

3 Grundlagen und Literaturübersicht

3.1 Solide Tumore

Solide Tumore sind im Hinblick auf therapeutische Konzeptionen von malignen Systemerkrankungen wie hämatologischen oder lymphatischen Neoplasmen abzugrenzen (z.B. myeloische Leukämie oder lymphatische Leukämie). Im radiologischen Sinne steht die Unterscheidung der soliden von einer zystischen Tumorstruktur im Vordergrund. In dieser Arbeit werden ausschließlich solide Tumore im Sinne der therapeutisch konzeptionellen und radiologischen Begriffsbestimmung beschrieben.

3.1.1 Der Aufbau solider Tumore

Bösartige Geschwülste epithelialen Ursprungs werden als Carcinome bezeichnet. Sie machen ca. 80 % der Tumoren bei Mensch und Tier aus (Becker und Wahrendorf, 1991; Stünzi und Weiss, 1990). Solide Tumoren bestehen nicht allein aus einer Masse maligne entarteter Zellen, sondern sind organisierte Strukturen, welche aus Tumorzellen und morphologisch sowie funktionell weitgehend unveränderten Zellen bestehen. Bei letzteren handelt es sich um Fibroblasten, Immunzellen und endotheliale Blutgefäßzellen (Kuppen et al., 2001). Die malignen Epithelzellen werden als Parenchym bezeichnet und sind als Einheiten von Platten oder Nestern angeordnet. Der sie umgebende Raum ist das Interstitium, welches Bindegewebszellen, Gefäße und Interzellularsubstanzen beinhaltet, welche in ihrer Gesamtheit als Stroma bezeichnet werden (Nagy et al., 1989).

Die durch die Parenchymzellen induzierte Bildung des Stromas ist essentiell für das Wachstum des Tumors. Alle soliden Tumore benötigen ein Stroma, wenn sie eine minimale Größe von 1-2 mm überschreiten. Der konkrete Aufbau des Stromas kann je nach Muttergewebe variieren, doch die Hauptarchitektur ist immer gleich. Es besitzt einen relativ geringen Zellgehalt und besteht aus einem Kollagengerüst und Elastinfasern. Der Anteil des Kollagens am Feuchtgewicht kann 3-30 % ausmachen. Die interstitielle Matrix, der Raum zwischen den Zellen und Fasern enthält Wasser, Salze, Plasmaproteine und Glycosaminoglykane (GAG). Bei den GAG handelt es sich um Hyaluron-, Keratan-, Dermatan- und Chondroitinsulfat. Die Grundbaueinheit der GAG sind Disaccharide. Diese GAG sind in sulfatierter Form an Proteine gebunden und bilden so die Proteoglykane. Die Glycosaminoglykane beeinflussen als anionische Polyelektrolyte wesentlich die physikochemikalischen Eigenschaften des Interstitiums. Sie sind hochviskös und geben dem

eigentlich wässrigen Interstitium Eigenschaften eines Gels und somit eine niedere hydraulische Leitfähigkeit (Wiig, 1990).

Unterschiede in der Zusammensetzung des Interstitiums verschiedener Tumortypen sind oft primär quantitativer Natur. Beispielsweise sind Karzinome des Typs, die gewöhnlich in der weiblichen Brust und im Gastrointestinaltrakt vorkommen, durch ein sehr dichtes, fibröses Stroma charakterisiert, das mit 80-90 % den überragenden Anteil der Tumormasse ausmacht. Andere Tumore, zum Beispiel medulläre Mammacarcinome, besitzen einen geringen Anteil an Stroma-Bindegewebe. Qualitative Unterschiede in der Zusammensetzung des Interstitiums stellen beispielsweise bindegewebige, knorpelige oder knöcherne Strukturen dar. Während Tumore, die den gleichen Organen unterschiedlicher Patienten entstammen, sich quantitativ und qualitativ in dem durch sie erzeugten Stroma sehr stark voneinander unterscheiden können, sind sich Tumore und Metastasen in einem Patienten in dieser Hinsicht sehr ähnlich (Steinbrunner, 1996).

3.1.2 Das Colonicarcinom CC531

Das Colonicarcinom CC531 ist ebenso wie der Darmkrebs des Menschen ein Adenocarcinom, welches der Dickdarmschleimhaut entstammt. Diese etablierte Tumorzelllinie geht aus einem Colonicarcinom hervor, das durch 1,2-Dimethylhydralazin in der WAG-Ratte induziert wurde (Vahrmeijer et al., 1999). Es handelt sich um ein schwach immunogenes, moderat differenziertes Carcinom-Modell, dessen Transplantation auf syngene WAG/RIJ-Ratten und Nacktmäuse möglich ist (Gutt et al., 1999).

Die Implantationsstelle kann flexibel gewählt werden. So wurden unter anderem Modelle subkutaner (Demetriopoulos et al., 2000; Heisterkamp et al., 1999), intraperitonealer (Pross et al., 2001) und intrahepatischer Lokalisation (Germer et al., 1999) genutzt. Durch transanale Injektion der Zellen wurde das Tumorwachstum im distalen Colon induziert (Gutt et al., 1999). Zur Simulation intrahepatisch lokalisierter Metastasen eines primären Colonicarcinoms werden die Zellen über die Portalvene appliziert (Pauser et al., 1997). Über die Schwanzvene inokulierte Tumorzellen führen zur Bildung von soliden Tumoren in der Lunge (Hagenaars et al., 2000).

In der histologischen Untersuchung stellen sich Epithelzellen dar, die sich in mehr oder weniger drüsenartig strukturierter Anordnung um zentrale Lumina befinden. Sie sind durch Bindegewebe und immunreaktive, infiltrierende Zellen voneinander getrennt. Es werden häufig zentrale Nekrosen beobachtet. Der Tumor ist von einer bindegewebigen Kapsel

umgeben. Die Invasivität des Wachstums wird vom umgebenden Gewebe mitbestimmt (Griffini et al., 1997; Thomas et al., 1995).

Das Wachstumsverhalten der Tumorzellen ist neben Vitalität und Anzahl der implantierten Zellen abhängig vom Alter und Immunstatus der Tiere. Generell handelt es sich um einen relativ langsam wachsenden Tumor. So wurde beispielsweise bei Ratten nach 28 Tagen Wachstumszeit ein durchschnittlicher Tumordurchmesser von 12,5 mm gemessen (Fischer, 2000). Bei subkutaner Implantation wurden Metastasen hauptsächlich in der Lunge, in regionalen sowie sonstigen Lymphknoten, Colon und Thymus gefunden (Demetrikopoulos et al., 2000).

3.1.3 Vaskuläre Strukturen solider Tumore

Die vaskulären Strukturen solider Tumore stehen sowohl als Transportweg für verschiedene Medikamente in der Therapie und für Kontrastmittel in der bildgebenden Diagnostik als auch als Korrelat zum Tumorwachstum im Vordergrund onkologischer Studien.

3.1.3.1 Bedeutung der Angiogenese

1971 wurde erstmals die Hypothese aufgestellt, „tumor growth is angiogenesis dependent“ (Folkman, 1971). Seit dem sind durch verschiedenste Studien supportive Ergebnisse für diese Hypothese erbracht worden. Angiogenese ist definiert als die Bildung neuer Blutgefäße durch das Sprossen von Kapillaren aus existierenden mikrovaskulären Strukturen (Battegay, 1995).

Das Tumorwachstum kann in eine prävasculäre und vaskuläre Phase unterteilt werden. In der prävasculären Phase ist der Tumor von geringer Größe und kann nur aus einer limitierten Zellpopulation bestehen, da die Zufuhr der nutritiven Stoffe bzw. der Abtransport der Abfallstoffe nur per Diffusion erfolgen kann. Der Eintritt eines wachsenden Tumors in die angiogenetische und damit vaskuläre Phase erlaubt eine rapide Expansion der Tumorzellpopulation. Dies kann aber auch umgangen werden, in dem die Zellen in dünnen Schichten wachsen, wie beispielsweise auf den Meningen oder in Nervenhiillen (Folkman, 1990).

Die Tumolvaskularisation erfolgt (1) über Gefäße, die dem bereits bestehenden Gefäßnetzwerk des Wirtes entstammen und (2) über Gefäße, die aus der Antwort der Wirtesgefäße auf Angiogenesefaktoren der Tumorzellen resultieren (Jain, 1988; Folkman, 1985). Die Induktion von Gefäßwachstum korreliert aber nicht immer zwingend mit der

Malignität. Zum Beispiel sind adrenale Adenome stark angiogenetisch aktive benigne Tumore. Angiogenese kommt auch in prämaligmem Gewebe vor und kann somit vor der Tumorgenität erworben werden. Sie spielt neben der dargestellten Bedeutung für das Tumorwachstum eine essentielle Rolle bei der Metastasierung (Passe et al., 1997; Folkman, 1992).

3.1.3.2 Makroskopische Organisation der Tumervaskularisation

Makroskopisch kann die Tumervaskularisation in zwei idealisierte Kategorien, peripher und zentral, unterteilt werden (Rubin und Casarett, 1966). Tumore peripherer Vaskularisation weisen meist ein sehr schlecht durchblutetes Zentrum auf. In Folge dessen ist hier die Anflutung von Kontrastmitteln beispielsweise bei einer dynamischen MRT-Untersuchung zunächst nur in geringem Maße zu erwarten. Die Tumore der zweiten Kategorie zeichnen sich durch Gefäßproliferation aus, welche vom Zentrum ausgeht. Eine größere Gefäßdichte und ein größeres Gefäßvolumen ist also hier im zentralen Tumorareal zu erwarten.

Tatsächlich aber besteht ein Tumor aus vielen kleinen derartigen Zonen, von denen jede die eine oder andere idealisierte Vaskularisationsform aufweisen kann. Generell ist bei Tumoren die Wachstumszone und damit die angiogenetisch aktive Zone in der Peripherie zu erwarten, während sich dieser eine seminekrotische Zone verminderter Vaskularisation und zentral die nekrotische Zone anschließt (Falk, 1982; Falk, 1980).

3.1.3.3 Mikroskopische Organisation der Tumervaskularisation

Im gesunden Gewebe fließt das Blut durch große Arterien, kleine Arterien, Arteriolen, terminale Arteriolen in das Kapillarbett und verlässt dieses über postkapilläre Venolen, kleine Venen in die großen Venen. Zum besseren Verständnis der Organisation der Gefäße im Bereich der Tumormikrozirkulation erweist es sich als günstig, zunächst diese allgemein gültige Terminologie von sich hierarchisch aufteilenden Blutgefäßen in einem idealisierten gesunden Gewebe mit einfacher Verbindung zwischen arterieller und venöser Seite darzustellen.

Die großen und kleinen Arterien sowie die Arteriolen sind mit glatter Muskulatur ausgestattet und somit zur Vasomotion befähigt. Die terminalen Arteriolen besitzen proximal noch glatte Muskulatur, die graduell abnimmt bis schließlich eine einzelne, spiralig gewickelte Muskelzellige das Ende der kontraktilen Ausstattung darstellt. Diese letzte Schicht glatter Muskelzellen wird als präkapillärer Sphinkter bezeichnet und dient der Regulation des Blutflusses in das kapilläre Bett.

Kapillaren sind Gefäße, die mit Endothelzellen ausgekleidet sind und von einer Basalmembran umgeben werden. Sie besitzen keine glatte Muskulatur und sind daher auch nicht vasokonstriktorisch tätig. Allerdings kann die Fähigkeit von Endothelzellen und Perizyten, alleine Vasomotion zu verursachen, dennoch nicht ausgeschlossen werden. Die große Oberfläche und ihre Struktur macht die Kapillaren zum idealen Ort des Stoffaustausches zwischen Blut und Gewebe. Kapillaren des gesunden Gewebes können in drei Kategorien eingeteilt werden: (a) kontinuierliche, nicht fenestrierte, (b) fenestrierte und (c) diskontinuierliche Kapillaren sowie Sinusoide. Nichtfenestrierte Kapillaren sind der häufigste Typ und finden sich vor allem in Haut, Bindegewebe, Skelett- und Herzmuskel, alveolären Kapillaren der Lunge und im Gehirn. Fenestrierte Kapillaren besitzen Lücken oder zirkuläre endotheliale Öffnungen von 400-800 Å. Diese Fenster können offen sein, wie beispielsweise in den Kapillaren der Nierenglomeruli, oder sie sind von einem dünnen Diaphragma von ~60-80 Å überzogen. Derartige Kapillaren finden sich in der Darmmukosa, in der Bauchspeicheldrüse, in peritubulären Kapillaren, in endokrinen Drüsen, im Plexus choroideus des Gehirns und im Ziliarkörper des Auges. Diskontinuierliche Kapillaren oder Sinusoide haben einen großen Durchmesser und weite Öffnungen zwischen den Endothelzellen. Die Basalmembran erstreckt sich ebenfalls nur diskontinuierlich oder fehlt vollständig. Beispiele für diesen Typ sind in den Sinusoiden der Leber und Milz und im Knochenmark zu finden (Simionescu und Simionescu, 1984; Wiedeman et al., 1981).

Die postkapillären Venolen bestehen aus einer Schicht von Endothelzellen und einer Basalmembran. Sie besitzen einen größeren Durchmesser als die Kapillaren. Sie haben üblicherweise keine glatte Muskulatur und verfügen über die schwächsten interendothelialen Verbindungen. Ihre Sensivität für Prostaglandine, Histamin, Serotonin und Bradykinin macht sie zu den prädestinierten Stellen für Plasmaextravasation und Diapedesis bei Entzündungsreaktionen (Persson und Svensjo, 1985). Die postkapillären Venolen weisen wiederum glatte Muskulatur auf. In Gebieten funktionsbedingt variabler Durchblutung können sie über arteriovenöse Anastomosen direkt mit Venolen verbunden sein, wobei die arterielle Seite dieser Anastomosen ebenfalls mit glatten Muskelzellen ausgestattet ist. Beispiele derartiger Verbindungen existieren in den Fingerspitzen, in den Zehen, in der Haut, im Nagelbett, in den Lippen, in der Darmmukosa oder in der Schilddrüse.

Die Morphologie (Anatomie) und Funktion (Physiologie) von Tumorgefäßen geht hiermit nicht konform sondern stellt sich heterogen dar, obwohl die Tumovaskularisation ja ursprünglich von der des Wirtes abstammt. Daher wurden von verschiedenen Autoren Systeme zur Klassifikation der Tumorgefäße erarbeitet. Less et al. (1991) stellte anhand eines Mammacarcinoms ein Schema zur Klassifikation von Tumorgefäßen vor, welches auch die Verästelung der Gefäße mit einbezieht. Sie beschreibt ein konzentrisches Arrangement der

vaskulären Strukturen, in dem die zuführende Arteriole zentral den Tumor penetriert und sich peripher in ein Netzwerk kleinerer Arteriolen verzweigt, welches die Kapillaren speist. Dem folgen kleine Venulen, die wiederum das Blut in größere Venulen abgeben. Die Region der venösen Strukturen befindet sich vornehmlich als Netzwerk großer Venulen in der Peripherie des Tumors.

Warren (1979) erstellte ein System, in dem die Tumorgefäße ausgehend von ihrer Ultrastruktur in neun Kategorien unterteilt werden. Dieses wurde von Jain (1988) weiter modifiziert, um möglichst viele Analogien zu gesundem Gewebe darzustellen. Danach wird unterteilt in Gefäße der Klasse 1: Arterien und Arteriolen, Klasse 2: nichtfenestrierte Kapillaren, Klasse 3: fenestrierte Kapillaren, Klasse 4: diskontinuierliche Kapillaren (Sinusoide), Klasse 5: Blutkanäle ohne endotheliale Auskleidung, Klasse 6: kapilläre Sprossungen und Klasse 7: postkapilläre Venolen (Riesenskapillaren), Klasse 8: Venolen und Venen, Klasse 9: arteriovenöse Anastomosen. Außer der Klasse 5 und 6 bestehen alle Gefäßstrukturen auch in gesundem Gewebe. Unterschiede ergeben sich aber in sofern, dass sich in der endothelialen Auskleidung von Tumorgefäßen auch Tumorzellen befinden können und dass sie des weiteren häufig dilatiert, sackartig erweitert und stark gewunden sind (Hammersen et al., 1985). Zudem weisen sie spezielle Verzweigungsmuster, blinde Endungen und Schlaufenstrukturen auf, die im gesunden Gewebe in dieser Form nicht vorkommen (Less et al., 1991).

Die vaskulären Strukturen der soliden Tumore weisen zusätzlich hyperpermeable Eigenschaften auf. Dafür ist möglicherweise ein vom Tumor selber synthetisierter und sezernierter Mediator verantwortlich. Dieser vaskuläre Permeabilitätsfaktor (VPF) konnte gereinigt und geklont werden. Wird VPF in die Haut oder andere gesunde Gewebe injiziert, kommt es zur lokalen Extravasation eines proteinreichen Plasma-Exsudates, wie es auch durch Entzündungsmediatoren wie z.B. Histamin hervorgerufen wird. Die Ähnlichkeit zu Histamin besteht zusätzlich darin, dass der bevorzugte Wirkungsort postkapilläre Venolen und kleinen Venen sind (Keck et al., 1989; Brock et al., 1991).

Die Verwendung der genannten Klassifikationen ermöglicht wenigstens prinzipiell eine Beschreibung der Gefäßorganisation der Tumore. Ausgehend von einer bestimmten Lokalisation im Tumor wird das Blut von der arteriellen (Klasse 1) zur venösen Seite (Klasse 8) über die Gefäße der Klasse 2 bis 7 oder auf direktem Weg über arteriovenöse Anastomosen geleitet. Da sich die soliden Tumore in der Regel in ständigem Wachstum befinden, ändert sich auch die Natur der Vaskularisation ständig und daher ist es möglich, dass das Blut von einer Venole der Klasse 8 über die Gefäße der Klasse 2 bis 7 wieder

zurück in eine Venole der Klasse 8 strömt. So können innerhalb eines Tumors von einem Ort zum anderen und zu verschiedenen Zeiten die Routen des Blutflusses variieren.

Der vaskuläre Raum solider Tumore variiert abhängig von Typ, Gewicht und verwendeter Meßmethode von 1-20 %. Es konnte gezeigt werden, dass das absolute vaskuläre Gesamtvolumen während des Tumorwachstums annähernd konstant bleibt. Dies stimmt mit der Beobachtung überein, dass die Perfusionsrate des Tumors mit zunehmender Größe abnimmt (Jain, 1988).

3.1.3.4 Mikrovaskuläre Dichte in soliden Tumoren

Auf der Suche nach adäquaten Methoden, die Vaskularisation im Tumorgewebe darzustellen, wurden unter anderem Ausgusspräparate angefertigt (Less et al., 1991), intravitale Mikroskopie (Leunig et al., 1992b), dynamische kontrastmittelverstärkte und spektroskopische MRT-Untersuchungen durchgeführt (Passe et al., 1997) sowie diverse histologische Techniken erprobt und etabliert. Zu letzteren gehören die immunhistochemischen Färbemethoden, bei denen endothelspezifische Antigene markiert werden und unter Anwendung eines etablierten Analyseverfahrens die mikrovaskuläre Dichte (Microvascular density, MVD) bestimmt werden kann. Die Markierung der Antigene kann mittels spezifischer Antikörper oder Lektine vorgenommen werden.

Typische Antikörper, die hier zur Anwendung kommen sind gegen das Faktor VIII-related antigen (syn. von Willebrand Faktor, vWF, F8), gegen das CD31-Antigen oder gegen das CD34-Antigen gerichtet (Moore et al., 1998; Turetschek et al., 2001b; Hochberg et al., 2002). Die CD-Nomenklatur dient der Bezeichnung von Differenzierungsantigenen (cluster of differentiation bzw. cluster determinants) auf Zelloberflächen, deren Zellmembranantigene identisch mit denen von Immunzellen sind. Die Antigenstrukturen des Menschen und der einzelnen Tierspezies unterscheiden sich geringfügig. Die Antikörper werden kommerziell hauptsächlich gegen menschliche Antigene hergestellt, so dass sich bei der Verwendung auf tierischem Gewebe Unterschiede in der Sensivität ergeben können. Mit dem vWF konnten auch auf Rattengewebe eindeutige Markierungen der Endothelzellen und somit eine Bestimmung der MVD vorgenommen werden.

Lektine sind Proteine, die in der Lage sind, terminale Zuckerreste von Glykokonjugaten an Zellmembranen oder Sekrete zu binden. Sie wurden in Pflanzen, Viren, Mikroorganismen und Tieren entdeckt. Trotz des ubiquitären Vorkommens ist ihre natürliche Funktion bis heute unklar. Aufgrund der multimeren Struktur können Lektine ähnlich einer Antigen-Antikörper-Reaktion Zellen agglutinieren oder Präzipitate mit Glykokonjugaten formen. Diese

Spezifität bezüglich bestimmter Zuckerstrukturen erlaubt einen Einsatz in der Glykohistochemie (Liener et al., 1986). Als spezifischer Marker für humane Endothelzellen hat sich das Ulex Europaeus Agglutinin I (UEA I) bewiesen, welches aus Ulex europaeus (Stechginster) Samen isoliert wurde. Zur Bestimmung der MVD an der gesunden Hypophyse im Vergleich zu Hypophysenadenomen konnte gezeigt werden, dass der Nachweis mittels UEA I und CD 31 signifikant gleichwertige Ergebnisse liefert (Turner et al., 2000b; Turner et al., 2000a). Das Griffonia (Bandeiraea) Simplicifolia Lektin I (GSL I, BSL I) wurde aus den Samen von Griffonia (Bandeiraea), einer afrikanischen Leguminosenart, isoliert und wird als spezifischer Marker für die Endothelzellen von Nichtprimaten, wie der Ratte, eingesetzt (Carter et al., 2000; Ren et al., 2002; Bankston et al., 1991).

Zur Bestimmung der mikrovaskulären Dichte im Tumor werden die glyko- bzw. immunhistochemisch markierten Präparate mit Hilfe eines Lichtmikroskopes begutachtet. Dabei wird das Augenmerk besonders auf die Regionen gelegt, in denen sich die meisten Kapillaren und kleinen Venulen (Microvessels) befinden. Diese Stellen werden auch als mikrovaskuläre Hotspots bezeichnet und befinden sich naturgemäß im Bereich des Vitalgewebes eines soliden Tumors. Diese Technik ist vergleichbar mit dem Aufsuchen von Hotspots zur Beurteilung mitotischer Areale in Mammatumoren. Sklerotische, hypozelluläre oder nekrotische Regionen werden in die Auswertung nicht mit einbezogen. Anschließend werden mit Hilfe eines okkularen Mikrometers in mehreren Feldern definierter Größe und Vergrößerung die angefärbten Endothelzellen ausgezählt (Weidner, 1995a; Obermair et al., 1998).

Der intratumoralen mikrovaskulären Dichte wird ausgehend von den Analysen der Hotspots prognostische Aussagefähigkeit zugesprochen (Weidner, 1995b; Halvorsen et al., 2000). Dazu werden unter anderem Korrelationen zwischen Angiogenese und Metastasierung (Weidner et al., 1991) sowie zwischen MVD und Überlebensrate (Obermair et al., 1998) herangezogen. Zudem kann der Vergleich der MVD mit charakteristischen Phänomenen der nicht invasiven bildgebenden Verfahren wie beispielsweise der MRT („peripheres Washout“, „positive rim sign“) Hinweise auf deren pathophysiologische Grundlagen geben und damit wertvolle Informationen zu den vorhandenen diagnostischen Möglichkeiten zufügen (Weidner et al., 1998).

3.1.3.5 Durchblutung solider Tumore

In Untersuchungen zur Messung des Blutflusses in experimentellen Tumoren wurde festgestellt, dass die durchschnittliche Perfusionsrate von Carcinomen geringer ist als die des Wirtsgewebes oder des Muttergewebes. Sarkome und Lymphome haben eine größere

durchschnittliche Perfusionsrate als Carcinome, welche aber immer noch unterhalb der von gesundem Gewebe liegt. Im Allgemeinen gilt, dass Tumore mit zunehmender Größe nekrotische Herde entwickeln und in Folge dessen die durchschnittliche Perfusionsrate mit der TumorgroÙe abnimmt (Jain, 1988).

Generell können im Tumor aufgrund der Gewebepfusion vier Regionen unterschieden werden, die idealisierter Weise von zentral nach peripher aufeinander folgen (s. Abb. 1): (1) eine avaskuläre, nekrotische Region, (2) eine seminekrotische Region, (3) eine Region mit stabiler Mikrozirkulation, (4) peripher ein Bereich mit übermäßiger Durchblutung (Daldrup et al., 2002; Sevick und Jain, 1989). Vor dem Hintergrund dieser räumlichen Heterogenität bezüglich der Blutversorgung, verbunden mit den makroskopischen und mikroskopischen Variationen in der Gefäßmorphologie wird deutlich, dass auch die räumliche Verteilung von therapeutischen oder diagnostischen Agentien, die auf dem Blutweg in den soliden Tumor eingebracht werden, ebenfalls speziellen Verteilungsmustern unterliegt.

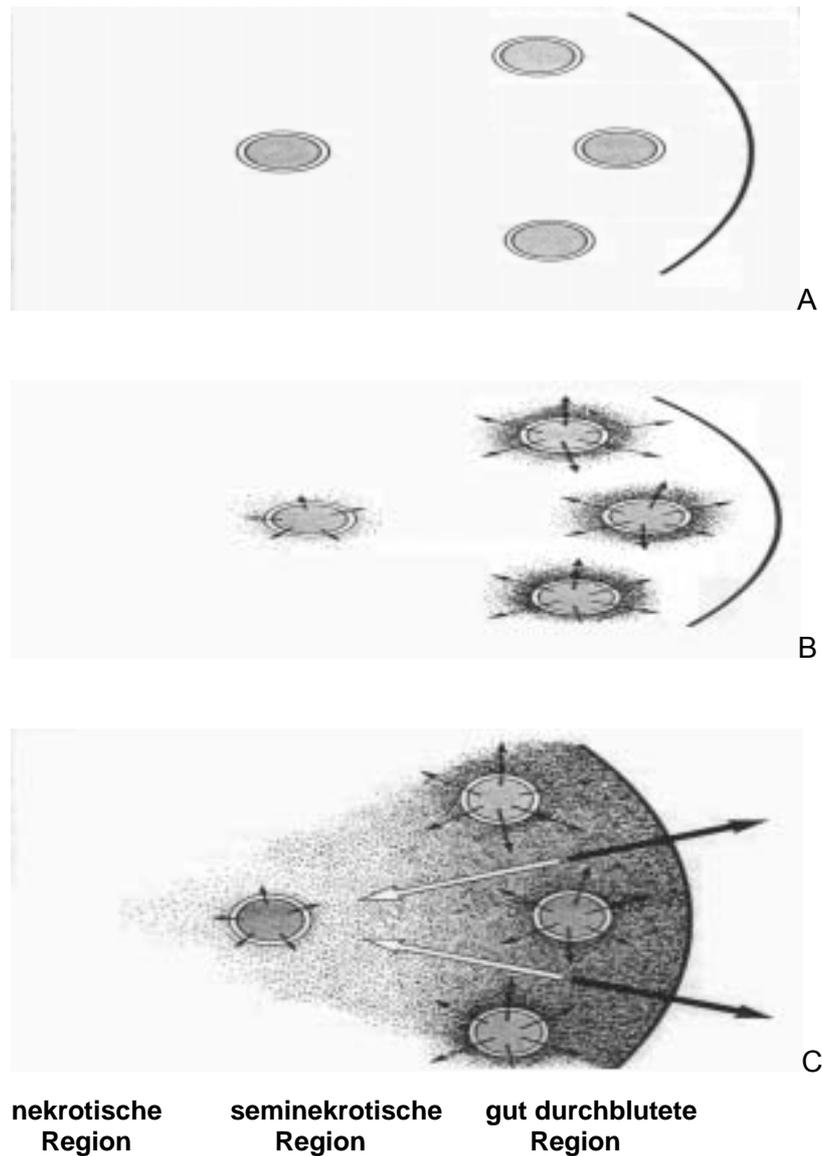


Abbildung 1: Antransport von Molekülen in soliden Tumoren über den Blutfluss

A: Darstellung eines soliden Tumors mit heterogener Vaskularisation. Zentral die avaskuläre, nekrotische Region. Intermediär die seminekrotische Region. Peripher die gut vaskularisierte Region. B: Zustand unmittelbar nach der intravenösen Applikation der Moleküle (Bsp. Gd-DTPA). Aufgrund der Gefäßdichte und des geringen interstitiellen hydrostatischen Druckes kommt es vornehmlich in der peripheren Region zur Extravasation (kleine gefüllte Pfeile). C: Zustand einige Zeit nach der Applikation. Molekültransport mittels Diffusion (leere Pfeile) entlang des Konzentrationsgradienten in Richtung Zentrum sowie auswärtsgerichtete Molekülbewegung (große gefüllte Pfeile) mit dem Flüssigkeitsstrom entlang des Druckgradienten mittels Konvektion (Abbildung modifiziert nach Jain (1989)).

3.2 Transport von Molekülen innerhalb solider Tumore

Zur Analyse von zeitlichen Verläufen der Konzentration von Pharmaka in Blut, Plasma oder Exkreten wurden „Kompartiment“-Modelle entwickelt. Je nach Anzahl der Verteilungsräume unterscheidet man Ein-, Zwei- oder Mehrkompartiment-Modelle (z.B. Blut, Interstitium). Man differenziert offene Kompartimente, aus denen das Pharmakon eliminiert werden kann, von geschlossenen Kompartimenten, in denen das Pharmakon eingeschlossen bleibt. Die Anflutung bzw. Elimination des Pharmakons folgt immer einer Kinetik definierter Ordnung. Diese Einordnung wird von verschiedenen Faktoren bestimmt: 1) den pharmakokinetischen Eigenschaften des Agens, 2) in welcher Form das Pharmakon eingebracht wird (Bolusapplikation oder konstante Zufuhr), 3) der Funktion des ausscheidenden Kompartimentes (z.B. Niere) und 4) einer definierten Geschwindigkeitskonstante. Anhand der angegebenen Parameter ergeben sich für die verschiedenen Modelle jeweils Funktionen, welche die Konzentration des Pharmakons im fraglichen Kompartiment mathematisch bestimmbar machen (Forth, 1996; Zeeck et al., 1992).

Der Weg eines Moleküls, das über den Blutweg in den Tumor eingebracht wird, führt aus dem Gefäß durch das Endothel in das Tumorinterstitium. Gegebenenfalls erfolgt ein Abtransport über das Endothel zurück in das Gefäß, möglicherweise zusätzlich ein Abtransport zu einem geringen Anteil über eine ansatzweise funktionsfähige Lymphdrainage. Aus der Blutbahn erfolgt die Elimination durch ein entsprechendes Ausscheidungsorgan. Des Weiteren sind Verschiebungsvorgänge im Tumorinterstitium, Phagozytose oder anderweitige Ablagerung im Tumor zu berücksichtigen. Als Beispiel sind extravasationsfähige Kontrastmittel wie Gd-DTPA (Molekulargewicht 700) anzuführen. Die Anflutung des genannten Kontrastmittels kann mit einer monoexponentiellen Kinetik beschrieben werden (Forth, 1996)

$$y = a * (1 - \text{Exp}(-b * x)) + c$$

wobei a = Konzentration bzw. SI nach Einstellen des Verteilungsgleichgewichtes, b = Anstiegskonstante/Invasionskonstante, c = Ausgangskonzentration bzw. SI vor Applikation, x = Zeit, y = Konzentration.

Blood-Pool Kontrastmittel wie das eisenbasierte VSOP-C184 (Molekulargewicht ca. 50.000) könnten im Tumor aufgrund von vaskulären Insuffizienzen möglicherweise extravasieren und somit durch das Endothel in das Tumorinterstitium gelangen. Ob dies tatsächlich stattfindet und wie in diesem Fall der Abtransport vonstatten geht, ist bisher unbekannt.

Im Tumor spielen eine Vielzahl von Mechanismen eine Rolle, die zum Teil keine Entsprechung im gesunden Gewebe finden. Daher ist die Beurteilung beispielsweise von Kontrastmitteldynamiken in der MRT von besonderer Wichtigkeit und birgt die Möglichkeit zur Abgrenzung des Tumorgewebes von gesundem Gewebe so wie die Differenzierung maligner von benignen Neoplasien.

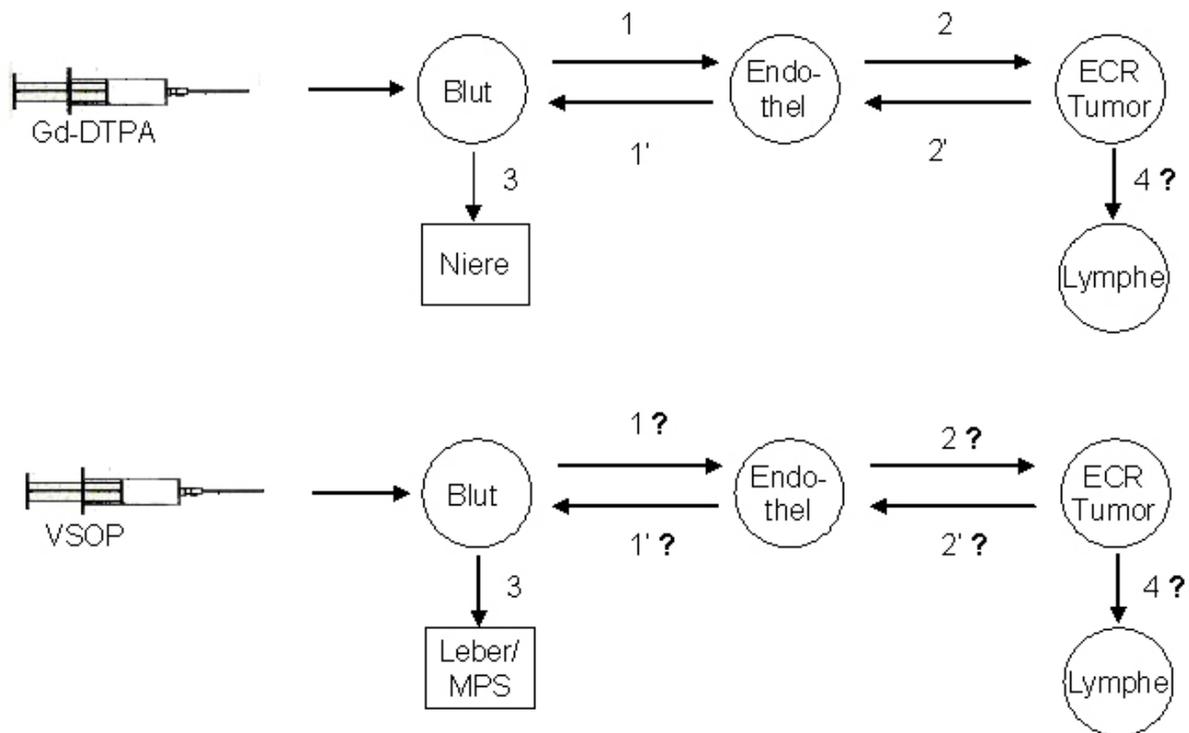


Abbildung 2: Kompartimentmodell eines Tumors: Intravenöse Kontrastmittelapplikation. 1 Invasionskonstante Blut - Endothel, 2 Invasionskonstante Endothel - Tumorinterstitium (ECR Extrazellulärraum), $1 + 2$ entspricht der Extravasationskonstante, $1'$ Evasionskonstante Endothel - Blut, $2'$ Evasionskonstante Tumorinterstitium - Endothel, $1' + 2'$ entspricht der Reabsorptionskonstante, 3 Eliminationskonstante, 4 Eliminationskonstante über möglicherweise vorhandene Lymphdrainage.

Gd-DTPA extravasiert in das Tumorinterstitium, Abtransport über die Blutbahn, Elimination aus dem Blut über die Niere. Ob die Lymphdrainage funktionsfähig ist und auf diesem Weg ein Abtransport erfolgt, ist nicht bekannt.

Über VSOP liegen keine Daten bezüglich der Extravasation im Tumor vor. Die Elimination des Blood-Pool Kontrastmittels erfolgt über die Leber und das mononukleäre Phagozytosesystem (Taupitz et al., 2003).

3.2.1 Transvaskulärer Transport

Die Extravasation von Molekülen J_s (g/sek) findet in den Kapillaren durch Diffusion und / oder Konvektion, sowie zu einem geringen Anteil auch durch Transzytose statt. Die Diffusion (da

es sich hier um eine Diffusion durch eine Membran handelt auch Permeation genannt) nimmt bezüglich kleiner Moleküle den größten Anteil ein und verhält sich proportional zur Oberfläche des Austauschgefäßes und zur Größe des Konzentrationsgradienten zwischen Plasma und Interstitium. Die Konvektion ist der bedeutendere Parameter beim Austausch großer Moleküle und ist proportional zum Flüssigkeitsstrom durch die Gefäßwand. Diese Flüssigkeitsbewegung wiederum verhält sich proportional zu Oberfläche und Filtrationsdruck, welcher aus der Differenz zwischen vaskulärem und interstitiellem hydrostatischen Druck abzüglich der Differenz zwischen dem vaskulären und interstitiellen onkotischen Druck resultiert.

Die vaskuläre Permeabilität P (cm/sek) stellt die Proportionalitätskonstante dar, welche den transluminalen Diffusionsfluss mit dem Konzentrationsgradienten in Beziehung setzt. Die Wasserleitfähigkeit oder hydraulische Konduktivität L_p (cm/mmHg-sek) ist die Konstante, welche die Beziehung zwischen Flüssigkeitsbewegung und Druckgradienten darstellt. Der osmotische Reflektionskoeffizient σ bestimmt die Effektivität der transluminalen osmotischen Druckunterschiede, die eine Flüssigkeitsbewegung durch ein Gefäß verursachen. In den meisten Geweben besitzen Makromoleküle einen Wert für σ , der nahe bei 1 liegt und Mikromoleküle einen Wert, der nahe bei Null liegt. Daraus ergibt sich, dass die großen Moleküle fast vollständig an der Membran reflektiert werden und die kleinen Moleküle diese sehr gut überwinden können.

Der Transport von Molekülen durch mikrovaskuläre Membranen wird sowohl im gesunden als auch im tumorös entarteten Gewebe von den Transportparametern P , L_p und σ , der Austauschoberfläche und den transvaskulären Konzentrations- und Druckgradienten bestimmt.

Starling beschrieb bereits 1896 in einer mathematischen Gleichung den Flüssigkeitsstrom über die Wand von Gefäßen, welche heute noch Gültigkeit besitzt (Starling, 1896):

$$J_v = K_f [(P_g - P_i) - \sigma (COP_g - COP_i)]$$

Dabei gilt: J_v = Nettowert der kapillären Flüssigkeitsfiltration, K_f = kapillärer Filtrationskoeffizient (Produkt aus hydraulischer Konduktivität und verfügbarer Oberfläche), P_g = hydrostatischer Druck im Austauschgefäß, P_i = hydrostatischer Druck im Interstitium, σ = kapillärer osmotischer Reflektionskoeffizient, COP_g = kolloidosmotischer Druck im Blutgefäß am Ort des Austausches, COP_i = kolloidosmotischer Druck im Interstitium.

Starling legte seinen Berechnungen folgende Hypothesen zu Grunde: (1) Die Flüssigkeitsbewegung durch Gefäßwände wird von den transkapillären hydrostatischen und osmotischen Druckgradienten bestimmt. (2) Ein Teil der Flüssigkeit, der in den interstitiellen Raum übertritt, wird über den osmotischen Druckgradienten in die Gefäße reabsorbiert, (3) während die residuierende Flüssigkeit über Lymphkapillaren abtransportiert wird.

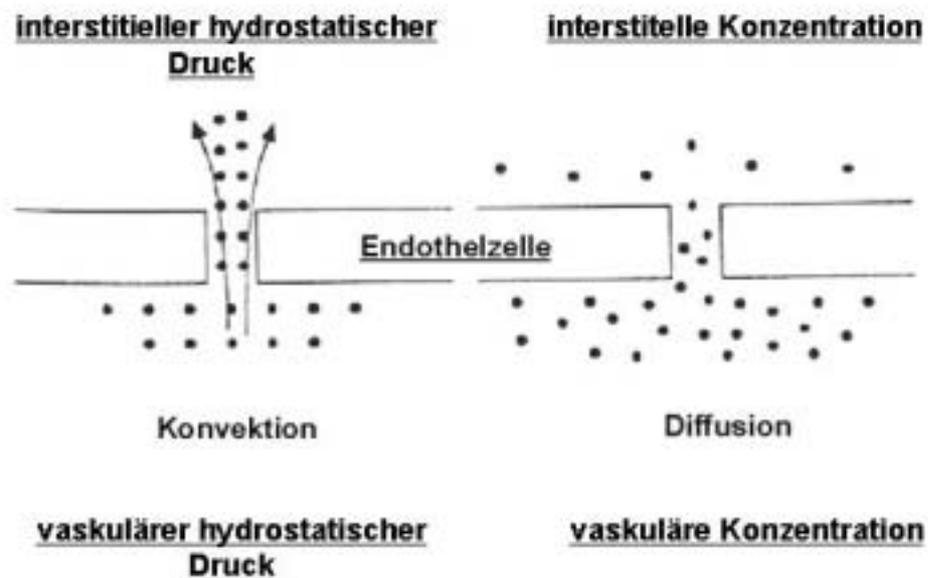


Abbildung 3: Mechanismen des transvaskulären Stoffaustausches (Abbildung modifiziert nach Jain (1989)).

Die Differenz zwischen vaskulärem und interstitiellem hydrostatischem Druck definiert die Konvektionskonstante, die Differenz zwischen vaskulärer und interstitieller Konzentration definiert die Diffusionskonstante.

Ultrastrukturelle Untersuchungen haben gezeigt, dass Tumorgefäße lockere interendotheliale Verbindungen und eine große Anzahl fenestrierter Kapillaren besitzen. Zu dem existieren transendotheliale Kanäle und die Basalmembran ist diskontinuierlich oder fehlt gar. Die Tumorgefäße besitzen also eine relativ hohe vaskuläre Permeabilität P sowie Wasserleitfähigkeit L_p und stellen sich, im Vergleich zu verschiedenen gesunden Geweben, als durchlässiger für Flüssigkeiten und Moleküle dar (Jain, 1987a; Sevcik und Jain, 1991).

Dem zufolge sind für die Extravasation von MRT-Kontrastmitteln im Tumorgewebe Charakteristika zu erwarten, die im gesunden Gewebe in der Form nicht auftreten und somit eine Unterscheidung ermöglichen.

3.2.2 Transvaskuläre und intratumorale Druckgradienten

Im gesunden Gewebe sinkt der Blutdruck auf dem Weg von der arteriellen auf die venöse Seite. Der interstitielle Gewebedruck entspricht im gesunden Gewebe Null. Im soliden Tumor konnten ebenfalls Quantifizierungen des Blutdruckes und des interstitiellen Druckes vorgenommen werden, welche wiederum spezielle Eigenheiten aufweisen.

3.2.2.1 Blutdruck und onkotischer Druck im soliden Tumor

Direkte Messungen des arteriellen Blutdruckes in den oberflächlichen Schichten von soliden Tumoren ergaben keine signifikanten Unterschiede im Vergleich zu gesundem Gewebe. Der Blutdruck im venösen Teil des Gefäßsystems erwies sich im Gegensatz dazu als erniedrigt (Jain, 1988). Die arteriellen Blutdruckverhältnisse im Tumor sind die treibende Kraft für die Größe des interstitiellen hydrostatischen Druckes. Es wurden Blutdruckwerte bis zu 30 mmHg gemessen (Boucher und Jain, 1992; Boucher et al., 1996).

Der onkotische Druck liegt im gesunden Gewebe intravasal bei 20-25 mmHg und interstitiell bei 5-15 mmHg (Jain und Baxter, 1988). Der onkotische Druck im Interstitium solider Tumore ist erwartungsgemäß aufgrund der hohen Gefäßpermeabilität und des hohen interstitiellen Diffusionskoeffizienten erhöht. Stohrer et al. ermittelten hierfür Werte bis 21,6 mmHg (Stohrer et al., 2000). Somit sind die osmotisch bedingten Flüssigkeitsbewegungen im Tumor gegenüber normalem Gewebe reduziert, da sich aufgrund der ähnlichen Werte im intravasalen und interstitiellen Kompartiment nur ein geringer Druckgradient ergibt.

3.2.2.2 Interstitieller Gewebedruck

1884 veröffentlichte Landerer eine Pionierarbeit zur Abschätzung des Gewebedruckes (Landerer, 1884). Dem folgten weitere Studien, welche die Messmethoden und Theoriemodelle weiter verfeinerten. Bis 1960 ging man davon aus, dass der normale interstitielle Gewebedruck (interstitial fluid pressure, IFP) positiv im Vergleich zum atmosphärischen Druck ist. Erstmals postulierte Guyton, dass die Druckwerte im gesunden Gewebe der meisten Körperteile negativ bis annähernd Null sind (Guyton et al., 1960). Diese Ergebnisse wurden bis heute durch eine Vielzahl von Studien belegt (Wiig, 1990).

Dahingegen ergaben Messungen des IFP in experimentellen soliden Tumoren im Tier sowie in klinischen Studien am Menschen erhöhte Druckwerte. Die Mechanismen, die zum erhöhten interstitiellen Gewebedruck führen, sind noch nicht vollkommen erklärt. Folgende Phänomene werden als ursächlich betrachtet:

(1) Die starke Proliferation der Tumorzellen auf begrenztem Raum, (2) die ischämische Zellschwellung der Tumorzellen sowie (3) eine sehr hohe Permeabilität und eine gegenüber dem gesunden Gewebe erhöhte Wasserleitfähigkeit der Tumorgefäße. (4) Im morphologisch unveränderten Gewebe existiert ein positiver Nettowert für den Flüssigkeitsfiltrationsdruck ΔP . Daraus resultiert eine Nettofiltration aus den Kapillaren (J_v), welche über die Lymphe abtransportiert wird (J_L). Wenn J_L und J_v sich nicht entsprechen, kommt es zu Änderungen im interstitiellen Flüssigkeitsvolumen (IFV). Soliden Tumoren fehlt weitgehend ein funktionelles Lymphsystem, so dass es im soliden Tumor zur Erhöhung des IFV und damit IFP kommt (Boucher und Jain, 1992; Boucher et al., 1990; Wiig et al., 1982).

Es wurde ein mathematisches Modell bezüglich des Flüssigkeitstransportes in soliden Tumoren entwickelt, um die genannten Mechanismen näher zu beleuchten. Man ist hierbei von einem idealisiert als singuläre Knotenstruktur wachsenden Tumor ausgegangen. Es wurde suggeriert, dass der IFP über den gesamten Tumor gleichförmig erhöht ist und in der Peripherie rapide abfällt (Jain und Baxter, 1988; Baxter und Jain, 1989). Dies konnte experimentell am Mammacarcinom im Nager bestätigt werden. Hier wurden zentral Werte bis 15 mmHg gemessen, die in der Peripherie auf 0 mmHg abfielen (Boucher et al., 1990). Die Flüssigkeitsextravasation ist dem mathematischen Modell zufolge aufgrund des reduzierten proteinosmotischen Gradienten zwischen vaskulärem und interstitiellem Kompartiment über den Großteil des Tumors zu vernachlässigen und tritt hauptsächlich an den Gefäßen in der Tumorperipherie auf. Der mikrovaskuläre hydrostatische Druck ist damit die Hauptantriebskraft zur Regulation des IFP. Durch den Vergleich intratumoraler Messungen von mikrovaskulärem Druck (microvascular pressure, MVP) und IFP konnte dies bestätigt werden (Boucher und Jain, 1992).

Aufgrund des erhöhten IFP im Tumor entsteht ein Druckgradient zum umliegenden gesunden Gewebe. Dieser Gradient wiederum verursacht eine nach außen gerichtete Flüssigkeitsbewegung, so dass es zum Verlust von interstitieller Flüssigkeit am Rand des Tumors kommt. Dieser konnte in experimentellen Präparationen an Ratten an verschiedenen Mammacarcinomen gemessen werden und ergab eine Flüssigkeitsmenge von 0,14 - 0,22 ml/h pro g Gewebe, die sich mit einer Geschwindigkeit von 0,1 - 0,2 $\mu\text{m}/\text{sek}$ auf den Rand zu bewegten (Butler et al., 1975). Es wurde weiterhin festgestellt, dass 6 - 14 % der Plasmaproteine, die den Tumor erreichen, über die Tumorperipherie abfließen, hier wurde

eine radiäre Auswärtsbewegung von 0,1-0,2 $\mu\text{m}/\text{h}$ für einen Tumor von 1 cm Durchmesser ermittelt (Jain, 1987b; Sevick und Jain, 1989). Jain postulierte zu dem, dass es aufgrund des erhöhten interstitiellen hydrostatischen Druckes zum Kollabieren der Gefäße kommt (Jain, 1988).

Neben verschiedenen tierexperimentellen Studien ist es gelungen, in menschlichen Melanomen (Boucher et al., 1991; Tufto et al., 1996), zervikalen Carcinomen (Roh et al., 1991), Tumoren der Kopf- und Halsregion (Gutmann et al., 1992), Mammatumoren und kolorektalen Tumoren (Less et al., 1992) sowie Lymphomen (Curti et al., 1993) den erhöhten IFP nachzuweisen.

3.2.2.3 Veränderungen des interstitiellen Gewebedruckes unter Therapie

Es konnte gezeigt werden, dass sich der hydrostatisch interstitielle Gewebedruck unter Therapie senken lässt. Dazu wurden signifikante Ergebnisse mittels Hyperthermiebehandlung an Melanomen ermittelt (Leunig et al., 1992a). Die gemessenen Druckwerte in Zervixcarcinomen beim Menschen, welche mit externer Strahlentherapie behandelt wurden, korrelierten mit dem Erfolg der Therapie. Tumore, die nach klinischen Anzeichen gut auf die Therapie ansprachen, wiesen eine Reduktion des IFP auf. Keine Veränderung des Druckes oder eine Druckerhöhung ergab sich bei Tumoren, die auch nach klinischen Anzeichen schlecht auf die Therapie ansprachen (Roh et al., 1991). Auch in subkutanen Melanomen und Lymphomen am Menschen, die mit Chemo- oder Immuntherapeutika behandelt wurden, konnte eine signifikante Korrelation der Druckwerte mit den Therapieerfolgen gezeigt werden (Curti et al., 1993).

3.2.2.4 Messung des interstitiellen Gewebedruckes

Zur Messung des interstitiellen Gewebedruckes wurden verschiedene Techniken angewandt, über die hier ein kurzer Überblick gegeben werden soll (Wiig, 1990; Guyton et al., 1971).

I. Direkte Methoden

A. Akute Methoden

1. Nadel-Methoden

Hier werden Kanülen in das Gewebe eingebracht um den interstitiellen Gewebedruck zu messen. Diese tendieren zur Obstruktion, daher wurde eine geringe Menge Flüssigkeit durch

die Nadel infundiert. Die Druckmessungen ergaben 3 - 4 mmHg für P_i und zusätzlich wurde der Widerstand zur Flüssigkeitsinjektion gemessen (Wiig, 1990).

2. Wick-Methoden

a) Wick-Katheter-Technik

Dieses System wurde entwickelt, um die Durchgängigkeit zu verbessern und eine größere Kontaktfläche mit dem Interstitium zu schaffen. Es wurden Katheter hergestellt, aus deren Spitze Baumwollfäden herausragten, die damit eine Wirkung analog eines Dochtes (engl. Wick) entfalten konnten.

b) Wick-in-needle-Technik (WIN)

Die WIN-Technik wurde 1977 von Fadnes et al. vorgestellt (Fadnes et al., 1977). Sie kombiniert die Vorzüge der beiden zuvor genannten Techniken. Hier wird der Docht in Form von mehreren multifilamentösen Fäden chirurgischen Nahtmaterials innerhalb einer 23G Kanüle platziert. 4 - 5 mm von der Spitze der Kanüle entfernt ist ein ca. 2 - 3 mm großes Seitenloch eingeschliffen, welches die Flüssigkeitskommunikation verbessern soll. Über einen Polyethylenschlauch, der mit heparinisierter Kochsalzlösung gefüllt ist, wird das System dann an einen sensiblen Druckaufnehmer angeschlossen. Zur Messung wird die Kanüle in das Gewebe eingeführt und dort mit oder ohne externe Fixation belassen.

Zur Überprüfung der Flüssigkeitskommunikation wird durch leichtes Anziehen einer Klemme am Verbindungsschlauch zum Druckabnehmer eine geringe Menge Flüssigkeit in das Gewebe eingebracht. Dies führt vorübergehend zu einem Anstieg des gemessenen Druckwertes, der sich bei optimaler Kommunikation in 5 - 10 Minuten wieder auf den Ausgangswert zurückbewegt. Dann wird die Klemme wieder gelöst, der Prozess findet in umgekehrter Weise statt. Das bedeutet, der gemessene Wert sinkt und equilibriert sich auf den Ausgangswert. Es darf hierbei kein Druckunterschied > 1 mmHg entstehen, damit eine gültige Messung durchgeführt werden kann. Es wurde postuliert, dass die Insertion der Kanüle Exsudation und Entzündungsreaktionen hervorruft, welche die Messwerte beeinflussen. Dies konnte widerlegt werden, da die Vorbehandlung des Messortes mit Antiphlogistika keinen Effekt auf die gemessenen Werte hatte (Boucher et al., 1991).

Diese Technik wurde von vielen Autoren angewandt und lieferte Druckwerte im gesunden Gewebe (Subkutis und Muskel) bei der Ratte von -1 bis 0 mmHg bzw. -2 bis 0 mmHg beim Menschen. Im Gewebe verschiedener maligner Tumoren konnten erhöhte Druckwerte

ermittelt werden. Beim Menschen ergaben sich beispielsweise in oberflächlich gelegenen Melanometastasen Durchschnittswerte von 14,3 mmHg (Boucher et al., 1991) oder in Zervixcarcinomen 15,7 mmHg (Roh et al., 1991).

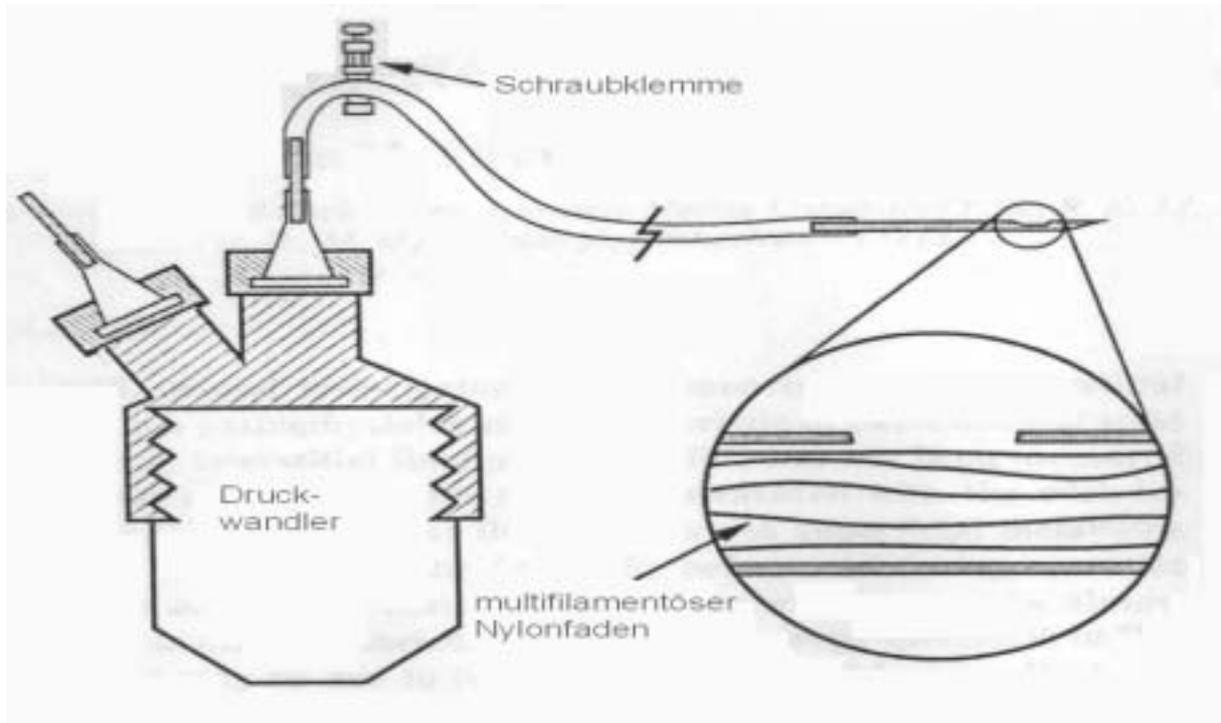


Abbildung 4: Wick-in-needle-Technik

Schematische Darstellung der wick-in-needle-Präparation mit angeschlossenem Druckwandler zur Messung des interstitiellen hydrostatischen Druckes (Abbildung modifiziert nach Boucher et al. (1991)).

3) Mikropipetten-Technik

Bei diesem System werden statt der Kanülen der WIN gläserne Mikropipetten mit einem Spitzendurchmesser bis zu 4 μm verwendet, welche mittels eines Mikromanipulators gelenkt werden. Das Einfügen der Dochte entfällt. Die Technik wird als die am wenigsten gewebetraumatische eingestuft. Das System besitzt einen hohen hydraulischen Widerstand und so kommt es nur zu langsamen Flüssigkeitsbewegungen an der Pipettenspitze. Das System darf daher nur eine extrem geringe Compliance aufweisen.

Die Pipette wird hier mit hypertoner Kochsalzlösung (0,5-2 M) gefüllt und das Signal entsteht durch die Änderungen des Widerstandes an der Pipettenspitze. Wenn der Druck an der Pipettenspitze steigt, gelangt im Gegensatz zur vorgelegten Lösung hypotone Gewebsflüssigkeit oder Plasma in die Pipettenspitze, der Pipettenwiderstand steigt. Folgend

wird Flüssigkeit in die Pipettenspitze gelangen, bis der Widerstand normalisiert ist. Wenn der Druck an der Pipettenspitze negativ ist, kommt es zu den umgekehrten Vorgängen. Der Druck, der notwendig ist um den Widerstand erneut aufzubauen, kann von einem Druckabnehmer gemessen werden und entspricht dem Druck der Gewebeflüssigkeit an der Pipettenspitze. Mit dieser Technik konnten Druckgradienten im Tumorgewebe ermittelt werden (Boucher et al., 1990).

4. Perforierte implantierbare Kolloidosmometer

In dieser implantierbaren Kammer können mittels einer Kanüle, die durch eine semipermeable Membran eingestochen wird, Druckwerte ähnlich der WIN-Technik aufgezeichnet werden.

B. Chronische Methoden

1. Implantierte perforierte Kapseln

Das Grundprinzip dieser Kapseltechnik ist es, einen flüssigkeitsgefüllten Raum herzustellen, der mit der Gewebeflüssigkeit kommuniziert und einen Druck ähnlich P_i aufweist. Die Kapsel wird mehrere Wochen vor der Messung implantiert, zur Messung von Tumorgewebe werden Zellimplantate rund um die Kapsel platziert. Durch die Perforationsöffnungen kann Gewebe in die Höhlung einwachsen, wird diese aber nie vollständig ausfüllen. Die Messung des Druckes ist dann im Zentrum der Kapsel via eingeführter Kanüle möglich.

2. Implantierte poröse Kapseln

Rigides Polyethylenmaterial in Form eines Zylinders o.ä. wird hier mit Poren von 35-70 μm versehen und über ein zusätzliches größeres Loch wird ein Polyethylenkatheter in die Höhlung des Zylinders eingebracht. Diese Übergangsstelle wird speziell abgedichtet. Auch dieses System wird mehrere Wochen vor der eigentlichen Messung implantiert. Kein Gewebe kann durch die Öffnungen in die Kapsel einwachsen, es befindet sich also nur Flüssigkeit in der Kapsel, die mit der Gewebeflüssigkeit kommuniziert. Die Messung des Druckes dieser Flüssigkeit kann erfolgen, in dem der Katheter an einen Druckabnehmer angeschlossen wird.

3. Hauttaschenmethode

Diese Methode dient der Messung von interstitiellem hydrostatischem Druck in der Unterhaut und repräsentiert eine modifizierte Form der Technik der perforierten Kapsel, wobei hier die kreierte Höhlung nicht vollständig von stabilen Kapselwänden umgeben ist. Hier werden poröse Teflon-Zylinder subkutan implantiert, über denen die Haut nach mehreren Wochen eine konkave Fläche bildet. Die Kammer füllt sich in dieser Zeit mit Gewebswasser. Über eine eingestochene Kanüle kann hier wiederum der Flüssigkeitsdruck gemessen werden.

II. Indirekte Methoden

Dazu kann durch die Messung anderer Gewebedrücke P_i mittels der Starlingschen Gleichung ermittelt werden. Das Problem liegt hier in der Festlegung des Reflektionskoeffizienten σ , der in Haut und Muskel nahe 1 liegt, aber für andere Gewebe nicht bestimmt ist.

3.2.3 Transport durch den interstitiellen Raum

Nach der Extravasation bewegen sich Moleküle per Konvektion und Diffusion durch den interstitiellen Raum. Dabei verhält sich die Diffusion proportional zum Konzentrationsgradienten im Interstitium und die Konvektion proportional zur Flüssigkeitsbewegung. Diese wiederum ist proportional zum Druckgradienten im Interstitium. Der interstitielle Diffusionskoeffizient D (cm^2/sek) ist die Proportionalitätskonstante, die den Diffusionsfluss mit dem Konzentrationsgradienten in Beziehung setzt. Die interstitielle Wasserleitfähigkeit K ($\text{cm}^2/\text{mmHg}\cdot\text{sek}$) ist die Konstante, welche die Beziehung von interstitieller Flüssigkeitsbewegung und Druckgradienten beschreibt.

Die Werte für D und K hängen von der Struktur und der Zusammensetzung des interstitiellen Kompartiments sowie von den physikochemikalischen Eigenschaften der gelösten Moleküle ab. Wenig gehinderte Bewegung von Molekülen und Flüssigkeit wird hier durch hohe Werte widerspiegelt. Ähnliches gilt für den interstitiellen hydrostatischen Druck und den Konzentrationsgradienten. Große Werte bedeuten große Konvektions- und Diffusionsbewegungen (Jain, 1989; Chary and Jain, 1989).

Aufgrund der heterogenen Perfusion der Tumore wird die Extravasation von Molekülen, die über den Blutweg eingebracht werden, wie zum Beispiel niedermolekulare Kontrastmittel, direkt nach der intravasalen Injektion vornehmlich in den gut perfundierten Bereichen stattfinden, also in den peripheren Regionen. Dort wirken nun folgende Kräfte ein: (1) Der Druckgradient zwischen Zentrum und Peripherie bzw. umliegendem Gewebe verursacht eine auswärtsgerichtete Flüssigkeitskonvektion. (2) Dieser gegenüber steht eine einwärts

gerichtete Diffusionsbewegung, da zentral kaum Moleküle extravasieren. (3) Außerdem gewährleistet der geringere IFP am Rand des Tumors eine höhere Filtrationsrate von Flüssigkeit und Molekülen an dieser Stelle. Zusätzlich zur höheren Filtrationsrate befindet sich in der Peripherie natürlich auch die Zone der erhöhten Resorption. Die Moleküle können also zum einen mit der Flüssigkeitskonvektion zentrifugal bis in das umliegende Gewebe ausgewaschen werden. Sie können sich zum anderen entlang des Konzentrationsgradienten zentripetal bewegen. Das Zentrum des Tumors kann als eine Art Reservoir angesehen werden, denn hier kommt es kaum zum Abtransport der Moleküle via Reabsorption durch die Blutgefäße. In der Peripherie hingegen findet ein aktiver Austausch an den Gefäßen statt, so dass die Reabsorption hier zusätzlich zum Tragen kommt (Jain, 1989; Jain und Baxter, 1988).

3.3 Magnetresonanztomographie

Bloch und Purcell entdeckten unabhängig voneinander im Jahre 1946 die Kernspinresonanz und erhielten hierfür 1952 den Nobelpreis für Physik. Lauterbur gelang es erstmalig im Jahre 1973 eine Versuchsanordnung zu beschreiben, mit der eine orts aufgelöste Abbildung eines flüssigkeitsgefüllten Phantoms ermöglicht wurde. Dieses Datum kennzeichnet die Geburtsstunde der MRT für die medizinische Diagnostik. Seit Anfang der 80er Jahre wird die MRT in zunehmendem Maße als bildgebendes Verfahren im Rahmen der klinischen Diagnostik eingesetzt (Abramjuk, 2001).

Diese Technik garantiert detaillierte Schnittbilder des Körpers mit sehr gutem Weichteilkontrast und gibt genauen Aufschluss über Anatomie, Pathologie und metabolische Veränderungen. Zusätzlich entfallen hier aufgrund der Nutzung von elektromagnetischen Eigenschaften Gefährdungen durch ionisierende Strahlung wie zum Beispiel beim herkömmlichen Röntgen oder der Computertomographie (Schild, 1997; Ramm et al., 1986).

3.3.1 Grundlagen der Signalentstehung und Bilderstellung

In der MRT werden die Protonen der Wasserstoffatomkerne zur Bildgebung genutzt. Die im Kern eines Atoms ungerader Nukleonenzahl enthaltenen Protonen befinden sich in ständiger Drehbewegung um die eigene Achse des Kerns. Diese Drehbewegung wird als Spin bezeichnet. Protonen tragen eine positive Ladung, diese vollführt die Rotation dementsprechend mit. Bewegte elektrische Ladung ist ein elektrischer Strom und dieser wiederum verursacht ein Magnetfeld. Dieses magnetische Moment der Kerne ist in einer

Umgebung ohne Einfluss eines äußeren Magnetfeldes regellos orientiert. In einem externen Magnetfeld richten sich die Kernspins entlang dessen magnetischer Feldlinien aus.

Die Protonen führen im ausgerichteten Zustand zusätzlich eine Kreiselbewegung um die Achse der magnetischen Ausrichtung aus, diese Art der Bewegung heißt Präzession. Deren Geschwindigkeit und Frequenz ist abhängig von der Stärke des Magnetfeldes, welches in der Larmor-Gleichung zur Berechnung der Präzessionsfrequenz zum Ausdruck kommt. Die Präzessionsfrequenz von Wasserstoffprotonen beträgt bei einer Magnetfeldstärke von 1 Tesla beispielsweise 42 MHz (Edelman et al., 1990; Schild, 1997).

Zur Messung wird ein Hochfrequenz (HF) -Impuls über eine Sendeantenne eingestrahlt. Die Frequenz des HF-Impulses muss der Präzessionsfrequenz der Wasserstoffatomkerne entsprechen, um eine Energieübertragung auf die Protonen zu ermöglichen. Dieses Phänomen der Energieübertragung wird als Resonanz bezeichnet. Durch die Veränderung im Energiezustand einiger Protonen kommt es zur Änderung ihrer Ausrichtung im Magnetfeld in einen antiparallelen Zustand.

Des Weiteren werden die Spins durch die Einwirkung des HF-Impulses synchronisiert, sie präzedieren nun in Phase. Dieser Vorgang wird als Transversalmagnetisierung beschrieben. Die magnetischen Momente der synchronisierten angeregten Spins induzieren in einer Empfangsspule senkrecht zum äußeren Magnetfeld einen Strom. Dieses Signal kann durch die Beeinflussung der Phase und Frequenz durch zusätzlich angelegte Magnetfeldgradienten mit Hilfe der mathematischen Fourier-Transformation entsprechenden Bildpunkten zugeordnet werden. Je stärker das Signal eines Messvolumens ist um so heller wird es auf dem berechneten Bild dargestellt.

Die angeregten Spins geben ihre Energie an ihre Umgebung ab und gehen damit in ihren Ausgangszustand zurück. Dieser Vorgang wird durch zwei Zeitkonstanten beschrieben: die T1- und die T2-Relaxationszeit. Die T1-Relaxationszeit ist die Zeitkonstante, die den Rückgang der Protonen vom antiparallelen in den parallelen niederenergetischen Zustand charakterisiert. Sie beträgt bei 1,5 T in biologischem Gewebe 300 – 2000 ms. Die T2-Relaxationszeit charakterisiert die Dephasierung der Protonen und liegt in biologischem Gewebe bei 1,5 T bei 30 – 250 ms (Wallner, 1993; Laub, 1999).

Durch das Einstrahlen geeigneter HF-Impulse in bestimmten Zeitabständen erreicht man die Darstellung verschiedener physiologischer und pathologischer Gewebe in unterschiedlichen Graustufen.

Bei der so genannten Spin-Echo-Sequenz erreicht man, dass Gewebe mit kurzer T1-Relaxation heller dargestellt werden, wenn die Repetitionszeit TR bei $1,5 T$ unter 500 ms liegt. Gleichzeitig muss die Echozeit TE unter 20 ms liegen. Hierbei erscheinen die meisten bösartigen Tumore wenig signalreich, da Tumore in der Regel lange T1- und T2-Zeiten aufweisen. Daher erscheinen Tumore in T2-gewichteten Messungen (lange TR > 1,5 ms, lange TE > 40 ms) zumeist signalreich (Idy-Peretti und Bittoun, 1989).

Im Gegensatz zu den eher zeitaufwendigen Spin-Echo Sequenzen (Messzeit > 1 min) erlauben so genannte schnelle Messtechniken Aufnahmen innerhalb weniger Sekunden. Der Nachteil ist allerdings ein schlechterer Weichteilkontrast. Bei den schnellen Techniken wird das Verhalten der Protonen nicht nur durch die HF-Impulse beeinflusst, sondern zusätzlich durch den Magnetfeldgradienten. Daher werden diese Techniken auch unter dem Begriff Gradienten-Echo Techniken zusammengefasst.

Durch den Einsatz von Kontrastmitteln werden die Relaxationszeiten der Protonen beeinflusst. Ein Tumor, der in der T1-gewichteten Aufnahme aufgrund langer T1-Zeit dunkel erscheint, stellt sich nach Kontrastmittelgabe signalreich dar, da die T1-Relaxationszeit im Tumor durch ein Kontrastmittel (wie z.B. Gd-DTPA) stark verkürzt wird. Der Mechanismus wird im folgenden erläutert (Wehrli et al., 1988; Ramm et al., 1986).

3.4 Kontrastmittel

In der Röntgendiagnostik werden die Kontraste im Bild durch die unterschiedliche Absorption der Strahlen auf ihrem Weg durch den Körper verursacht. Um eine bessere Darstellung anatomischer Strukturen in der morphologischen Diagnostik oder eine Kontrastierung pathologischer Prozesse zu erlangen, werden Kontrastmittel eingesetzt. Sie verursachen eine Reduktion (negative Kontrastmittel) oder Erhöhung (positive Kontrastmittel) der Strahlenabsorption.

In der MRT werden die Kontraste im Bild durch die unterschiedlichen Signalintensitäten (SI) der verschiedenen Gewebe bestimmt. Aufgrund des hohen Weichteilkontrastes kann bereits ohne Kontrastmitteleinsatz eine Vielzahl von Fragestellungen gelöst werden. So kann durch die Variation gerätespezifischer Akquisitionsparameter eine Optimierung der Bildgebung bezüglich der diagnostischen Anforderung erlangt werden (Seiderer et al., 1987). Allerdings sind auch in der MRT die diagnostischen Möglichkeiten durch den Einsatz von Kontrastmitteln erheblich zu verbessern. So ist in einer Nativaufnahme beispielsweise die Unterscheidung von Tumorgewebe und umgebendem Ödem nicht möglich.

3.4.1 Wirkungsmechanismus der Kontrastmittel für die MRT-Diagnostik

Der Wirkungsmechanismus der Kontrastmittel der MRT beruht auf der Verkürzung der Relaxationszeiten der Gewebe. Das Maß für die Stärke der Relaxationszeitverkürzung von T1 oder T2 ist die Relaxivität R1 bzw. R2, mit der Einheit $[1/(mMol*s)]$. Je höher die Relaxivität eines Stoffes ist, um so kürzer werden die Relaxationszeiten der Protonen in Abhängigkeit der Konzentration (Reiser und Semmler, 1997; Köchli, 1998). Da sich die Substanzen nicht gleichmäßig im Gewebe verteilen, werden die Signale aus verschiedenen Geweben auch unterschiedlich beeinflusst.

Es handelt sich bei den eingesetzten Substanzen um magnetisch wirksame Substanzen, die selbst nicht bildgebend sind, aber eine Veränderung im lokalen Magnetfeld herbeiführen. Dies geschieht über eine Wechselwirkung der Kontrastmittel mit den Protonen von Wasser-, Fett- und Eiweißmolekülen in ihrer Umgebung. Alle Substanzen besitzen die Eigenschaft des Magnetismus, welcher auf der Bewegung elektrisch geladener Teilchen beruht. Sie zeigen ein unterschiedliches Verhalten, wenn sie einem Magnetfeld ausgesetzt werden. In wie weit eine Substanz empfänglich für Magnetisierung durch ein äußeres Magnetfeld ist, wird durch die Suszeptibilität ausgedrückt. Qualitativ werden vier Formen der Suszeptibilität unterschieden: Paramagnetismus, Superparamagnetismus, Diamagnetismus und Ferromagnetismus. Diamagnetische Substanzen besitzen eine negative Suszeptibilität. Ferromagnetische Substanzen behalten nach Entfernung aus dem äußeren Magnetfeld eine Restmagnetisierung bei. Beide sind als MR-Kontrastmittel ungeeignet.

3.4.1.1 Paramagnetismus

Paramagnetische Verbindungen zeichnen sich durch ungepaarte Elektronen aus. Das magnetische Moment ungepaarter Elektronen ist etwa 1000mal stärker als das eines Protons oder Neutrons und nimmt mit der Anzahl der ungepaarten Elektronen zu. Bei Anlegen eines externen Magnetfeldes richtet sich das magnetische Moment entlang der Richtung des Magnetfeldes aus, es kommt insgesamt zu einer Verstärkung des Magnetfeldes. Diese Substanzen bewirken beim Einsatz in der MRT eine schnelle Fluktuation des lokalen magnetischen Feldes und erleichtern so den Energietransfer angeregter Protonen und führen damit zu einer Verkürzung der Relaxationszeit. In T1-gewichteten Bildern führt der Einsatz derartiger Substanzen zur Aufhellung, man spricht auch von positiven Kontrastmitteln. Das dreiwertige Gadolinium (Gd^{3+}) besitzt mit sieben unpaaren Elektronen ein besonders effektives magnetisches Moment. Es beeinflusst die Relaxationszeit T1 (und T2) stärker als andere Metallionen. Bei Gadolinium handelt es sich

um ein Element der seltenen Erden aus der Gruppe der Lanthanide, welches, wie viele andere Metallionen, langsam eliminiert wird. Es ist in seiner reinen Form aufgrund der starken Toxizität nicht als Kontrastmittel einsetzbar, sondern muss gebunden in stabilen Komplexen genutzt werden (Weinmann et al., 1991; Weinmann, 1997; Seiderer et al., 1987).

3.4.1.2 Superparamagnetismus

Superparamagnetische Substanzen sind Eindomänenpartikel und zeichnen sich ebenfalls durch ungepaarte Elektronen aus. Domänen sind Regionen mit spontaner Magnetisierung. Während diese Partikel im feldfreien Raum ungerichtet orientiert sind, richten sie sich bei Anlegen eines äußeren Magnetfeldes parallel zu diesem aus. Sie besitzen ein sehr großes magnetisches Moment und bewirken lokale Magnetfeldinhomogenitäten, die zu einer schnelleren Dephasierung der Protonen führen. In der MRT als Kontrastmittel eingesetzt bewirken sie hauptsächlich eine T₂-Verkürzung, welche in der T₂-gewichteten Aufnahme zur Signalreduktion führt. Substanzen dieser Art sind kleine Metalloxide. Als MR-Kontrastmittel kommen Ferrite und deren Untergruppe Magnetite in Betracht. Von größter Bedeutung sind hierbei Eisenoxidpartikel (Reiser und Semmler, 1997; Seiderer et al., 1987; Rumor, 1997).

3.4.2 Einteilung der Kontrastmittel für die MRT-Diagnostik

Die Einteilung der in der MRT eingesetzten Substanzen erfolgt aufgrund ihrer pharmakokinetischen Eigenschaften in unspezifische und spezifische Kontrastmittel. In beiden Gruppen befinden sich sowohl paramagnetische als auch superparamagnetische Substanzen.

3.4.2.1 Unspezifische Kontrastmittel

Charakteristisch für die unspezifischen Kontrastmittel ist ihre Anreicherung im Extrazellularraum, der sich aus dem interstitiellen und intravaskulären Kompartiment zusammensetzt. Man unterscheidet auch hier niedermolekulare von makromolekularen und partikulären Substanzen.

Niedermolekulare unspezifische Kontrastmittel

Zu der Gruppe der niedermolekularen Verbindungen zählen unspezifische Gadolinium-Verbindungen wie Gd-DTPA (Gadopentate, Magnevist[®], Schering), Gd-DOTA (Gadoterate, Dotarem[®], Guerbet), Gadodiamide (Omniscan[®], Nycomed) oder Gadoteridol (Prohance[®], Bracco). Der prominenteste Vertreter dieser Gruppe ist Gd-DTPA, welches in der

Formulierung von Magnevist® 1988 als erstes paramagnetisches Kontrastmittel für die klinische Diagnostik zugelassen wurde (Schild, 1997).

Das Gadolinium-Ion ist hier fest in einen Komplex mit DTPA (Diethylenetriamine Pentoacetic Acid) integriert, der dessen pharmakokinetische Eigenschaften vollständig verändert. Im Gegensatz zum nicht im Chelat gebundenen Gadolinium-Ion, welches sich in Leber, Milz und Knochen ohne Tendenz zur Ausscheidung ablagert, wird das chelatgebundene Gadolinium-Ion rapide und vollständig über die Niere eliminiert. In der Ratte sind bereits nach drei Stunden 50 % der applizierten Substanz ausgeschieden. Nach intravenöser Verabreichung von Magnevist® kommt es nach schneller intravaskulärer Verteilung rasch zur Diffusion in den extrazellulären Raum. Im Tumorgewebe kann aufgrund der beschriebenen Gefäßstrukturierung eine besonders starke Extravasation erfolgen. Beim Menschen vermindert sich die Plasmakonzentration in Form von zwei exponentiellen Kurven rapide. Das interstitielle Kompartiment besitzt etwa die fünffache Größe des intravasalen Kompartimentes. Daher sind 10 Minuten nach Applikation im gesamten Plasmavolumen bereits nur noch 20 % der verabreichten Dosis aufzufinden. Es resultiert eine terminale Plasmahalbwertszeit von 90 Minuten beim Menschen und 20 Minuten bei der Ratte. Gd-DTPA bindet nicht an Proteine und passiert nicht die intakte Blut-Hirn-Schranke. In klinischen Studien und seit der Markteinführung von Magnevist® wurde eine geringe Inzidenz von Nebenwirkungen festgestellt. Es handelt sich um Effekte wie Übelkeit, Wärmegefühle und Schmerz an der Injektionsstelle, die ebenso bei jodierten Röntgen-Kontrastmitteln beobachtet werden. Generalisierte Reaktionen sind mit einem Prozentsatz von 1-2 % zu erwarten (Schild, 1997).

Bei der MR-Diagnostik nutzt man vor allem das unterschiedliche Perfusionsverhalten zwischen gesundem und geschädigtem Gewebe sowie verschiedenen pathologischen Zuständen, hier insbesondere der neoplastischen Erkrankungen. Körperregionen mit rapider Perfusion, proportional hohem interstitiellem Flüssigkeitsvolumen sowie Areale mit relativ langen Relaxationszeiten vor Kontrastmittelapplikation sind prädestiniert, ihre Signalintensität nach Kontrastmittelgabe zu erhöhen. Da Gd-DTPA die intakte Blut-Hirn-Schranke nicht passieren kann, ist hier ein Signalanstieg nach Kontrastmittelapplikation in dieser physiologisch abgeschirmten Region ein diagnostisches Kennzeichen für krankhafte Prozesse wie Neoplasien oder Infarkte. Andere Gd-Verbindungen verhalten sich ähnlich, es ergeben sich hier Unterschiede bezüglich einer noch besseren Verträglichkeit (Weinmann, 1997; Speck, 1998; Okuhata, 1999; Taupitz et al., 1996).

3.4.2.2 Spezifische Kontrastmittel

Spezifische Kontrastmittel reichern sich aufgrund ihrer chemisch-physikalischen Eigenschaften in definierten Zielorganen an. Unter anderem sind Faktoren wie Blutfluss, Partikelgröße, Opsonisation, Affinität zum aufnehmenden Zellsystem und relative Konzentration der Bindungsstellen für ihre Bioverteilung verantwortlich. Mit der Kontrastverbesserung sind sie vor allem bei der Unterscheidung ähnlicher Perfusionsverhältnisse in pathologisch verändertem und gesundem Gewebe dienlich. Man unterscheidet hier niedermolekulare von makromolekularen, partikulären gewebspezifischen Kontrastmitteln (Taupitz et al., 1996).

Zu ersteren gehören zum Beispiel lipophile Substanzen, die sich aufgrund ihres Metabolisierungsweges in der gesunden Leber anreichern und so deren Signalintensität in der MR-Untersuchung steigern. Tumoröse Läsionen hingegen werden diese nicht anreichern und verbleiben mit unveränderter Signalintensität, wodurch eine Kontrastverstärkung zwischen gesundem und entartetem Gewebe erreicht wird. Als konkrete Substanzen werden hier verschiedene Komplexbildner paramagnetischer Eigenschaften wie Gd-EOB-DTPA, Mn-DPDP oder Gd-BOPTA (Multihance[®], Byk Gulden) eingesetzt, wobei letzteres auch der Kontrastierung der Gallenwege dient (Duroux, 1995).

Zu den makromolekularen partikulären Vertretern gehören Verbindungen auf Basis natürlich vorkommender kristalliner Eisenoxide (Magnetite) mit superparamagnetischen Eigenschaften. Aufgrund von Größe und Partikelstruktur unterscheidet man superparamagnetische Eisenoxidpartikel (Superparamagnetic Iron Oxide Particles, SPIO), ultrakleine superparamagnetische Eisenoxidpartikel (Ultrasmall Superparamagnetic Iron Oxide Particles, USIOP) und monokristalline Eisenoxidpartikel (Monocrystalline Iron Oxide Particles, MOIN). Der Partikeldurchmesser der SPIO liegt über 50 nm, USPIO dagegen weisen einen Partikeldurchmesser unter 50 nm auf (Taupitz et al., 2003).

Zur galenischen Stabilisierung werden diese Partikel meist mit einer Umhüllung von Polymeren bestückt, die eine Aggregation und anschließende Ausfällung in wässriger Lösung verhindern. Geläufig sind dazu Dextranformulierungen. Diese Hüllpolymere haben zusätzlich antitoxische Wirkung und bieten eine Identifikationsstruktur für das mononukleäre phagozytäre System. So akkumuliert zum Beispiel das aktive Ingredient von Endorem[®] (Guerbert), ein superparamagnetisches dextranummanteltes Eisenoxidpartikel, nach der intravenösen Injektion im MPS von Leber und Milz. Metastasen und Tumore, welche meist keine oder wesentlich weniger Makrophagen besitzen, nehmen folglich kein oder weniger Kontrastmittel auf. Endorem[®] hat einen starken T2-Effekt und führt zur Auslöschung des

Signals, wodurch sich nun gesundes und entartetes Gewebe abgrenzen lassen. Ein weiteres Zielgewebe dieser Substanzen stellen Lymphknoten dar, welche in der Tumordiagnostik zur Beurteilung des Metastasierungsverhaltens einer genauen Kontrastierung zwischen gesundem und entartetem Gewebe bedürfen (Saini et al., 1987 a & b; Reimer und Weissleder, 1996; Mahfouz et al., 1997; Bonnemain, 1998; Muller et al., 1998; Speck, 1998).

Makromolekulare und partikuläre Kontrastmittel

Zur selektiven Darstellung des intravasalen Kompartimentes wurden sogenannte Blood-pool-agents bzw. Blood-Pool-Kontrastmittel entwickelt. Aufgrund des hohen Molekulargewichtes ist ihre Elimination aus den Gefäßen per Extravasation und glomerulärer Filtration zumindest verzögert oder sie wird gänzlich umgangen. Ihre Oberflächenstruktur ist derart gestaltet, dass eine Erkennung durch das MPS erschwert ist. Zu den makromolekularen Substanzen zählen Gd-DTPA-Komplexe, welche an Albumin, Dextran, Polylysin oder Liposomen gebunden werden. Ihr Molekulargewicht liegt in der Regel über 50 kDa. Partikuläre Substanzen sind Magnetite in Form von MION-Verbindungen oder USPIO. Die USPIO-Partikel setzen sich aus mehreren in ihrer Struktur variablen Eisenkernen mit Einzeldurchmessern von 4-10 nm und einer Hülle zusammen. Die Hülle kann zum Beispiel aus Dextran (Sinirem[®] und Edorem[®], Guerbet France) oder Carboxydextran (Resovist[®], Schering Deutschland) bestehen und charakterisiert entscheidend die Größe und Oberflächenstruktur sowie Ladung der Teilchen. Grundsätzlich ist eine Partikelgröße von über 20 nm notwendig, um eine lange Bluthalbwertszeit zu ermöglichen. Für Sinirem[®] liegt diese beispielsweise bei 45 min (Weissleder, 1995; Laub, 1999; Bonnemain, 1998; Wallner, 1993).

Eine neue Generation der superparamagnetischen Eisenoxidpartikel stellt die Gruppe der Very Small Superparamagnetic Iron Oxide Particles (VSOP) dar, welche sich momentan in der Phase der klinischen Prüfung befinden (Taupitz et al., 2003). Die Ummantelung dieser Partikel erfolgt im Gegensatz zur polymeren USPIO-Umhüllung hier mit Citrat in Form eines Monomers. Die Größe der Eisenkerne liegt bei 2 - 5 nm, die Größe des gesamten Partikels beträgt 4 - 10 nm. Im Gegensatz zu den bisherigen Eisenoxiden (SPIO, USPIO) zeichnen sich die VSOP durch eine hohe Wirkung bezüglich der Verkürzung der T1-Relaxationszeit aus, gleichzeitig besitzen sie eine geringe die T2-Relaxationszeit verkürzende Wirkung. Dies bedeutet, dass über einen breiten Gewebekonzentrationsbereich der hell machende Effekt dieses eisenoxidbasierten Kontrastmittels überwiegt. Infolge ihrer geringen Extravasation gewährleisten sie einen lang anhaltenden Kontrast zwischen Gefäß und Gewebe. In präklinischen Untersuchungen lag die Plasmaeliminationshalbwertszeit bei einer Dosierung von 0,045 mmol/Fe/kg in Ratten bei $21,3 \pm 5,5$ min und bei $36,1 \pm 4,2$ min in Schweinen. Die

Elimination dieser Partikel erfolgt über das Phagocytosesystem der Leber. Die Substanz hat sich auf dem derzeitigen Entwicklungsstand als sehr gut verträglich erwiesen (Taupitz et al., 2000; Taupitz et al., 2002; Wagner et al., 2002).

Es ist von Interesse, ob sich mit diesem Kontrastmittel im Tumorgewebe charakteristische Dynamiken darstellen lassen und ob diese einen Rückschluß auf die Vaskularisation zulassen und in wie weit eine Extravasation aufgrund der dargestellten Gefäßparameter möglich und nachweisbar ist.

Makromolekulare Verbindungen wie Albumin-Gd-DTPA und USPIO wurden bereits erfolgreich in experimentellen Studien an Tumoren eingesetzt, um mikrovaskuläre Charakteristika auf nichtinvasivem Wege darzustellen. Es wurde dabei festgestellt, dass die mikrovaskulären Strukturen im Tumor für diese Kontrastmittel permeabel sind, obwohl es sich aufgrund der Struktur um Kontrastmittel der intravasalen Gruppe handelt. Die gefundene Permeabilität korrelierte signifikant mit dem histologisch ermittelten Malignitätsgrad des Tumors (Turetschek et al., 2001 c & d).

3.4.3 Dynamische Untersuchungen in der MRT-Diagnostik

Bei der Durchführung dynamischer Untersuchungen wird das Verhalten des Kontrastmittels, somit der Verlauf der Signalintensitäten, ab dem Zeitpunkt der Injektion über einen definierten Zeitraum beobachtet. So können Rückschlüsse auf die Perfusion von Geweben (bzw. die Anreicherung von Kontrastmittel im Gewebe) gezogen werden, welche wiederum Aussagen über die Art des Gewebes enthalten. Um diese Vorgänge adäquat darstellen zu können, werden schnelle Gradienten-Echo Sequenzen eingesetzt.

In der Leber-Diagnostik werden spezifische und unspezifische Kontrastmittel zur Darstellung dynamischer Phänomene eingesetzt. In einer Untersuchung von Mahfouz et al. (1994) konnten fokale knotige Hyperplasien der Leber von malignen Tumoren aufgrund ihres Perfusionsverhaltens in Kombination mit den Nativaufnahmen voneinander differenziert werden. Erstere zeigten nach der Administration von Gadolinium-DTPA (Magnevist®, Schering, Deutschland) zu 96 % eine homogene Signalverstärkung, bei den malignen Tumoren traf dies nur für 32 % zu (Mahfouz et al., 1993). Kavernöse Hämangiome in der Leber zeigen mit 99 % Spezifität eine frühe Signalintensitätssteigerung in der Peripherie. Hepatische Zysten lassen sich davon abgrenzen, da sie dieses Phänomen mit einer Spezifität von 95 % nicht zeigen. Metastasen hypervaskulärer Primärläsionen weisen mit 77 % Spezifität die maximale Signalverstärkung während der arteriellen Phase auf, andere maligne Neubildungen zeigen die maximale Signalverstärkung später (Quillin et al., 1997).

Ein „Rim sign“ oder „Rim enhancement“ konnte für verschiedene maligne Neubildungen nachgewiesen werden und hilft damit bei der Abgrenzung von benignen Läsionen. Es handelt sich um eine initiale Signalintensitätssteigerung in der Peripherie des jeweiligen Tumors (Ma et al., 1997; Matsubayashi et al., 2000; Fan et al., 1993).

Die Betrachtung der Kontrastmitteldynamik orientierte sich meist schwerpunktmäßig an den ansteigenden Signalintensitäten im frühen Stadium der Untersuchung. Der folgende Verlauf der Kontrastmitteldynamik im späten Stadium der Untersuchung war bisher nur Gegenstand weniger Untersuchungen. Es soll gezeigt werden, dass aber gerade in der Spätphase weitere substantielle Informationen von diagnostischem Wert enthalten sind.

Dynamische Untersuchungen wurden ebenfalls eingesetzt, um die kapilläre Permeabilität in Tumoren für Makromoleküle quantitativ auf nicht invasivem Wege zu bestimmen. Es wurden dafür am Tiermodell die Signalintensitäten in der Vena cava caudalis, im Tumorzentrum und am Tumorrand gemessen, zudem wurde der Hämatokrit bestimmt. Dann wurden die relativen Signalintensitäten („delta“ SI) durch Subtraktion der Präkontrastwerte von den ermittelten Werten aus der dynamischen Messung errechnet. Nach diesem Modell spiegeln die relativen SI-Werte Weise die proportionale Konzentration des makromolekularen Kontrastmittels im entsprechenden Gewebe wieder. Aus den gewonnenen Daten können nun verschiedene Parameter, unter anderem die fractional leak rate (FLR), also der Verlust an Kontrastmittel und somit Konzentration in den gemessenen Bereichen, berechnet werden (Demsar et al., 1997; Shames et al., 1993).

3.4.4 Peripheres washout

Im Rahmen von dynamischen Kontrastmittelgestützten (Gd-DTPA) T1-gewichteten MR-Untersuchungen verschiedener maligner Tumoren in der klinischen Routine wurde festgestellt, dass sich in Spätuntersuchungen ein zunehmend breiter hypointenser Ring in der äußeren Tumorzone darstellt, während die zentralen Tumorteile hyperintens verbleiben. Dieses Phänomen wurde als „Peripheres Washout“ bezeichnet. Die Kontrastmitteldynamik in der Peripherie wird von Mahfouz et al. (1994) wie folgt beschrieben: 45 Sekunden nach Injektion des Kontrastmittelbolus erreicht die Kontrastverstärkung einen Maximalwert von 93 %, diesem folgt ein kontinuierlicher Abfall bis auf 62 % der Signalintensität auf den späten Aufnahmen. Das periphere Washout wurde mit der größten Deutlichkeit 10 Minuten nach Kontrastmittelgabe bei 24 % der untersuchten malignen Tumoren gesehen. Während es in der Peripherie zum Signalverlust kommt, nimmt die Signalintensität im Zentrum in der gleichen Zeitspanne von 10 Minuten bis 110 % zu.

Dieses Phänomen wurde in der Studie von Mahfouz et al. (1994) bei keiner der untersuchten benignen Läsionen festgestellt. Bei diesen kommt es auch 45 Sekunden nach Injektion des Kontrastmittels zu einem maximalen Signalintensitätsanstieg in der Peripherie, der aber nur 65% erreicht. Folgend kommt es auch hier über 10 Minuten zu kontinuierlichem Signalintensitätsverlust bis auf 40 %. Das Zentrum zeigt im gleichen Zeitrahmen einen Signalintensitätsanstieg bis auf 40 %. Die Kurven der Signalintensitätsverläufe über die Zeit schneiden sich bei malignen Tumoren zum Zeitpunkt 100 Sekunden und distanzieren sich im Verlauf zunehmend, während die Kurven gutartiger Neubildungen sich im Verlauf annähern. Als Erklärungsvorschlag für das periphere Washout wurde auf die unterschiedliche Vaskularisierung von Peripherie als Wachstumszone und Zentrum als ischämischer oder nekrotischer Region hingewiesen (Mahfouz et al., 1994).

Ein ähnliches Erscheinungsbild wurde bereits vor längerer Zeit in Spätuntersuchungen von kontrastmittelgestützten Computertomographie (CT)-Untersuchungen dargestellt und hier als „peripheral low-density area“ (Muramatsu et al., 1986) bzw. „delayed and prolonged enhancement“ (Itai et al., 1986) bezeichnet, wobei über die pathophysiologischen Grundlagen des Phänomens noch Unklarheit herrscht (Mahfouz et al., 1994).

Itai (1995) widersprach in einem Kommentar dieser Darstellung, da seiner Meinung nach der Begriff „peripheres Washout“ ausgehend vom Vergleich mit den CT-Befunden nicht den exakten Kontrastverstärkungsmechanismus des Phänomens widerspiegelt. Taupitz und Hamm dahingegen befürworteten in ihrer Antwort auf den Kommentar die Nutzung des Begriffes, da „peripheres Washout“ eine dynamische Veränderung von Signalintensitäten während der MR-Untersuchung darstellt, während „peripheral low density area“ bzw. „central high density area“ statische Phänomene beschreiben, welche auf späten Bildern einer dynamischen Untersuchung festgestellt werden (Itai, 1995).

In einer Studie von Sherif et al. (1997) wurde der Wert des peripheren Washout in späten Bildern einer dynamischen kontrastmittelverstärkten MR-Untersuchung bezüglich der Unterscheidung von benignen und malignen Neubildungen in der weiblichen Brust evaluiert. Die Kontrastierung einer hypointensen Zone in der Peripherie relativ zum Zentrum der Läsionen konnte in 51 % der untersuchten Karzinome in den Aufnahmen > 10 Minuten nach Kontrastmittelbolus ermittelt werden. Die Bereiche der Washout-Zone zeigten früh einen rapiden An- und folgenden raschen Abstieg der Signalintensität mit einer maximalen Intensität 180 Sekunden post KM-Injektion, während die zentralen Anteile des Tumors einen graduierten Anstieg aufwiesen, der nach sechs Minuten plateauförmig persistierte. Wiederum wurde das periphere Washout nicht in benignen Tumoren gesehen und weist somit eine Spezifität von 100 % auf.

Es werden drei Transportraten des Kontrastmittels im Tumor genannt, die möglicherweise für die auftretenden dynamischen Charakteristika verantwortlich sind (s. Abb. 3): 1. Die Transportrate von intravaskulärem in das interstitielle Kompartiment, 2. die Transportrate vom interstitiellen Kompartiment in das vaskuläre und 3. die Transportrate im interstitiellen Kompartiment unter der Kraft des interstitiellen Druckgradienten, entlang welchem sich die interstitielle Flüssigkeit zusammen mit dem Kontrastmittel von der Peripherie des Tumors zum peritumoralen Rand bewegt. Die Turnover-Rate des Kontrastmittels ist in der Peripherie höher als im Zentrum. Es kommt also zur schnelleren Anflutung und schnelleren „Auswaschung“ des Kontrastmittels in diesem Bereich, da die Transportraten 1 und 2 in der Peripherie größer sind als in den zentralen Arealen. Dies wiederum wird auf die höhere Anzahl und Größe der Kapillaren, deren erhöhte Permeabilität und die erhöhte Blutflussrate verglichen zum Zentrum zurückgeführt. Die dritte Rate kommt nur in der Peripherie vor, da nur hier der Druckgradient zum umliegenden Gewebe existiert (Sherif et al., 1997).

Quillin et al. (1997) konnten in einer Studie zur Charakterisierung von fokalen hepatischen Läsionen mittels kontrastverstärkter MR-Untersuchungen das periphere Washout nur in 2-3 % der malignen Läsionen darstellen, wobei sich aber wiederum eine Spezifität von 100 % ergab.

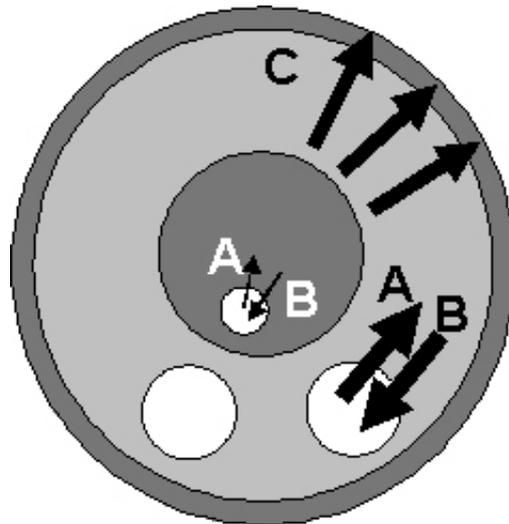


Abbildung 5: Schematische Darstellung der drei Transportraten, die für das periphere Washout verantwortlich gemacht werden.

Die periphere Region des Tumors ist in hellerem, das Zentrum und der periläsionale Bereich sind in dunklem Grau dargestellt. Die Kapillaren sind in Weiß dargestellt. A bezeichnet die Transportrate des Kontrastmittels vom intravasalen in das interstitielle Kompartiment (Extravasation). B ist die Transportrate des Kontrastmittels vom interstitiellen ins intravasale Kompartiment (Reabsorption). C kennzeichnet die Transportrate des Kontrastmittels im interstitiellen Kompartiment unter der Einwirkung des interstitiellen Druckgradienten (Abbildung modifiziert nach Sherif et al. (1997)).