

### 5.2.2 Dynamische MRT-Untersuchungen

Die Bestimmung der relativen Signalintensitäten anhand dynamischer kontrastmittelgestützter MRT-Aufnahmen diente der Erfassung therapiebedingter Vitalitätsänderungen als Reaktion auf eine erfolgreiche Behandlung. Auf den protonengewichteten Aufnahmen zur Tumorgrößenbestimmung ist der Tumor zwar gut vom Lebergewebe unterscheidbar, vitale Areale sind aber auf diesen Bildern nicht von nekrotischem Gewebe abgrenzbar. Der Tumor erscheint relativ homogen. Auf den kontrastmittelgestützten, T<sub>1</sub>-gewichteten Bildern ist der Tumor-Leber-Kontrast zwar deutlich schlechter als bei der Protonenwichtung, jedoch sind nicht vaskularisierte Tumoranteile im Vergleich zu vitalem Gewebe hypointens.

Die Abbildungen 8 und 9 zeigen links die protonengewichtete und rechts die T<sub>1</sub>-gewichtete Aufnahme nach Kontrastmittelgabe unterschiedlich vitalisierter Tumore.

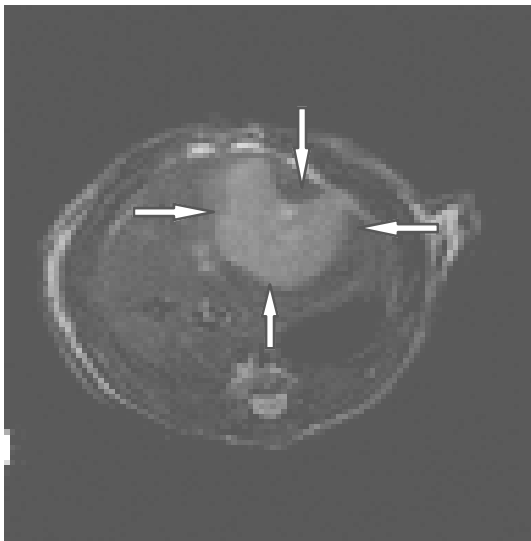
Zum Vergleich wurden die Signalintensitätsveränderungen in den ersten beiden Wochen nach Behandlung in Relation zu den Ausgangswerten herangezogen, da einige Kontrolltiere bedingt durch extremes Tumorwachstum bereits in der zweiten Woche euthanasiert werden mußten. Als Responsekriterium wurde ein deutlicher Signalintensitätsabfall als Ausdruck einer Zerstörung der Vaskularisation definiert.

Die Kontrolltiere zeigten eine gleichmäßige Kontrastmittelkinetik. Der deutlichste Abfall der relativen Signalintensitätswerte als Reaktion auf die Behandlung ist bei der Gruppe 3 (5-FU-SUV-PEG i.a. ) gefolgt von der Gruppe 4 (5-FU-SUV-PEG+ Spherex® i.a.) in der ersten Woche nach der Applikation feststellbar. Die Signalreduktion unmittelbar nach Kontrastmittelgabe ist signifikant (Gruppe 3: p=0,042; Gruppe 4: p=0,043). In der zweiten Woche ist das Signal kaum noch verändert und im weiteren Verlauf erreichen die Signalintensitäten bei Gruppe 3 und 4 wieder die Ausgangswerte.

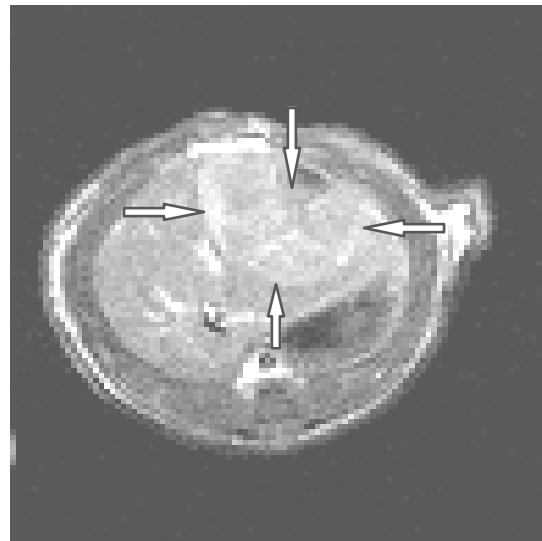
Die Grafiken 3 bis 8 zeigen anhand der Mittelwerte und Standardabweichungen den Verlauf der relativen Signalintensitätswerte über dem gesamten Tumorareal vergleichbarer repräsentativer Schichten der einzelnen Therapiegruppen vor sowie eine und zwei Wochen nach Therapie.

Die Abbildungen 10 bis 12 zeigen MRT-Aufnahmen vergleichbarer Schichten nach Kontrastmittelgabe mit T<sub>1</sub>-Wichtung vor (jeweils linke Aufnahme) und eine Woche nach Therapie (jeweils rechte Aufnahme).

Die Signalintensitätswerte der einzelnen Gruppen sind in Tabelle 4 im Anhang dargestellt.



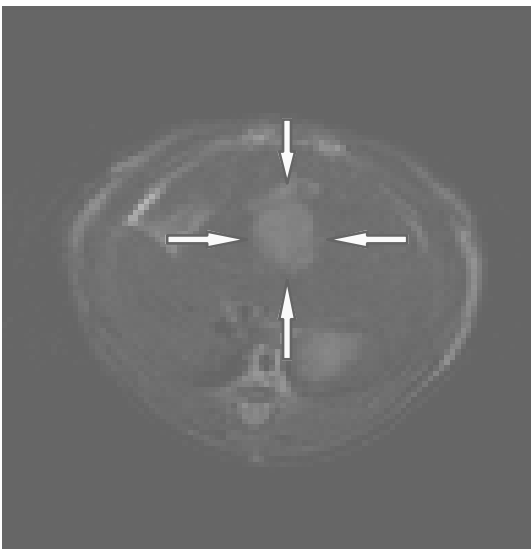
Protonenwichtung 1. Woche



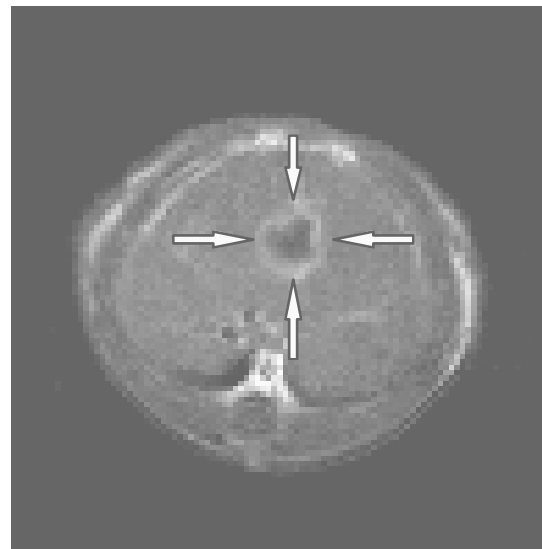
T<sub>1</sub>-Wichtung mit KM 1. Woche

**Abb. 8: 5-FU i.a. (Gruppe 1):**

Der Tumor erscheint auf der linken protonengewichteten Aufnahme homogen und ist gut gegen das Lebergewebe abgrenzbar. Auf der rechten Kontrastmittelaufnahme ist der Tumor kaum vom Leberparenchym zu unterscheiden. Das Kontrastmittel verteilt sich gleichmäßig in Tumor und Leber.



Protonenwichtung 1. Woche

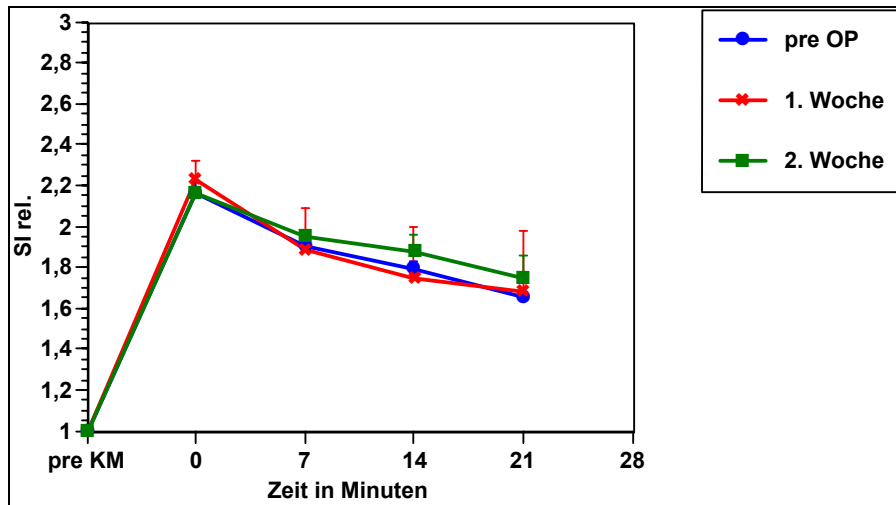


T<sub>1</sub>-Wichtung post KM 1. Woche

**Abb. 9: 5-FU-SUV-PEG i.a. (Gruppe 3):**

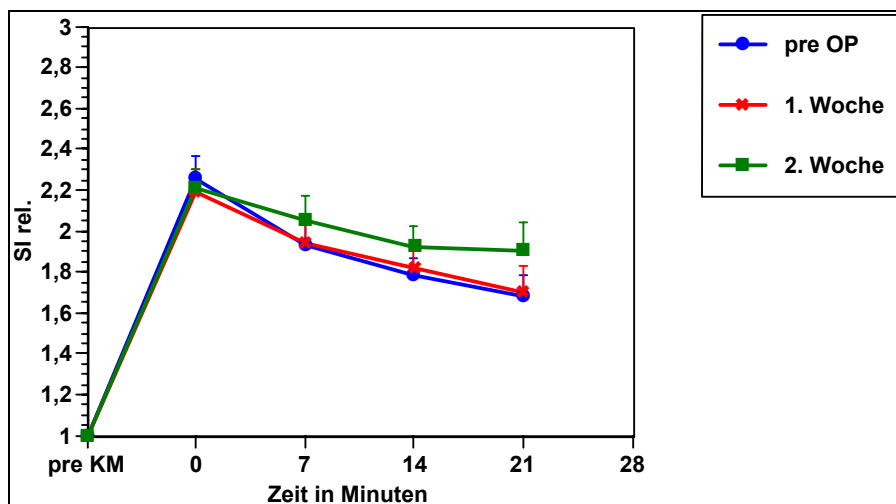
Auf der linken, protonengewichteten Aufnahme sind keine Vitalitätsunterschiede feststellbar. Die Kontrastmittelaufnahme rechts zeigt einen hyperintensiven vitalen Tumorrandsaum, der sich gut vom Lebergewebe abgrenzen lässt. Das Tumorzentrum bleibt ohne Kontrastmittelanreicherung.

## Ergebnisse



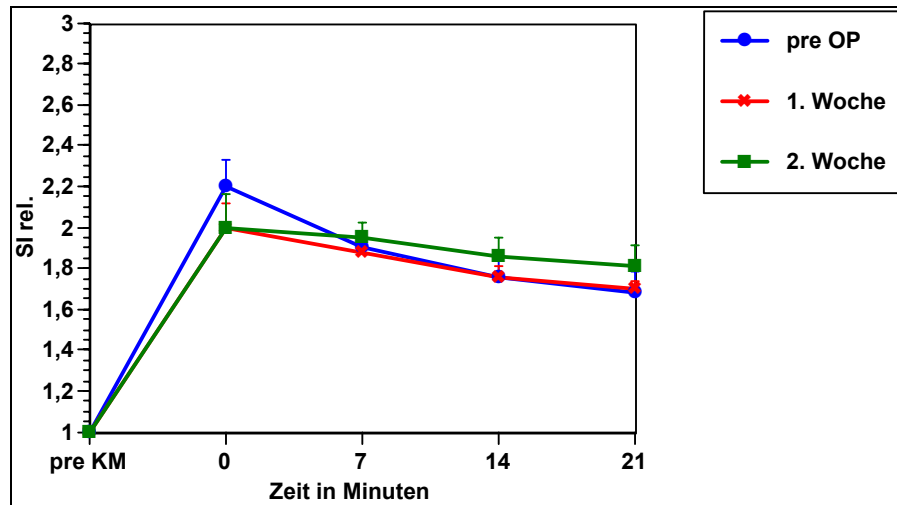
**Grafik 3: Relative Signalintensitäten der unbehandelten Kontrollgruppe (Gruppe 10):**

Die Kontrollgruppe zeigt vor und nach der Therapie eine gleichbleibende Kontrastmittelkinetik.

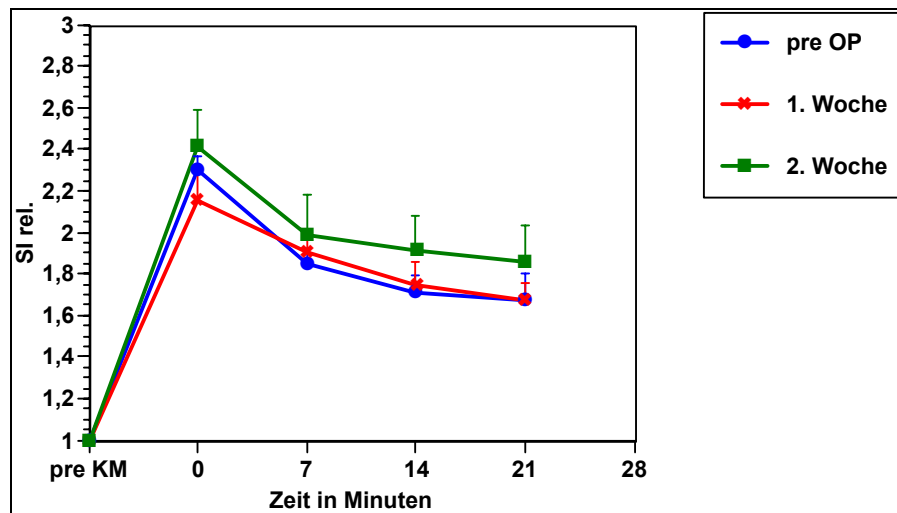


**Grafik 4: Relative Signalintensitäten nach intravenöser Applikation von 5-FU (Gruppe 8):**

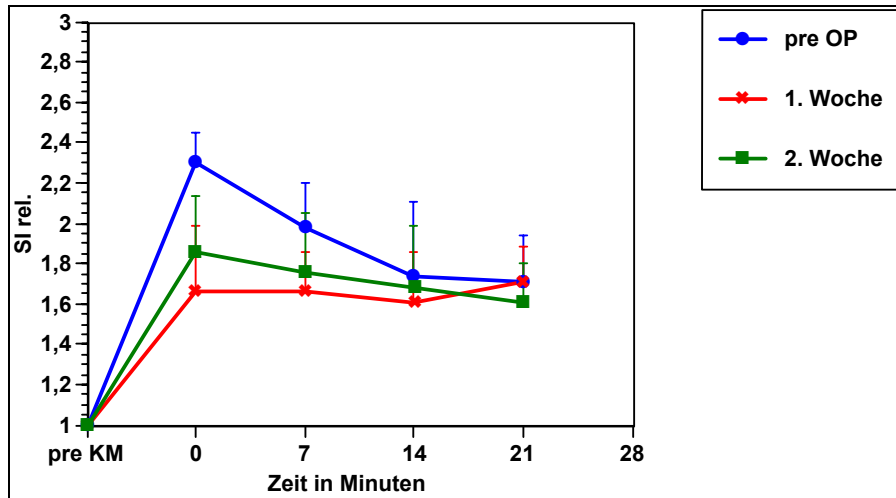
Gleichmäßige Kontrastmittelkinetik vor und nach der Therapie.



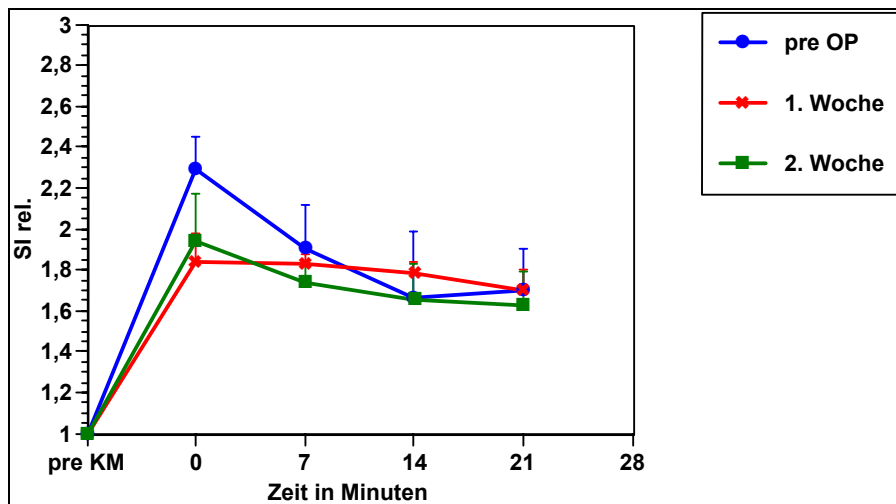
**Grafik 5: Relative Signalintensitäten nach intravenöser Applikation von 5-FU-SUV-PEG (Gruppe 9):** Geringfügige Signalreduktion in der 1. und 2. Woche nach der Therapie.



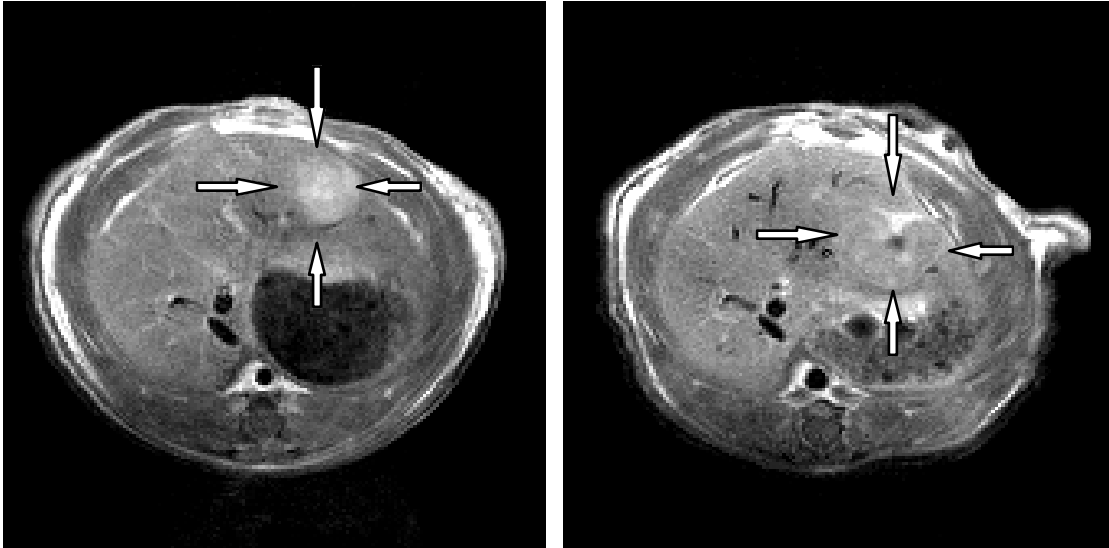
**Grafik 6: Relative Signalintensitäten nach intraarterieller Applikation von 5-FU (Gruppe 1):** Geringe Signalveränderungen nach der Therapie.



**Grafik 7: Relative Signalintensitäten nach intraarterieller Applikation von 5-FU-SUV-PEG (Gruppe 3):** Signifikante Signalreduktion ( $p = 0,042$ ) unmittelbar nach Kontrastmittelapplikation in der ersten Woche nach Therapie. In der zweiten Woche zeigt sich ein ähnliches Phänomen, jedoch ohne Signifikanz.

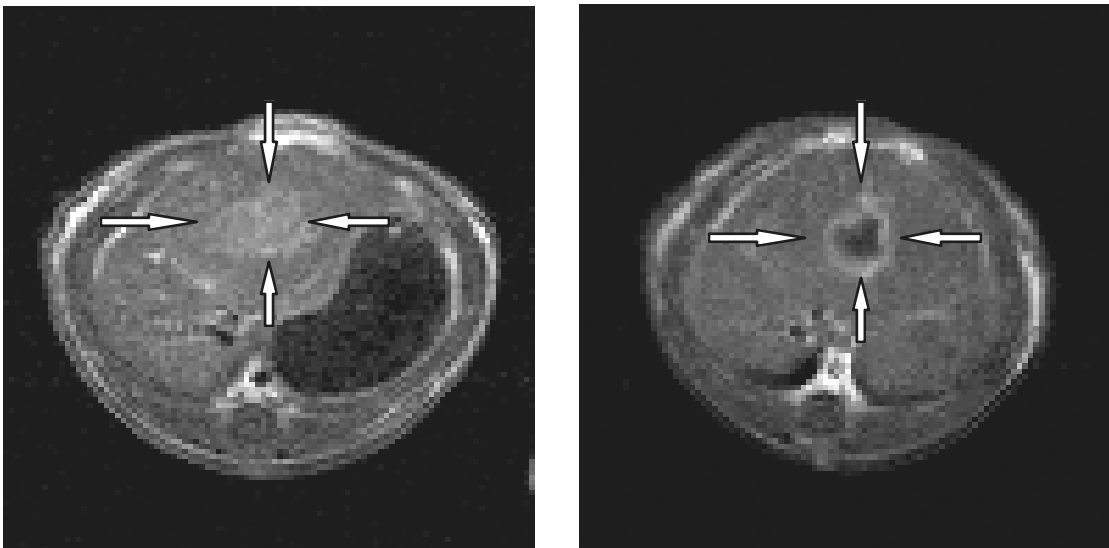


**Grafik 8: Relative Signalintensitäten nach intraarterieller Applikation von 5-FU-SUV-PEG + Spherex® (Gruppe 4):** Signifikante Signalreduktion ( $p = 0,043$ ) unmittelbar nach Kontrastmittelapplikation in der ersten Woche nach Therapie. Die Signalreduktion in der zweiten Woche ist nicht signifikant.



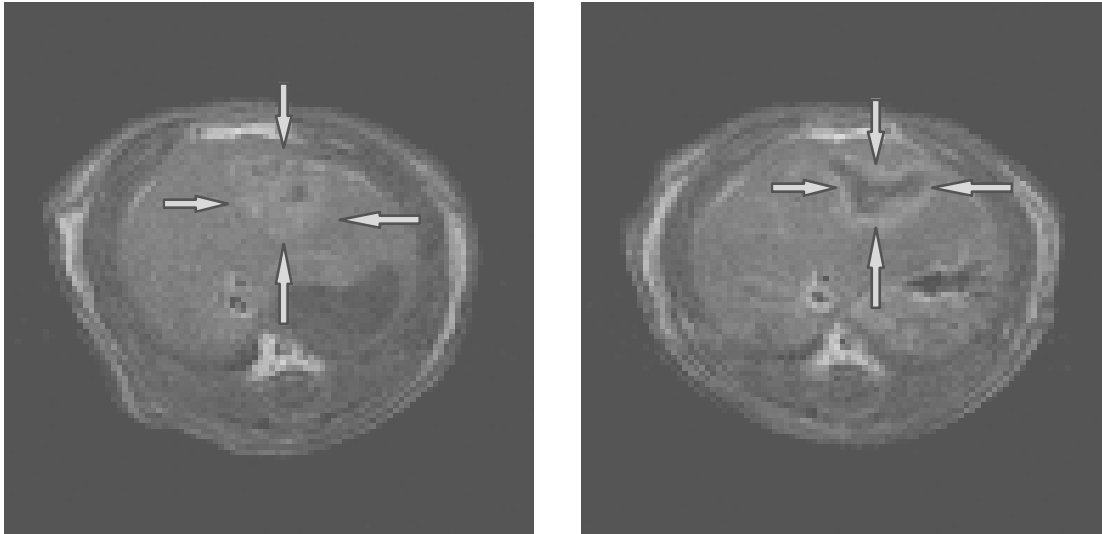
**Abb. 10: Unbehandelte Kontrollgruppe (Gruppe 10):**

Die Kontrollgruppe zeigt vor und nach der Therapie eine gleichmäßige Kontrastmittelanreicherung der gesamten Tumorschicht. Das Tumorgewebe erscheint moderat hyper- bzw. isointens gegenüber dem umgebenden Leberparenchym.



**Abb. 11: 5-FU-SUV-PEG i.a. (Gruppe 3):**

Deutliche Signalreduktion eine Woche nach Therapie im zentralen Tumorbereich. Der Tumorrandsaum erscheint hyperintens gegenüber dem Leberparenchym.



**Abb. 12: 5-FU-SUV-PEG + Spherex® i.a. (Gruppe 4):**

Markante Signalreduktion im zentralen Tumorbereich eine Woche nach Behandlung. Der hyperintense Tumorrandsaum ist gut vom Leberparenchym unterscheidbar.

### 5.3 Bestimmung der Überlebenszeit

Die Versuchstiere zeigten trotz rasantem Tumorwachstum in der Kontrollgruppe keinen dramatischen Gewichtsverlust oder Störungen des Allgemeinbefindens. Für die Bestimmung der Überlebenszeit wurden die Tiere bei Überschreiten eines Tumolvolumens von 3500  $\mu\text{l}$  bei einer Tumorausdehnung auf 9 Schichten im MR-Bild euthanasiert. Die mediane Überlebenszeit der Kontrollgruppe (Gruppe 10) betrug 3 Wochen. Bei lokoregionärer Applikation von liposomalem Therapeutikum mit und ohne Embolisat (Gruppe 4 und 3) wurde eine statistisch signifikant verlängerte mediane Überlebenszeit von 8 bzw. 6 Wochen ermittelt, während alle anderen Gruppen keine wesentliche Überlebenszeitveränderung im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle aufwiesen. Die Ergebnisse sind in Tabelle 3 dargestellt.

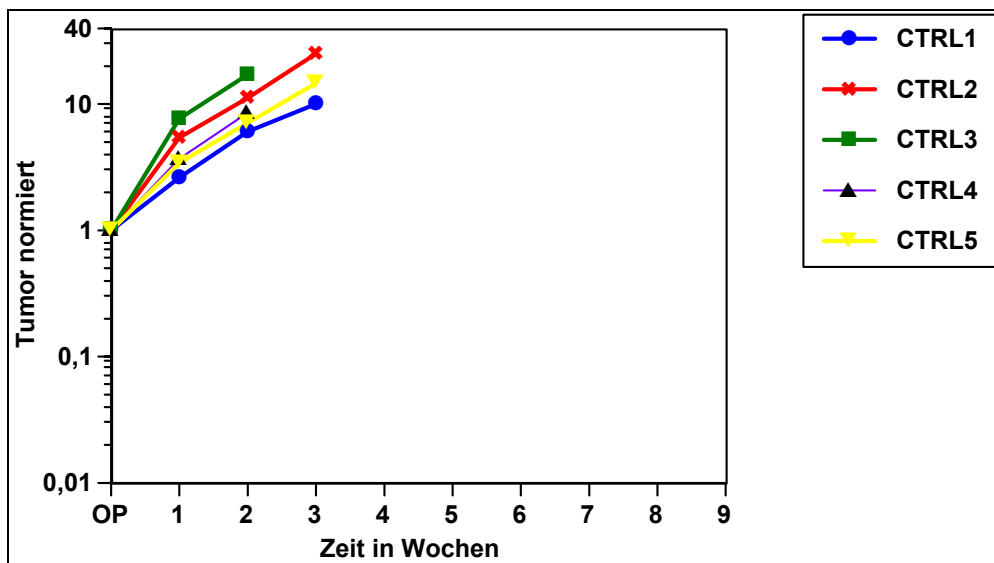
In den folgenden Grafiken 9 bis 12 sind sowohl die Tumorwachstumskinetiken als auch die Überlebenszeiten der Einzeltiere der jeweiligen Gruppen dargestellt. Zur Illustration der verschiedenen Therapiereaktionen wurden vier repräsentative Gruppen ausgewählt: unbehandelte Kontrolle (Gruppe 10), 5-FU-SUV-PEG i.v. (Gruppe 9), 5-FU-SUV-PEG i.a. (Gruppe 3) und 5-FU-SUV-PEG +Sperex®i.a.(Gruppe 4).

**Tabelle 3: Mittlere Überlebenszeit in Wochen nach der Therapie**

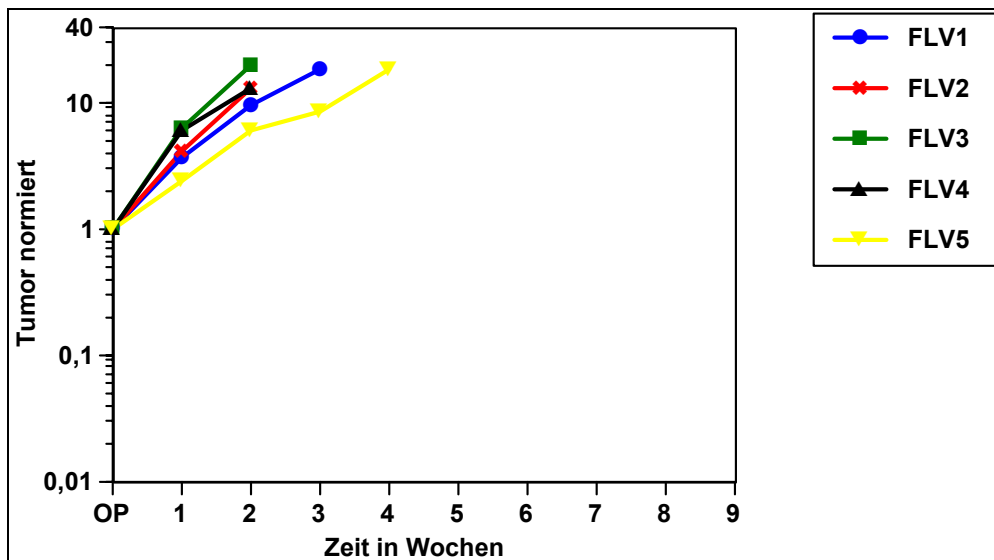
<b>Gruppe</b>	<b>Therapieregime</b>	<b>Appli- kation</b>	<b>Median- wert</b>	<b>0,25-Quartil</b>	<b>0,75-Quartil</b>	<b>p</b>
<b>1</b>	5-FU	i.a.	3	2	4	0,548
<b>2</b>	5-FU + Spherex®	i.a.	3	4	4	0,056
<b>3</b>	5-FU-SUV-PEG	i.a.	6	6	7	0,008
<b>4</b>	5-FU-SUV-PEG + Spherex®	i.a.	8	8	9	0,008
<b>5</b>	SUV-PEG + Spherex®	i.a.	3	3	3	0,421
<b>6</b>	SUV-PEG	i.a.	2	2	3	0,690
<b>7</b>	Spherex®	i.a.	2	2	4	1,000
<b>8</b>	5-FU	i.v.	2	3	3	1,000
<b>9</b>	5-FU-SUV-PEG	i.v.	2	2	3	0,841
<b>10</b>	unbehandelte Kontrolle		3	2	3	



## Ergebnisse

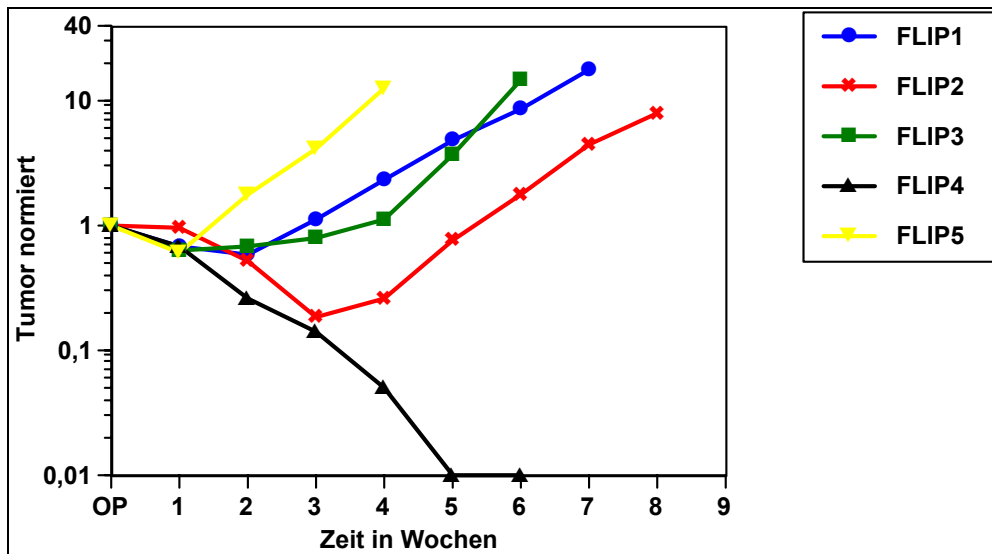


**Grafik 9: Tumorwachstum und Überlebenszeit der unbehandelten Kontrolle (Gruppe 10):** Der Tumor wächst stetig weiter. Die Überlebenszeit beträgt 2 bis 3 Wochen.

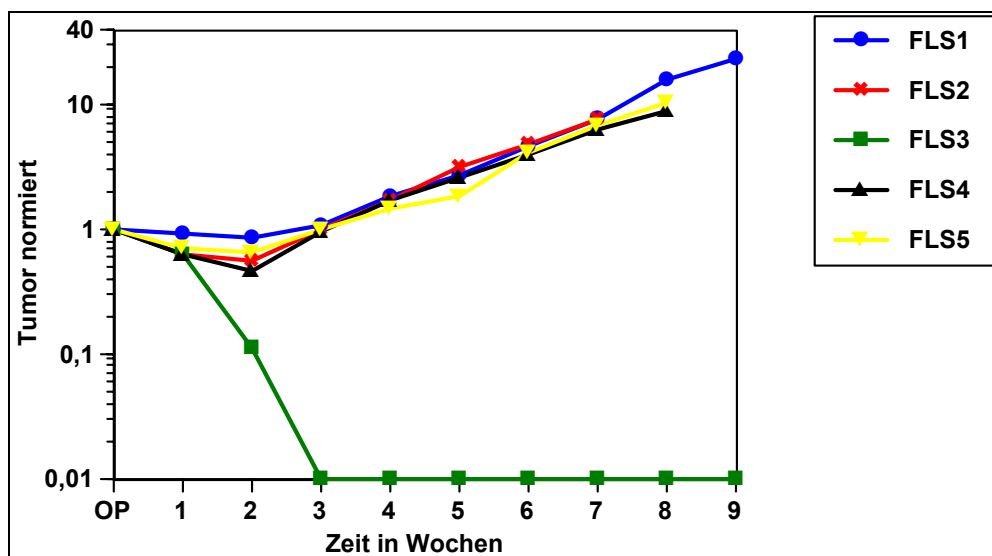


**Grafik 10: Tumorwachstum und Überlebenszeit nach einmaliger Applikation von 5-FU-SUV-PEG i.v. (Gruppe 9):** Tumorwachstum und Überlebenszeit unterscheiden sich kaum von der unbehandelten Kontrolle.

## Ergebnisse



**Grafik 11: Tumorwachstum und Überlebenszeit nach einmaliger Applikation von 5-Fu-SUV-PEG i.a. (Gruppe 3):** Die Therapiereaktion der Einzeltiere ist sehr variabel. Die Behandlung führte zu einer Tumorregression zwischen ein und drei Wochen.. Das erneute Tumorwachstum ist ungehemmt. Die Überlebenszeit ist signifikant länger als bei der Kontrollgruppe.



**Grafik 12: Tumorwachstum und Überlebenszeit nach einmaliger Applikation von 5-Fu-SUV-PEG + Spherex® (Gruppe 4):** Die Therapie führt zu einer Tumorreduktion über 14 Tage. Das wiedereinsetzende Tumorwachstum ist geringer als bei den Kontrolltieren. Die Tiere überleben signifikant länger.

### 5.4 Auswertung der Serumparameter

Die Werte von Glucose, Kreatinkinase und Lactatdehydrogenase der als Nullwerte gemessenen Tiere waren erheblich höher als die Vorgaben des Gerätes für Wistarratten und wurden entsprechend korrigiert.

Bei den Serumwerten sind bereits vor der Behandlung die Werte von Aspartataminotransferase (ASAT), Alaninaminotransferase (ALAT) und Lactatdehydrogenase (LDH) bei allen Tieren im Vergleich zu den Nullwerten erhöht. Die Glucosewerte liegen bei allen Therapiegruppen weit über der Norm und alle Tiere haben erniedrigte Albuminwerte. Bei den erfolgreich behandelten Gruppen 3 und 4 erreichen die Enzymaktivitätswerte von ASAT, ALAT und LDH in der ersten Woche in etwa die Ausgangswerte. Bei Gruppe 1 (5-FU intraarteriell) sind die Enzymaktivitätswerte rückläufig, ohne den Normalbereich zu erreichen. Die Kontrollgruppen haben gleichbleibend hohe oder weiter steigende ASAT-Werte und die Reduktion bei ALAT und LDH ist nicht so deutlich wie in Gruppe 3 und 4.

Die Serumwerte der Tiere sind in Tabelle 5 im Anhang dargestellt.

### 5.5 Entwicklung der Masse der Tiere nach der Behandlung

Extreme Tumorausdehnungen führen zur Beeinträchtigung der Leberfunktion bis hin zur Leberzirrhose mit Kachexie und schließlich zum Tod durch Leberversagen. Um unzumutbare Belastungen der Versuchstiere auszuschließen wurde als Abbruchkriterium eine Gewichtsreduktion von 20 % festgelegt. Die Bestimmung der Körpermasse erfolgte anlässlich der wöchentlichen dynamischen MRT-Untersuchungen, da sie für die Kontrastmitteldosierung notwendig war. Es wurden keine dramatischen Gewichtsreduktionen festgestellt. Trotz zum Teil erheblicher Tumorausdehnung nahmen die meisten Tiere zu.

Die Entwicklung der Masse der Tiere in g nach der Therapie ist in Tabelle 6 im Anhang dargestellt.

### 5.6 Histologische Untersuchungen

Bei der histologischen Untersuchung der Tumoren nach Tötung der Tiere sind in Analogie zu den ermittelten Signalintensitätswerten keine wesentlichen Unterschiede im Vorhandensein und dem Ausmaß nekrotischer Tumoranteile zwischen den einzelnen Therapiegruppen und der unbehandelten Kontrollgruppe nachweisbar. Bei den beiden Tieren mit vollständiger Tumorreduktion ist nur noch eine bindegewebige Narbe, die reaktionslos im Leberparenchym liegt, erkennbar.

## Ergebnisse

Die Abbildungen 13 bis 16 zeigen repräsentative histologische Schnitte.

Stellvertretend für alle Gruppen ist in Abbildung 13 und 14 ein moderat differenziertes Adenokarzinom dargestellt.

Auf den Abbildungen 15 und 16 ist die Tumornarbe nach Complete Response eines Tieres aus Gruppe 4 neun Wochen nach Therapie in verschiedenen Vergrößerungen zu sehen.