

Aus dem Universitätsklinikum Münster  
Institut für klinische Radiologie  
- Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. W. Heindel -

**Kontrastmittelunterstützte MRT zur Gewebedarstellung des RES  
unter Verwendung von SHU 555 A und dreier Derivate**  
Ergebnisse einer tierexperimentellen Studie

**I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n**

zur

Erlangung des Doctor medicinae  
der Medizinischen Fakultät der  
Westfälischen Wilhelms-Universität

vorgelegt von

**Jörg Bärmig**

aus Dinslaken

2004

Gedruckt mit Genehmigung der  
Medizinischen Fakultät der  
Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

Dekan: Univ.-Prof. Dr. med. H. Jürgens

1. Berichterstatter: Prof. Dr. med. P. Reimer

2. Berichterstatter: Univ.-Prof. Dr. med. W. Heindel

Tag der mündlichen Prüfung: 28.09.2004

Aus dem Universitätsklinikum Münster  
Institut für klinische Radiologie  
Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. W. Heindel  
Referent: Prof. Dr. med. P. Reimer  
Koreferent: Univ.-Prof. Dr. med. W. Heindel

## Zusammenfassung

### **Kontrastmittelunterstützte MRT zur Gewebedarstellung des RES unter Verwendung von SHU 555 A und dreier Derivate**

Ergebnisse einer tierexperimentellen Studie

Jörg Bärmig

In dieser Studie wurde der Einfluß der Partikelgröße und Dosierung auf die Aufnahme des superparamagnetischen Kontrastmittels SHU 555 A (Partikelgröße 65nm, (Gruppe 1)) und 3 Derivate mit kleineren hydrodynamischen Durchmessern (Partikelgröße 22nm, 33nm, 46nm, (Gruppen 2-4)) in RES-haltige Organsysteme (Leber, Milz, Knochenmark, Lymphknoten) untersucht. Besonderes Interesse galt der Signalbeeinflussung des RES unter der Verwendung der ultrakleinen Eisenoxidpartikel (USPIO). Hierzu wurden New Zealand White Kaninchen die jeweiligen Partikelgrößen in Dosierungen von 10, 20, oder 40 µmol Fe/kg KG intravenös appliziert. Anschließend wurden in-vivo-Aufnahmen vor, sowie 2h und 24h nach KM-Gabe mit T1-gewichteten SE- und T2-gewichteten TSE-Sequenzen angefertigt. Zur Validierung der in-vivo ermittelten Daten erfolgte ex-vivo die Messung der post mortem entnommenen Organe.

Das Signalverhalten von Leber- und Milzgewebe nach Kontrastmittelgabe war, unabhängig von der Wichtung, nahezu identisch. Es wurde bei jeder Dosierung und Partikelgröße eine signifikante Signalbeeinflussung ermittelt.

Im Knochenmark ergab sich durch USPIO eine signifikante Signalbeeinflussung sowohl in T1- als auch T2-gewichteten Aufnahmen. Es zeigte sich eine klare Dosis-Wirk-Beziehung nach 2h und 24 h.

Alle drei Gewebe zeigten bei Reduzierung der Partikelgröße einen verminderten Signalabfall.

In Lymphknoten hingegen konnte weder ex-vivo noch mittels Massenspektrometrie eine signifikante Aufnahme des Kontrastmittels unabhängig von Partikelgröße oder Dosierung festgestellt werden. Eine verwertbare Kontrastierung von Lymphknotengewebe konnte für die untersuchten Dosisbereiche nicht beobachtet werden.

Die Ergebnisse lassen den Schluß zu, dass höher dosierte ultrakleine carboxydextran-stabilisierte Eisenoxidpartikel sowohl für die KM-unterstützte Darstellung von Leber und Milz als auch des Knochenmarks eingesetzt werden können. Außerdem eröffnet sich die Möglichkeit der gleichzeitigen Anwendung in MR-Angiographie.

Versuchsgenehmigung durch die Bezirksregierung Münster, 10.12.1996:  
Aktenzeichen: 23.0835.1.0 (67/96)

Tag der mündlichen Prüfung: 28.09.2004



**Meinen Eltern**

## Inhaltsverzeichnis

<b>1.</b>	<b>Einleitung</b>	<b>1</b>
1.1	Gewebedarstellung am MRT.....	1
1.2	Kontrastmittel in der MR-Diagnostik.....	2
1.3	Zielsetzung dieser Arbeit.....	3
<b>2.</b>	<b>Grundlagen</b>	<b>4</b>
2.1	Anatomie des RES (Retikuloendotheliales System)..... - Zelluläre Bestandteile -	4
2.2	Physikalische Grundlagen & Pharmakologie.....	5
2.2.1	Para- u. Superparamagnetismus.....	5
2.2.2	Paramagnetische Kontrastmittel.....	6
2.2.3	Superparamagnetische Kontrastmittel.....	6
2.2.4	Eisenstoffwechsel.....	7
<b>3.</b>	<b>Material &amp; Methode</b>	<b>8</b>
3.1	Resovist® - SHU 555 A.....	8
3.2	In-vivo Experiment.....	10
3.2.1	Versuchsaufbau und Anästhesie.....	10
3.2.2	Kontrastmittelapplikation.....	10
3.2.3	MR-Sequenzen.....	11
3.3	Ex-vivo Experiment.....	12
3.3.1	Versuchsaufbau.....	12
3.3.2	MR-Sequenzen.....	14
3.4	Massenspektrometrie.....	14
3.5	Auswertung.....	15
3.5.1	Bildanalyse in-vivo.....	15
3.5.2	Bildanalyse ex-vivo.....	16
3.6	Statistik.....	16

---

<b>4.</b>	<b>Ergebnisse</b>	<b>17</b>
4.1	Leber.....	17
4.1.1	in-vivo.....	17
4.1.2	ex-vivo.....	18
4.2	Milz.....	19
4.3	Knochen.....	20
4.3.1	in-vivo.....	20
4.3.2	ex-vivo.....	21
4.4	Lymphknoten.....	22
4.5	Grafiken.....	25
4.5.2	Leber.....	25
4.5.3	Milz.....	30
4.5.1	Knochen.....	34
4.6	Bilder.....	38
4.6.2	Leber.....	38
4.6.3	Milz.....	43
4.6.1	Knochen.....	44
<b>5.</b>	<b>Diskussion</b>	<b>51</b>
5.1	Leber.....	51
5.2	Milz.....	53
5.3	Knochenmark.....	55
5.4	Lymphknoten.....	57
<b>6.</b>	<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>61</b>
<b>7.</b>	<b>Lebenslauf</b>	<b>67</b>
<b>8.</b>	<b>Erklärung</b>	<b>68</b>
<b>9.</b>	<b>Danksagung</b>	<b>69</b>
<b>10.</b>	<b>Versuchsgenehmigung</b>	<b>70</b>

# **1. Einleitung**

## **1.1 Gewebedarstellung am MRT**

Der frühen Erkennung von Primärtumoren und Metastasen (z.B. in Leber, Knochen, Mamma oder Colon) kommt eine erhebliche Bedeutung zu. Bildgebende Verfahren, speziell die Schnittbilddiagnostik (Ultraschall, CT, MRT), ermöglichen genaue Aussagen und sind Hauptbestandteil bei Staginguntersuchungen. Zur weiteren Diagnostik stehen unterstützend unterschiedliche Methoden zur Verfügung (Szintigraphie, PET, etc.), die sich hinsichtlich ihrer Spezifität und Sensitivität unterscheiden.

Die kontrastmittelverstärkte CT war für die Detektion von Leber-, Colon- oder Knochentumoren und der Suche nach Lymphknotenmetastasen lange Zeit die Methode der Wahl [16, 20, 45, 48, 62, 63]. Inzwischen hat die Anwendung kontrastverstärkter MRT-Untersuchungen bei Indikationen wie der Detektion fokaler Leberläsionen klare Vorteile gegenüber der kontrastmittelverstärkten CT sowie der nativen MRT [27, 31, 30, 42, 47]. Nachteile der CT gegenüber der MRT sind die Strahlenexposition für den Patienten, die schlechtere Kontrastauflösung bei der Darstellung von Weichteilgewebe und die höhere Inzidenz von Nebenwirkungen durch die Applikation von Röntgen-KM. Jedoch sind der MRT in speziellen Fragestellungen Grenzen gesetzt. So erhoffte man sich bei der Anwendung der MRT zur Detektion von Lymphknoten (LK) durch unterschiedliches Signalverhalten von LK eine Steigerung der diagnostischen Genauigkeit zu erreichen. Jedoch ist mit der nativen MRT die Erkennung von Metastasen in nicht vergrößerten Lymphknoten nicht möglich. Somit ist für das Staging mittels MRT, wie bei der CT, weiterhin die Größe der LK das entscheidende diagnostische Kriterium [5, 13, 14, 26, 41].

Wie bei anderen bildgebenden Verfahren kann auch in der MRT durch die Anwendung von Kontrastmitteln (KM) die Sensitivität der Aufnahmen für den Nachweis von Pathologien erhöht werden [5]. Einen Ansatz stellen eisenoxidhaltige Kontrastmittel dar, die von Zellen des Retikuloendothelialen-Systems (RES) aufgenommen werden. Sie reichern

sich in Abhängigkeit von Partikelgröße in Leber, Milz, Knochenmark und Lymphknoten an. Durch sie können genauere Aussagen über Gewebeintegrität, Perfusion und Funktion bestimmter Organsysteme gemacht werden [12, 25, 35, 52, 58].

Seneterre et al. erzielten mit der Verwendung von i.v.-applizierten superparamagnetischen, eisenoxid-haltigen KM eine deutliche Signalbeeinflussung von rotem und gelben Knochenmark in T1- und T2-gewichteten Aufnahmen [43].

Weissleder und Anzai et al. zeigten mit der Applikation von Kontrastmitteln (AMI-25, AMI-227) eine Signalbeeinflussung von Lymphknoten in T2-gewichteten Sequenzen. Durch die Verwendung der KM konnte eine Differenzierung zwischen metastatischen und freien Lymphknoten erreicht werden [2, 3, 4, 56].

## **1.2. Kontrastmittel in der MR-Diagnostik**

Bei der Konzeption von Kontrastmitteln in der MRT haben zwei Aspekte Bedeutung. Zum einen muß die Substanz bei gegebener Verträglichkeit in ausreichendem Maß in das Zielgewebe gelangen und sich hier anreichern (Pharmakokinetik), zum anderen muß die Substanz zu einer entsprechenden Signalbeeinflussung führen (physiko-chemische Eigenschaften).

Als MR-Kontrastmittel werden Übergangsmetalle z.B. Eisen ( $\text{Fe}^{-3}$ ,  $\text{Fe}^{-2}$ ), Mangan ( $\text{Mn}^{-2}$ ) oder Gadolinium ( $\text{Gd}^{-3}$ ) verwandt. Ihre Beeinflussung des Magnetfeld ist für die Signalgebung entscheidend. Unterschieden werden para- von superparamagnetischen KM [53, 36]. Klassische Vertreter der paramagnetischen KM sind Gadolinium-Chelate (z. B. Magnevist®). Sie werden mit T1-gewichteten Sequenzen kombiniert und zeigen in anreichernden Geweben eine Steigerung der Signalintensität. Daher werden sie auch als positive KM bezeichnet.

Hingegen bestehen superparamagnetische Kontrastmittel aus superparamagnetischen Eisenoxidpartikeln mit geringer Partikelgröße (25

– 100nm). Sie sind durch eine hohe T2-Relaxivität ( $R_2 \geq 100 \text{ (mmol/l)}^{-1}\text{s}^{-1}$ ) gekennzeichnet und werden mit T2-gewichteten Sequenzen kombiniert. Dies führt in speichernden Geweben zu einer Signalminderung, weshalb sie als negative KM bezeichnet werden. Mit Hilfe unterschiedlicher Chelatbildner entstehen aus den Übergangsmetallen nichttoxische, wasserlösliche Komplexe, die dem menschlichen Organismus zugänglich gemacht werden können. Zur Stabilisierung der Komplexe werden Dextran- bzw. Carboxydextranhüllen verwandt.

Diese KM (z.B. AMI-25, AMI-227) finden Verwendung in angiografischen Untersuchungen, Organperfusions- und –funktionmessungen [6, 17, 44].

### **1.3. Zielsetzung dieser Arbeit**

Ziel dieser Arbeit ist die Evaluation der Signalbeeinflussung von RES-haltigen Geweben in der MRT unter der Verwendung des superparamagnetischen RES-Kontrastmittels Resovist®, sowie dreier Derivate unterschiedlicher Größe und Konzentrationen am Tiermodell. Besonderes Interesse gilt der Beeinflussung des Enhancements durch die Applikation der ultrakleinen, superparamagnetischen Eisenoxidpartikel (USPIO) in Leber, Milz, Knochen und Lymphknoten. Außerdem soll untersucht werden, ob eine Signalbeeinflussung auch 24h nach KM-Applikation noch diagnostisch zu verwerten ist. Die Wertigkeit der in den Untersuchungen verwendeten T1- und T2-gewichteten Sequenzen soll miteinander verglichen werden. Hintergrund der Überlegungen ist die Verwendung von Eisenoxidpartikel mit kleinen Größen für angiografische Untersuchungen, so dass neben der Angiografie auch andere Gewebe bei einmaliger KM-Applikation untersucht werden könnten.

## 2. Grundlagen

### **2.1 Anatomie des RES (Retikuloendotheliales System) - Zelluläre Bestandteile**

Für die immunologische Abwehr des Organismus ist einerseits die spezifische Abwehr mit seinem Lymphozytensystem und andererseits die unspezifische Abwehr des Retikuloendothelialen Systems (RES) verantwortlich. Die mononukleären Phagozyten (Makrophagen) sind im Blut die Monozyten und im Bindegewebe die Histozyten (s.Tab.). In Milz, Knochenmark und Lymphknoten sind sie phagozytierende Retikulumzellen und kleiden die dortigen Sinusoide aus. In der Leber werden sie als Kupffer'sche Sternzellen bezeichnet. Sie können ganze Erythrozyten, körperfremde Zellen und v.a. Substanzen wie Kohle-, Quarz- und Metallpartikel phagozytieren. Diese Eigenschaft der Makrophagen macht man sich bei der Applikation von eisenhaltigen Kontrastmitteln zu Nutze.

**Tab. 1: Zellformen des Retikuloendothelialen Systems (RES)**

<b>Lokalisation</b>	<b>Zellformen</b>
Knochenmark	Hämopoetische Stammzelle Monoblast Promonoblast Monozyt
Blut	Monozyt
Bindegewebe	Makrophagen (Histozyten)
Leber	Kupffer-Zellen
Milz	Plasmazellen, Makrophagen, Lymphozyten
Knochen	Osteoklasten
Knochenmark	Makrophagen
Lymphatisches Gewebe	Makrophagen

## **2.2 Physikalische Grundlagen & Pharmakologie**

### **2.2.1 Para- und Superparamagnetismus**

Magnetische Suszeptibilität beschreibt die Magnetisierbarkeit einer Substanz in einem magnetischen Feld.

Magnetismus entsteht durch die Bewegung elektronisch geladener Teilchen und ist daher allen Substanzen gemeinsam. Unterschiedlich ist nur die „Empfindlichkeit“, mit der verschiedene Substanzen auf ein äußeres Magnetfeld reagieren. Suszeptibilität beschreibt dieses Maß und wird als Diamagnetismus, Paramagnetismus, Superparamagnetismus oder Ferromagnetismus definiert. Die Magnetisierbarkeit nimmt auch in dieser Reihenfolge zu.

Paramagnetische Substanzen sind durch das Vorliegen ungepaarter Elektronen charakterisiert. Mit Erhöhung der Elektronenzahl steigt das magnetische Moment. Paramagnetische Substanzen zeigen eine positive magnetische Suszeptibilität. Durch Anlegen eines magnetischen Feldes wirkt sich die in der Substanz selbst hervorgerufene Magnetisierung additiv zu dem bereits bestehenden Magnetfeld aus, so dass es zu einer lokalen Erhöhung der Feldstärke kommt. Paramagnetische Verbindungen führen vor allem zu einer Verkürzung der T1-Relaxationszeiten. Da eine T1-Verkürzung die Signalintensität (SI) in T1 gewichteten Sequenzen erhöht, werden sie auch als „positive“ KM bezeichnet. Nach Entfernung des äußeren Magnetfeldes kehren paramagnetische Substanzen in ihren ursprünglichen Zustand zurück.

Hingegen besitzen superparamagnetische Eisenoxidpartikel aufgrund ihrer geringen Größe nur eine magnetische Domäne. Sie lassen sich bei Einbringung in ein externes Magnetfeld (z.B. MRT) schon bei schwachen Feldstärken vollständig magnetisieren und richten sich entlang der Feldlinien aus. Die geordneten magnetischen Domänen bauen ihrerseits ein Magnetfeld auf, welches die Homogenität des externen Magnetfelds stört und hierdurch die Relaxationszeiten T1 und T2 verkürzt. Da eine Verkürzung der T2-Relaxationszeit die SI erniedrigt, werden superparamagnetische Verbindungen auch als „negative“ KM bezeichnet.



Dieser Suszeptibilitätseffekt ist bei superparamagnetischen Eisenoxidpartikeln im Vergleich zu paramagnetischen Substanzen besonders ausgeprägt.

### **2.2.2 Paramagnetische Kontrastmittel**

Klassische Vertreter dieser Gruppe sind Gadolinium-Chelate (Gd-Chelate). Sie zeigen aufgrund ihrer hohen Zahl ungepaarter Elektronen einen starken paramagnetischen Effekt und führen zu einer Verkürzung der T1-Relaxationszeit und somit auf T1-gewichteten Sequenzen zu einem SI-Anstieg.

Das pharmakologische Verhalten von niedermolekularen Gadolinium-Chelaten, wie z.B. Magnevist®, ähnelt im wesentlichen dem konventioneller jodhaltiger Röntgenkontrastmittel. Nach intravenöser Applikation und schneller intravasaler Verteilung diffundieren Gd-Komplexe in den Extrazellulärraum. Eine dynamischen Bildgebung nach Bolusapplikation hat sich z.B. für die Charakterisierung fokaler Leberläsionen als vorteilhaft erwiesen [19].

### **2.2.3 Superparamagnetische Kontrastmittel**

Superparamagnetische Kontrastmittel bestehen aus superparamagnetischen Eisenoxidpartikeln. Typischerweise werden sie durch eine Dextran- bzw. Carboxydextranhülle stabilisiert. Aufgrund ihres Eisenkerns werden sie von Zellen des RES phagozytiert und unterliegen dann dem physiologischen Eisenstoffwechsel [4]. Sie führen primär zu einer Verkürzung der T2-Relaxationszeit in den speichernden Geweben und somit zu einer Signalreduktion in T2-gewichteten Aufnahmen [2, 38, 49, 50, 56, 57, 58, 61]. Ihre T2-Relaxivität (R2) ist typischerweise um das zwei- bis sechsfache größer als die T1-Relaxivität (R1). Die T1-Relaxivität ist aber unter gleichen Meßbedingungen um den Faktor vier bis sechs größer im Vergleich zu paramagnetischen KM (Gd-Chelaten) [21]. Sie

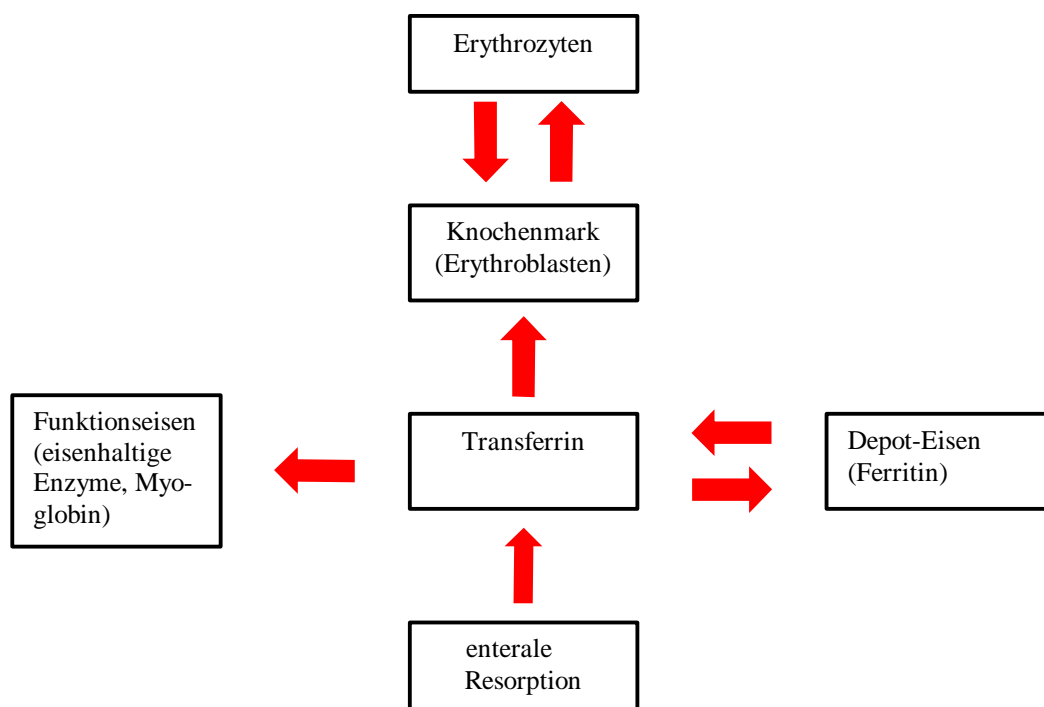
zeigen konzentrationsabhängig auf stark T1-gewichteten Bildern ein positives Enhancement [10].

Unterschieden werden kleine ( $\varnothing \geq 30\text{nm}$ ) (SPIO = Superparamagnetic Iron Oxide) und ultrakleine Eisenoxidpartikel ( $\varnothing \leq 30\text{nm}$ ) (USPIO = Ultrasmall Superparamagnetic Iron Oxide) .

#### 2.2.4 Eisenstoffwechsel

Der Gesamtbestand des Organismus an Eisen beträgt 4 – 5g. Es ist an vielen wichtigen Funktionen beteiligt, wie z.B. als Bestandteil des Hämoglobins beim O<sup>2</sup>-Transport im Blut oder des Myoglobins bei Bindung und Speicherung von O<sup>2</sup> im Muskelgewebe. Eisen, das funktionell nicht für die Biosynthese von Hämoglobin oder anderen wichtigen Proteinen benötigt wird, lagert in Form des Speicherproteins Ferritin in RES-haltigen Geweben (Leber, Milz, Knochenmark, Lymphknoten). Somit unterliegen eisenhaltige KM schließlich dem physiologischen Eisenstoffwechsel.

Schema des Eisenstoffwechsels:



### **3. Material und Methoden**

Um den Einfluß der KM auf die Signalgebung von Lymphknoten zu ermitteln, werden in-vivo-Aufnahmen vor, sowie 2 und 24 h nach KM-Gabe angefertigt. Zusätzlich werden die RES-Gewebe Leber, Knochenmark und Milz sowohl auf T1- als auch T2- gewichteten Bildern auf ihre Signalgebung ausgewertet. Als Referenzwert wird Muskelgewebe gewählt.

Um die Effekte zu verifizieren, werden nach Organ- und Knochenentnahme ex-vivo Aufnahmen der Gewebe gefertigt. Lymphknoten werden aus drei unterschiedlichen Lymphknotenstationen (tracheal, mesenterial, popliteal) entnommen.

#### **3.1. Resovist® (SHU 555 A)**

SHU 555 A (Resovist®) wurde von der Firma Schering AG, Berlin in Zusammenarbeit mit Meito Sangyo Corporation Ltd. (Nagoya, Japan) entwickelt. Es ist ein superparamagnetisches eisenoxidhaltiges KM (Magnetite –  $\text{Fe}^2 \text{O}^4$ /Maghemite –  $\gamma$  –  $\text{Fe}^2 \text{O}^3$ ), welches sich im RES anreichert. SHU 555 A wird im Gegensatz zu AMI-227 nicht durch eine Dextran-, sondern einer Carboxydextranhülle stabilisiert [18, 39]. Der polykristalline Eisenoxid-Kern selbst enthält mehrere Kristalle mit einem mittleren Durchmesser von 4.2 nm. Die Resovist®-Stammlösung besteht aus einer Mischung von Eisenoxiden verschiedener hydrodynamischer Durchmesser und enthält 28,5g Eisen (Fe)/l (0,5 mol Fe/l), 40g Mannit/l sowie 2g Laktat/l (pH-Wert 6,5). Die Osmolarität beträgt 0,324 osmol/l  $\text{H}_2\text{O}$  mit einer Viskosität von 1,023 mPa·s bei  $T=37^\circ\text{C}$ . Die Relaxivität beträgt in Plasma unter Standardbedingungen:  $R1 = 19,4 \text{ (mmol/l)}^{-1}\text{s}^{-1}$  und  $R2 = 185,8 \text{ (mmol/l)}^{-1}\text{s}^{-1}$  [18] (Gruppe 1, Tabelle 2).

Um den Einfluß der Partikelgröße auf die Signalgebung zu untersuchen, wurden drei verschiedene Subfraktionen des Kontrastmittels mit jeweils kleineren hydrodynamischen Durchmessern von der Resovist®-Stammlösung separiert und für das Experiment verwandt (Gruppen 2-4,

Tabelle 2 + 3). Resovist® erwies sich als nebenwirkungarmes Kontrastmittel und ermöglicht bei guter Verträglichkeit durch die Bolusapplikation eine dynamische Bildgebung.

**Tabelle 2: Physikalische Eigenschaften der Eisenoxid-Partikel**

Gruppe	mittlerer Durchmesser (nm)	Konz. (mmol Fe/l)	R1* (mmol/l x sec) <sup>-1</sup>	R2* (mmol/l x sec) <sup>-1</sup>	Verhältnis R2* / R1*
1	65	500	19	186	9,78
2	46	102	25	119	4,75
3	33	70	24	67	2,79
4	21	68	18	41	2,28

**Tabelle 3: Gruppeneinteilung**

Größe \ Dosis	SHU 555 A 22nm	SHU 555 A 33nm	SHU 555 A 46nm	Resovist® 65nm
10 µmol	4 Tiere	4 Tiere	4 Tiere	4 Tiere
20 µmol	4 Tiere	4 Tiere	4 Tiere	4 Tiere
40 µmol	4 Tiere	4 Tiere	4 Tiere	4 Tiere

Magnevist®	4 Tiere
ohne KM	2 Tiere

## **3.2 In-vivo Experiment**

### **3.2.1 Versuchsaufbau und Anästhesie**

Als Versuchstiere wurden ausgewachsene weibliche New Zealand White Kaninchen mit einem mittleren Gewicht von 3500g ( $\pm$  500g) verwendet. Die Versuche waren durch die Bezirksregierung Münster (Aktenzeichen 67/96) genehmigt.

12 Gruppen mit je 4 Tieren pro Dosisstufe Resovist® (n=48), eine Vergleichsgruppe von 4 Tieren mit dem KM Magnevist® (Schering AG, Berlin) (n=4) und eine Kontrollgruppe (ohne KM) bestehend aus 2 Tieren ohne Kontrastmittelapplikation bei ex-vivo Messungen wurden gebildet (Tabelle 2).

Die intramuskuläre Narkose der Tiere erfolgte mit 50 mg/kg KG Ketamin-Hydrochlorid (Sanofi-CHEVA, Düsseldorf) und 2,5 mg/kg KG Xylazine-Hydrochlorid (Medistar, Holzwickede). Nach Abschluß des ersten Scan-Protokolls erfolgte eine erneute Narkose für die 24h-Aufnahmen.

(Sämtliche in-vivo Versuche wurden durch Dr. C. Bremer und Dr. T. Allkemper durchgeführt.)

### **3.2.2 Kontrastmittelapplikation**

Zur Applikation der Kontrastmittel wurde unter Narkose eine Venenverweilkanüle (22G insyte-W, Becton Dickenson, Heidelberg) in die Ohrvene der Tiere plaziert. Vor Injektion der randomisiert zugeteilten Dosis KM, erfolgte das erste Scan-Protokoll zur Ermittlung der Nativwerte. Einheitlich wurde zwei Stunden nach Applikation eine erneute Messung durchgeführt.

### **3.2.3 MR-Sequenzen**

Die Messungen erfolgten in einem Magnetresonanztomographen mit 1,5 Tesla (Siemens Magnetom Vision) unter Verwendung einer Body-phased-array-Spule.

In sämtlichen Sequenzen wurden 13 Schichten mit einer Dicke von 4mm erzielt. Für die Untersuchungen wurden SE- (Spin-Echo) und TSE- (Turbo-Spin-Echo) Sequenzen mit folgenden Parametern (TR [ms] / TE [ms]) verwendet:

T1-gewichtete SE-Sequenz (500/14) mit einem Flipwinkel von 90°; in 2 Aquisitionen wurden 13 coronare Schichten mit einer Matrix 384 (Phase) x 512 (Frequenz) Pixel innerhalb von 6 min und 27 sec aufgenommen.

T2-gewichtete TSE-Sequenz (4000/96) mit einem Flipwinkel von 180°; in 2 Aquisitionen wurden 13 coronare Schichten mit einer Matrix von 324 x 512 Pixel innerhalb von 5 min und 44 sec aufgenommen.

T2-gewichtete TSE-Sequenz (3150/54) mit einem Flipwinkel von 180°; in 2 Aquisitionen wurden 13 axiale Schichten mit einer Matrix von 378 x 512 Pixel innerhalb von 5 min und 44 sec aufgenommen.

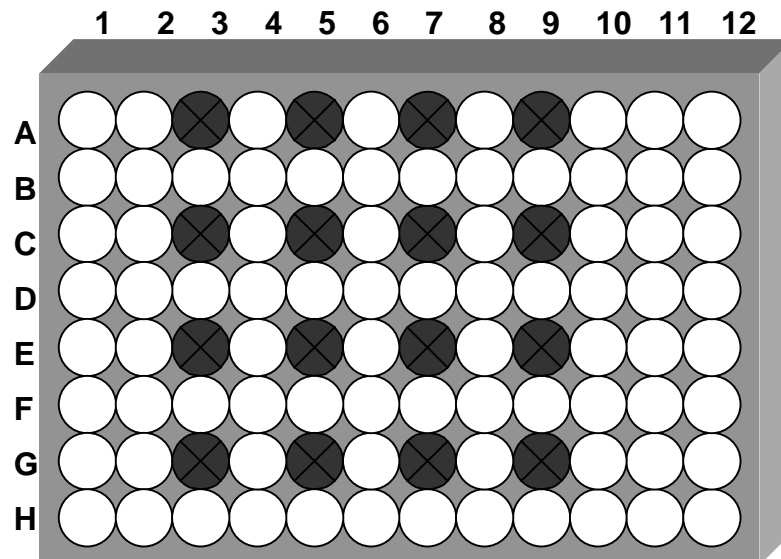
Nach Ermittlung der Nativwerte folgte die KM-Gabe. Jeweils 2h und 24h nach KM-Applikation erfolgte die erneute Messung mit den festgelegten Sequenzen. Die Parameter wurden für alle Aufnahmen konstant gehalten.

### 3.3 *Ex-vivo Experiment*

#### 3.3.1 *Versuchsaufbau*

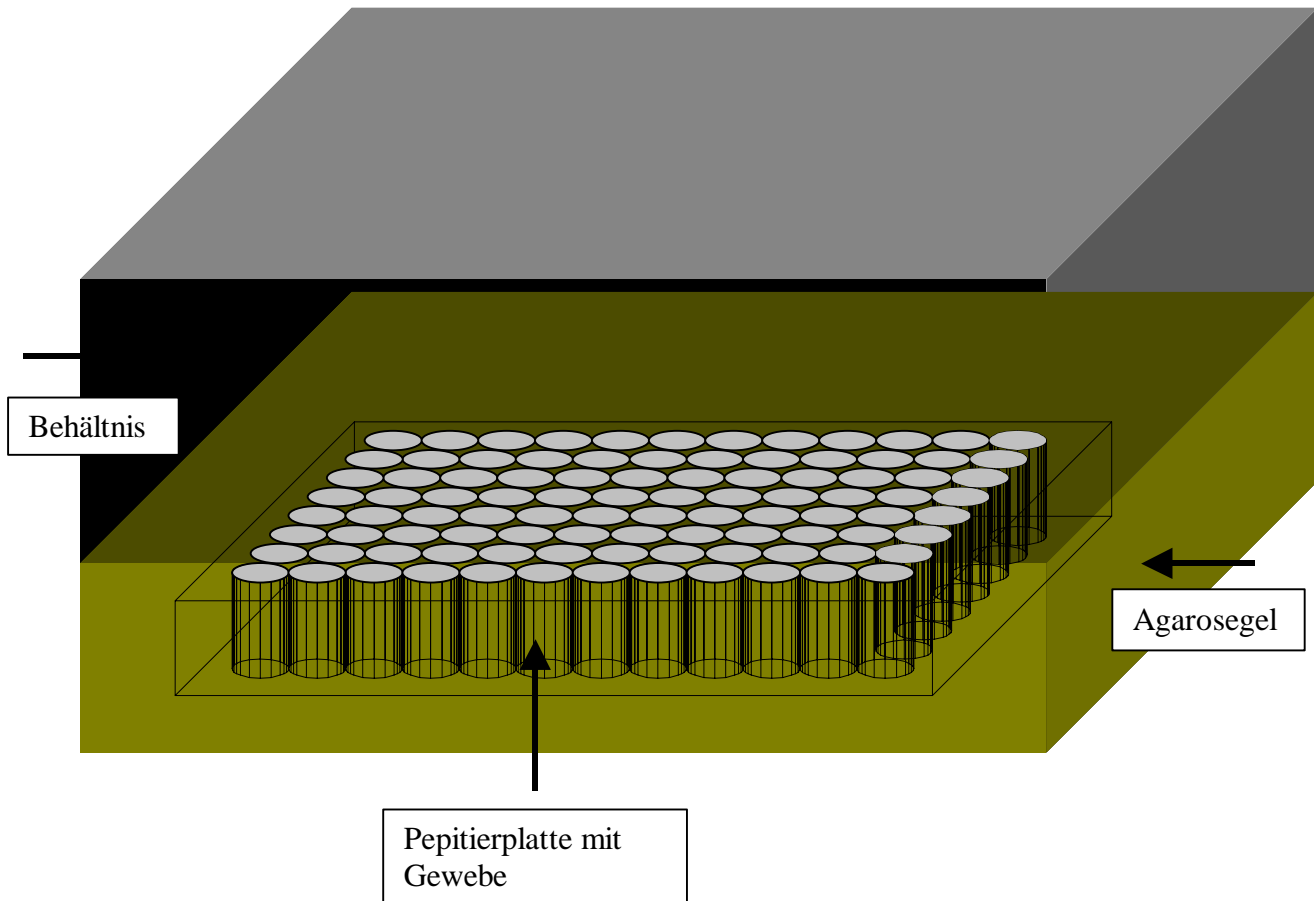
Nach Beendigung der 24h-Aufnahmen wurden die Tieren für die ex-vivo Messungen geopfert. Durch eine Laparotomie wurden Leber, Milz, Knochen und Lymphknoten entnommen. Zum Vergleich der ex-vivo Werte mit und ohne KM-Applikation, wurde zwei Tieren ohne KM-Gabe ebenfalls die entsprechenden Organe entfernt. Die Organe wurden zunächst in Gefrierschalen mit 0,9% NaCl-Lösung eingebettet und in einem Gefrierschrank aufbewahrt. Um eine gleichmäßige Aufteilung und Gewebemenge bei den Messungen zu gewährleisten, wurden Petritierplatten (12 x 8 cm) mit einer Anzahl von 64 Vertiefungen verwendet. Die Aufteilung der Gewebe wurde nach Partikelgröße und Dosisstufe in aufsteigender Reihenfolge vorgenommen. Anschließend erfolgte die Einbettung der Platten in Agarosegel.

#### Plattenaufteilung:



<u>Magnevist +</u>	<u>SHU 555 A</u>	<u>SHU 555 A</u>	<u>SHU 555 A</u>
<u>Normal (ohne KM)</u>	<u>10µmol Fe/kg KG</u>	<u>20µmol Fe/kg KG</u>	<u>40µmol Fe/kg KG</u>
A3: Magnevist	A5: R10-22nm	A7: R20-22nm	A9: R40-22nm
C3: Magnevist	C5: R10-33nm	C7: R20-33nm	C9: R40-33nm
E3: Normal	E5: R10-46nm	E7: R20-46nm	E9: R40-46nm
G3: Normal	G5: R10-65nm	G7: R20-65nm	G9: R40-65nm

**Phantom:**





### **3.3.2 MR-Sequenzen ex-vivo**

Die ex-vivo Messungen erfolgten unter Verwendung einer Extremitäten-Spule. Die Schichtdicke betrug 3mm bei einem Field of View (FOV) von 300 x 300 mm und einer Matrix von 256 x 256 Pixel. Diese Parameter galten für alle ex-vivo Aufnahmen und wurden konstant gehalten.

Für die Untersuchungen wurden SE- (Spin-Echo) und FLASH-Sequenzen (Fast-Low-Angle-Shot) mit folgenden Parametern (TR [ms] / TE [ms]) verwendet:

1. T1w SE-Sequenz (500/14) , coronare Schnittführung, Flipwinkel 90°
2. T2w SE-Sequenz, (3000/50), coronare Schnittführung, Flipwinkel 180°
3. T1w FLASH-Sequenz, (100/5), Flipwinkel 90°
4. T1w FLASH-Sequenz, (100/10), Flipwinkel 90°
5. T2w FLASH-Sequenz, (100/5), Flipwinkel 20°
6. T2w FLASH-Sequenz, (100/10), Flipwinkel 20°

### **3.4 Massenspektrometrie**

In einem Massenspektrometer wird aus einer Substanzprobe ein Strahl gasförmiger Ionen erzeugt und diese nach Masse und Ladung getrennt. Die Trennung ergibt schließlich ein Massenspektrum. Aus diesem wird abgelesen, welche Ionen in welchen relativen Mengen gebildet worden sind. Massenspektren erlauben bei Einzelsubstanzen Rückschlüsse auf deren Struktur, bei Gemischen überdies auf deren qualitative und quantitative Zusammensetzung.

In dieser Versuchsreihe wurden sämtliche Lymphknoten nach Dosierung und Partikelgröße getrennt und Dr. Ebert (Schering Berlin) zur massenspektrometrischen Untersuchung zugesandt. Mit Hilfe der Massenspektrometrie konnte die von den LK aufgenommene relative Eisenmenge bzw. Kontrastmittelmenge bestimmt werden [8].

## 3.5 *Auswertung*

### 3.5.1 *Bildanalyse – in-vivo*

Zur Ermittlung der Signalintensität (SI) der Gewebe wurden 3 aufeinander folgende Schichten mit dem jeweils zu messenden Organ gewählt.

Die Messung der Signalintensität der Organe erfolgte vor ( $SI_{\text{Nativ}}$ ) und nach KM-Gabe ( $SI_{\text{KM}}$ ). Das relative Signal-Enhancement (ENH) wurde mit folgender Formel berechnet:

$$\text{ENH} = \left( \frac{SI_{\text{KM}} - SI_{\text{Nativ}}}{SI_{\text{Nativ}}} \right) \times 100$$

Ebenso wurde der direkte Unterschied im Signalverlust ( $\Delta SI$ ) zwischen den Aufnahmen ohne Eisenoxidgabe ( $SI_{\text{Nativ}}$ ) und nach KM-Gabe ( $SI_{\text{KM}}$ ) berechnet.

Berechnung 2 h post KM :  $\Delta SI = SI_{\text{Nativ}} - SI_{2\text{h post KM}}$

Berechnung 24 h post KM :  $\Delta SI = SI_{\text{Nativ}} - SI_{24\text{h post KM}}$

### 3.5.2 *Bildanalyse – ex-vivo*

Zur Ermittlung von Nativwerten dienten zwei Kontrolltiere ohne Kontrastmittelapplikation. Die Nativwerte wurden bei der Berechnung des Signal-Enhancements (ENH) mit  $SI_{\text{Nativ}}$  bezeichnet. Als Grundlage zur Berechnung wurde dieselbe Formel wie bei der in-vivo Auswertung benutzt:

$$\text{ENH} = \left( \frac{SI_{\text{KM}} - SI_{\text{Nativ}}}{SI_{\text{Nativ}}} \right) \times 100$$

Als Grundlage zur Berechnung des direkten Signalverlustes ( $\Delta SI$ ) diene dieselbe Formel wie bei in-vivo-Aufnahmen.

Berechnung direkter SI-Verlust ex-vivo:  $\Delta SI = SI_{\text{pre}} - SI_{\text{post}}$

### 3.6. *Statistik*

Als Signifikanznorm wurde der T-Test für gepaarte Stichproben verwendet mit einer Signifikanz  $p < 0,05$ . (Statistische Beratung durch das Institut für Biomathematik WWU Münster)

## **4. Ergebnisse**

### **4.2 Leber**

#### **4.2.1 In-vivo**

Das Lebergewebe zeigte durch SHU 555 A einen signifikanten Signalabfall sowohl 2, als auch 24 Stunden nach Kontrastmittelapplikation in jeder Dosisstufe und Partikelgröße. Der Signalverlust war in T1- und T2-Wichtungen abgrenzbar. Für alle Gruppen stellte sich eine klare Dosisabhängigkeit heraus. Unabhängig jedoch von Partikelgröße, Dosierung und gewählter Sequenz wurde nach 24h ein geringerer Signalverlust im Vergleich zur 2h-Aufnahme ermittelt. Aus einer Erhöhung der Partikelgröße innerhalb der gleichen Dosisstufe resultierte ein stärkerer Signalabfall. Dementsprechend führte eine Dosissteigerung bei gleicher Partikelgröße zu einem erhöhten Signalverlust (*Grafik: 1-4, Bild: 5-8*). Der maximale Signalverlust betrug  $-82,0 \pm 2,5\%$  2h nach KM-Applikation in den T2-gewichteten TSE Aufnahmen. (*Grafik: 1, Bild: 8*). Nach 24h ergab sich noch eine Signalreduktion von  $-75,7 \pm 2,0\%$  (*Grafik: 2*). In T1-gewichteten Aufnahmen wurde ein maximaler Signalverlust mit  $-72,9 \pm 1,5\%$  in 2h- und  $-62,9 \pm 1,9\%$  in 24h-Bildern für SE-Sequenzen ermittelt (*Grafik: 3+4, Bild: 7*).

Auch mit USPIO wurde 2h und 24h nach KM-Applikation ein diagnostisch verwertbarer Signalverlust erzielt (*Grafik: 5 + 6, Bild 1-6*). In dieser Gruppe zeigte sich der größte SI-Verlust in T1- und T2-gewichteten SE-Sequenzen ebenfalls bei der  $40\mu\text{mol}$ -Dosierung. In der T2-gewichteten Sequenz betrug der SI-Abfall nach 2h  $-71,0 \pm 1,5\%$  und nach 24h  $-60,9 \pm 2,0\%$  (*Grafik: 1+2*).

Eine Dosissteigerung führte unabhängig von der Partikelgröße wie bei SPIO aufgrund der Dosis-Wirk-Beziehung zu einer vermehrten Signalreduktion. Analog dem Knochengewebe verkleinerte sich die Differenz des Signalverlustes zwischen USPIO und SPIO bei Steigerung der Dosierung von  $10\mu\text{mol}$  auf  $40\mu\text{mol}$  (*Grafik: 2 + 4; Bild: 7 + 8*).

Somit kann auch mit der Anwendung von USPIO in höheren Dosierungen, sowohl nach 2h als auch nach 24h, eine vergleichbare diagnostische Aussage wie bei der Verwendung von SPIO getroffen werden.

#### **4.2.2 Ex-vivo**

Ex-vivo zeigte Lebergewebe ebenfalls eine Dosiabhängigkeit innerhalb der einzelnen Gruppen. Die in-vivo gemessenen Werte konnten bis auf geringe Abweichungen verifiziert werden.

So wurde der höchste SI-Verlust in der T1-gewichteten FLASH-Sequenz bei 40µmol 65nm mit  $-88,5\pm 0,5\%$  erzielt und lag, im Vergleich zur entsprechenden T2-gewichteten FLASH Aufnahme mit  $-67,5\pm 1,4\%$ , signifikant höher.

Eine Erhöhung der TE von 5msec auf 10msec ergab innerhalb der gleichen Gruppe für T1- und T2-gewichtete FLASH-Sequenzen eine Steigerung der SI-Reduktion (zwischen  $-3\%$  und  $-29\%$ ).

Analog wurde in SE-Sequenzen mit der größten Dosierung und Partikelgröße (40µmol 65nm) der höchste Signalverlust in der T2-gewichteten Aufnahme nachgewiesen ( $-67,2\pm 1,5\%$ ) (*Grafik: 9; Bild: 9*). Dieser fiel, im Vergleich zu T1-gewichteten SE Bildern,  $-16,7\%$  höher aus ( $-50,5\pm 1,3\%$ , 40µmol 65nm, T1w SE) (*Grafik: 10; Bild 9*).

Die Verwendung von USPIO zeigte im Vergleich zu anderen Geweben keine signifikante Signalreduktion. In der T2-gewichteten FLASH-Sequenz wurde ein maximaler Signalverlust von  $-1,6\pm 2,0\%$  bei 40µmol verzeichnet. Abweichend zu anderen Geweben wurde bei niedrigeren Dosierungen (10µmol + 20µmol), sowohl in T1w- als auch T2w-Aufnahmen, zum Teil eine Signalanhebung verzeichnet (*Grafik: 5 + 6, Bild 9 + 10*).

Ex-vivo konnte eine diagnostisch verwertbare Signalreduktion erst ab einer Partikelgröße von 33nm bei höchster Dosierung (40µmol) erzielt werden. Dies lässt vermuten, dass für USPIO eine zu SPIO vergleichbare diagnostische Verwertbarkeit nur mit einer entsprechenden Dosissteigerung zu erzielen ist. Analog der ex-vivo Daten des Knochengewebes lassen diese Werte vermuten, dass eine

Dosissteigerung bei USPIO die zeitliche Begrenzung zur diagnostischen Auswertung vergrößern könnte.

### 4.3 Milz

Das Signalverhalten der Milz verhielt sich unter Verwendung von SHU 555 A ähnlich dem des Lebergewebes in den Aufnahmen des ex-vivo Scans. Es konnte ebenfalls eine Partikelgrößen- bzw. Dosisabhängigkeit sowohl in T2- als auch T1-gewichteten Bildern festgestellt werden. Wie auch bei der Leber verursachten die größeren Eisenoxidpartikel (SPIO) einen stärkeren Signalverlust im Vergleich zu den ultrakleinen Partikeln (USPIO).

Der maximale Signalverlust wurde mit  $-92,3 \pm 0,7\%$  in der T1-gewichteten FLASH-Sequenzen (TE 10 msec.) bei  $40 \mu\text{mol}$ - $65 \text{nm}$  verzeichnet. T2-gewichtete FLASH-Aufnahmen ergaben bei gleicher TE mit  $-86,1 \pm 1,0\%$  einen nur wenig geringeren SI-Abfall (*Grafik: 15+16*). Analog zur Leber wurde bei der Milz mit Erhöhung der TE in beiden Wichtungen ein signifikant steigendes Enhancement ermittelt (*Grafik: 15 – 18; Bild: 12*).

Hingegen ergab sich für SE-Sequenzen mit  $-72,7 \pm 2,8\%$  (T2w) und  $-66,5 \pm 0,4\%$  (T1w) ein signifikant geringerer Signalverlust im Vergleich zu den FLASH-Sequenzen (*Grafik 11 + 12, Bild 11*).

In der Gruppe der ultrakleinen Eisenoxidpartikel (21 nm) wurde ein maximaler SI-Verlust von  $-76,5 \pm 1,0\%$  (T1w FLASH, TE 10 msec) ermittelt (*Grafik: 18*). So wurde auch mit USPIO ein signifikanter Signalabfall erzielt. Jedoch wurde, vergleichbar der Leber, in der niedrigsten Dosierung ( $10 \mu\text{mol}$ ) in T1- und T2-gewichteten SE-Sequenzen ein Signalanstieg erzielt (*Grafik: 13*). Eine Dosiserhöhung ( $20 \mu\text{mol}$  /  $40 \mu\text{mol}$ ) in der 21nm-Gruppe ergab in beiden Wichtungen eine signifikante SI-Reduktion mit maximal  $-52,6 \pm 2,7\%$  (T2w SE) (*Grafik: 13; Bild: 11*). Parallel zu Knochen und Lebergewebe verringerte sich mit Erhöhung der Dosierung die Differenz im Signalverlust zwischen SPIO und USPIO. Bei der  $10 \mu\text{mol}$ -Dosierung ergab sich noch ein Unterschied von bis zu  $-62,9\%$ , mit Erhöhung auf  $40 \mu\text{mol}$  betrug dieser nur noch  $-21,1\%$ .

Diese Daten erhärten die für Knochen und Leber bereits aufgestellte Vermutung, dass mit einer Dosissteigerung von USPIO eine vergleichbare diagnostische Wertigkeit erzielt werden kann wie es für SPIO bekannt ist.

## **4.1 Knochen**

### **4.1.1 In-vivo**

Unter Verwendung von SHU 555 A und der Derivate ergab sich im Knochenmark eine deutlich meßbare Signalreduktion. Es zeigte sich eine deutliche Dosis-Wirk-Beziehung. Durch Erhöhung sowohl der Partikelgröße als auch der Dosierung konnte ein ansteigendes Enhancement erzielt werden. Mit der Verwendung von Resovist<sup>®</sup> (65nm) wurde, analog der anderen Gewebe, der maximale SI-Verlust mit  $-79,4 \pm 1,0\%$  in der höchsten Dosierung (40  $\mu\text{mol}$ ) mit einer T2-gewichteten TSE-Sequenz 2h nach Applikation ermittelt (*Grafik: 19, Bild 19*). In derselben Gruppe (40 $\mu\text{mol}$ -65nm) ergab sich für T1-gewichtete SE Sequenzen eine Signalreduktion von  $-65,1 \pm 3,1\%$  (*Grafik: 21*). Auch für die Gruppe der USPIO konnte dosisabhängig eine deutliche und diagnostisch verwertbare Signalreduktion erzielt werden (*Grafik: 23 +24 ; Bild: 13 + 14*). Jedoch wurden Unterschiede in der Höhe der Signalreduktion zwischen SPIO und USPIO deutlich. Der Signalabfall in der Gruppe der ultrakleinen Eisenoxidpartikel (22nm) war mit  $-66,6 \pm 1,7\%$  (40 $\mu\text{mol}$ ) in der T2w TSE Sequenz deutlich geringer im Vergleich zur Gruppe der SPIO (65nm) (*Grafik: 19*). Die verminderte Signalreduktion der USPIO ist auf ihren kleineren  $R2 / R1$  – Quotienten zurückzuführen. Je kleiner die Relaxivität  $R2$  ist, desto geringer ist das Enhancement auf T2-gewichteten Aufnahmen (Tabelle 2). Mit Steigerung der Dosierung jedoch verkleinerte sich die Differenz des Signalverlustes zwischen USPIO und SPIO. So ergab sich bei einer Dosierung von 10 $\mu\text{mol}$  noch eine Signaldifferenz von  $-22,1\%$  zwischen SPIO und USPIO, bei 40 $\mu\text{mol}$  jedoch nur noch eine Differenz von  $-12,8\%$ . Diese Daten führen zu der Vermutung, dass mit

höheren Dosierungen von USPIO eine vergleichbare diagnostische Aussage wie unter Verwendung von SPIO getroffen werden kann. Auch 24h nach KM-Applikation wurde für SPIO und USPIO eine sicht- und meßbare Signalreduktion erzielt. Der maximale Signalverlust wurde, analog zur 2h-Aufnahme, bei 40µmol 65nm in der T2w TSE Sequenz ( $-75,2\pm 1,4\%$ ) deutlich (*Grafik 20 + 22, Bild 20*). Für USPIO lag dieser bei  $-61,3\pm 1,4\%$  (*Grafik: 20 + 22; Bild 14*). Jedoch zeigten sich signifikante Unterschiede für die jeweilige Dosisstufe im Vergleich der Signalverluste zwischen 2h und 24h. Je niedriger die gewählte Dosierung, desto größer war der Unterschied im Signalverlust zwischen 2h und 24h. So ergab sich bei einer Dosierung von 40µmol, unabhängig der Partikelgröße und der Wichtung, ein maximaler Unterschied von  $-6,6\%$ . Hingegen zeigte die niedrigere Dosierung (10µmol) Unterschiede im Signalabfall bis zu  $-14,6\%$  (10µmol 21nm, T2w TSE) im Vergleich 2h zu 24h (*Grafik: 23 + 24*). Diese Daten lassen vermuten, dass mit höheren Dosierung von SPIO und USPIO eine größeres zeitliches Fenster zur diagnostischen Auswertung zur Verfügung stehen könnte.

#### **4.1.2 Ex-vivo**

Die in-vivo gemessenen Werte des Knochenmarks konnten tendenziell ex-vivo bestätigt werden. Es wurde ebenso eine Dosis- und Konzentrationsabhängigkeit deutlich. Der Vergleich der ex-vivo zu den in-vivo Aufnahmen ergab, unabhängig von Dosierung und Partikelgröße, jedoch eine geringere Signalreduzierung.

Die höchste Signalreduktion wurde mit  $-76,6\pm 1,6\%$  in der T2-gewichteten FLASH Sequenz bei einer TE von 10msec gemessen. In der T1-gewichteten FLASH Sequenz fiel der größte Signalabfall bei gleicher TE mit  $-74,2\pm 0,6\%$  nur gering niedriger aus. Diese wurden, wie auch in-vivo, unter der Applikation von 40µmol Fe/kg KG und 65nm Partikelgröße erzielt (*Grafik: 25 +26; Bild: 25 + 26*).

Auch mit der Verwendung ultrakleiner Eisenoxidpartikel (21nm) wurde in T2w- als auch in T1w-Sequenzen eine signifikante Signalbeeinflussung



deutlich. So zeigte sich noch ein Signalverlust von  $-49,2 \pm 4,5\%$  bei einer Dosis von  $40 \mu\text{mol Fe/kg KG}$  in der T1 gewichteten FLASH Sequenz (*Grafik: 23 + 24; Bild: 15 - 18*).

Analog der in-vivo Daten verkleinert sich auch ex-vivo mit Steigerung der Dosierung die Differenz des Signalverlustes zwischen USPIO und SPIO. So ergibt sich bei einer Dosierung von  $10 \mu\text{mol}$  noch eine Unterschied im Signal-Enhancement von  $-38,4\%$  (T1w FLASH) zwischen USPIO und SPIO. Mit Verwendung der höchsten Dosierung ( $40 \mu\text{mol}$ ) zeigt sich nur noch eine Differenz von  $-24,9\%$ .

Diese Werte bestätigen die in-vivo erhobenen Daten und führen ebenso zu der Vermutung, dass mit höheren Dosierungen von USPIO eine vergleichbare diagnostische Aussage wie unter Verwendung von SPIO getroffen werden kann.

#### **4.4 Lymphknoten**

Ultraleine Eisenoxidpartikel ( $< 30 \text{ nm}$ ) werden von der Leber weniger rasch aufgenommen als größere Partikel. Dies führt zu einer höheren Verfügbarkeit und Aufnahme der USPIO's für Lymphknoten, Knochenmark und Milz. Desweiteren verlängert sich die Plasmahalbwertszeit, weshalb USPIO auch als Bloodpool-Kontrastmittel bezeichnet werden. Elektronenmikroskopie demonstrierte die Passage von USPIO's durch die Kapillarwände der Blutgefäße mittels vesikulären Transports wie auch über interendotheliale Verbindungen [60].

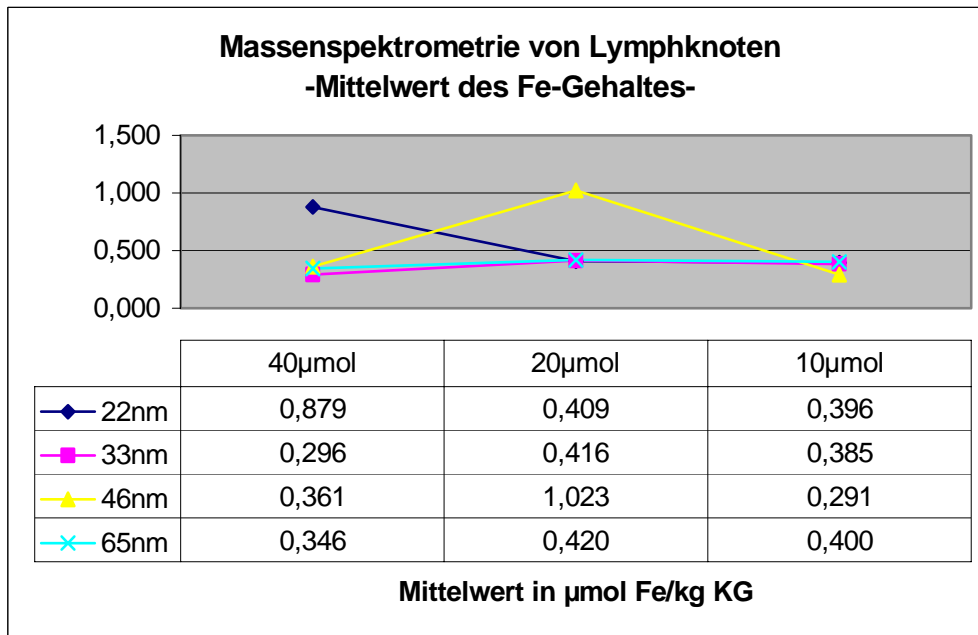
Aufgrund der geringen Größe von Lymphknoten ( $\varnothing 0,5 \text{ cm}$ ) war eine zuverlässige Messung der KM-Aufnahme nur ex-vivo möglich.

Weder in T2- noch T1-gewichteten Aufnahmen wurde eine signifikante Reduktion des Signals gemessen. Eine Dosis- oder Konzentrationsabhängigkeit konnte nicht festgestellt werden. Aus diesem Grund wurde zusätzlich der Eisengehalt der Lymphknoten durch Massenspektroskopie untersucht. Dabei konnte nur in einzelnen Lymphknoten ein gering vermehrter Eisengehalt nachgewiesen werden. Es wurde aber keine auffällige Verteilung festgestellt, die auf eine

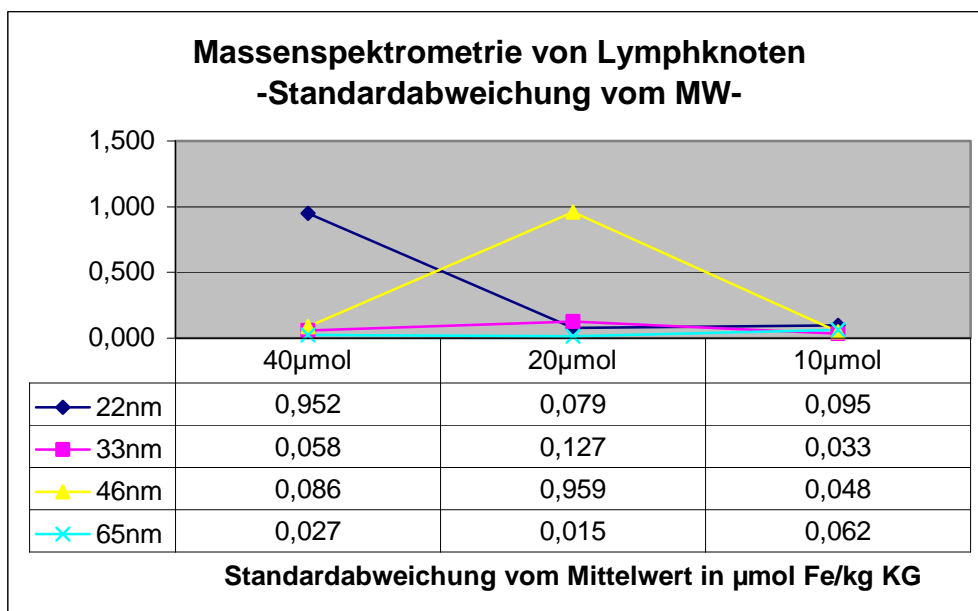
Konzentrationsabhängigkeit hätte schließen lassen können (Tab. 4; Dr. Ebert, Berlin).

**Tab. 4: Lymphknoten: Ergebnisse der Massenspektroskopie Dr. Ebert (Berlin), Gewichtskonzentration  $\mu\text{mol Fe/ kg KG}$**

Dosis: $\mu\text{mol Fe/ kg KG}$	40 $\mu\text{mol}$				20 $\mu\text{mol}$				10 $\mu\text{mol}$		
Partikelgröße (nm)	trach	mes	pop		trach	mes	pop		trach	mes	pop
22nm	0,264	1,975	0,398	<b>Normal (ohne KM) 0,310</b>	0,396	0,338	0,494		0,363	0,322	0,504
	MW $\pm$ SD 0,879 $\pm$ 0,952				MW $\pm$ SD 0,409 $\pm$ 0,079				MW $\pm$ SD 0,396 $\pm$ 0,095		
33nm	0,342	0,231	0,314		0,562	0,335	0,350		0,395	0,412	0,349
	MW $\pm$ SD 0,295 $\pm$ 0,058				MW $\pm$ SD 0,415 $\pm$ 0,127				MW $\pm$ SD 0,385 $\pm$ 0,033		
46nm	0,459	0,328	0,296	<b>Magnet 0,384</b>	2,130	0,453	0,485		0,289	0,245	0,340
	MW $\pm$ SD 0,361 $\pm$ 0,086				MW $\pm$ SD 1,023 $\pm$ 0,959				MW $\pm$ SD 0,291 $\pm$ 0,048		
65nm	0,375	0,340	0,323		0,430	0,403	0,426		0,356	0,374	0,471
	MW $\pm$ SD 0,346 $\pm$ 0,027				MW $\pm$ SD 0,42 $\pm$ 0,015				MW $\pm$ SD 0,4 $\pm$ 0,062		



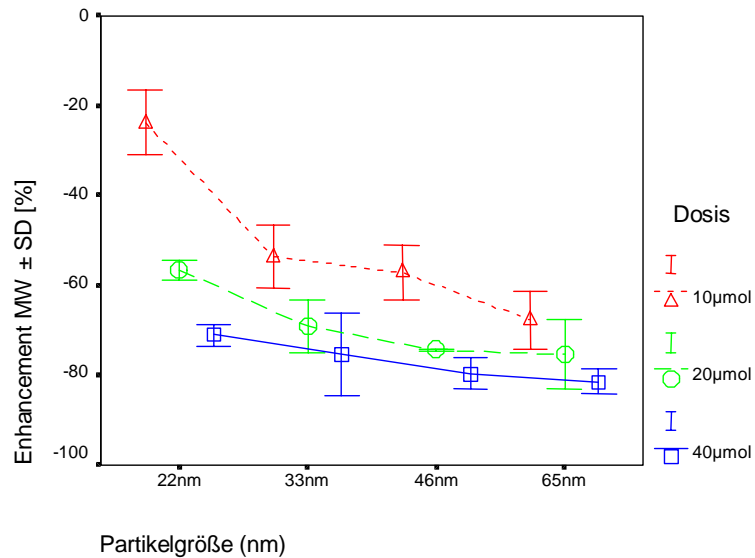
Grafik A: Mittelwert des Fe-Gehaltes ( $\mu\text{mol/kg KG}$ ) von Lymphknoten in der Massenspektrometrie



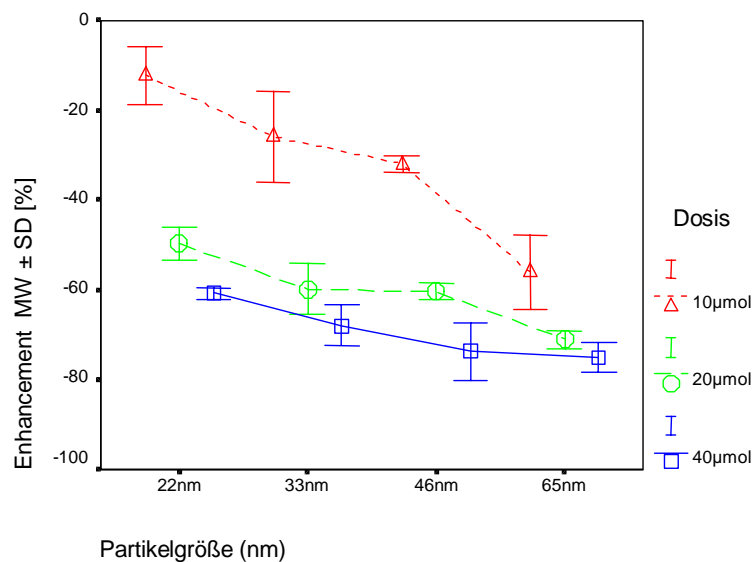
Grafik B: Standardabweichung des Mittelwertes ( $\mu\text{mol/kg KG}$ ) von Lymphknoten in der Massenspektrometrie

## 4.5 Grafiken

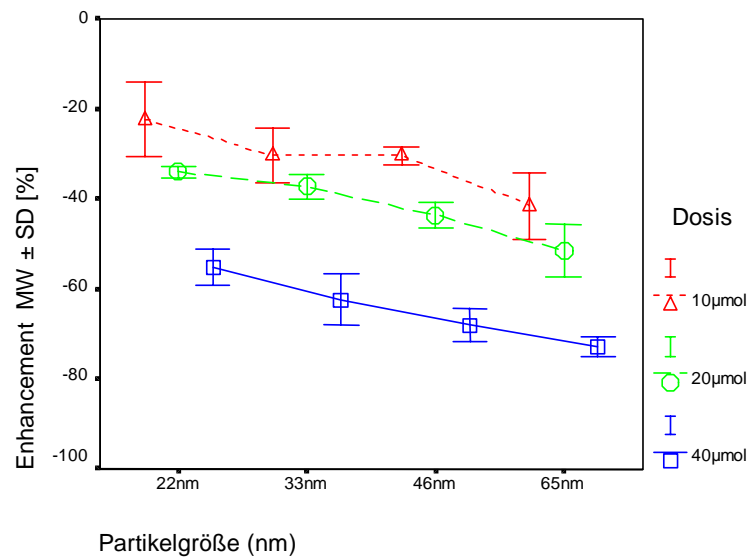
### 4.5.1 Leber



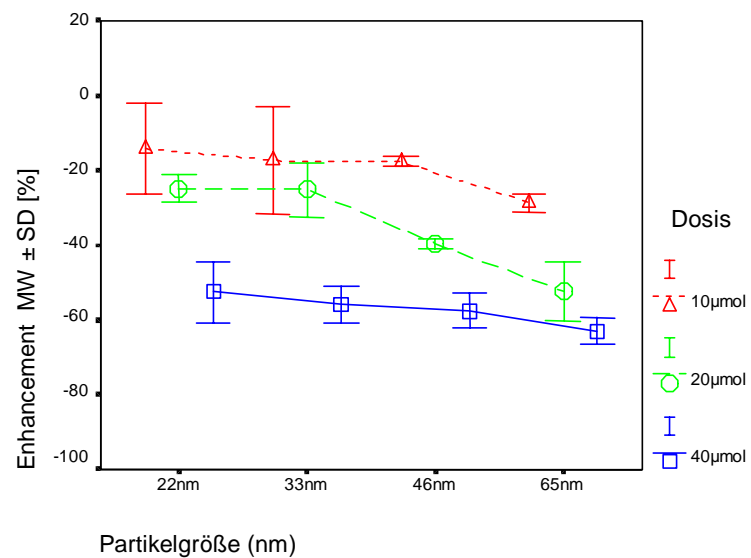
Grafik 1: Vergleich des Signalverhaltens von Lebergewebe 2h nach SHU 555 A Applikation aller Dosisstufen und Partikelgrößen in T2-gewichteter TSE-Sequenz (Enhancement MW  $\pm$  SD [%]). Steigerung der Dosierung bzw. Partikelgröße führt zu einem erhöhtem SI-Verlust (Dosis-Wirk-Beziehung).



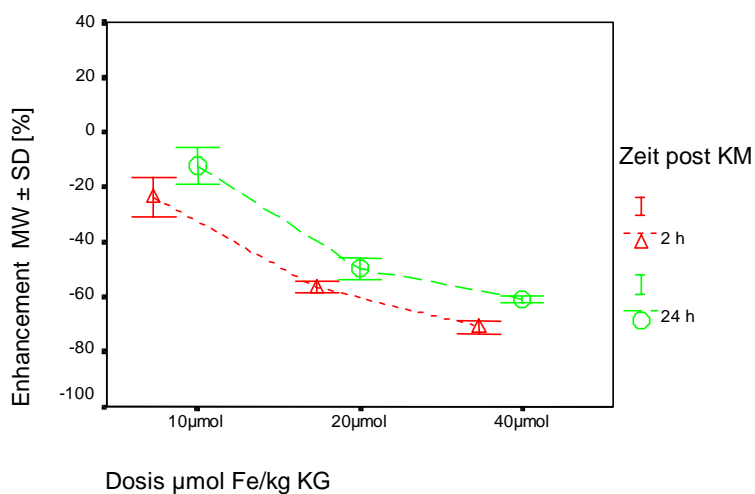
Grafik 2: Vergleich des Signalverhaltens von Lebergewebe 24h nach SHU 555 A Applikation aller Dosisstufen und Partikelgrößen in T2-gewichteter TSE-Sequenz (Enhancement MW  $\pm$  SD[%]). Auch 24h nach KM-Gabe ist konzentrationsabhängig eine deutliche SI-Reduktion erkennbar.



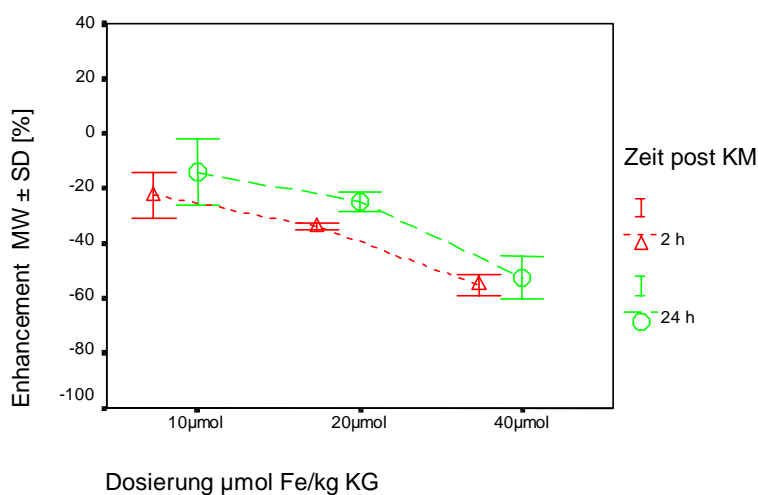
Grafik 3: Vergleich des Signalverhaltens von Lebergewebe 2h nach SHU 555 A Applikation aller Dosisstufen und Partikelgrößen in T1-gewichteter SE- Sequenz (Enhancement MW  $\pm$  SD [%]). Auch in T1w Bildern wird eine konzentrationsabhängige SI-Reduktion deutlich.



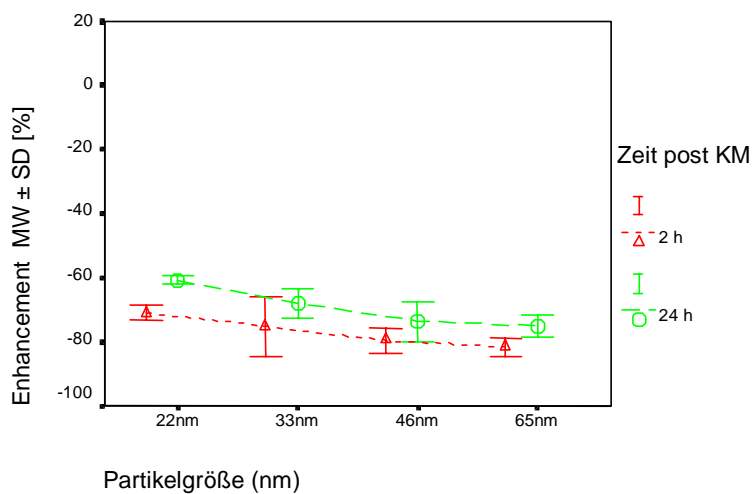
Grafik 4: Vergleich des Signalverhaltens von Lebergewebe 24h nach SHU 555 A Applikation aller Dosisstufen und Partikelgrößen in T1-gewichteter SE-Sequenz (Enhancement MW  $\pm$  SD [%]). Auch 24 h nach KM-Gabe ist in allen Dosisstufen und Partikelgrößen noch eine SI-Reduktion zu erkennen.



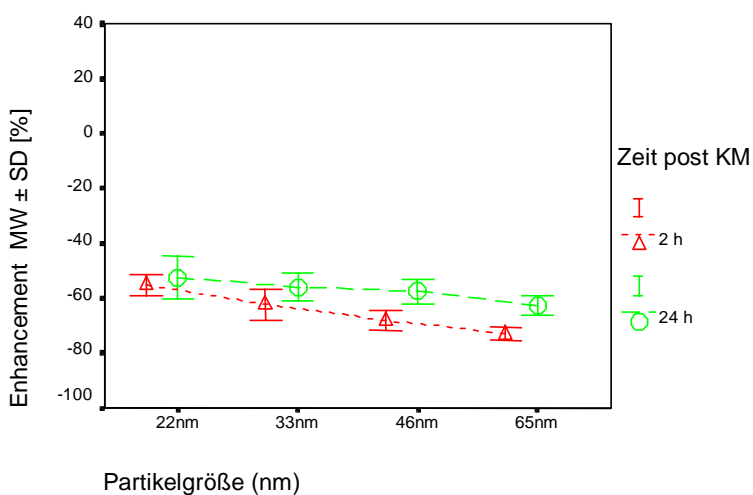
Grafik 5: Vergleich des Signalverhaltens von Lebergewebe 2h und 24h nach SHU 555 A Applikation von USPIO (22nm) aller Dosisstufen in T2-gewichteter TSE- und SE-Sequenz (Enhancement MW ± SD [%]). Mit einer Steigerung der Dosis bzw. Partikelgröße erfolgt eine signifikante SI-Reduktion.



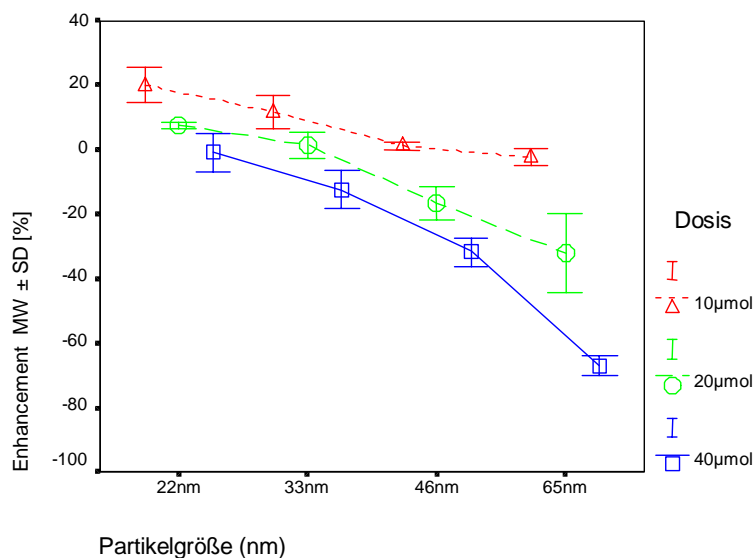
Grafik 6: Vergleich des Signalverhaltens von Lebergewebe 2h und 24h nach SHU 555 A Applikation von USPIO (22nm) aller Dosisstufen in T1-gewichteter SE-Sequenz (Enhancement MW ± SD [%]). Vergleichbare Ergebnisse zu T2w Bildern, jedoch ergibt sich eine geringere SI-Reduktion 2h und 24h nach KM-Gabe.



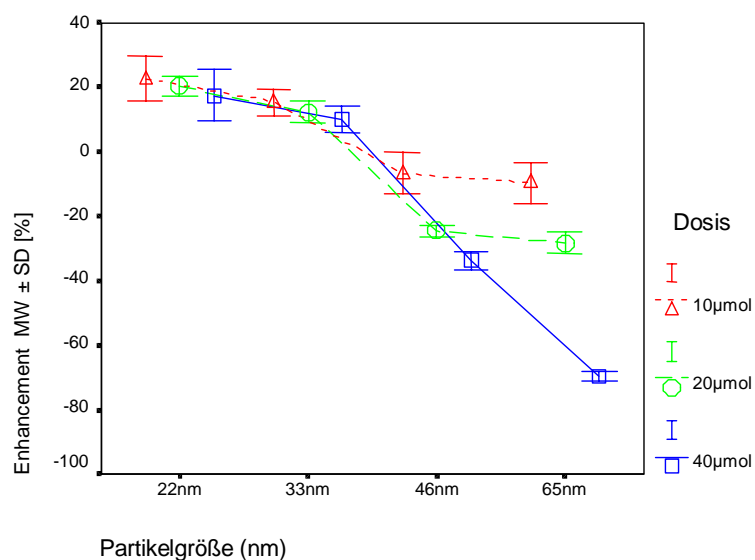
Grafik 7: Vergleich des Signalverhaltens von Lebergewebe 2h und 24h nach SHU 555 A Applikation in höchster Dosierung (40  $\mu\text{mol}$ ) und allen Partikelgrößen in T2-gewichteter TSE- und SE-Sequenz. (Enhancement MW  $\pm$  SD [%]). Eine Steigerung der Dosierung resultiert in einem langsameren SI-Wiederanstieg nach 24h.



Grafik 8: Vergleich des Signalverhaltens von Lebergewebe 2h und 24h nach SHU 555 A Applikation in höchster Dosierung (40  $\mu\text{mol}$ ) und allen Partikelgrößen in T1-gewichteter SE-Sequenz. (Enhancement MW  $\pm$  SD [%]). Eine Steigerung der Dosierung resultiert in einem langsameren SI-Wiederanstieg nach 24h.



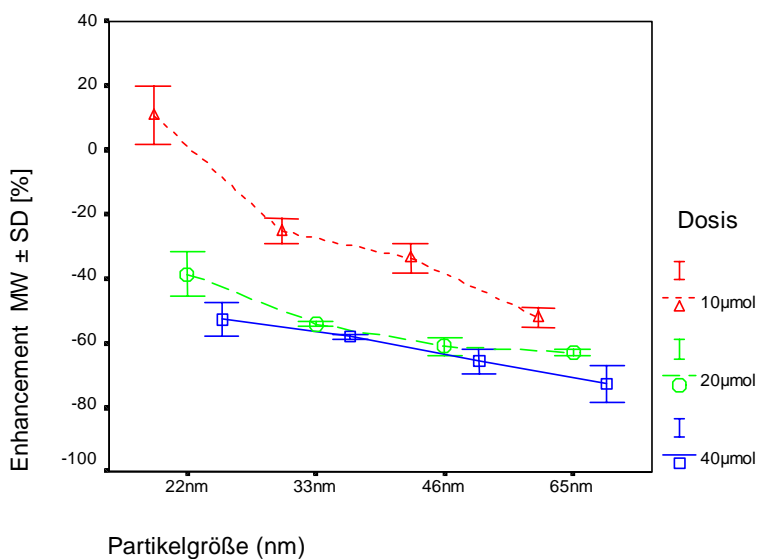
Grafik 9: Vergleich des Signalverhaltens von Lebergewebe ex-vivo nach SHU 555 A Applikation aller Partikelgrößen und Dosierungen in T2-gewichteter SE-Sequenz (Enhancement MW  $\pm$  SD [%]). Aus einer Dosis- bzw. Partikelgrößensteigerung resultiert auch ex-vivo eine größere SI-Reduktion.



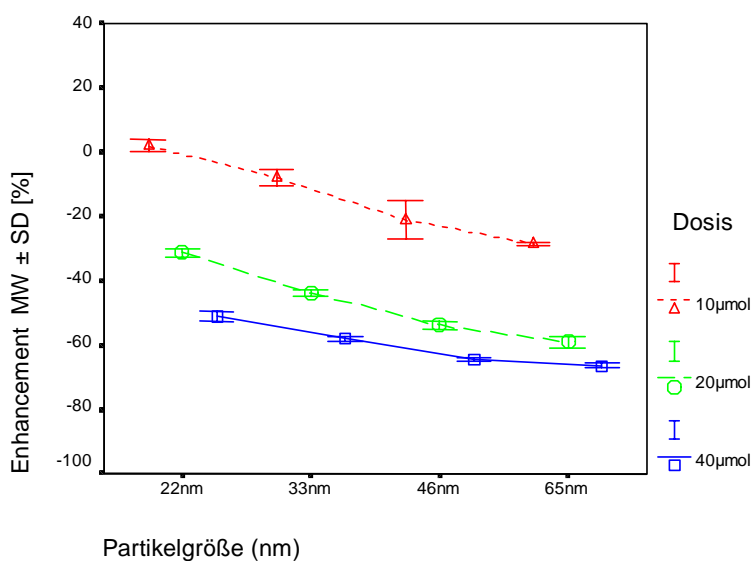
Grafik 10: Vergleich des Signalverhaltens von Lebergewebe ex-vivo nach SHU 555 A Applikation aller Partikelgrößen und Dosierungen in T1-gewichteter SE-Sequenz (Enhancement MW  $\pm$  SD [%]). Auch auf T1w Bildern ergibt sich ex-vivo eine klare Dosis-Wirk-Beziehung.



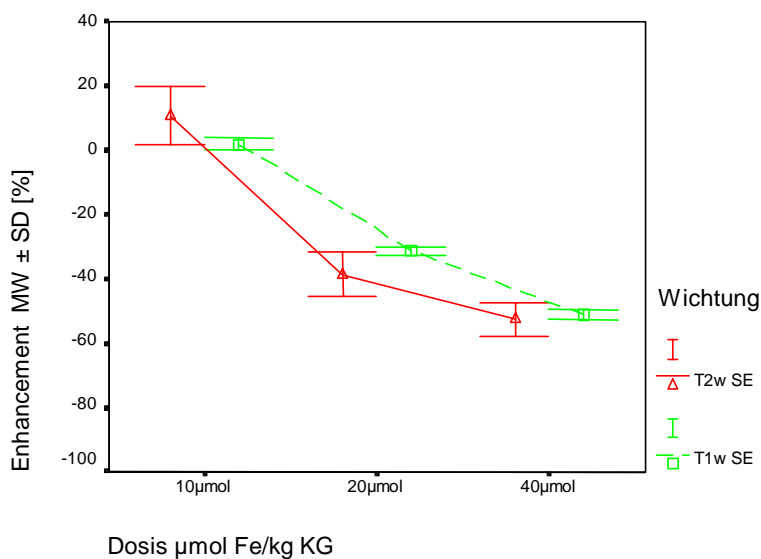
### 4.5.3 Milz



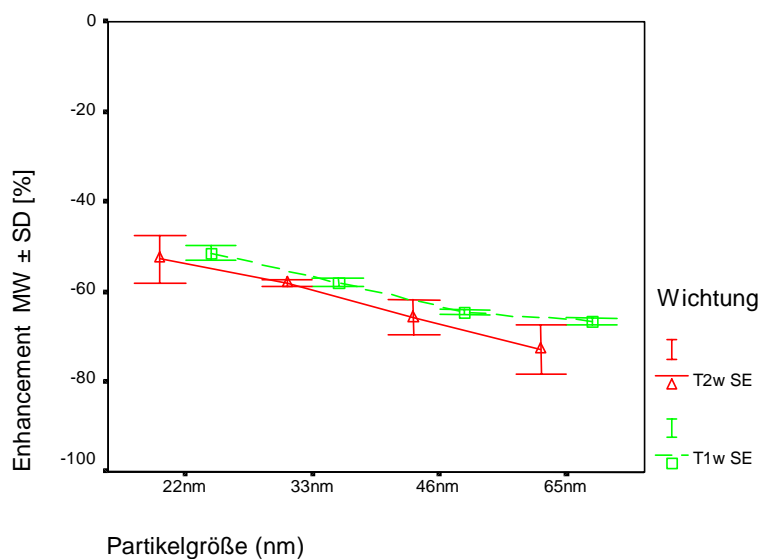
Grafik 11: Signalverhalten (Enhancement MW  $\pm$  SD [%]) von Milzgewebe ex-vivo nach SHU 555 A Applikation aller Partikelgrößen und Dosierungen in T2-gewichteter SE-Sequenz. Vergleichbares Signalverhalten der Milz zu Leber. Mit Steigerung der Dosis bzw. Partikelgröße erfolgt eine weitere Signalreduktion.



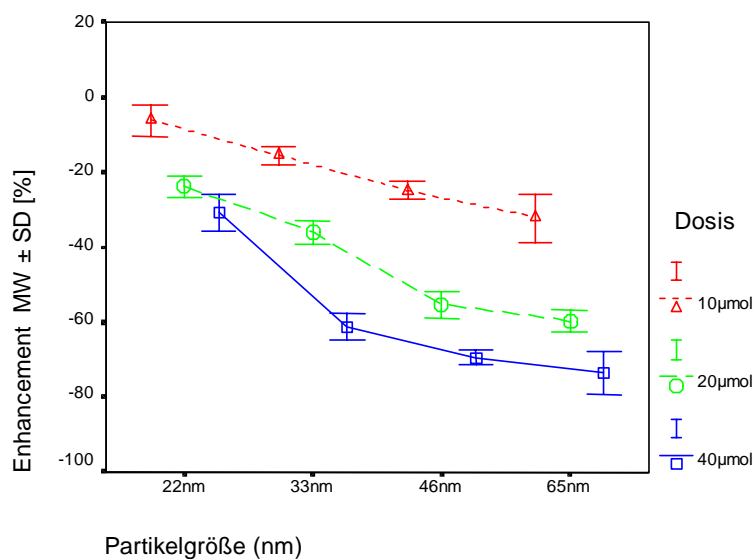
Grafik 12: Signalverhalten (Enhancement MW  $\pm$  SD [%]) von Milzgewebe ex-vivo nach SHU 555 A Applikation aller Partikelgrößen und Dosierungen in T1-gewichteter SE-Sequenz. Auch in T1w Bildern zeigt sich eine klare Dosis-Wirk-Beziehung.



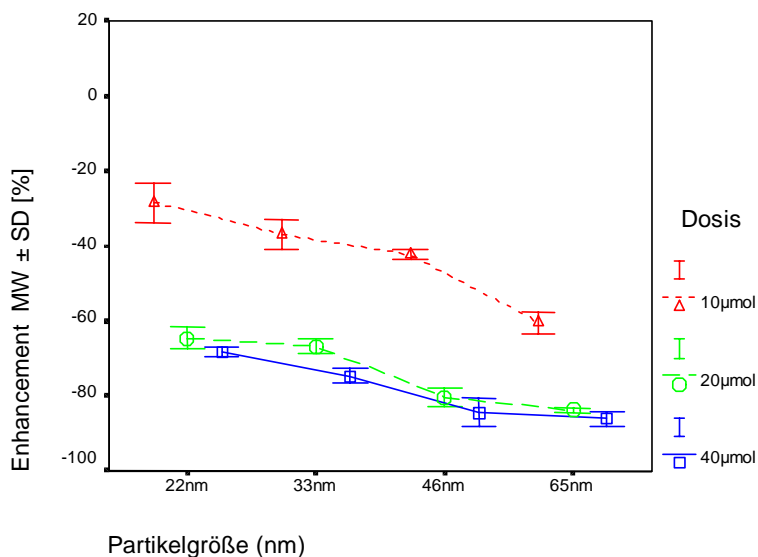
Grafik 13: Signalverhalten (Enhancement MW  $\pm$  SD [%]) von Milzgewebe ex-vivo nach SHU 555 A USPIO (22nm) Applikation aller Dosierungen in T1- und T2-gewichteten SE-Sequenzen. In beiden Wichtung wird mit USPIO ein signifikanter Signalverlust erzielt.



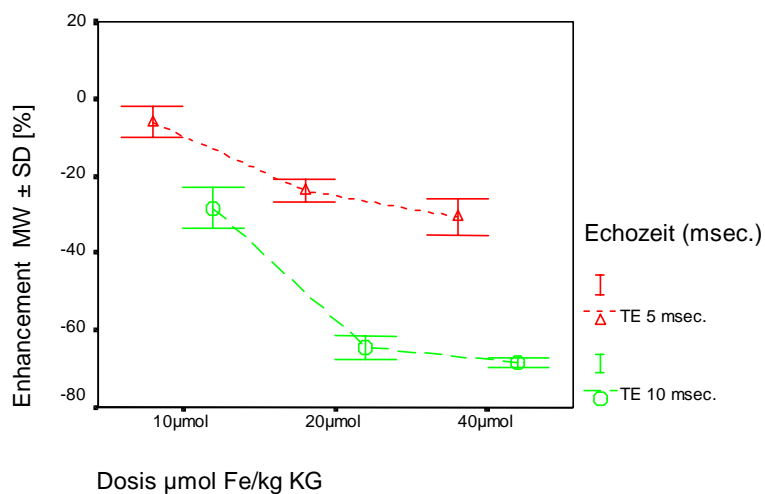
Grafik 14: Signalverhalten (Enhancement MW  $\pm$  SD [%]) von Milzgewebe ex-vivo nach SHU 555 A Applikation mit höchster Dosierung (40  $\mu\text{mol}$ ) und allen Partikelgrößen in T1- und T2-gewichteten SE-Sequenzen. In beiden Wichtungen zeigt sich eine klare Dosis-Wirk-Beziehung.



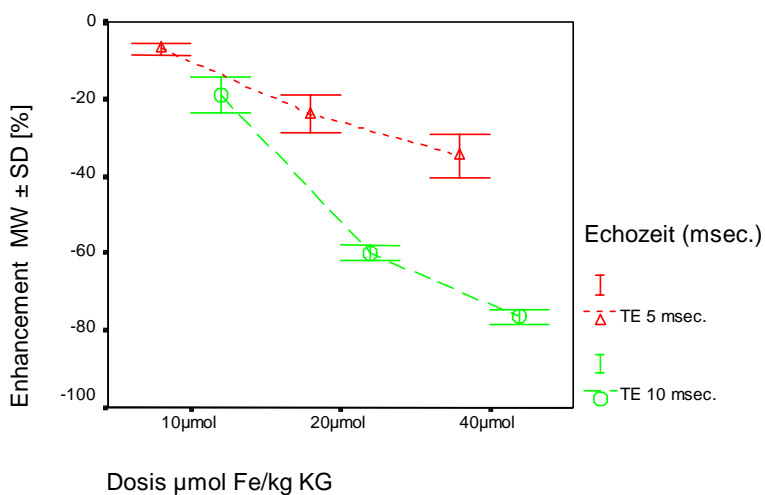
Grafik 15: Signalverhalten (Enhancement MW  $\pm$  SD [%]) von Milzgewebe ex-vivo nach SHU 555 A Applikation aller Partikelgrößen und Dosierungen in T2-gewichteter FLASH-Sequenz mit TE 5 msec. In FLASH-Sequenzen wird der Einfluss der Dosierung bei gleicher Partikelgröße auf das Signalverhalten deutlich.



Grafik 16: Signalverhalten (Enhancement MW  $\pm$  SD [%]) von Milzgewebe ex-vivo nach SHU 555 A Applikation aller Partikelgrößen und Dosierungen in T2-gewichteter FLASH-Sequenz mit TE 10 msec. Eine Verlängerung der TE führt zu einer verstärkten Signalbeeinflussung mit nahezu identischen Werten in höheren Dosierungen (20 µmol + 40 µmol).

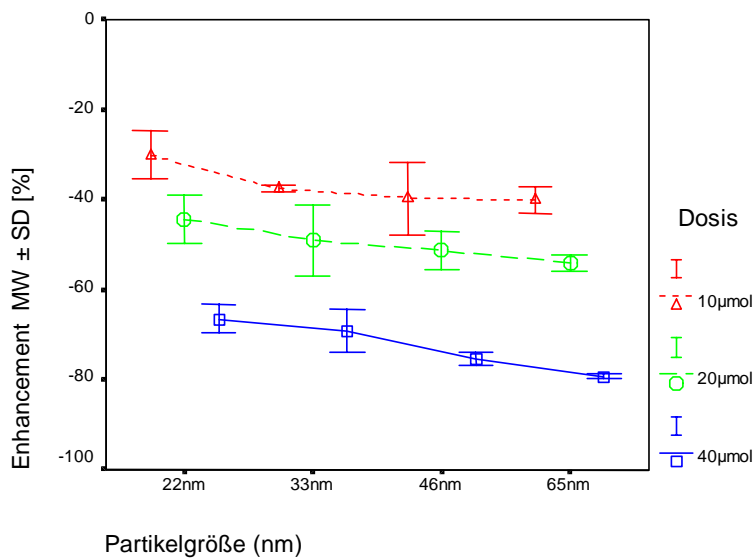


Grafik 17: Signalverhalten (Enhancement MW  $\pm$  SD [%]) von Milzgewebe ex-vivo nach SHU 555 A USPIO (22nm) Applikation aller Dosierungen in T2-gewichteter FLASH-Sequenz mit TE 5 + 10 msec. Durch eine Verlängerung der TE wird eine vermehrte Signalbeeinflussung deutlich.

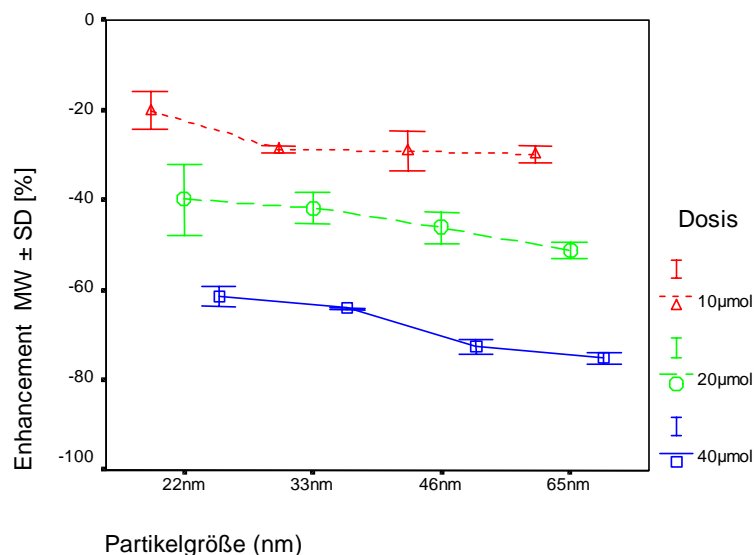


Grafik 18: Signalverhalten (Enhancement MW  $\pm$  SD [%]) von Milzgewebe ex-vivo nach SHU 555 A USPIO (22nm) Applikation aller Dosierungen in T1-gewichteter FLASH-Sequenz mit TE 5 + 10 msec. Auch in T1w Bildern führt eine Verlängerung der TE zu einer vermehrten Signalbeeinflussung.

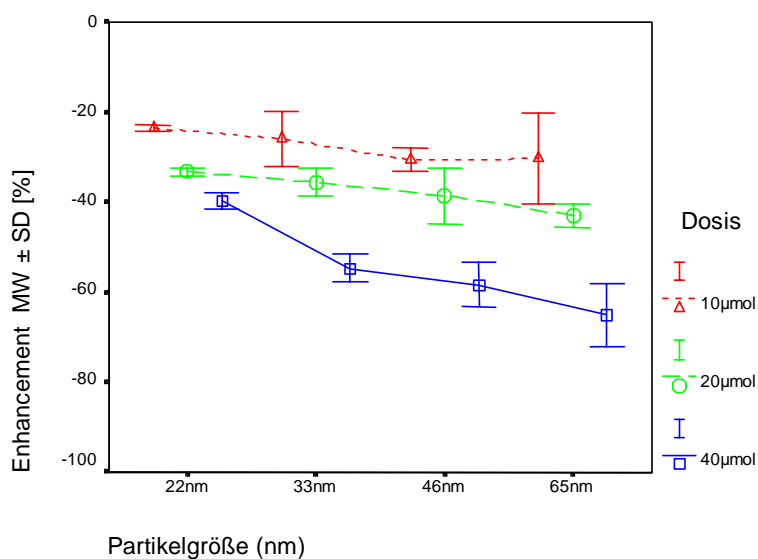
### 4.5.1 Knochen



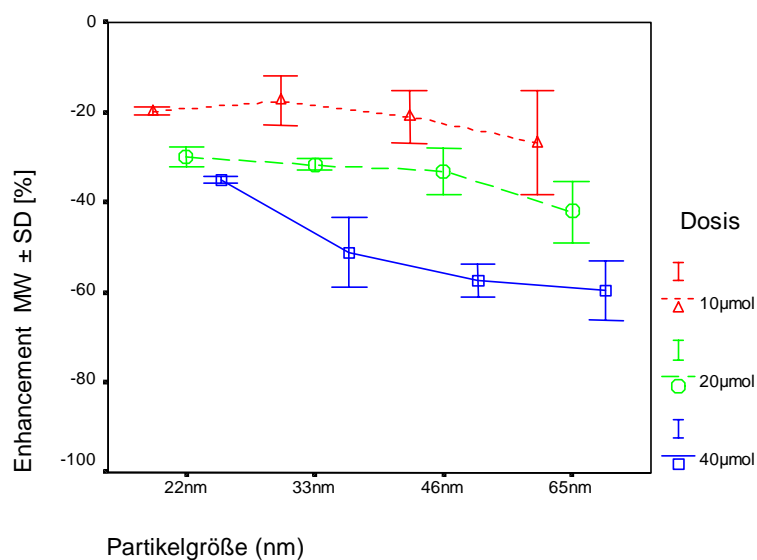
Grafik 19: Vergleich des Signalverhaltens von Knochengewebe 2h nach SHU 555 A Applikation aller Partikelgrößen und Dosierungen in T2-gewichteter TSE-Sequenz. Steigerung der Dosierung bzw. Partikelgröße führt zu einem erhöhtem SI-Verlust (Dosis-Wirk-Beziehung).



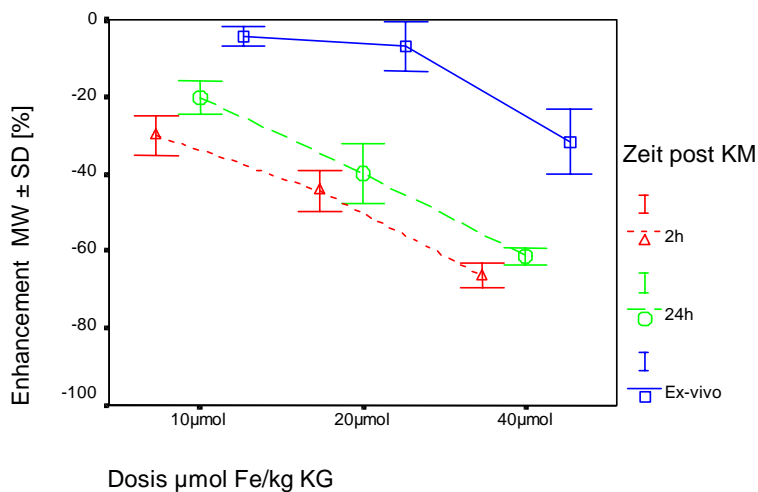
Grafik 20: Vergleich des Signalverhaltens von Knochengewebe 24h nach SHU 555 A Applikation aller Partikelgrößen und Dosierungen in T2-gewichteter TSE-Sequenz (Enhancement MW ± SD [%]). Steigerung der Dosierung bzw. Partikelgröße führt auch nach 24h zu einem erhöhtem SI-Verlust (Dosis-Wirk-Beziehung).



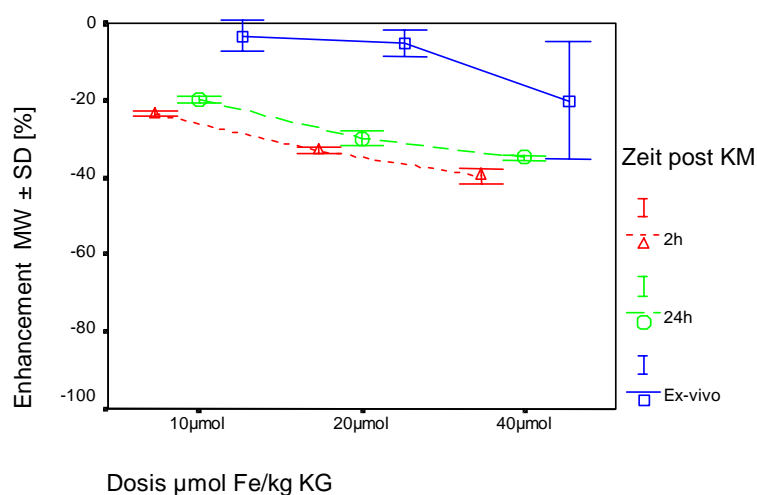
Grafik 21: Vergleich des Signalverhaltens von Knochengewebe 2h nach SHU 555 A Applikation aller Partikelgrößen und Dosierungen in T1-gewichteter SE-Sequenz (Enhancement MW  $\pm$  SD [%]). Steigerung der Dosierung bzw. Partikelgröße führt zu einem erhöhtem SI-Verlust (Dosis-Wirk-Beziehung).



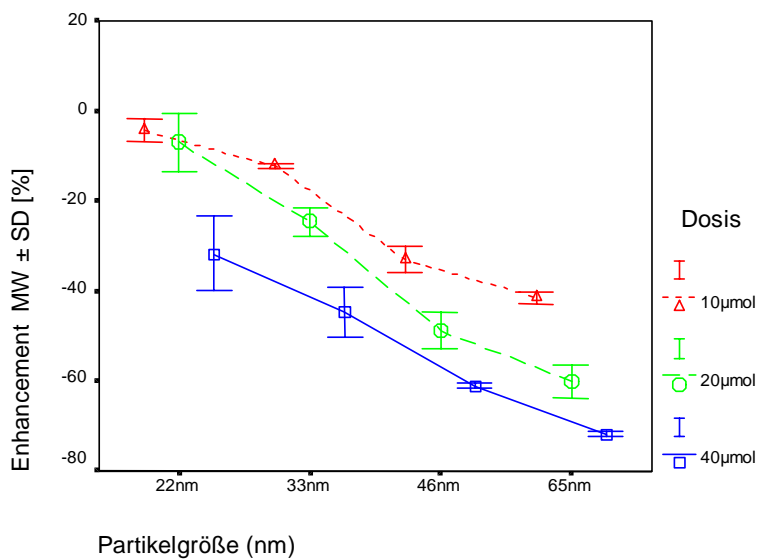
Grafik 22: Vergleich des Signalverhaltens von Knochengewebe 24h nach SHU 555 A Applikation aller Partikelgrößen und Dosierungen in T1gewichteter SE-Sequenz (Enhancement MW  $\pm$  SD [%]). Eine Steigerung der Dosierung bzw. Partikelgröße führt auch nach 24h zu einem erhöhtem SI-Verlust (Dosis-Wirk-Beziehung).



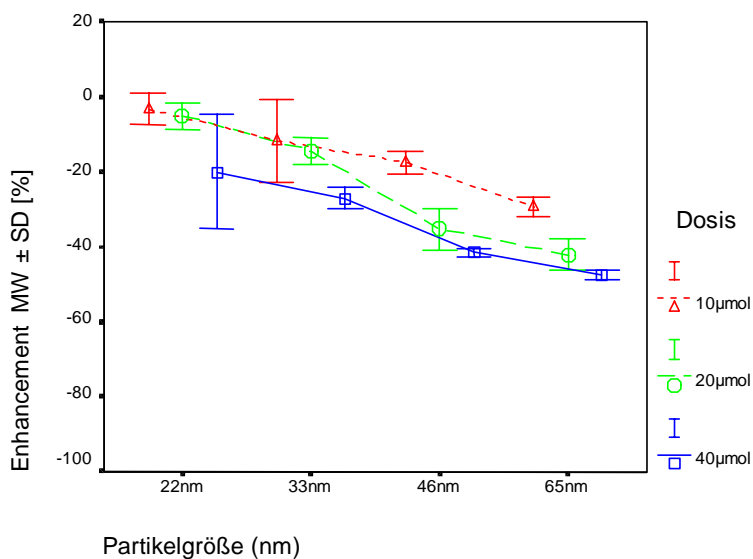
Grafik 23: Vergleich des Signalverhaltens von Knochengewebe 2h, 24h und ex-vivo nach SHU 555 A USPIO (22nm) Applikation in allen Dosierungen mit T2-gewichteter TSE- und SE-Sequenz (Enhancement MW ± SD [%]). Auch 24h und ex-vivo wird mit USPIO ein SI-Verlust deutlich.



Grafik 24: Vergleich des Signalverhaltens von Knochengewebe 2h, 24h und ex-vivo nach SHU 555 A USPIO (22nm) Applikation in allen Dosierungen mit T1-gewichteter SE-Sequenz (Enhancement MW ± SD [%]). Auch 24h und ex-vivo wird mit USPIO ein SI-Verlust in T1w Aufnahmen deutlich.



Grafik 25: Vergleich des Signalverhaltens von Knochengewebe ex-vivo nach SHU 555 A Applikation aller Partikelgrößen und Dosierungen in T2-gewichteter SE-Sequenz (Enhancement MW  $\pm$  SD [%]). Analog der 2h- und 24h-Aufnahmen resultiert aus einer Steigerung der Dosis bzw. Partikelgröße ein vermehrter SI-Abfall.



Grafik 26: Vergleich des Signalverhaltens von Knochengewebe ex-vivo nach SHU 555 A Applikation aller Partikelgrößen und Dosierungen in T1-gewichteter SE-Sequenz (Enhancement MW  $\pm$  SD [%]). Auch auf T1w Bildern wird ex-vivo eine klare Dosis-Wirk-Beziehung deutlich.



## 4.6 Bilder

### 4.6.1 Leber

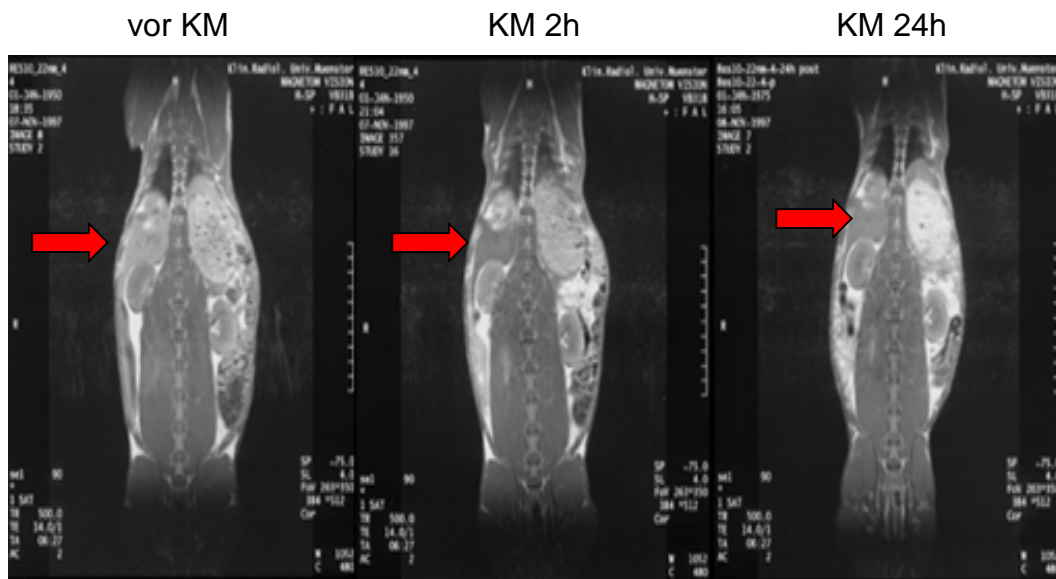


Bild 1: Leber (Pfeil) in-vivo vor, 2h und 24h nach Applikation der kleinsten Resovist®-Subfraktion (22nm) mit 10 $\mu$ mol Dosierung in T1w SE-Sequenz und einem max. SI-Verlust 2h nach KM-Gabe.

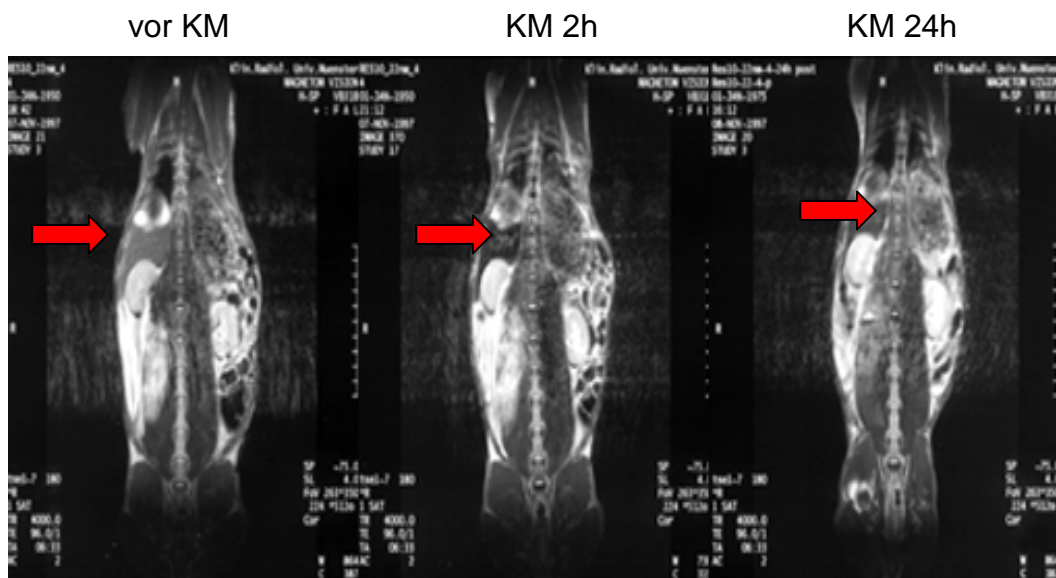


Bild 2: Leber (Pfeil) in-vivo vor, 2h und 24h nach Applikation der kleinsten Resovist®-Subfraktion (22nm) mit 10 $\mu$ mol Dosierung in T2w TSE-Sequenz und einem max. SI-Verlust 2h nach KM-Gabe.

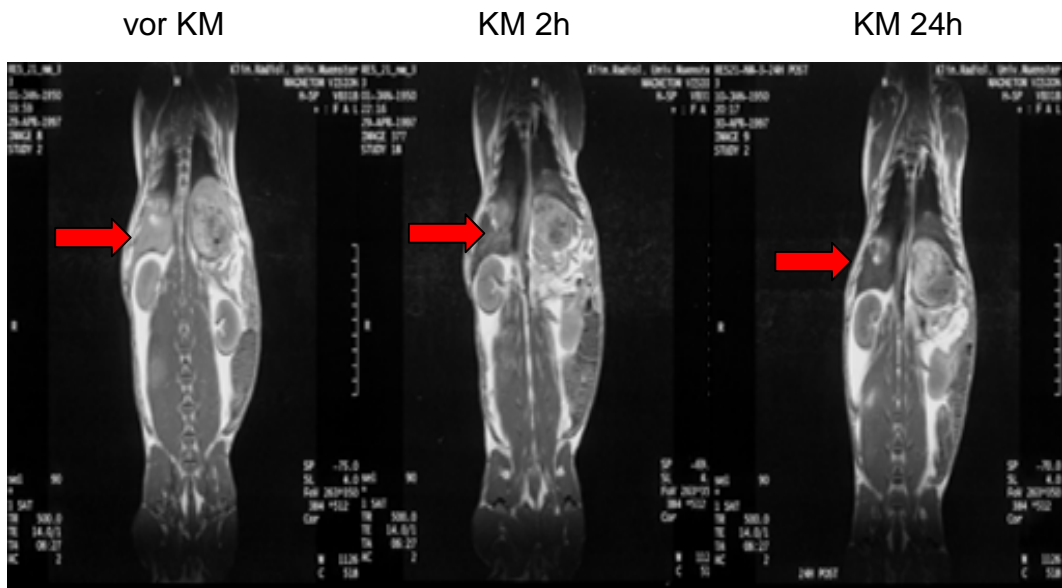


Bild 3: Leber (Pfeil) in-vivo vor, 2h und 24h nach Applikation der kleinsten Resovist®-Subfraktion (22nm) mit 40µmol Dosierung in T1w SE-Sequenz. Persistierend hoher SI-Verlust auch 24h nach KM-Gabe bei Verwendung von USPIO in höchster Dosierung.

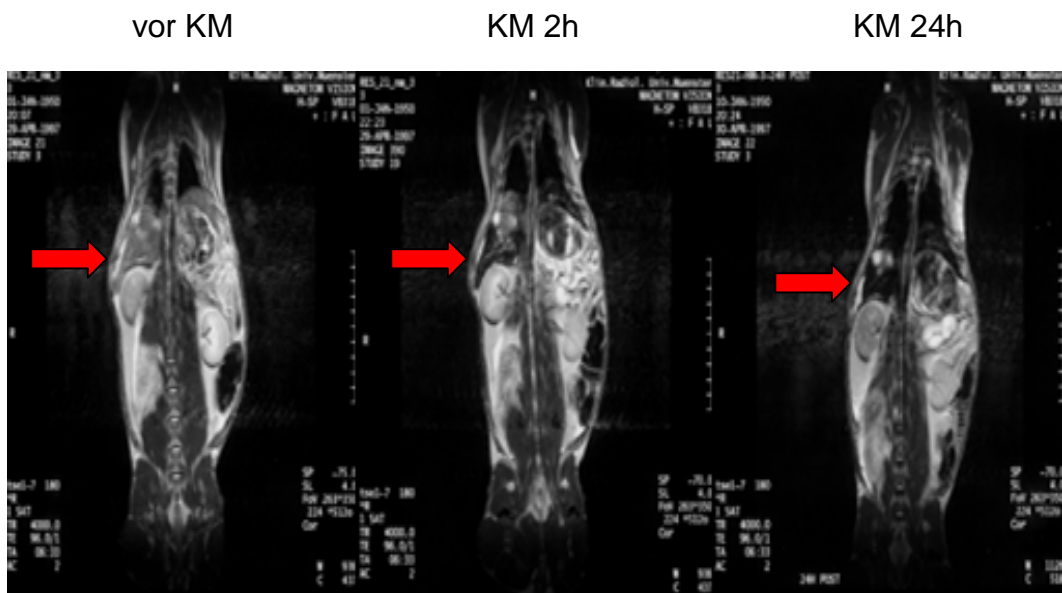


Bild 4: Leber (Pfeil) in-vivo vor, 2h und 24h nach Applikation der kleinsten Resovist®-Subfraktion (22nm) mit 40µmol Dosierung in T2w TSE-Sequenz. Persistierend hoher SI-Verlust auch 24h nach KM-Gabe bei Verwendung von USPIO in höchster Dosierung.

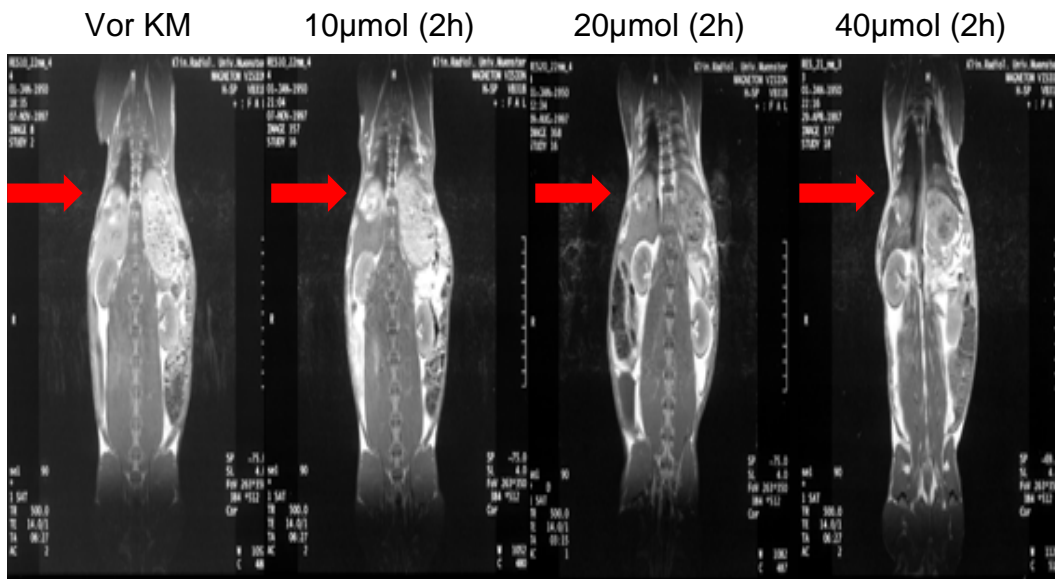


Bild 5: Leber (Pfeil) in-vivo vor und 2h nach Applikation von Resovist® 22nm mit 10-, 20-, 40µmol Dosierung in T1w SE-Sequenz. Auch auf T1-gewichteten Aufnahmen ergibt sich unter Verwendung von USPIO ein erhöhter SI-Verlust bei ansteigenden Dosierungen.

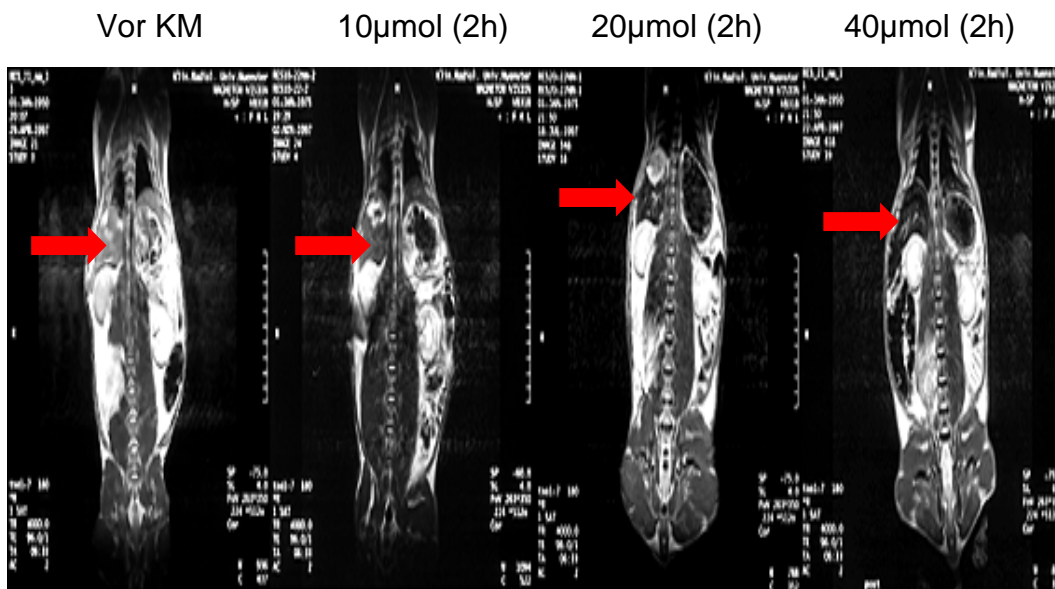


Bild 6: Leber (Pfeil) in-vivo vor und 2h nach Applikation von Resovist® 22nm mit 10-, 20-, 40µmol Dosierung in T2w TSE-Sequenz. Für USPIO wird besonders in T2 gewichteten Aufnahmen erhöhter SI-Verlust bei ansteigenden Dosierungen deutlich.

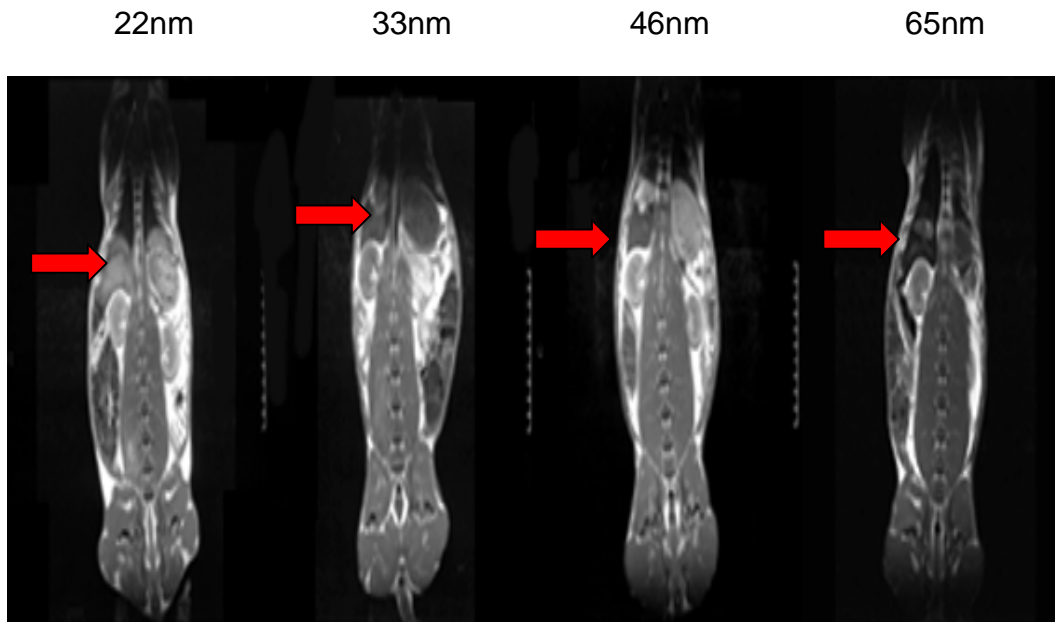


Bild 7: Leber (Pfeil) in-vivo 2h nach Resovist® -Applikation 22nm-65nm mit 40 $\mu$ mol Dosierung in T1w SE-Sequenz. Die Erhöhung der Partikelgröße bei gleicher Dosierung führt zu größerem SI-Verlust.

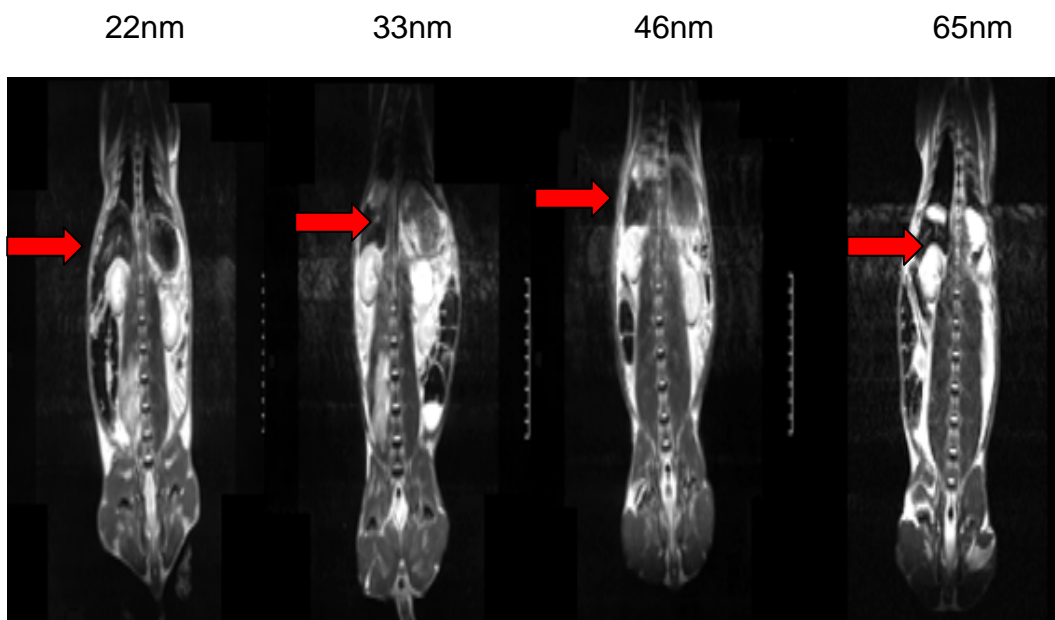


Bild 8: Leber (Pfeil) in-vivo 2h nach Resovist® -Applikation 22nm-65nm mit 40 $\mu$ mol Dosierung in T2w TSE-Sequenz. Eine Erhöhung der Partikelgröße bei gleicher Dosierung führt zu größerem SI-Verlust.

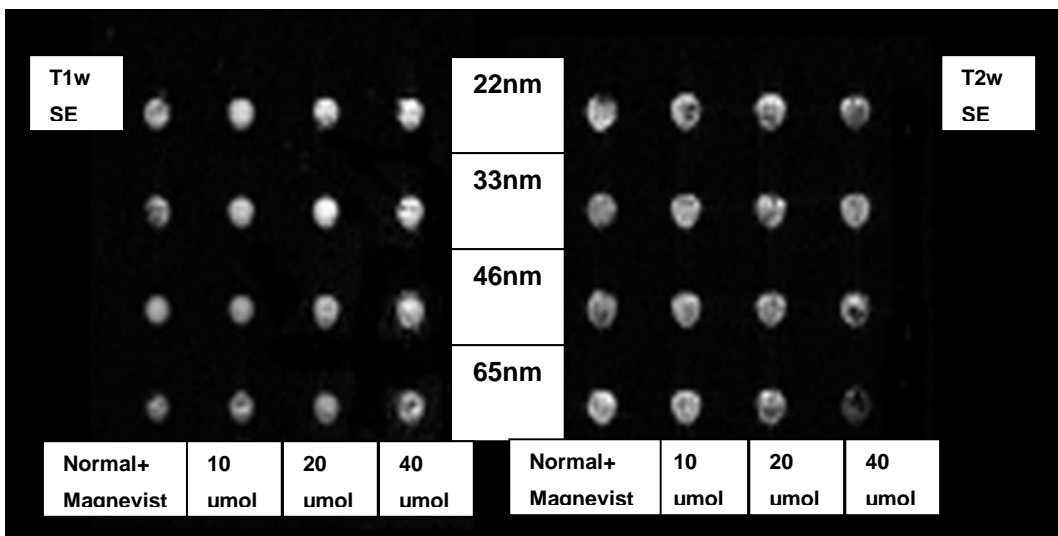


Bild 9: Leber ex-vivo in T1w und T2w SE-Sequenz mit einer TE von 50 msec. Erhöhung der Partikelgröße bzw. Dosierung führt zu einem größeren SI-Verlust

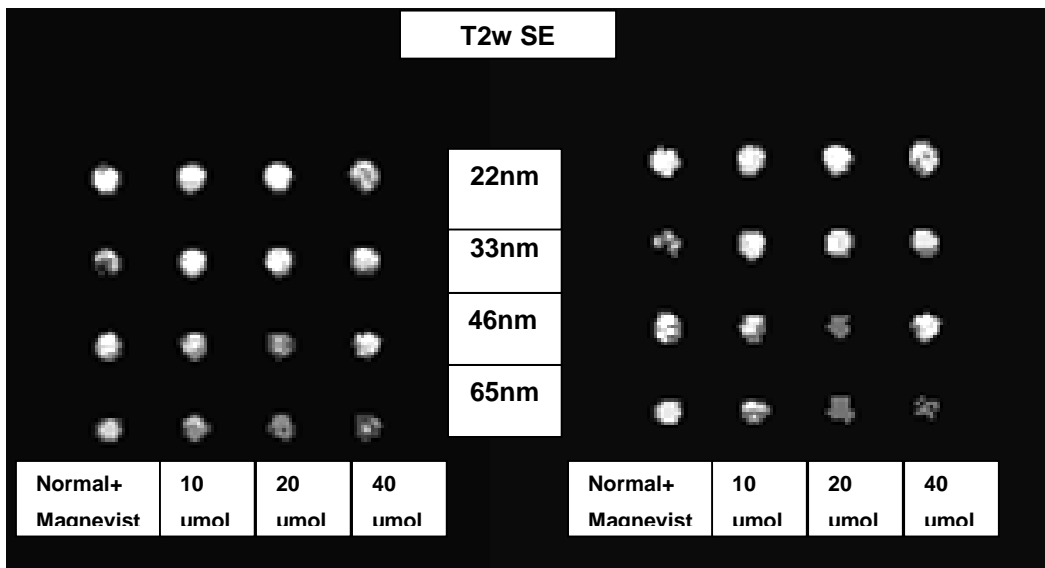
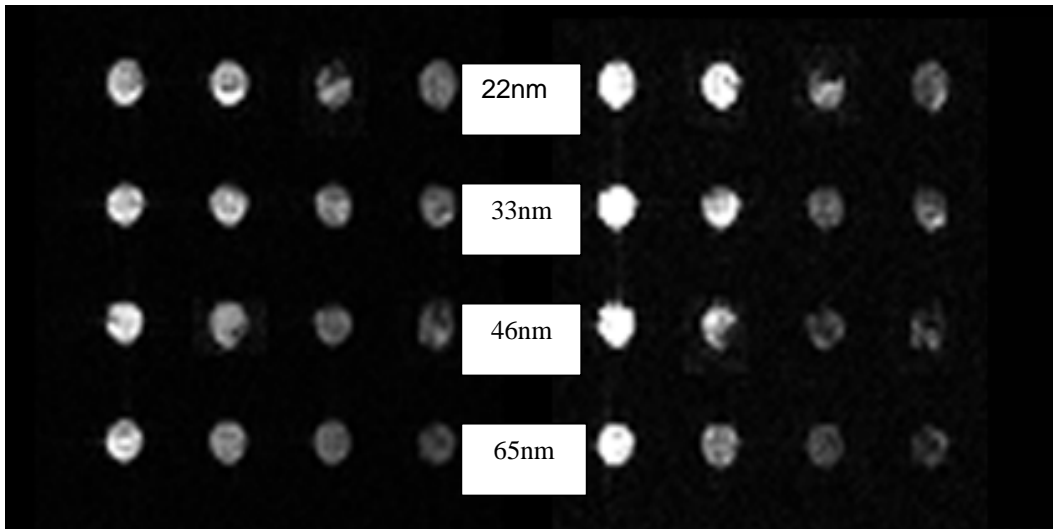


Bild 10: Leber ex-vivo, Vergleich der Signalintensität bei Erhöhung der TE von 50 (links) auf 100 msec (rechts) in T2w SE-Sequenz

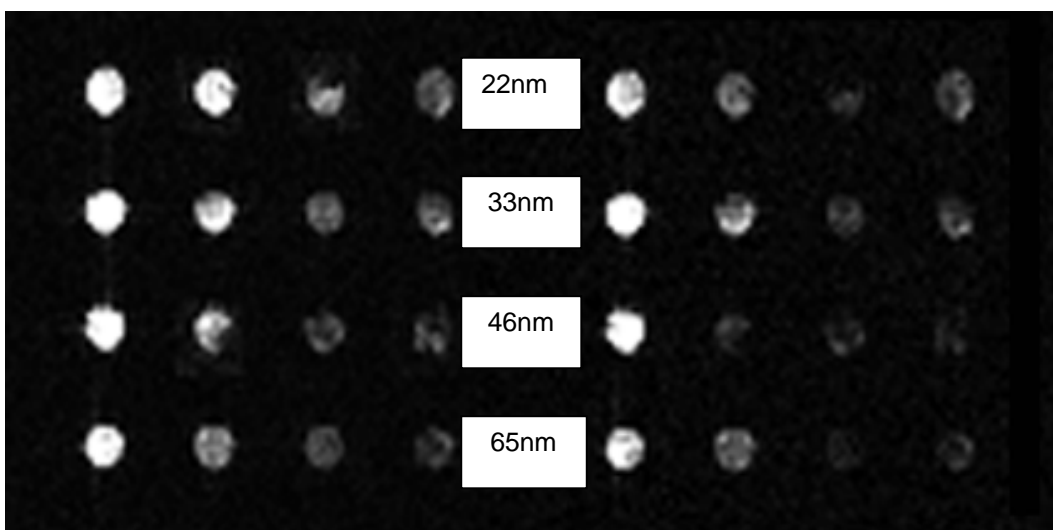
### 4.6.3 Milz

Bild 11: Milz ex-vivo nach Applikation aller Dosierungen und Partikelgrößen in T1w (links) und T2w (rechts) SE-Sequenz mit TE 50msec. In beiden Wichtungen zeigt sowohl die Erhöhung der Partikelgröße als auch der Dosierung einen größeren Signalverlust.



Normal+ Magnevist	10 µmol	20 µmol	40 µmol	Normal+ Magnevist	10 µmol	20 µmol	40 µmol
----------------------	------------	------------	------------	----------------------	------------	------------	------------

Bild 12: Milz ex-vivo nach Applikation aller Dosierungen und Partikelgrößen in T2w SE-Sequenz mit TE 50msec (links) und 100msec (rechts)



Normal+ Magnevist	10 µmol	20 µmol	40 µmol	Normal+ Magnevist	10 µmol	20 µmol	40 µmol
----------------------	------------	------------	------------	----------------------	------------	------------	------------



#### 4.6.1 Knochen

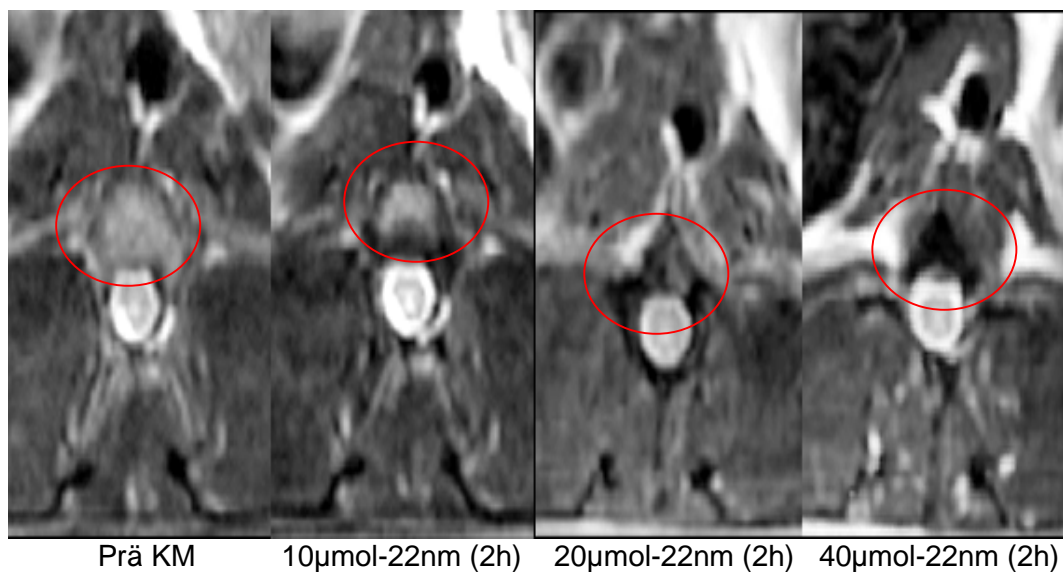


Bild 13: Knochen in-vivo vor und 2h nach Applikation von 22nm mit einer Dosierung von 10-40µmol in einer T2w TSE-Sequenz. Auch unter Verwendung von USPIO (22nm) wird bei steigender Dosierung ein diagnostisch verwertbarer Signalverlust deutlich.

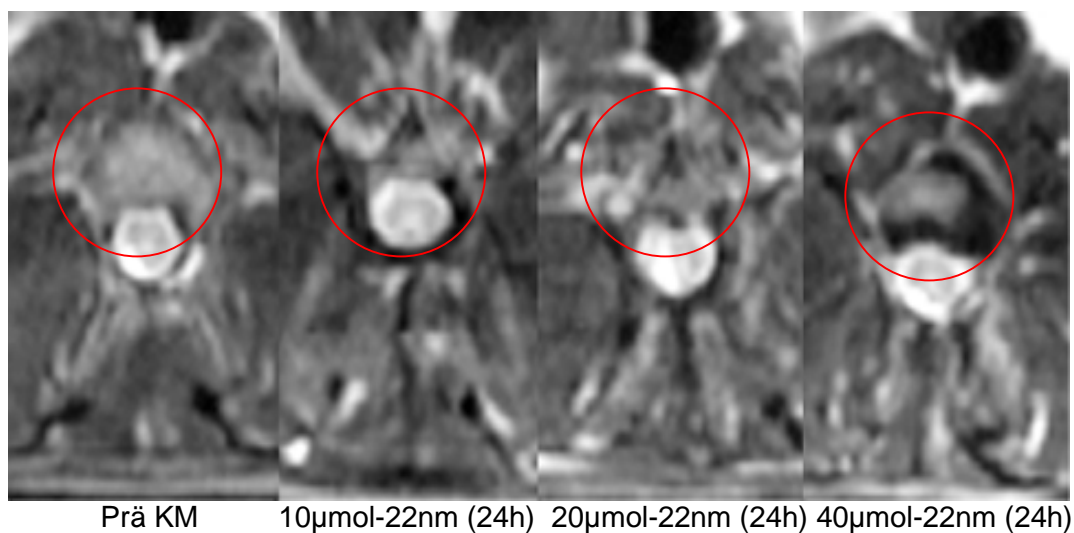
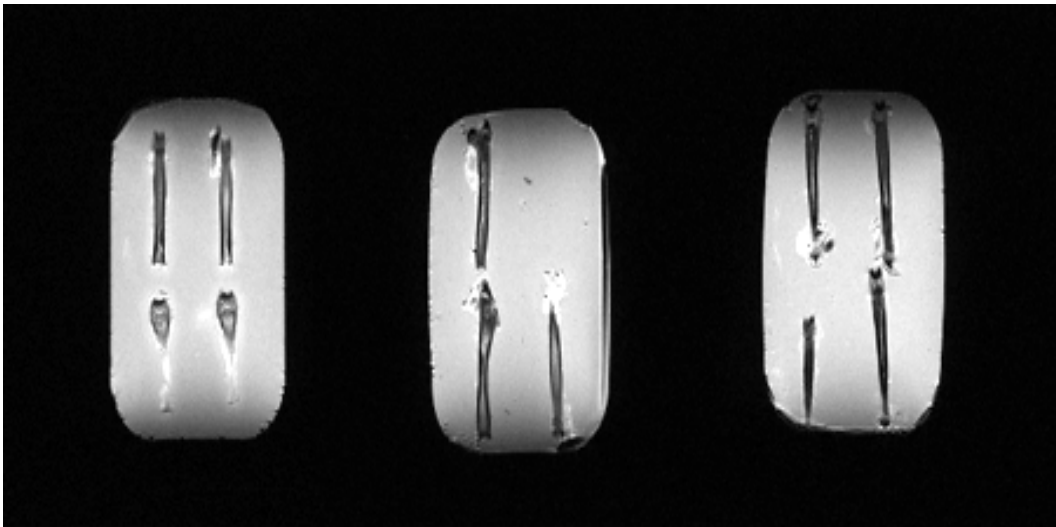


Bild 14: Knochen in-vivo vor und 24h nach Applikation von 22nm mit einer Dosierung von 10-40µmol in einer T2w TSE-Sequenz. Auch 24h nach USPIO-Gabe wird ein diagnostisch verwertbarer Signalverlust deutlich, mit größter Signalreduktion bei höchster Dosierung (40µmol).

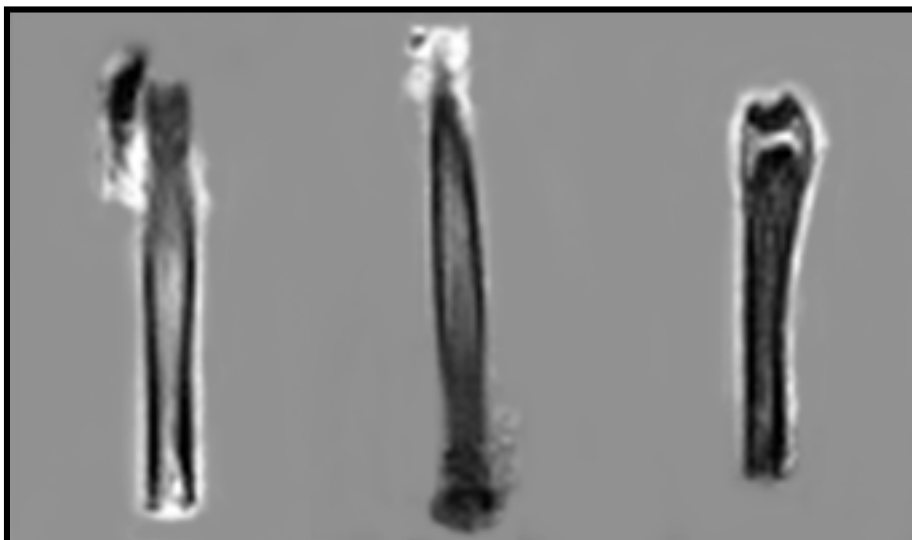


10µmol-22nm

20µmol-22nm

40µmol-22nm

Bild 15: Knochen ex-vivo nach Applikation der Resovist® -Subfraktion 22nm in ansteigender Dosierung (10-40µmol) mit einer T2w SE-Sequenz. Auch im Knochenmark von Röhrenknochen (Femur) wird unter Verwendung von USPIO mit steigender Dosierung ein signifikanter Signalverlust sichtbar. (siehe Vergrößerungsbild)



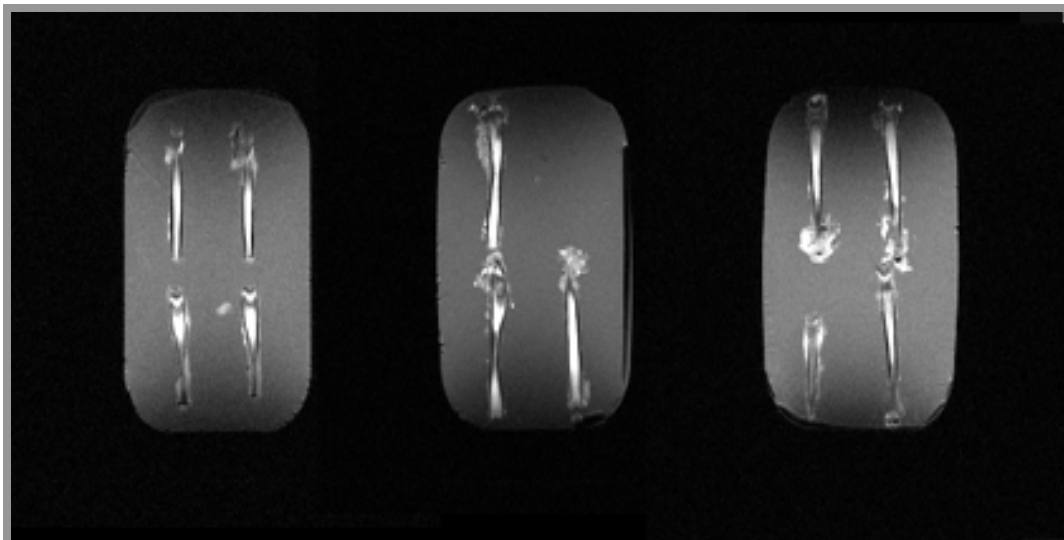
10µmol-22nm

20µmol-22nm

40µmol-22nm

Bild 16: Vergrößerung:  
Knochen ex-vivo nach Applikation der Resovist® -Subfraktion 22nm in ansteigender Dosierung (10-40µmol) mit einer T2w SE-Sequenz



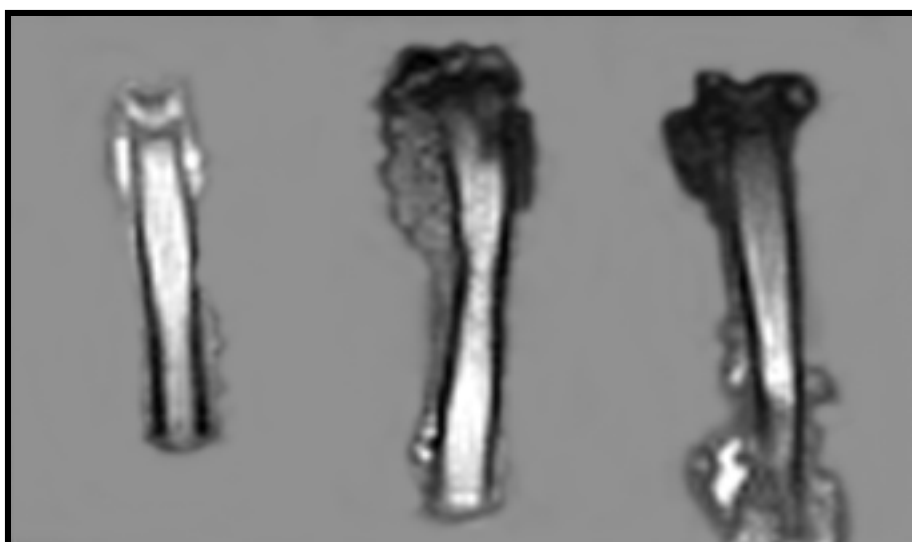


10µmol-22nm

20µmol-22nm

40µmol-22nm

Bild 17: Knochen ex-vivo nach Applikation der Resovist® -Subfraktion 22nm in ansteigender Dosierung (10-40µmol) mit einer T1w SE-Sequenz. Auch in T1-gewichteten Aufnahmen ist im Knochenmark unter Verwendung von USPIO ein deutlicher Signalverlust zu verzeichnen. (siehe Vergrößerungsbild)



10µmol-22nm

20µmol-22nm

40µmol-22nm

Bild 18: Vergrößerung:  
Knochen ex-vivo nach Applikation der Resovist® -Subfraktion 22nm in ansteigender Dosierung (10-40µmol) mit einer T1w SE-Sequenz

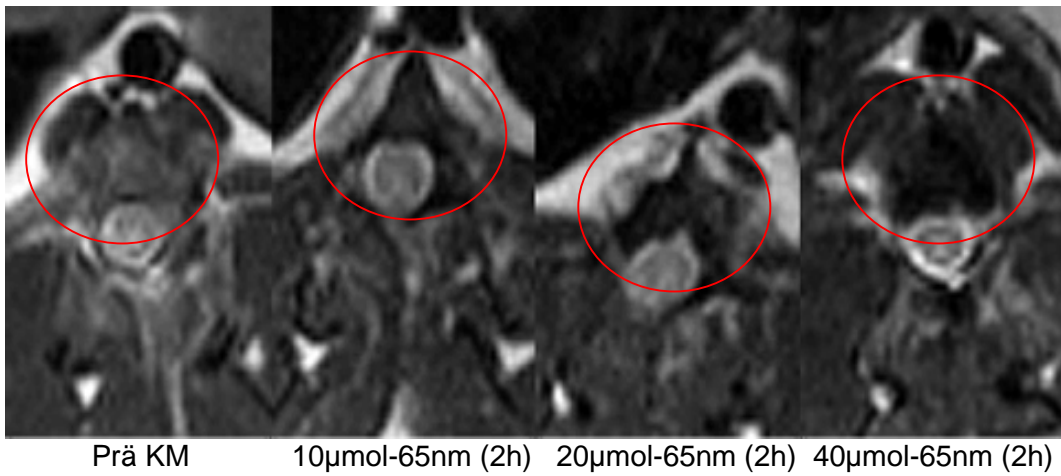


Bild 19: Knochen in-vivo vor und 2h nach Applikation von Resovist (65nm) mit einer Dosierung von 10-40µmol in einer T2w TSE-Sequenz. Unter Verwendung von SPIO (65nm) wird bei steigender Dosierung ein deutlicher Signalverlust erzielt.

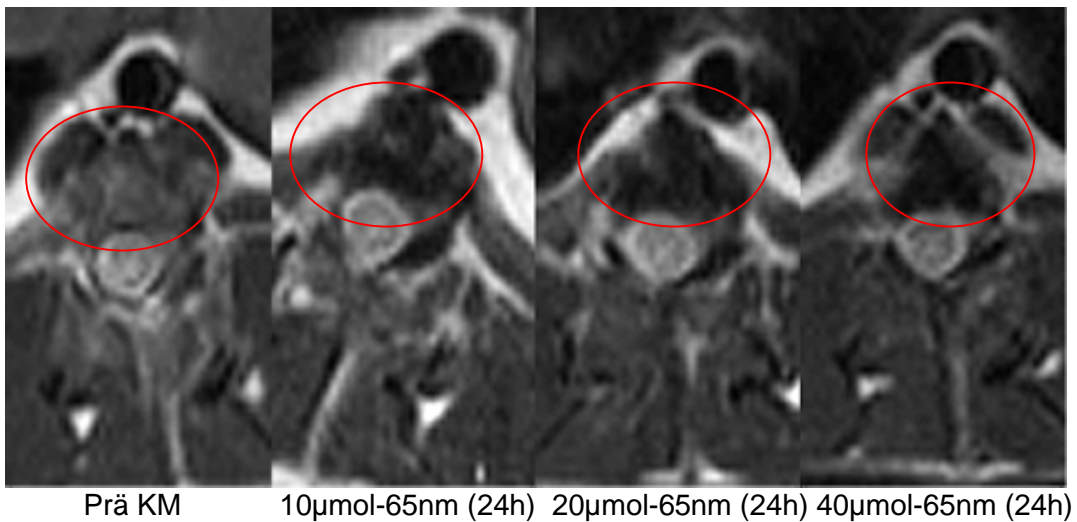


Bild 20: Knochen in-vivo vor und 24h nach Applikation von Resovist (65nm) mit einer Dosierung von 10-40µmol in einer T2w TSE-Sequenz. Auch nach 24h ist unter der Verwendung von SPIO (65nm) bei steigender Dosierung noch ein deutlicher Signalverlust erkennbar.

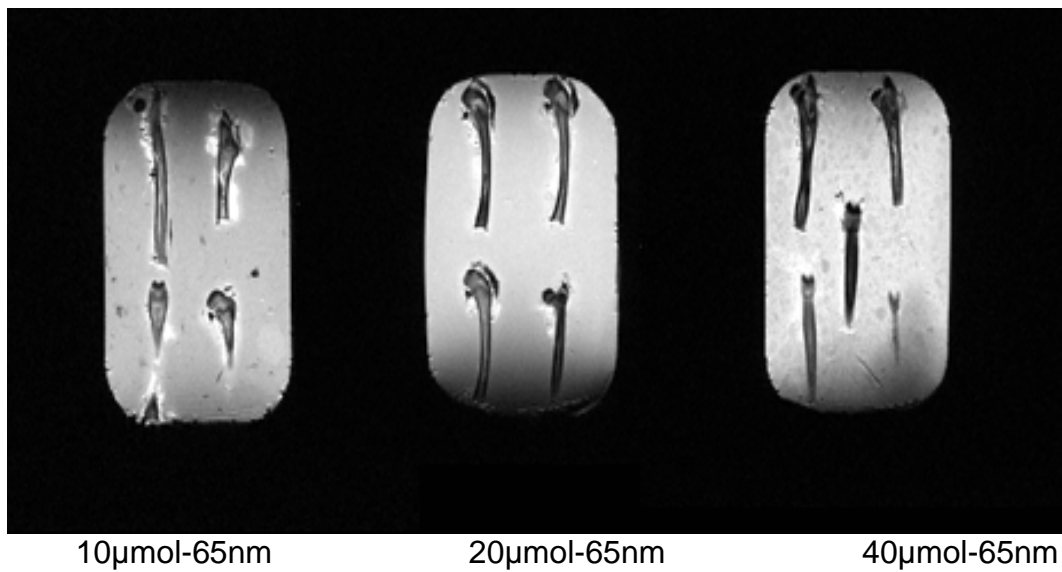
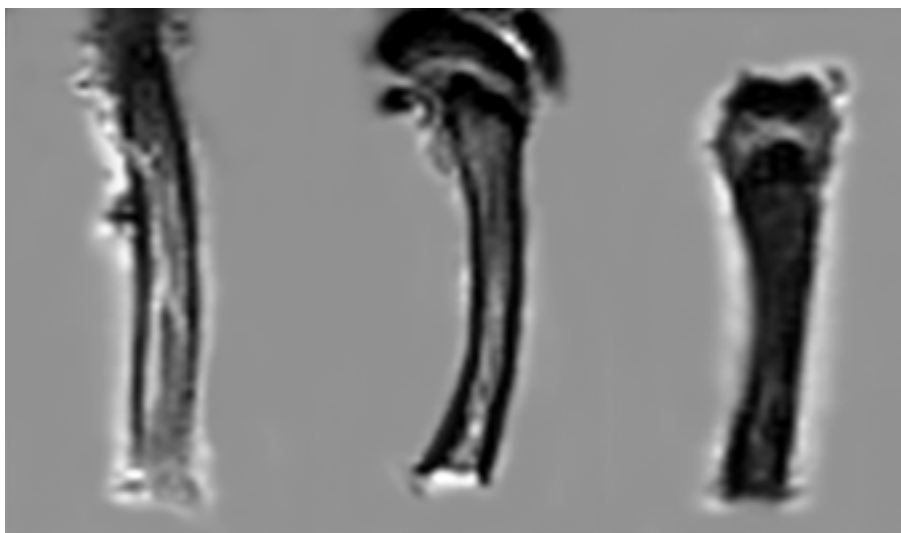


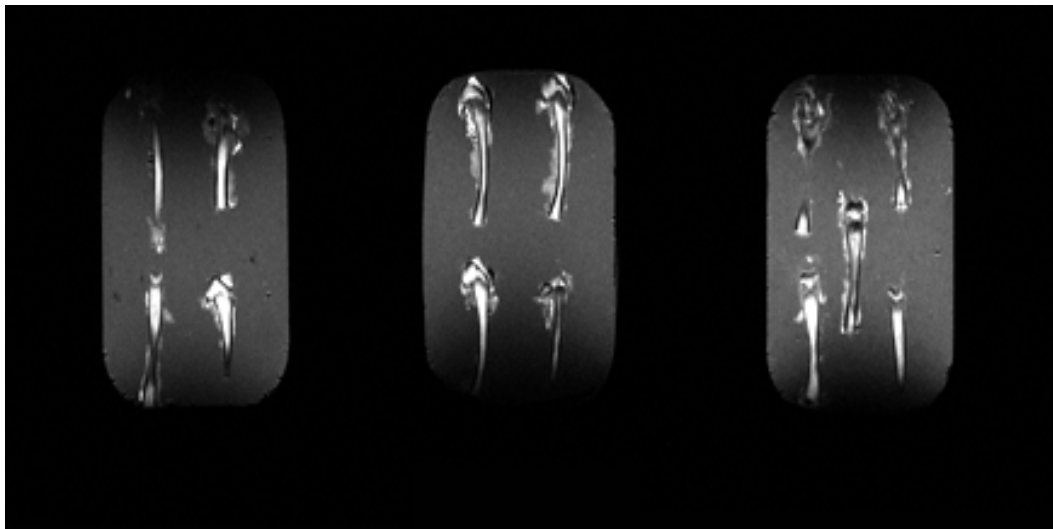
Bild 21: Knochen ex-vivo nach Applikation der (65nm) in ansteigender Dosierung (10-40µmol) mit einer T2w SE-Sequenz. Durch Applikation der Resovist®-Stammlösung in höchster Dosierung wird der höchste Signalverlust erzielt. (siehe Vergrößerungsbild)



10µmol-65nm      20µmol-65nm      40µmol-65nm

Bild 22: Vergrößerung:

Knochen ex-vivo nach Applikation der Resovist®-Stammlösung (65nm) in ansteigender Dosierung (10-40µmol) mit einer T2w SE-Sequenz



10µmol-65nm

20µmol-65nm

40µmol-65nm

Bild 23: Knochen ex-vivo nach Applikation von Resovist® (65nm) mit 10-, 20-, 40µmol Dosierung in T1w SE-Sequenz (TE 50). Auch auf T1 gewichteten Aufnahmen wird, vergleichbar zu T2- gewichteten Aufnahmen, mit Resovist® (65nm) bei höchster Dosierung der größte Signalverlust verzeichnet. (siehe Vergrößerungsbild)



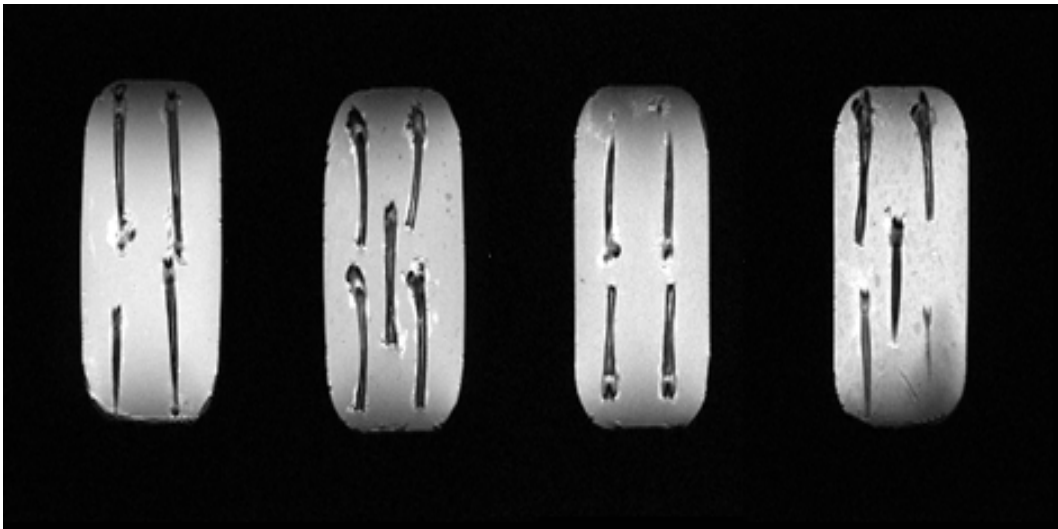
10µmol-65nm

20µmol-65nm

40µmol-65nm

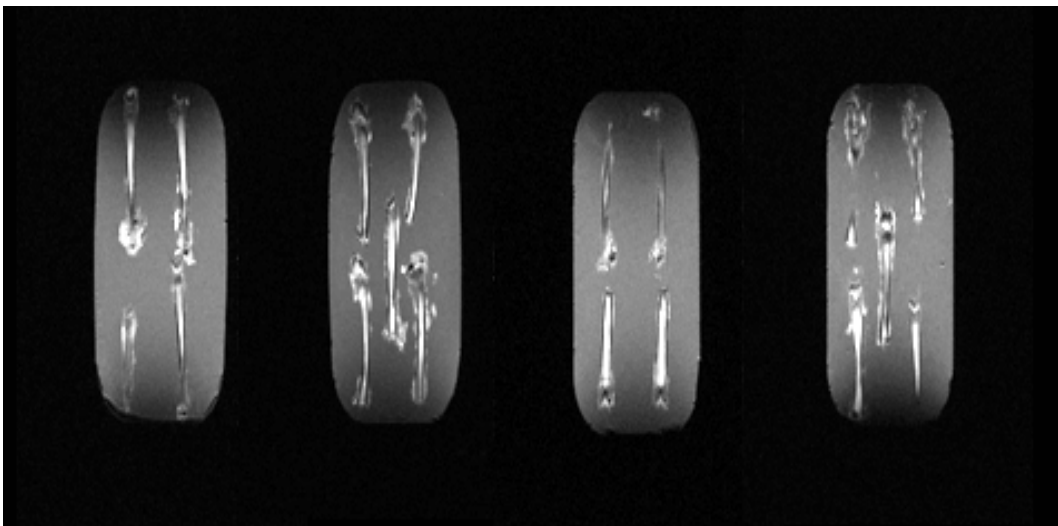
Bild 24: Vergrößerung:

Knochen ex-vivo nach Applikation von Resovist® (65nm) mit 10-, 20-, 40µmol Dosierung in T1w SE-Sequenz (TE 50)



40µmol-22nm    40µmol-33nm    40µmol-46nm    40µmol-65nm

Bild 25: Knochen ex-vivo nach Applikation von 40µmol-22nm, -33nm, -46nm, -65nm in T2w SE-Sequenz (TE 50)



40µmol-22nm    40µmol-33nm    40µmol-46nm    40µmol-65nm

Bild 26: Knochen ex-vivo nach Applikation von 40µmol-22nm, -33nm, -46nm, -65nm in T1w SE-Sequenz (TE 50)

## **5. Diskussion**

### **5.1 Leber**

Lebergewebe zeigt unter Verwendung des intrazellulären KM Resovist® in T2-gewichteten Sequenzen einen Signalverlust. Nach i.v.-Applikation erhöht sich durch die Phagozytoseaktivität der Kupffer-Zellen die intrazelluläre KM-Konzentration. Hierdurch verschiebt sich das R2/R1-Verhältnis zugunsten von R2 und damit das Verhältnis T2-/T1-Effekt zugunsten von T2. Dies führt schließlich zu einer negativen Signaländerung [21]. Bekannt ist bisher der Signalverlust von Lebergewebe unter Verwendung der Resovist® -Stammlösung (65 nm) [18, 34, 28], unklar hingegen der Einfluß der Resovist® -Subfraktionen (21nm, 33nm, 46nm) auf die Signalgebung von RES-spezifischen Geweben.

In dieser Studie konnte ein signifikanter Signalverlust in Lebergewebe nach i.v.-Applikation von SHU 555 A und der Derivate unabhängig der Partikelgröße und der Konzentration beobachtet werden. Das Enhancement persistierte während des gesamten Beobachtungszeitraums. Aufgrund des o.g. größeren R2/R1-Verhältnis (s. Tab. 2), verursachten SPIO`s bei gleicher Dosierung einen stärkeren Signalverlust im Vergleich zu USPIO`s. Ex-vivo konnten diese Daten weiter verifiziert werden. So wurde der maximale Signalabfall nach 2h mit  $-82,0 \pm 2,5\%$  bei  $40 \mu\text{mol}-65\text{nm}$  in einer T2-gewichteten TSE-Sequenz verzeichnet und betrug nach 24h noch  $-75,7 \pm 2,0\%$ .

Jedoch wurde auch mit USPIO 2h nach Applikation bei einer Dosierung von  $40 \mu\text{mol Fe/kg KG}$  noch ein Signalverlust in Lebergewebe von  $-71,0 \pm 1,5\%$  (T2w TSE) beobachtet. Auch geringere Dosierungen von USPIO ( $20 \mu\text{mol}/10 \mu\text{mol}$ ) bewirkten einen anhaltenden Signalverlust. Diese Ergebnisse korrelieren mit von Mergo et al. publizierten Daten, die einen Signalverlust in T2-gewichteten Aufnahmen der Leber von 73% nach USPIO Gabe ermittelten [27]. Da die Signalintensität in Lebergewebe nach Eisenoxid-Gabe asymptotisch gegen null geht, werden bei steigender Dosierung Unterschiede im Enhancement zwischen SPIO

und USPIO stetig kleiner. Während bei 10µmol Fe/kg KG zwischen Gruppe 1(21nm) und 4(65nm) noch ein Unterschied im Enhancement von 44% in der Leber zu verzeichnen ist, beträgt der Unterschied zwischen kleinster und größter Partikelgröße in der höchsten Dosierung (40µmol Fe/kg KG) nur noch 11% (T2 TSE). Eine Steigerung der Dosis bei gleicher Partikelgröße resultierte außerdem in einem geringeren Signal-Wiederanstieg nach 24h [7]. Eine erhöhte intrazelluläre Eisenoxid-Konzentration und den daraus resultierenden verzögerten Abbauvorgängen mit der Einschleusung des Eisens in den Körperkreislauf, wäre eine mögliche Erklärung. Diese Erkenntnis könnten die Möglichkeit eröffnen, mit höheren USPIO-Dosierungen einen vergleichbaren diagnostischen Effekt bei Leber-spezifischen Untersuchungen zu erzielen wie es für SPIO schon bekannt ist und zusätzlich den zeitlichen Rahmen der diagnostischen Auswertung vergrößern.

Neben ihren zellspezifischen Eigenschaften könnten Resovist® - Fraktionen bei der Differenzierung von Leberläsionen zum Einsatz kommen. Klinische Versuche mit unterschiedlichen USPIO-Formeln zur Charakterisierung fokaler Leberläsionen bestätigen diese Ergebnisse [24, 25, 35]. Mergo et al. demonstrierten einen Anstieg des Kontrastes zwischen Lebergewebe und Läsion von über 500% für SPIO und USPIO [27]. In weiteren Studien konnte gezeigt werden, dass maligne Läsionen ohne phagozytierende Zellen unter Eisenoxidgabe ein konstantes Signalverhalten zeigten. Zusätzlich zeigte ein Ring-Enhancement bei bis zu 83% maligner Läsionen und nur 14% benigner Läsionen nach Applikation von USPIO (T1w fat suppr.) eine weitere Möglichkeit der Differenzierung von Lebertumoren [25, 33]. Der Signalabfall gutartiger Läsionen ist proportional der Kupffer-Zell-Aktivität bzw. der Tumovaskularisation und damit zur weiteren Charakterisierung wertvoll. Einige Eisenoxid-Kontrastmittel (AMI-25, AMI-227) können aufgrund ihrer kardiovaskulären Nebenwirkungen und dem Auftreten von Rückenschmerzen jedoch nicht im Bolus appliziert werden [25, 54]. Hingegen wurden für Resovist® in einer Phase-2-Studie keine derartigen Nebenwirkungen nach intravenöser Gabe beschrieben. So wurde bei

gesunden Probanden eine Resovist® -Subfraktion (Gruppe 4, 21nm) ohne das Auftreten relevanter Nebenwirkungen bolus-injiziert, die diese Ergebnisse der Studie bestätigen [32].

Insgesamt eröffnet die Applikation höher dosierter USPIO-Dosierungen die Möglichkeit eine vergleichbare diagnostische Wertigkeit im Vergleich zu SPIO bei geringen Nebenwirkungen zu erhalten. Ein weiterer Vorteil wäre, analog zum Knochengewebe, die Möglichkeit der Mehrfachuntersuchung mit einer einmaligen KM-Gabe und die gleichzeitige Nutzbarkeit für gewebliche Untersuchungen im Rahmen von MR-Angiografien [7, 29].

In weiteren Studien wäre zu prüfen, ob höhere Dosisstufen der Derivate von SHU 555 A noch zu einem diagnostisch verwertbaren bzw. gleichwertigen Ergebnis führen wie die Verwendung von SPIO.

Ein Nachteil dieser Studie war die zu gering gewählte Fallzahl an Tieren pro Dosisstufe. Hierdurch lassen sich keine repräsentativen Schlussfolgerungen für die Anwendung der USPIO`s ziehen. Es müssten weiterführende Untersuchungen mit höheren Fallzahlen angestrebt werden, um verlässliche Aussagen zur eventuellen Anwendung der USPIO`s beim Menschen treffen zu können.

## **5.2 Milz**

Milzgewebe zeigt unter dem Einfluß von RES-spezifischen KM in T2-gewichteten Sequenzen einen Signalabfall. Das Signalverhalt war vergleichbar dem Signalverhalten von Lebergewebe. Bei gleicher Dosierung wurde mit SPIO ein größerer Signalverlust als mit USPIO bewirkt [7]. Mit dem Einsatz von SPIO zeigte Weissleder et al. eine Reduzierung der T2-Relaxationszeit der Milz von 77% bei einer Dosierung von 50µmol/kg KG [60]. Unklar ist jedoch die Signalbeeinflussung unter der Verwendung von USPIO. In dieser Studie wurde das Signalverhalten der Milz unter Einfluß verschiedener Resovist® -Fraktionen (21nm,33nm,46nm,65nm) untersucht, wobei das besondere Interesse den USPIO`s galt. Der maximale Signalverlust betrug bei 40µmol-65nm -86,1



$\pm 1,0\%$  (T2w FLASH) und bestätigte die von Hamm et al. mit SPIO ermittelten Daten. Jedoch wurde auch mit der Applikation von USPIO in allen Dosierungen ein deutlicher Signalverlust erzielt. Der maximale Signalabfall betrug bei  $40\mu\text{mol-21nm}$   $-68,2 \pm 0,7\%$  ( T2w FLASH). Das Milzgewebe zeigte, vergleichbar dem Signalverhalten der Leber, einen asymptotischen Verlauf in der Signalgebung zwischen SPIO und USPIO bei steigender Dosierung. Nach Gabe von  $10\mu\text{mol Fe/kg KG}$  konnte noch eine Differenz von 32%, bei Applikation von  $40\mu\text{mol Fe/kg KG}$  nur noch ein Unterschied von 18% im Enhancement zwischen SPIO und USPIO ermittelt werden (T2w FLASH).

Die Ergebnisse bestätigen die für SPIO schon bekannten Daten. Hamm et al. erzielten 8h nach Applikation der Resovist® -Stammlösung (65 nm) einen maximalen Signalverlust von 78% bei  $40\mu\text{mol Fe/kg KG}$  [18].

In weiteren Studien wurde mit einer Abnahme der Relaxationszeiten eine signifikante Verbesserung in der Unterscheidung zwischen normalem Milzgewebe und Läsionen unter Verwendung von SPIO möglich [37, 60]. Ein maximaler Tumor-Milz Kontrast wurde 60 min nach Applikation gesehen [59].

Diese Erkenntnisse führen, wie auch bei der Leber, zu der Schlußfolgerung, mit hohen USPIO-Dosierungen eine vergleichbar gute diagnostische Wertigkeit zu erhalten, wie es von SPIO schon bekannt ist [18, 27]. In weiteren Studien wäre zu prüfen, ob USPIO`s vergleichbare Ergebnisse in der Unterscheidung zwischen normalem und tumorösen Milzgewebe liefern können. Insgesamt könnten USPIO`s zur weiteren Diagnostik von Milzerkrankungen / -tumoren beitragen oder als Alternative zu bisher verwandten Untersuchungen genutzt werden. Eine gleichzeitige Nutzbarkeit im Rahmen weiterer geweblicher oder angiografischer Untersuchungen wäre denkbar.

Ein Nachteil dieser Studie war, wegen der geringen Organgröße und dadurch bedingter Messfelder in-vivo, die nur ex-vivo vorgenommene Messung des Milzgewebes. Dadurch konnte auch der Einfluß der Dosierung auf die Signalgebung in Verlaufsmessungen nicht untersucht werden, wie es für Knochen und Leber in dieser Studie erfolgt ist.

### 5.3 Knochen

Die MRT ist bei der Beurteilung von Knochenmarktumoren aufgrund ihrer vielfältigeren Möglichkeit der CT in der Anwendung überlegen. Durch bessere Kontrastierung ist die Unterscheidung zwischen umgebendem Weichteilgewebe und Knochenmark verbessert. Gleichwohl erzielt die CT exaktere Aufnahmen bei kortikalen Destruktionen des Knochens. Jedoch erlauben weder MRT noch CT eine exakte und verlässliche Aussage über die Dignität oder Größe eines Tumors im Knochengewebe [20]. Um eine zuverlässigere Aussage zur Differenzierung von Knochentumoren und -erkrankungen zu erhalten, kann der Entwicklung von RES-spezifischen KM in der MRT eine entscheidende Bedeutung zukommen.

Weissleder et al. zeigten 1990 mit dem Einsatz von USPIO bei einer Partikelgröße zwischen 5 und 10nm eine Signalbeeinflussung von Knochenmark am MRT [58]. Seneterre et al. demonstrierten mit USPIO eine Dosisabhängigkeit der T1- und T2-Relaxationszeiten unter der Verwendung von 40, 80 und 160µmol Fe/kg KG. Sie zeigten eine Reduzierung der Relaxationszeiten von 30%, 50% und 65% innerhalb der ersten 24h nach Applikation [43]. Eine Verbesserung der Detektion von Knochenmarktumoren unter Verwendung von USPIO ergaben die Untersuchungen von Bush et al. [9]. Weitere Versuche von Daldrup et al. demonstrierten einen erhöhten Tumor-zu-Knochenmark Kontrast nach Applikation von superparamagnetischem Eisenoxid [12].

SHU 555 A und dessen Derivate zeigten in dieser Studie eine deutliche Dosis-Wirk-Beziehung in Knochengewebe. Mit steigender Dosierung und Partikelgröße sank die Signalintensität auf T1- und T2-gewichteten Aufnahmen. Die ermittelten Werte bestätigen die von Seneterre et al. publizierten Daten.

Der maximale Signalverlust mit  $-79,4 \pm 1,0\%$  in der T2w SE-Sequenz 2h nach KM-Gabe wurde mit  $-75,2 \pm 1,4\%$  in der 24h-Aufnahme bestätigt.

Durch den Einsatz USPIO (22nm) in der niedrigsten Dosierung (10µmol/kg KG) wurde eine Reduktion des Signals von  $-32,9 \pm 3,2\%$  (T2w TSE) , respektive  $-23,5 \pm 1,7\%$  (T1w SE) erzielt. Auch 24h nach Applikation lässt sich noch eine Signalreduktion von  $-18,3 \pm 2,0\%$  (T2w TSE) erreichen.

Diese Daten bestätigen die Untersuchungen mit USPIO in niedriger Dosierung von Cihal et al. [11]. Jedoch verweist diese Studie auf erneute KM-Applikationen bei Mehrfachuntersuchungen, von denen bei höherer Dosierung abgesehen werden könnte. Mit höchster Dosierung (40µmol Fe/kg KG) wurde in dieser Studie mit USPIO ein SI-Verlust von  $-66,6 \pm 1,7\%$  2h und  $-61,3 \pm 1,4\%$  24h nach KM-Gabe gemessen. Diese Ergebnisse belegen die von Cihal erstellte These einer verlängerten diagnostischen Verwertbarkeit mit höherer Dosierung ohne weitere KM-Applikation.

Die ex-vivo ermittelten Daten bestätigten die Dosis-Wirk-Beziehung der in-vivo gemessenen Werte. Eine Steigerung der Dosis und der Partikelgröße resultierte in einem vermehrten Signalverlust sowohl in T2-, als auch T1-gewichteten Aufnahmen. Der größte Signalverlust ergab sich analog zu anderen Geweben für SPIO bei 40µmol-65nm. Die Signalreduktion war mit  $-71,8 \pm 0,2\%$  (T2w SE) nur geringfügig niedriger im Vergleich zu  $-75,2 \pm 1,4\%$  der entsprechenden 24h-Aufnahme (T2w TSE). Auch mit der Verwendung von USPIO (22nm) wurde ein signifikanter Signalabfall ex-vivo verzeichnet. Mit einer Dosierung von 40µmol ergab sich eine Reduktion des Signals von  $-31,7 \pm 4,2\%$  (T2w SE). Diese war jedoch bei gleicher Dosierung und Partikelgröße signifikant geringer gegenüber der 24h-Aufnahme ( $-61,3 \pm 1,4\%$ ). Die ermittelten Werte bestätigen die von Seneterre et al. publizierten Daten, die eine Reduzierung des Signalabfalles zur Ausgangsintensität innerhalb von 7 Tagen beobachteten [43]. Desweiteren unterstreichen sie die Vermutung, dass mit höheren Dosierungen ein langsames Absinken der Signalreduktion erreicht werden und damit ein verlängertes Zeitfenster für diagnostische Auswertungen zur Verfügung stehen könnte.

Diese Ergebnisse zeigen, dass mit USPIO in höheren Dosierungen ein ausreichend diagnostisch verwertbarer Signalverlust bei Knochenmark-spezifischen Untersuchungen erzielt werden kann. Auch über 24h hinaus könnte mit der Verwendung von ultrakleinen Eisenoxidpartikeln in ausreichender Dosierung noch eine ausreichend diagnostisch verwertbare Signalreduktion erreicht werden. Dies würde Mehrfachuntersuchungen ohne wiederholte KM-Applikation ermöglichen. Eine schonendere

Untersuchung für den Patienten bei gleicher diagnostischer Wertigkeit wäre das Resultat.

In weiteren Studien wäre zu prüfen, in welchem Zeitraum eine diagnostisch nutzbare Signalbeeinflussung unter Verwendung von USPIO erreicht werden könnte. Desweiteren stellt sich die Frage, ob eine weitere Dosissteigerung die diagnostische Aussagekraft erhöht. Außerdem könnten USPIO, aufgrund ihrer zellspezifischen Eigenschaften, zur Detektion und Differenzierung von Knochentumoren und -metastasen durch das Auftreten von Ring-Enhancement um Läsionen verwandt werden [9]. Hier wäre in weiteren Studien zu prüfen, in welchem Ausmaß SHU 555 A und die Derivate zu einem Ring-Enhancement und damit zu einer besseren Differenzierung von Knochentumoren führen.

#### **5.4 Lymphknoten**

Die Darstellung von Lymphknoten und deren Befall durch maligne Erkrankungen ist auch mit den modernen Schnittbildtechniken (CT, MRT, etc.) problematisch geblieben. Zumeist orientiert sich die Diagnostik an der Größe der Lymphknoten. Da die Detektion von LK-Metastasen eine der Hauptpunkte bei Staginguntersuchungen ist, könnte der Verwendung lymphotoper wie RES-spezifischer Kontrastmittel ein hoher Stellenwert zukommen.

Saini et al. beschreiben 1987 erste Signalbeeinflussungen von RES-Geweben (Leber und Milz) in der MRT unter Verwendung superparamagnetischer Eisenoxidpartikel (Biomag M 4125) [38]. Heute werden superparamagnetische Eisenoxidpartikel u.a. zur Diagnostik fokaler Leberläsionen als „negative“ Kontrastmittel eingesetzt. Sie zeigen einen ausgeprägten Suszeptibilitätseffekt, der in T2-gewichteten, aber auch in T1-gewichteten Sequenzen zum Signalverlust führt. Mit dem Einsatz intrazellulärer KM (z.B. AMI-227, AMI-25) ist es gelungen neben Leber, Milz und Knochenmark auch Lymphknoten zu kontrastieren. Durch die Applikation von geringen Kontrastmittelmengen lassen sich, im Vergleich zu extrazellulären Kontrastmitteln, hohe Konzentrationen im

Zielgewebe erreichen [28]. Das verwendete Basiskontrastmittel SHU 555 A wird als intrazelluläres KM von Zellen des RES aufgenommen.

In dieser Studie konnte mit der Verwendung von SHU 555 A sowie der drei Derivate keine verwertbare Signalbeeinflussung von Lymphknoten erzielt werden. In den beiden USPIO Resovist® -Fraktionen (22nm, 33nm) wurden weder in T1-gewichteten noch T2-gewichteten Aufnahmen eine Signalreduktion, Dosis- oder Konzentrationsabhängigkeit gesehen. Auch die Massenspektroskopie konnte nur in vereinzelt Lymphknoten einen gesteigerten Eisengehalt ermitteln, ohne Rückschluss auf eine dosisabhängige Gewebekonzentration zu geben. In den aus unterschiedlichen Lymphknotenstationen entnommenen LK (tracheal, mesenterial, popliteal) ergab sich auf ex-vivo Bildern ebenso keine auf unterschiedliche KM-Verteilung rückschließende Signalreduktion.

Erste Signalbeeinflussungen von Lymphknoten unter Einsatz eines Kontrastmittels am Kernspintomographen wurden von Weissleder et al. mit Verwendung eines superparamagnetischen Eisenoxids (AMI-25) erzielt. Es konnte lediglich mit interstitieller Applikation von 20µmol Eisen/kg KG eine Senkung der T2-Relaxationszeit von 67 msec. auf 9,5 msec. erreicht werden [23, 46, 56]. Mit USPIO (AMI-227) beschreiben Weissleder et al. erstmals nach i.v.-Gabe einen maximalen Signalverlustes in LK von 11% mit 20µmol und 19% mit 40µmol Fe/kg KG (T2w SE) bei einer Partikelgröße von 11nm. Aufgrund der kleineren Partikelgröße (11 nm) und einer höheren Dosierung wurde in der gleichen Studie ein Signalverlust von 36% (80µmol Fe/kg KG) erzielt [58]. In einer weiteren "AMI-227-Studie" mit einer Dosis von 0,3 bis 1,7mg Fe/kg Körpergewicht konnte die Signalintensität (SI) in T2-gewichteten SE-Sequenzen in Lymphknoten um 75% gesenkt werden [3]. Diese Erkenntnisse führten zu der Schlussfolgerung, je niedriger die Dosierung und größer der Partikeldurchmesser, desto geringer sei der Signalverlust. Diese Ergebnisse vorausgesetzt, wäre in dieser Studie ein Signalverlust in Lymphknoten nur bei einer Dosierung von 40µmol aufgrund des größeren Partikeldurchmessers (21nm) zu erwarten gewesen.

Als problematisch erwies sich bei der i.v. MR-Lymphographie in vorgehenden Studien die ungleiche Verteilung der Kontrastmittel in den

verschiedenen Lymphknotenstationen mit zum Teil mangelnder Anreicherung und dadurch bedingter mangelnder Kontrastierung [2, 46, 51]. Diese Ergebnisse bestätigen die auch in dieser Studie nicht kontrastierten Lymphknoten unterschiedlicher Stationen.

Weitere Untersuchungen von Weissleder et al. zeigten, dass mit Verringerung der Eisenoxid-Partikelgröße ein signifikanter Anstieg der Plasmahalbwertszeit und des T1-Effekts erzielt wird [22, 55, 57]. Somit weisen ultrakleine Eisenoxidpartikel (< 30 nm) eine deutlich verlängerte Plasmahalbwertszeit auf und werden deshalb im Vergleich zu größeren Partikeln, von Zellen des RES, besonders Lymphknoten und Knochenmark, später aufgenommen. Sie werden, wie bereits erwähnt, auch als Bloodpool-Kontrastmittel bezeichnet. Es wurde gezeigt, dass mit von bolus-injizierbarem Resovist® abgeleiteten USPIO`s ein intravaskulärer Signalverlust von über 30 Minuten erzielt werden kann [1].

Die Aufnahme des KM in Lymphknoten wiederum ist nicht nur von der Partikelgröße, sondern auch von Dosierung, der Struktur des verwendeten Kolloids und der Plasmahalbwertszeit abhängig. Ebenso spielen Muskelaktivität, regionale Unterschiede der Körpertemperatur und das Alter bei der Verteilung des KM eine Rolle wie Studien tierexperimentell nachweisen konnten [15, 40]. Eine Erklärung für eine unterbliebene Phagozytose und damit verbundene mangelnde Signalbeeinflussung von Lymphknoten wäre die Abhängigkeit von Proteinabsorption der Partikeloberfläche und ihrer anschließenden Opsonisation durch Zellen des RES [55]. Mit Reduzierung der Partikeloberfläche sinkt die Proteinabsorption und damit verbunden die Phagozytose der Partikel. Dieser Vorgang erklärt auch den allgemein geringeren Signalverlust von USPIO`s im Gegensatz zu SPIO`s bei gleicher Dosierung. So könnte lediglich eine Dosissteigerung die geringere Phagozytose ausgleichen und zu einer Kontrastierung führen.

Resovist® ist ein RES-spezifisches, bolus-injizierbares und nebenwirkungsarmes Kontrastmittel und wird im klinischen Alltag für angiografische und gewebespezifische Untersuchungen verwendet. Studien haben gezeigt, dass mit USPIO`s neben intravaskulären auch Signalbeeinflussungen von Lymphknoten und weiteren RES-Geweben

(Leber, Milz, Knochen) erzielt werden kann. In dieser Studie wurden die Parameter zur MR-Lymphographie zu klein gewählt. Zum einen könnte die Dosierung der USPIO's (10 $\mu$ mol - 40 $\mu$ mol) zu niedrig, zum anderen die kleinste Partikelgröße (21nm) für die Aufnahme in Lymphknoten zu groß gewählt sein, um eine Signalbeeinflussung zu erzielen.

Weitere Studien müssten zeigen ob mit der kleinsten Partikelgröße (21nm) und höherer Dosierung (80 $\mu$ mol / 120 $\mu$ mol) ein Signalverlust bewirkt werden kann. Alternativ wäre die Reduzierung der Partikelgröße unter 20nm mit ebenfalls steigender Dosierung in Versuchen zu testen.

Damit würde sich theoretisch die Möglichkeit eröffnen, mit einer einzigen i.v.-Applikation eine gleichzeitige Nutzbarkeit sowohl in geweblichen als auch in angiografischen Untersuchungen zu erhalten.

## **6. Literatur**

1. Allkemper, T., C. Bremer, et al. (2002). "Contrast-enhanced blood-pool MR angiography with optimized iron oxides: effect of size and dose on vascular contrast enhancement in rabbits." Radiology 223(2): 432-8.
2. Anzai, Y., K. E. Blackwell, et al. (1994). "Initial clinical experience with dextran-coated superparamagnetic iron oxide for detection of lymph node metastases in patients with head and neck cancer [see comments]." Radiology 192(3): 709-15.
3. Anzai, Y., S. McLachlan, et al. (1994). "Dextran-coated superparamagnetic iron oxide, an MR contrast agent for assessing lymph nodes in the head and neck." AJNR Am J Neuroradiol 15(1): 87-94.
4. Anzai, Y. and M. R. Prince (1997). "Iron oxide-enhanced MR lymphography: the evaluation of cervical lymph node metastases in head and neck cancer." J Magn Reson Imaging 7(1): 75-81.
5. Bellin, M. F., L. Lebleu, et al. (2003). "Evaluation of retroperitoneal and pelvic lymph node metastases with MRI and MR lymphangiography." Abdom Imaging 28(2): 155-63.
6. Bonnemain, B. (1998). "Superparamagnetic agents in magnetic resonance imaging: physicochemical characteristics and clinical applications. A review." J Drug Target 6(3): 167-74.
7. Bremer, C., T. Allkemper, et al. (1999). "RES-specific imaging of the liver and spleen with iron oxide particles designed for blood pool MR-angiography." J Magn Reson Imaging 10(3): 461-7.
8. Budzikiewicz, P. D. H. (1980). "Massenspektrometrie - Eine Einführung." 2. Auflage(Verlag Chemie).
9. Bush, C. H., C. R. Mladinich, et al. (1997). "Evaluation of an ultrasmall superparamagnetic iron oxide in MRI in a bone tumor model in rabbits." J Magn Reson Imaging 7(3): 579-84.
10. Chambon, C., O. Clement, et al. (1993). "Superparamagnetic iron oxides as positive MR contrast agents: in vitro and in vivo evidence." Magn Reson Imaging 11(4): 509-19.
11. Cihal, S., R. Maas, et al. (1999). "Ultrakleine superparamagnetische Eisenoxidpartikel: Signalverhalten und Relaxationszeiten des



- Knochenmarks nach wiederholter i.v. Applikation im Schweinmodell bei 1,5 Tesla." Rofo Fortschr Geb Rontgenstr Neuen Bildgeb Verfahr 171(2): 149-54.
12. Daldrup-Link, H. E., E. J. Rummeny, et al. (2002). "Iron-oxide-enhanced MR imaging of bone marrow in patients with non- Hodgkin's lymphoma: differentiation between tumor infiltration and hypercellular bone marrow." Eur Radiol 12(6): 1557-66.
  13. Doms, G. C., H. Hricak, et al. (1984). "Magnetic resonance imaging of the lymph nodes: comparison with CT." Radiology 153(3): 719-28.
  14. Doms, G. C., H. Hricak, et al. (1985). "Characterization of lymphadenopathy by magnetic resonance relaxation times: preliminary results." Radiology 155(3): 691-7.
  15. Elste, V., S. Wagner, et al. (1996). "Magnetic resonance lymphography in rats: effects of muscular activity and hyperthermia on the lymph node uptake of intravenously injected superparamagnetic iron oxide particles." Acad Radiol 3(8): 660-6.
  16. Ferrucci, J. T. (1991). "Liver tumor imaging: current concepts." Keio J Med 40(4): 194-205.
  17. Gandon, Y., J. F. Heautot, et al. (1991). "Superparamagnetic iron oxide: clinical time-response study." Eur J Radiol 12(3): 195-200.
  18. Hamm, B., T. Staks, et al. (1994). "Contrast-enhanced MR imaging of liver and spleen: first experience in humans with a new superparamagnetic iron oxide." J Magn Reson Imaging 4(5): 659-68.
  19. Hamm, B., R. F. Thoeni, et al. (1994). "Focal liver lesions: characterization with nonenhanced and dynamic contrast material-enhanced MR imaging." Radiology 190(2): 417-23.
  20. Hogeboom, W. R., H. J. Hoekstra, et al. (1992). "MRI or CT in the preoperative diagnosis of bone tumours." Eur J Surg Oncol 18(1): 67-72.
  21. Josephson, L., J. Lewis, et al. (1988). "The effects of iron oxides on proton relaxivity." Magn Reson Imaging 6(6): 647-53.
  22. Knollmann, F. D., J. C. Bock, et al. (1998). "Differences in predominant enhancement mechanisms of superparamagnetic iron oxide and ultrasmall superparamagnetic iron oxide for contrast-enhanced portal

- magnetic resonance angiography. Preliminary results of an animal study original investigation." Invest Radiol 33(9): 637-43.
23. McCauley, T. R., M. D. Rifkin, et al. (2002). "Pelvic lymph node visualization with MR imaging using local administration of ultra-small superparamagnetic iron oxide contrast." J Magn Reson Imaging 15(4): 492-7.
  24. McLachlan, S. J., M. Morris, et al. (1996). "Preliminary clinical experience with AMI 227." Acad Radiol 3 Suppl 2: S295-6.
  25. McLachlan, S. J., M. R. Morris, et al. (1994). "Phase I clinical evaluation of a new iron oxide MR contrast agent." J Magn Reson Imaging 4(3): 301-7.
  26. McCloud, T. C., P. M. Bourgooin, et al. (1992). "Bronchogenic carcinoma: analysis of staging in the mediastinum with CT by correlative lymph node mapping and sampling." Radiology 182(2): 319-23.
  27. Mergo, P. J., J. D. Engelken, et al. (1998). "MRI in focal liver disease: a comparison of small and ultra-small superparamagnetic iron oxide as hepatic contrast agents." J Magn Reson Imaging 8(5): 1073-8.
  28. Muller, M., P. Reimer, et al. (1998). "T1-gewichtete dynamische MRT mit neuen superparamagnetischen Eisenoxidpartikeln (Resovist): Ergebnisse einer Phantom-Studie und 25 Patienten." Rofo Fortschr Geb Rontgenstr Neuen Bildgeb Verfahr 168(3): 228-36.
  29. Reimer, P., T. Allkemper, et al. (1999). "Contrast-enhanced 3D-MRA of the upper abdomen with a bolus-injectable SPIO (SH U 555 A)." J Magn Reson Imaging 10(1): 65-71.
  30. Reimer, P., N. Jahnke, et al. (2000). "Hepatic lesion detection and characterization: value of nonenhanced MR imaging, superparamagnetic iron oxide-enhanced MR imaging, and spiral CT-ROC analysis." Radiology 217(1): 152-8.
  31. Reimer, P., K. K. Kwong, et al. (1992). "Dynamic signal intensity changes in liver with superparamagnetic MR contrast agents." J Magn Reson Imaging 2(2): 177-81.
  32. Reimer, P., E. J. Rummeny, et al. (1995). "Clinical results with Resovist: a phase 2 clinical trial." Radiology 195(2): 489-96.

33. Reimer, P. and B. Tombach (1998). "Hepatic MRI with SPIO: detection and characterization of focal liver lesions." Eur Radiol 8(7): 1198-204.
34. Reimer, P., B. Tombach, et al. (1996). "Neue MR-Kontrastmittel in der Leberdiagnostik: Erste klinische Ergebnisse mit hepatobiliärem Eovist® (Gadolinium-EOB-DTPA) und RES-spezifischem Resovist® (SH U 555 A)." Radiologe 36(2): 124-33.
35. Reimer, P., R. Weissleder, et al. (1991). "Asialoglycoprotein receptor function in benign liver disease: evaluation with MR imaging." Radiology 178(3): 769-74.
36. Reiser and Semmler (1997). "Magnetresonanztomographie."
37. Rummeny, E., R. Weissleder, et al. (1988). "MRT fokaler Leber- und Milzläsionen. Erfahrungen mit Ferrit, einem neuen RES-spezifischen MR Kontrastmittel." Radiologe 28(8): 380-6.
38. Saini, S., D. D. Stark, et al. (1987). "Ferrite particles: a superparamagnetic MR contrast agent for enhanced detection of liver carcinoma." Radiology 162(1 Pt 1): 217-22.
39. Schering (1995). "Investigator`s Brochure SHU 555 A."
40. Schnorr, J., M. Taupitz, et al. (2000). "Age-related blood half-life of particulate contrast material: experimental results with a USPIO in rats." J Magn Reson Imaging 12(5): 740-4.
41. Schroder, R. J., B. Rost, et al. (2002). "Wertigkeit der kontrastmittelverstärkten Sonographie von Lymphknotenvergrößerungen im Kopf-Hals-Bereich versus Computertomographie und Magnetresonanztomographie." Rofo Fortschr Geb Rontgenstr Neuen Bildgeb Verfahr 174(9): 1099-106.
42. Schultz, J. F., J. D. Bell, et al. (1999). "Hepatic tumor imaging using iron oxide MRI: comparison with computed tomography, clinical impact, and cost analysis." Ann Surg Oncol 6(7): 691-8.
43. Seneterre, E., R. Weissleder, et al. (1991). "Bone marrow: ultrasmall superparamagnetic iron oxide for MR imaging." Radiology 179(2): 529-33.

44. Small, W. C., R. C. Nelson, et al. (1993). "Dual contrast enhancement of both T1- and T2-weighted sequences using ultrasmall superparamagnetic iron oxide." Magn Reson Imaging 11(5): 645-54.
45. Soyer, P., M. Levesque, et al. (1993). "MRI of liver metastases from colorectal cancer vs. CT during arterial portography." J Comput Assist Tomogr 17(1): 67-74.
46. Tanoura, T., M. Bernas, et al. (1992). "MR lymphography with iron oxide compound AMI-227: studies in ferrets with filariasis." AJR Am J Roentgenol 159(4): 875-81.
47. Tomemori, T., K. Yamakado, et al. (2001). "Fast 3D dynamic MR imaging of the liver with MR SmartPrep: comparison with helical CT in detecting hypervascular hepatocellular carcinoma." Clin Imaging 25(5): 355-61.
48. Torres, G. M., N. L. Terry, et al. (1995). "MR imaging of the spleen." Magn Reson Imaging Clin N Am 3(1): 39-50.
49. Vassallo, P., C. Matei, et al. (1994). "AMI-227-enhanced MR lymphography: usefulness for differentiating reactive from tumor-bearing lymph nodes." Radiology 193(2): 501-6.
50. Vassallo, P., C. Matei, et al. (1995). "Characterization of reactive versus tumor-bearing lymph nodes with interstitial magnetic resonance lymphography in an animal model." Invest Radiol 30(12): 706-11.
51. Wagner, S., D. Pfefferer, et al. (1995). "Intravenous MR lymphography with superparamagnetic iron oxide particles: experimental studies in rats and rabbits." Eur Radiol: 640-646.
52. Wang, Y. X., S. M. Hussain, et al. (2001). "Superparamagnetic iron oxide contrast agents: physicochemical characteristics and applications in MR imaging." Eur Radiol 11(11): 2319-31.
53. Weinmann, H. J., R. C. Brasch, et al. (1984). "Characteristics of gadolinium-DTPA complex: a potential NMR contrast agent." AJR Am J Roentgenol 142(3): 619-24.
54. Weissleder, R. (1994). "Liver MR imaging with iron oxides: toward consensus and clinical practice [editorial; comment]." Radiology 193(3): 593-5.

55. Weissleder, R., A. Bogdanov, et al. (1995). "Long-circulating iron oxides for MR imaging." Adv. Drug Del. Rev. 16: 321-334.
56. Weissleder, R., G. Elizondo, et al. (1989). "Experimental lymph node metastases: enhanced detection with MR lymphography." Radiology 171(3): 835-9.
57. Weissleder, R., G. Elizondo, et al. (1990). "Ultrasmall superparamagnetic iron oxide: an intravenous contrast agent for assessing lymph nodes with MR imaging." Radiology 175(2): 494-8.
58. Weissleder, R., G. Elizondo, et al. (1990). "Ultrasmall superparamagnetic iron oxide: characterization of a new class of contrast agents for MR imaging." Radiology 175(2): 489-93.
59. Weissleder, R., P. F. Hahn, et al. (1988). "Superparamagnetic iron oxide: enhanced detection of focal splenic tumors with MR imaging." Radiology 169(2): 399-403.
60. Weissleder, R., P. F. Hahn, et al. (1987). "MR imaging of splenic metastases: ferrite-enhanced detection in rats." AJR Am J Roentgenol 149(4): 723-6.
61. Widder, D. J., W. L. Greif, et al. (1987). "Magnetite albumin microspheres: a new MR contrast material." AJR Am J Roentgenol 148(2): 399-404.
62. Yousem, D. M., P. M. Som, et al. (1992). "Central nodal necrosis and extracapsular neoplastic spread in cervical lymph nodes: MR imaging versus CT." Radiology 182(3): 753-9.
63. Zerhouni, E. A., C. Rutter, et al. (1996). "CT and MR imaging in the staging of colorectal carcinoma: report of the Radiology Diagnostic Oncology Group II." Radiology 200(2): 443-51.

## 7. Lebenslauf

Name: Jörg Bärmig

Geburtsdatum: 03.10.1972

Geburtsort: Dinslaken

Konfession: evangelisch

Familienstand: ledig

Vater: Dr. med. Henning Bärmig  
Gynäkologe  
geboren am 25.02.1941

Mutter: Roswitha Bärmig, geb. Reisberg  
Krankenschwester  
geboren am 23.03.1947

Geschwister: Mirjam Bärmig  
Erzieherin  
geboren am 10.09.1975

Schulbildung: 1979 – 1983 Nikolaus-Groß-Grundschule, Lünen  
1983 – 1992 Freiherr-vom-Stein Gymnasium,  
Lünen; Abitur im Juni 1992

Zivildienst: Januar 1993 – März 1994  
Ausbildung zum Rettungssanitäter des DRK Lünen  
und Tätigkeit im Rettungsdienst

Aufnahme des Studiums der Humanmedizin an der Westfälischen  
Wilhelms-Universität Münster im April 1994

Examina: Ärztliche Vorprüfung (Physikum) im April 1996  
1. Abschnitt der ärztlichen Prüfung im April 1997  
2. Abschnitt der ärztlichen Prüfung im April 1999  
3. Abschnitt der ärztlichen Prüfung im November 2000

Berufliche Tätigkeit: AiP der Gynäkologie und Geburtshilfe unter der  
Leitung von Prof. Dr. W. Dame in der Raphaelsklinik  
Münster von Januar 2001 – Juni 2002  
  
Assistenzarzt der Gynäkologie und Geburtshilfe  
unter der Leitung von Prof. Dr. H. Kraus / Dr. D.  
Romann im St.-Marien-Hospital Lünen seit Juli 2002

## **8. Erklärung**

Ich gebe hiermit die eidesstattliche Erklärung ab,  
dass ich meine Dissertation

### **Kontrastmittelunterstützte MRT zur Gewebedarstellung des RES unter Verwendung von SHU 555 A und dreier Derivate**

Ergebnisse einer tierexperimentellen Studie

im Institut für klinische Radiologie der  
Westfälischen-Wilhelms Universität  
unter der Leitung von

Prof. Dr. med. Peter Reimer

1. selbstständig angefertigt,
2. keine unerlaubte fremde Hilfe in Anspruch genommen,
3. nur unter Benutzung der im Literaturverzeichnis angegebenen Arbeiten angefertigt und kein anderes gedrucktes oder ungedrucktes Material verwendet,
4. sie weder in der gegenwärtigen, noch in einer Fassung einer in- oder ausländischen Fakultät als Dissertation, Semesterarbeit, Prüfungsarbeit oder zur Erlangung eines akademischen Grades vorgelegt habe.

Münster, den 28.09.2004

Jörg Bärmig  
Kronprinzenstr. 6  
48153 Münster

Jörg Bärmig

## **9. Danksagung**

An dieser Stelle möchte ich mich bei Personen bedanken, die mir einerseits für die Erstellung meiner Dissertation als auch für die Motivation von großer Bedeutung waren.

Bei Herrn Prof. Dr. Peter Reimer möchte ich mich für die zu Verfügungstellung des Themas und die damit verbundene kontinuierliche Unterstützung in fachlichen und wissenschaftlichen Fragen bedanken. Sein Rat und Motivation waren für mich bei der Abfassung der Promotionsschrift von entscheidender Bedeutung.

Desweiteren möchte ich Herrn Dr. Christoph Bremer und Herrn Dr. Thomas Allkemper für die Durchführung der Versuchsreihen danken, für die sie etliche Nächte opfern mussten, sowie für Ihren freundschaftlichen Rat und die tatkräftige Unterstützung im Rahmen der statistischen Auswertung.

Dem radiologischen Team des Hauses Rosenbach für Ihre Geduld während vieler abendlicher / nächtlicher Messreihen am MRT.

Natürlich möchte ich meinen Eltern und meiner Großmutter danken, die mich mit sanften Druck immer wieder neu angespornt haben.

Und nicht zuletzt bei meiner Ehefrau, die mir immer wieder bei der Erstellung und Formulierung des Textes eine große Hilfe war und mich in jeder Phase der Arbeit unterstützt hat.



## 10. Versuchsgenehmigung

### Bezirksregierung Münster

Bezirksregierung Münster . 48128 Münster

Gegen Empfangsbekanntnis  
Westfälische Wilhelms-Universität Münster  
Institut für klinische Radiologie  
Herrn Priv.Doz. Dr. P. Reimer  
Albert-Schweitzer-Straße 33

48129 Münster

Dienstgebäude  
Alter Steinweg 22-24  
Telefon: (0251) 411-0  
Durchwahl: 2110  
Zimmer: G 106  
Frau Möllers

Aktenzeichen  
23.0835.1.0 ( 67/96 )

 Dezember 1996

Betr.: Tierschutz;  
hier: Durchführung von Versuchen an Wirbeltieren

Bezug: Ihr Antrag vom 14.11.1996

### G e n e h m i g u n g s b e s c h e i d :

Sehr geehrter Herr Dr. Reimer,

gemäß § 8 Tierschutzgesetz (TierSchG) in der Neufassung vom 17. Februar 1993 (BGBI. I S. 254) in geltender Fassung wird Ihnen die Genehmigung zur Durchführung nachstehenden Versuchsvorhabens erteilt:

**Bildgebungsqualität der Kontrastmittel-gestützten Magnetresonanzangiographie mit ultrakleinen Eisenoxydpartikeln selektiver Partikelgröße und Relaxivität im Kleintiermodell.**

Leiter des Versuchsvorhabens und sein Stellvertreter sind:

Herr  
Priv.Doz. Dr. P. Reimer  
Institut für  
klinische Radiologie  
Albert-Schweitzer-Str. 33

48129 Münster

Herr  
Priv.Doz. Dr. E. Rummeny  
Institut für  
klinische Radiologie  
Albert-Schweitzer-Str. 33

48129 Münster

Diese Genehmigung gilt bis zum 31. 12. 1997.

Zur Durchführung des Versuchsvorhabens dürfen folgende Tiere verwendet werden:

60 Kaninchen.

Auflagen:

Mit dem Versuchsvorhaben darf erst nach Vorliegen dieser Genehmigung begonnen werden.

Sofern der Leiter des Versuchsvorhabens oder sein Stellvertreter wechselt, ist mir dieser Wechsel unverzüglich anzuzeigen.

Diese Genehmigung wird zurückgenommen, wenn bei der Erteilung die Voraussetzungen nach § 8 Abs. 3 TierSchG nicht gegeben waren.

Sie wird widerrufen, wenn die Voraussetzungen nach § 8 Abs. 3 TierSchG nicht mehr gegeben sind und dem Mangel nicht innerhalb einer von mir zu bestimmenden Frist abgeholfen wird; sie kann widerrufen werden, wenn ihre Bedingungen und Auflagen nicht erfüllt werden oder den Vorschriften des § 9 Abs. 2 TierSchG wiederholt oder grob zuwidergehandelt worden ist.

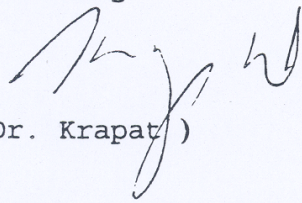
Da das Versuchsvorhaben überwiegend im öffentlichen Interesse erfolgt, wird von der Erhebung einer Verwaltungsgebühr Abstand genommen.

Rechtsbehelfsbelehrung:

Gegen diesen Bescheid kann innerhalb eines Monats nach Bekanntgabe Widerspruch erhoben werden. Der Widerspruch ist bei mir unter der oben genannten Anschrift schriftlich oder zur Niederschrift einzureichen.

Sollte die Frist durch das Verschulden eines von Ihnen Bevollmächtigten versäumt werden, so würde dessen Verschulden Ihnen zugerechnet werden.

Mit freundlichen Grüßen  
Im Auftrag

  
( Dr. Krapatz )