

Aus dem Medizinischen Zentrum für Radiologie
der Philipps-Universität Marburg

Abteilung für Strahlendiagnostik
Direktor: Prof. Dr. K.J. Klose

Des Fachbereichs Medizin der Philipps-Universität Marburg
In Zusammenarbeit mit dem Universitätsklinikum Gießen und Marburg GmbH,
Standort Marburg



Analyse von Tumormausmodellen mittels dynamischer MRT und einer dedizierten Softwareplattform

Inaugural-Dissertation zur Erlangung
des Doktorgrades der gesamten Humanmedizin

dem Fachbereich Humanmedizin
der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von

Elisabeth Maurer

aus Regensburg

Marburg 2008

Angenommen vom Fachbereich Medizin der Philipps-Universität Marburg am
6.3. 2008

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs.

Dekan: Prof. Dr. M. Rothmund

Referent: Prof. Dr. H. Alfke

Korreferent: Prof. Dr. V. Klingmüller

INHALTSVERZEICHNIS

1.	Einleitung	
1.1	Epidemiologie maligner Neoplasien des exokrinen Pankreas.....	1
1.2	Therapiekonzepte.....	2
1.2.1	Adjuvante Therapiekonzepte.....	3
1.2.2	Therapie des irresektablen Pankreaskarzinom.....	4
1.2.3	Tumormetastasierung.....	5
1.2.4	Neuartige Therapiestrategien.....	7
1.3	Bildgebende Verfahren.....	8
1.4	RECIST/WHO Kriterien.....	9
1.5	Angiogenese.....	10
1.6	Anti-Angiogenese.....	13
1.7	Bildgebende Verfahren zur Angiogenese.....	15
1.7.1	Magnetresonanztomographie.....	18
1.7.2	Kontrastmittel.....	19
1.8	Zielsetzung.....	23
2.	Material und Methoden	
2.1	Verwendete Tierstämme.....	25
2.2	Tierhaltung.....	25
2.3	Tumorzelllinien.....	26
2.4	Anästhesie.....	27
2.5	Kernspintomographie/ILAB.....	28
2.6	Färbung.....	37

2.7	Statistik.....	37
3.	Ergebnisse.....	38
4.	Diskussion.....	53
5.	Zusammenfassung.....	65
6.	Literaturverzeichnis	66
7.	Anhang	83
7.1	Verzeichnis meiner akademischen Lehrer.....	83
7.2	Danksagung.....	84

1. Einleitung

1.1 Epidemiologie maligner Neoplasien des exokrinen Pankreas

In den Industrienationen stellen Krebserkrankungen nach den Herz-Kreislaufkrankungen die zweithäufigste Todesursache dar. Im Jahr 2000 gab das Robert-Koch-Institut eine Schätzung bekannt, nachdem die Zahl der jährlichen Neuerkrankungen bezüglich des Pankreaskarzinoms bei Männern über 5700, bei Frauen sogar 7700 beträgt [Robert-Koch-Institut 2006]. Das Pankreaskarzinom ist für etwa 5,8 % aller Krebstodesfälle verantwortlich und ist damit die fünfhäufigste Krebstodesursache bei Männern, die vierthäufigste bei Frauen. Das mittlere Erkrankungsalter liegt für Männer bei über 68, für Frauen bei 75 Jahren und damit jeweils höher als das Durchschnittsalter für Krebserkrankungen im Allgemeinen [Ghadirian 2003; Mayer 2001].

Auch bei den unter 60-jährigen hat sich gegenüber der letzten Schätzung von 1993 vor allem bei Frauen die Zahl der Neuerkrankungen am Pankreaskarzinom erhöht. Als Risikofaktoren werden Rauchen und der gesteigerte Konsum von tierischen Fetten diskutiert. Ein Zusammenhang zwischen Alkoholkonsum und dem Pankreaskarzinom konnte in einer Fall-Kontrollstudie aus Italien im Jahr 1997 nicht festgestellt werden. Ferner werden Diabetes mellitus, Koffein, eine familiäre Disposition, sowie chronische Pankreatitiden als potentielle Risikofaktoren diskutiert [Mayer 2001; Bardeesy 2002; Lowenfels 2005; Rocha Lima 2002; Warshaw 1992; Yeo 2002; Tavani 1997].

Bei einem Vergleich von 60 unterschiedlichen malignen Tumorarten durch das Annual Cancer Statistics Review zeigte sich für das Pankreaskarzinom mit einer 5-Jahres-Überlebensrate von lediglich 2-5% die schlechteste Prognose [Rocha Lima 2002]. Das Pankreaskarzinom stellt in den westlichen Ländern die viert- bis fünfhäufigste Todesursache bei bösartigen Neubildungen dar, wobei die unkorrigierte MÜZ (mittlere Überlebenszeit) nach Diagnosestellung bei 3-5 Monaten liegt. Nach einem Jahr sind etwa 90% der Patienten verstorben. Nach R0-Resektion liegt die MÜZ bei diesen Patienten bei 12-20 Monate. Im beschriebenen Patientenkollektiv liegt die 5-Jahres-Überlebensrate (5-JÜR) bei 10-38%. In der Literatur wird lediglich über 150 Patienten mit einem histologisch gesicherten Pankreaskarzinom und einer Überlebenszeit von mehr als 10

Jahren nach Diagnosestellung berichtet. Nur 12 dieser Patienten wurden nicht chirurgisch therapiert.

Nur durch die radikale Resektion kann eine dauerhafte Heilung beim Pankreaskarzinom erzielt werden. Trotz einer Steigerung der Resektionsraten von ursprünglich 10-15% auf nun etwa 40%, ist die 5-Jahres-Überlebensrate nach wie vor wenig befriedigend. Die Hauptursache für die ungünstige Prognose des Pankreaskarzinoms ist ein trotz R0-Resektion auftretendes Lokalrezidiv und eine Metastasierung, die in der Regel innerhalb von 3 Monaten zum Tode führt [Lockhart 2005; Beger 1995; Wagner 2004; Porta 2005].

In den USA wird die Situation anhand der existierenden Krebsregister noch dramatischer eingeschätzt. Während sich die Erkrankungen am Herzkreislaufsystem auf Grund verbesserter Aufklärung und Prävention der Bevölkerung verringerten, nimmt die Inzidenz von Krebserkrankungen zu. In den USA steht das Pankreaskarzinom an vierter Stelle aller Krebstodesursachen.

1.2 Therapiekonzepte

Das Wissen über die Entstehung von Tumoren bezüglich der Ursachen hat sich in den vergangenen Jahren deutlich verbessert. Jedoch konnten diese Erkenntnisse nur geringfügig für neue Therapieansätze angewandt werden. Die drei wichtigsten Behandlungsstrategien sind immer noch die Resektion, die Chemotherapie und die Strahlentherapie. Dabei bietet die Chirurgie ein hohes Maß an Radikalität, allerdings gestaltet sich aufgrund der topographischen Lage des Tumors innerhalb der Drüse und die Lage in Bezug zur Umgebung bereits die Diagnostik schwierig. Oft sind die Organgrenzen des Pankreas durch den Tumor überschritten und die Resektionsmöglichkeiten ungewiss und schwierig. Infolge geringer Ansprechraten des Pankreaskarzinoms auf konventionelle Radio- und Chemotherapien und einer nur geringen Verlängerung der Überlebenszeit bei gleichzeitig starken Nebenwirkungen, haben sich weder adjuvante noch neoadjuvante Therapiekonzepte bislang durchsetzen können. Es gibt zur Zeit keine allgemein anerkannte Chemotherapie beim postoperativen Tumorrezidiv [Wray 2005; Wanebo 1996; Schneider 2005].

1.2.1 Adjuvante Therapiekonzepte

Mit dem Ziel der Reduktion der Lokalrezidivrate nach einer R0-Resektion des Pankreaskarzinoms werden in einigen Kliniken die Radiotherapie und die Chemotherapie zur Prognoseverbesserung eingesetzt. Allerdings führen diese infolge starker Nebenwirkungen zu einer deutlichen Beeinträchtigung der Lebensqualität bei eingeschränkten Erfolgsaussichten. Als adjuvante Verfahren werden die perkutane Bestrahlungstechnik (RT) und die intraoperative Radiotherapie (ioRT) eingesetzt. In einer vergleichenden Studie von Shipley et al bezüglich ioRT versus perkutaner RT zeigte sich kein Unterschied hinsichtlich der Überlebenszeit, allerdings wurde eine bessere lokale Tumorkontrolle nach der ioRT beschrieben [Shipley 1984]. In einer randomisierten Studie von Dobelbower et al. wurden die Überlebenszeitraten beim kurativ resezierbaren Pankreaskarzinom nach einer alleinigen Resektion, nach einer Resektion + adjuvanten ioRT und nach einer Resektion + ioRT + adjuvante perkutanen Radiotherapie miteinander verglichen [Dobelbower 1991]. Hierbei zeigte sich ein längeres medianes Überleben unter der letztgenannten Therapie (4 versus 3,5 versus 10,5 Monate). Allerdings wird unter einer ioRT über eine erhöhte Rate von Komplikationen berichtet. Neben der Radiotherapie werden auch adjuvante Chemotherapiekonzepte beim Pankreaskarzinom eingesetzt. Diesbezüglich berichten Kalser et al in einer randomisierten Studie über eine verlängerte mediane Überlebenszeit nach einer Radiotherapie (40 Gray) + 5-Fluorouracil (5-FU) im Vergleich zu einer nur kurativ resezierten Patientengruppe (20 versus 11 Monate) [Kalser 1985]. Dies zeigte sich ebenfalls in einer erhöhten 2-Jahres-Überlebenszeitrate (43 versus 18%). In einer Studie von Yasui et al wurde die adjuvante ioRT (33 Gray) mit einer adjuvanten ioRT + 5-FU, Methotrexat + Leukoverin verglichen [Yasui 1992]. Hierbei war auch unter der Radiochemotherapie die Überlebenszeit verlängert, allerdings zeigten sich geringere mediane Überlebenszeiten (4,8 und 8,5 Monate) im Vergleich zur vorgenannten Studie.

1.2.2 Therapie des irresektablen Pankreaskarzinom

Beim Vergleich der Überlebenszeitraten nach einer kombinierten Radio-Chemotherapie mit den jeweiligen Einzeltherapien berichteten Moertel et al über einen Überlebensvorteil unter der Kombinationstherapie [Moertel 1992]. Die mediane Überlebenszeit hatte hier 9,6 versus 5,2 Monate beziehungsweise 6,5 versus 5,1 Monate betragen. Auch unter Anwendung hochdosierter Chemotherapiekonzepte wurden bisher keine Vorteile bezüglich des Überlebens beobachtet. Die mittlere Lebenserwartung bei einem metastasierenden Adenokarzinom des Pankreas liegt ohne Therapie bei 3,5 Monaten. Die Chemotherapieverfahren bewirken insgesamt nur eine Überlebensverlängerung von wenigen Monaten bei gleichzeitig starken Nebenwirkungen [El-Rayes 2003; Okusada 2004; Gastrointestinal Tumor Study Group 1985]. Die wirksamste Monosubstanz zur Therapie des metastasierenden Adenokarzinoms des Pankreas ist 5-Fluorouracil (5-FU). Bei einer vergleichenden Studie von Cullinan an 184 Patienten ergab sich für die Polychemotherapieverfahren kein besseres Überleben als für die Monotherapie [Cullinan 1990]. In Studien zur Polychemotherapie beobachteten Gattani, Rothman und Verhees mediane Überlebenszeiten zwischen 2,5 und 14 Monaten [Gattani 1992; Rothman 1991; Verhees 1990]. In randomisierten Studien wird eine mediane Überlebenszeit zwischen 2 und 6,5 Monaten angegeben. Auch die Applikation von 5-FU mit Leukoverin oder Alpha-Interferon führte zu keinen besseren Ergebnissen. Die nur geringen Unterschiede hinsichtlich der medianen Überlebenszeit scheinen durch die teilweise nur geringen Fallzahlen der Therapiegruppen bedingt zu sein. Alternativ werden Patienten mit einem fortgeschrittenen Pankreaskarzinom mit Gemcitabine behandelt. In einer klinischen Studie von Popescu et al führte dies zwar nur bei 23,8% der Patienten zu einem klinischen Benefit, allerdings war dieser Anteil im Vergleich zu einer ausschließlich mit 5-FU behandelten Patientengruppe erhöht (23,8% versus 4,8%) [Popescu 1997]. Ferner zeigte sich unter Gemcitabinen gegenüber 5-FU eine gering verbesserte Überlebenszeit (5,6 versus 4,4 Monate). Diese Ergebnisse werden durch Gelber bestätigt, der unter einer Gemcitabin-Therapie bei 27% der Patienten eine verbesserte Lebensqualität beobachtete [Gelber 1996]. Ferner beschreiben Ulrich et al eine Response-Rate von 21% bei einer medianen Überlebenszeit von 8,8 Monaten

[Ulrich 2000]. Hierbei handelt es sich um eine Phase-II-Studie, die als Multicenter-Studie bei Patienten mit einem metastasierten Pankreaskarzinom durchgeführt wurde. Obwohl Gemcitabine im Vergleich zu 5-FU vom Patienten besser toleriert werden, wird auch hier über deutliche Nebenwirkungen berichtet. Diesbezüglich beschreibt Moore sowohl hämatologische (Granulozytopenie, Anämie) als auch zahlreiche klinische Nebenwirkungen wie Übelkeit, Erbrechen, Kopfschmerzen oder Myalgien [Moore 1996].

1.2.3 Tumormetastasierung

Die Tumormetastasierung besteht aus einer Vielzahl komplexer, interagierender Einzelschritte, wobei ein jeder dieser Schritte für die Metastasenentstehung limitierend sein kann. Die metastastische Kaskade beginnt mit der Loslösung von Karzinomzellen aus dem epithelialen Verband durch Verlust der Zell-Zell-Adhäsion, der Invasion der extrazellulären Matrix durch Proteolyse sowie durch Eintritt ins Blut- bzw. Lymphsystem. In der Zirkulation müssen Tumorzellen der immunologischen Abwehr entgehen und im Gefäßbett des Metastasierungsorgans am Endothel adhären. Dort verlassen sie das Gefäßsystem, invadieren in das Zielorgan und beginnen dort zu proliferieren. Die Metastasierung ist somit ein multifaktorieller Prozeß, der vieler Zell-Zell- und Zell-Matrix-Interaktionen, immunologischer Escapemechanismen und Neoangiogenese bedarf um erfolgreich Metastasen in primärtumorfernen Organen zu etablieren (**Abbildung 1**). Um Metastasen auszubilden müssen die Tumorzellen jeden Schritt der Metastasierungskaskade durchlaufen. Bleiben ein oder mehrere Schritte aus, kommt es zur Elimination der Zellen. Eine Zelle, die z.B. Neoangiogenese induziert, aber immobil ist, wird keine Metastasen bilden können. Die Vorhersage des Metastasierungspotentials macht daher die Analyse einer Vielzahl von Einzelparametern erforderlich [Weidner 1991; Machianini 1992; Weidner 1993].

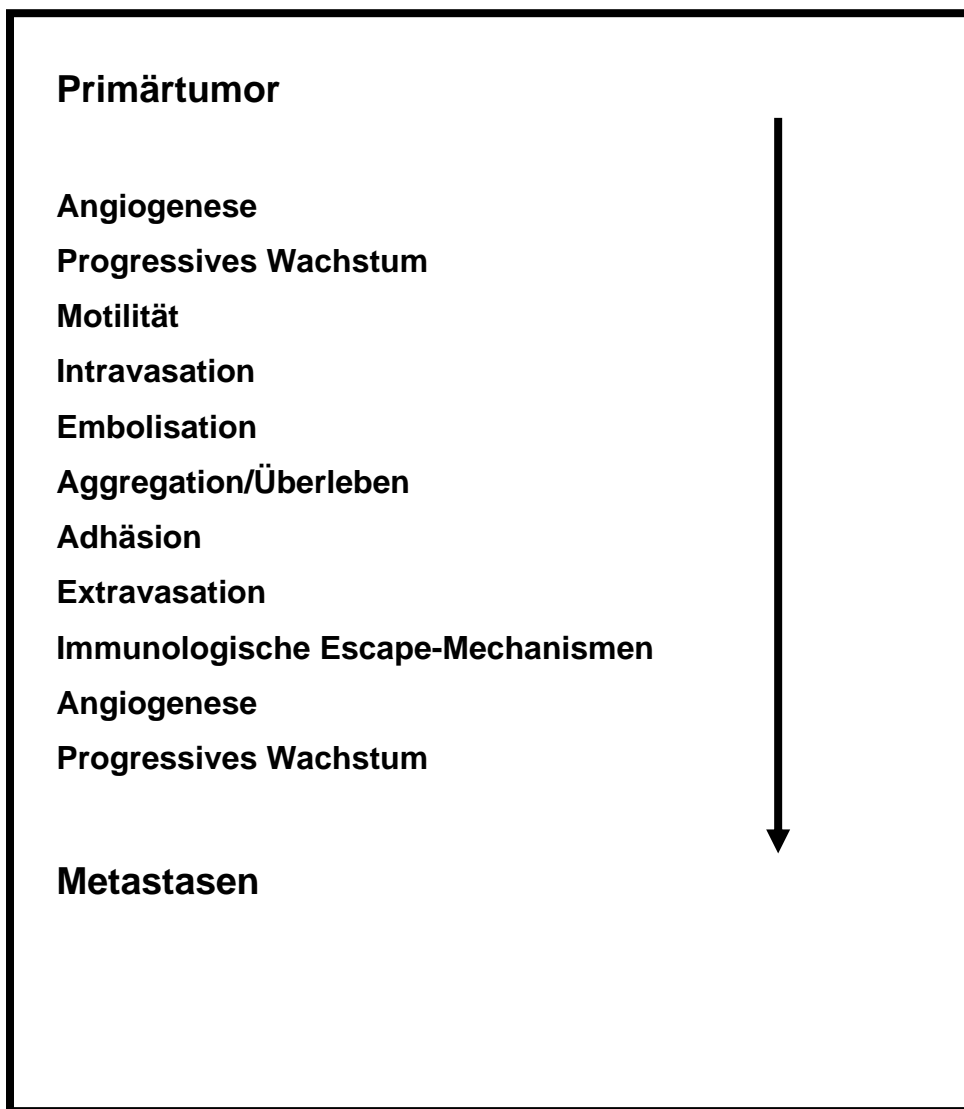


Abbildung 1.

Metastasierungskaskade

Zahlreiche angiogeneseaktivierende Faktoren sind beim Pankreaskarzinom überexprimiert z.B. Angiogenin. Das Absetzen der Tumorzellen vom Primärtumor und die Invasion in die Umgebung bedeuten den zweiten Schritt in der Metastasierung. Biologisch erreichen dies die Tumorzellen durch die Änderung der Expression und Funktion sog. Adhäsionsmoleküle z.B. Verlust der E-Cadherinexpression oder Neuexpression von ICAM-a. Die aktive Verdauung und Degradation von extrazellulärer Matrix sind ein weiterer bedeutender Schritt auf dem Weg zur Metastasierung. Dafür produzieren Pankreaskarzinomzellen

eine Vielzahl von Enzymen (z.B. Kollagenasen, Urokinase). Durch diese Mechanismen wandern die Tumorzellen in die Umgebung aus, gelangen in das Gefäßsystem und werden im Organismus verteilt.

1.2.4 Neuartige Therapiestrategien

Neben der zytotoxischen und zytostatischen Therapie von Neoplasien wurden in den letzten Jahren neue Strategien zur Behandlung insbesondere von Tumorerkrankungen entwickelt: die Zerstörung des den Tumor versorgenden Gefäßnetzwerkes bzw. die Hemmung der Gefäßneubildung zur Versorgung einer wachsenden Gewebsneubildung (Anti-Angiogenese) sowie gentherapeutische Ansätze. Primäres Therapieziel ist es hier, die Auswirkungen genetischer Fehlfunktionen wie Überexpression oder Mutationen von Onkogenen einzudämmen, zum Beispiel durch Einschleusen geeigneter Tumorsuppressorgene wie p53 oder mit Hilfe von Antisense-Molekülen gegen die Onkogen-Transkripte. Weitere Ansätze sehen den Einsatz der Gentherapie zur Verbesserung der Tumormunität beziehungsweise zur Tumorstabilisierung vor. Die meisten Studien sehen den Transport von Zytokin-Genen vor, entweder in die Tumorzellen selbst oder in Fibroblasten als lokale Produzenten immunstimulierender Zytokine wie GM-CSF, IL-2, IL-4, IL-7, Tumornekrose-Faktor oder γ -Interferon [Augustin 1998; Brower 1999; Dietmar 2004; Folkman 1971; Prox 2003; Cohen 1999].

Es gibt bislang keine allgemeine Krebsdiagnostik, also keine Tests, die generell das Vorhandensein eines malignen Tumors anzeigen. Die Diagnostik ist immer organ- und tumorspezifisch und bedient sich der für das betroffene Organ und den betreffenden Tumor geeigneten Hilfsmittel. Nur die Histologie ergibt eine präzise und definitive Tumordiagnose.

Erschwerend kommt hinzu, dass nicht nur typische Frühsymptome fehlen - zumindest beim duktalem Pankreaskarzinom - es gibt auch keine effektive und gleichzeitig wenig invasive Screening-Diagnostik. Auch bei symptomatischen Patienten und nachweisbaren Tumoren stößt die Diagnostik häufig schnell an Grenzen hinsichtlich Artdiagnose und/oder lokaler Resektabilität.

1.3 Bildgebende Verfahren

Die Magnetresonanztomographie (MRT), die Computertomographie (CT) und die Sonographie beziehen sich in erster Linie auf physikalischen Eigenschaften des Gewebes (Absorption, Streuung, Protonendichte und Relaxationsraten). Aufgrund der kontinuierlichen technologischen Fortschritte stehen inzwischen für alle Modalitäten hochauflösende Geräte zur Verfügung, so dass in der klinischen Routine eine Darstellung der anatomischen und pathomorphologischen Strukturen mit einer Auflösung von unter einem Millimeter möglich ist. Häufig werden darüber hinaus physiologische und pathophysiologische Parameter bestimmt um die Sensitivität und Spezifität des jeweiligen diagnostischen Verfahrens zu erhöhen. Eine Beurteilung der Gefäße und/oder der lokalen Perfusion wird im Ultraschall durch die Dopplersonographie erreicht. In der CT und MRT hat sich insbesondere die dynamische Detektion der vaskulären und interstitiellen Verteilung von extrazellulären Kontrastmitteln als hilfreich erwiesen. Nach Injektion von Kontrastmitteln, die mehr oder minder selektiv durch Makrophagen oder Hepatozyten aufgenommen werden, ist in der MRT zusätzlich eine erhöhte Spezifität in der Beurteilung bestimmter Zellverbände möglich.

Die in zunehmendem Maße für die individuelle Diagnose und Therapieplanung wichtigen biologischen Charakteristika können derzeit erst durch die Analyse von bioptischen Material bestimmt werden. Die Kombination aus bildgebenden Verfahren und Histologie hat heute einen eindeutigen Einfluss auf das therapeutische Vorgehen, insbesondere im Rahmen der präoperativen Abklärung oder zur Verlaufskontrolle. Die Aussagekraft ist jedoch noch begrenzt, da die funktionelle Beurteilung der anatomisch basierten Bildgebung stark eingeschränkt ist und die Analyse von bioptischem Material keine Beurteilung der Ausdehnung und der regionalen Heterogenität erlaubt.

Durch die frühe Erkennung abnormer biochemischer Vorgänge im präklinischen Stadium und die entsprechende Behandlung sind nicht nur eine Reduktion der Morbidität und Mortalität, sondern darüber hinaus ist eine Reduktion der Prävalenz von Erkrankungen zu erwarten. Auf der Basis einer spezifischen molekularen Diagnose ist eine gezielte individuell optimierte Prävention und

Therapie denkbar. Weiterhin sollte es möglich sein, den optimalen Zeitpunkt für eine Therapie und die Effektivität der jeweiligen therapeutischen Maßnahme frühzeitig beurteilen zu können. Aus diesem Grund ist es wichtig, dass nicht invasive bildgebende Verfahren entwickelt werden, die nicht nur aufgrund anatomischer morphologischer Abnormitäten die krankhafte Veränderung erkennen, sondern auf molekularer Ebene die Voraussetzungen für frühzeitige Detektion, molekularbiologische Charakterisierung und Monitoring schaffen.

1.4 RECIST/WHO-Kriterien

Ein großer Teil der ca. 347.000 pro Jahr neu in Deutschland an Krebs erkrankenden Patienten wird, insbesondere wenn die Erkrankung schon begonnen hat Metastasen zu bilden, chemotherapeutisch behandelt. Die Computertomographie ist die am häufigsten eingesetzte Bildgebungsmodalität in der Onkologie zum Tumorstaging und Therapiemonitoring.

Die Quantifizierung von Tumorgößen ist eine zentrale klinische Fragestellung, die sich bei Diagnose, Therapieplanung, Therapiekontrolle sowohl in der Routine als auch insbesondere in klinischen Studien ergibt. Wie diese Quantifizierung am besten oder effizientesten erfolgen soll, wird seit langem und bis heute intensiv und kontrovers diskutiert.

In Studien mit Krebspatienten sind eindimensionale Messungen, durch die Mess- und Bewertungsrichtlinien der WHO (World Health Organisation) und die RECIST (Response Evaluation Criteria in solid tumors) Kriterien näher bestimmt [National Cancer Institute 2000; WHO 1979].

Nach dem von der WHO Kommission zur Vereinheitlichung der Messverfahren in klinischen Studien vorgeschlagenen Verfahren, wird der scheinbar größte axiale Durchmesser des Tumors sowie ein näherungsweise dazu senkrechter axialer Durchmesser bestimmt. Das Produkt der beiden Durchmesser wird zur Verlaufsbeurteilung verwendet.

Die RECIST Kriterien vereinfachen das klinisch mangels geeigneter Werkzeuge in der verbreiteten Befundungssoftware oft als umständlich bewertete WHO Verfahren. Verfolgt wird nur der scheinbar größte axiale Durchmesser. Tumore kleiner als 10 mm werden als nicht sinnvoll in CT-Datensätzen vermessbar

angesehen. Die Zahl der vermessenen Tumore wird auf maximal 10 pro Patient und 5 pro Organ beschränkt.

Studien zeigen, dass die für die weitere Therapie entscheidende Einteilung der Patienten in die standardisierten Kategorien aufgrund von Durchmesserbestimmungen des Tumors nur bedingt reproduzierbar ist. Die Verwendung von 3D-Volumetrieverfahren ergibt bei bis zu einem Drittel der Patienten eine andere Einteilung.

Nach RECIST Kriterien bedeutet eine Vergrößerung des Tumordurchmessers von 20% eine Tumolvolumenerhöhung um 73%. Das heißt, dass ein Therapieversagen nahezu erst ab einer Tumolvolumenverdoppelung erkannt wird. Hier stellt sich die Frage, ob die Tumolvolumetrie hier nicht einen wertvollen Beitrag zur effizienten Bewertung einer Therapiestrategie bei Krebspatienten darstellt.

Kommerzielle Befundungssoftware bietet zwar oft auch die Möglichkeit in einzelnen Schichten Konturen des Tumors zu zeichnen und die Flächen multipliziert mit dem Schichtabstand zum 3D Tumolvolumen zu integrieren. Dieses Verfahren wird aber aufgrund des erheblichen Zeitaufwandes nur in einigen klinischen Studien eingesetzt. Für den klinischen Einsatz eines Volumetriewerkzeugs ist es von entscheidender Bedeutung, dass es den Zeitaufwand zur Befundung nicht verlängert und es darüber hinaus eine gute Unterstützung zur quantitativen Verlaufsbeurteilung über mehrere Untersuchungen bietet.

1.5 Angiogenese

Ein wesentliches, gemeinsames Kriterium aller soliden Tumore ist, dass ihr Wachstum an die Vaskularisierung des Tumorgewebes gebunden ist. Das Prinzip der Angiogenese wurde in den 70er Jahren erstmals von Judah Folkman beschrieben. Er erkannte, dass sobald proliferierendes Gewebe eine Größe von $1\text{-}2\text{mm}^3$ überschreitet, die Diffusionsstrecken für Sauerstoff und Nährstoffe zu lang werden. Eine Neoangiogenese muß folglich das weitere Wachstum gewährleisten (**Abbildung 2**) [Gimbrone 1972; Folkman 1992; Brem 1976; Holmgren 1995].

Die Angiogenese selbst ist ein durchaus physiologischer Prozess, der u.a. in der Embryonalentwicklung, der Placentaentwicklung oder der Wundheilung eine wichtige Rolle spielt. Wachstum und Metastasierung solider Tumore hängen zum Teil von der Ausbildung eines neuen Blutgefäßsystems ab. Dieser Vorgang, bei dem die neuen Gefäße aus bereits bestehenden aussprossen und in den Tumor hineinwachsen bezeichnet man als Tumorangiogenese. Erst wenn die Tumorzellen in die Lage versetzt werden angiogene Faktoren zu exprimieren und zu sezernieren, kommt es zum Einsprossen neuer Blutkapillaren mit einer oftmals gestörten Gefäßpermeabilität in den Zellklon und damit zu einem massivem Wachstumsschub.

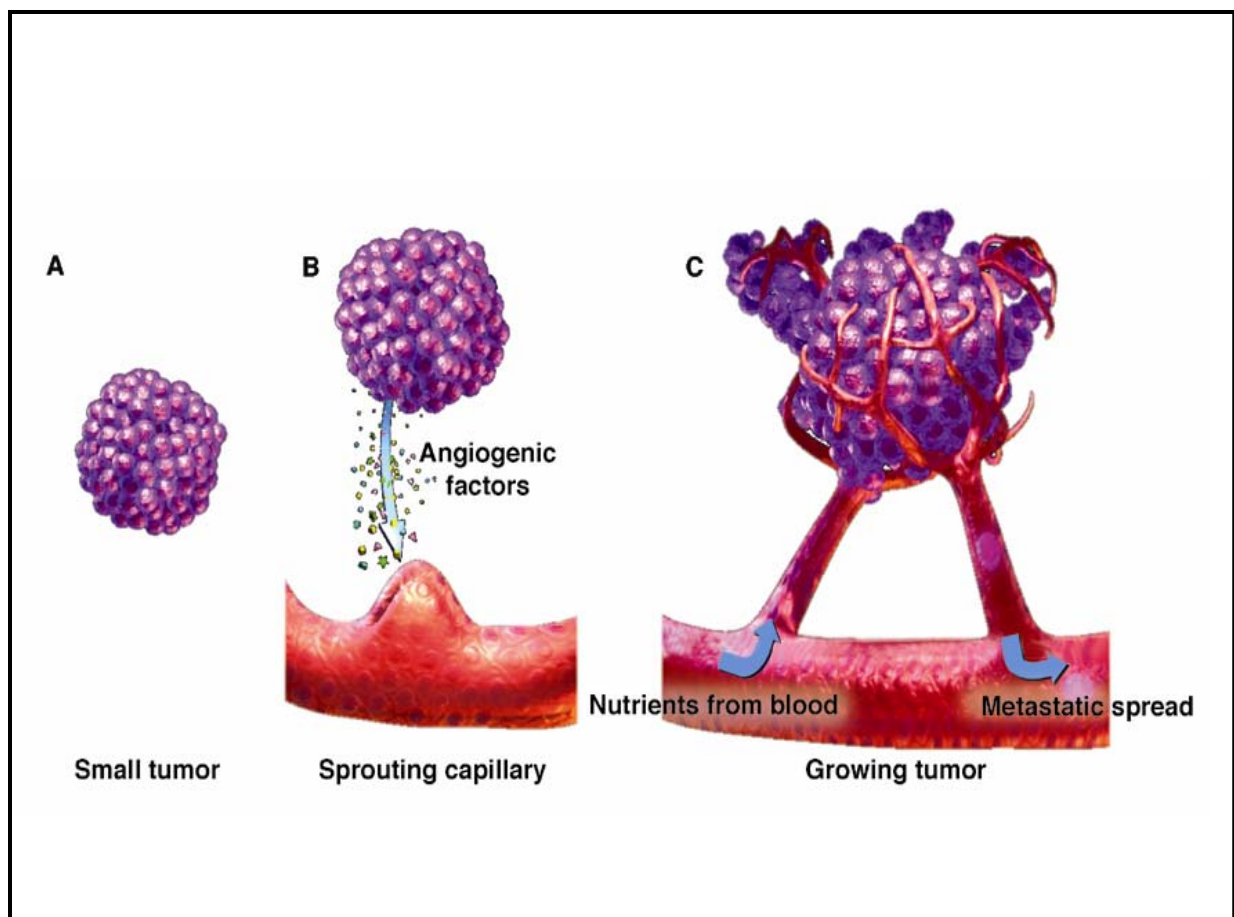


Abbildung 2.

Tumore $<1\text{cm}^3$ erhalten Sauerstoff und Nährstoffe durch Diffusion (A). Größere Tumore benötigen größere Gefäßnetzwerke. Tumore sezernieren angiogene Faktoren die Migration, Proliferation und Neoangiogenese stimulieren (B). Neovaskularisierte Tumore beziehen somit nicht länger Nährstoffe durch Diffusion und können progressiv wachsen (C). [Abbildung aus Folkman 1992]

Neben dem Perfusionseffekt ist auch die bidirektionale parakrine Stimulation des Endothelwachstums durch die Tumorzellen und das Tumorwachstum durch proliferierende Endothelien ein wichtiger Effekt der Tumorangiogenese [Hanahan 1996; Folkman 1991; Folkman 1992; Folkman 1995].

Das Gleichgewicht von positiven und negativen Regulatoren entscheidet darüber, ob Endothelien in einer vaskulären Homöostase verbleiben oder ob Neovaskularisation einsetzt. Zu den wichtigsten Induktoren von Angiogenese zählen z.B. Wachstums- und Motilitätsfaktoren, Matrix-degenerierende Enzyme sowie Matrixrezeptoren (**Tabelle 1**).

Wachstumsfaktoren und Zytokine

- Vascular endothelial growth factor (VEGF A-C)
- Fibroblast growth factor (aFGF, bFGF, int-2, K-FGF)
- Epidermal growth factor (EGF)
- Transforming growth factor (TGF-alpha, TGF-beta)
- Platelet derived growth factor (PDGF)
- Scatter factor (hepatocyte growth factor HGF)
- Interleukine (IL-1, IL-2, IL-8)
- Granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF)

Andere Proteine und Peptide

- Angiogenin
- Platelet –activating factor, (substance P)
- Integrine
- Fibrin
- Plasminogen Aktivator
- Metalloproteinasen

Andere

- Angiotropin
- Histamin
- Nikotinamid

Tabelle 1

Angiogene Induktoren

Es wurde sowohl durch *in vitro* als auch *in vivo* Experimente gezeigt, dass der Übergang zum angiogenen Phänotyp eines Tumors durch verstärkte Synthese und Export dieser Moleküle auf ganz unterschiedliche Art und Weise bewirkt wird. Endogen synthetisierte Substanzen wie bFGF und VEGF wirken über die entsprechenden, auf Endothelien exprimierten Rezeptoren als Mitogene. Neben diesen Mitogenen gibt es noch andere Angiogenese-Induktoren z.B: Matrix-degradierende Substanzen wie MMP oder Zelloberflächenmoleküle wie die Integrine. Neben Matrixdegeneration und Migration von Endothelzellen ist die Endotheladhäsion ein essentieller Schritt der Neoangiogenese. Eine wichtige Rolle wird hierbei dem Angiogenin zugeschrieben, welches von Tumorzellen sezerniert werden kann und die Adhäsion von proliferierenden Endothelien induziert.

Neben dem rein nutritiven Effekt einer Tumorperfusion durch Neoangiogenese wurde auch ein wachstumsfördernder parakriner Effekt von den Endothelzellen auf die Tumorzellen gefunden. Endotheliale Zellen sezernieren Wachstumsfaktoren, die Tumorzellwachstum stimulieren wie z.B. PDGF, IGF, Cytokine wie IL-1, IL-6, IL-8 und GM-CSF. Neben den wachstumsfördernden Effekten der Angiogenese auf Primärtumor und Metastasen hat sich gezeigt, dass der Prozeß der Metastasierung ebenfalls durch eine verstärkte Tumorgefäßdichte begünstigt wird [Ferrara 1989; Leung 1989; Keck 1989; Christofori 1996; Folkman 1992; Friesel 1995; Risau 1995; Senger 1983; Olofsson 1996; Lee 1996; Brown 1995].

1.6 Anti-Angiogenese

Die Hemmung von Angiogenese durch Gabe von Angiogeneseinhibitoren oder durch Blockade von Angiogeneseinduktoren kann möglicherweise ein effektiver Ansatz zur Hemmung von Tumor- und Metastasenwachstum werden. Inwieweit die vielversprechenden präklinischen Befunde sich klinisch umsetzen lassen, müssen weiterführende Studien zeigen. In den letzten Jahren sind eine Fülle verschiedener anti-angiogenetischer Therapieansätze entwickelt worden und derzeit sind mehr als 30 klinische Studien im Gange (**Tabelle 2**) [Vacca 1999; MA 2001; Singhal 1999; O'Reilly 1994; De Jong 2001; Neal 1985; Mendel 2000; Xu 1999; Xu 1995; Shawver 1997; mall 2002]. Die ersten klinischen Erfahrungen

zeigen eine geringe Toxizität der Therapie, eine Therapieresistenz ist bislang nicht bekannt und eine Kombination mit herkömmlichen Chemotherapeutika führt zu einer Erhöhung der therapeutischen Aktivität. Darüber hinaus hat sich gezeigt, dass auch konventionelle Chemotherapeutika in modifizierten Dosierungsschemata ebenfalls einen angiostatischen Effekt aufweisen [Browder 2000].

Antiangiogenetische Therapien verlaufen kontinuierlich über Monate, was diese Therapieform sehr kostspielig und ein effektives Monitoring des Therapieeffektes umso wichtiger macht. Der derzeitige Goldstandard zur Beurteilung der Therapieerfolges ist die immunhistochemische Evaluation der Mikrogefäßdichte in Biopsiepräparaten [Weidner 1991].

Die bildgebende Diagnostik sollte daher Methoden bereitstellen, die eine nichtinvasive Quantifizierung von angiogenetischer Tumoraktivität und ein Monitoring von anti-angiogenetischen Therapien unter Berücksichtigung des speziellen therapeutischen Ansatzes verlässlich ermöglichen.

<i>Endogene Substanzen</i>	<i>Exogene Substanzen</i>
Angiostatin	Metalloproteinasehemmer
Endostatin	TNP-470
PEX	Interferone
Interferone	Thalidomid
Interleukin-1/12	Pentosan Polysulfat
Plättchenfaktor 4	VEGF blockierende Antikörper
Thrombospondin 1	Integrin blockierende Peptide
TIMP	
2-Methoxyoestradiol	
Retinsäuren	
16K Prolaktinfragment	

Tabelle 2.

Antiangiogene Substanzen

1.7 Bildgebende Verfahren zur Angiogenese

In den letzten Jahren sind verschiedene bildgebende Methoden entwickelt worden um die angiogenetische Tumoraktivität abzubilden. Der Goldstandard zur Abschätzung dieser Aktivität eines Tumors stellt derzeit die immunhistochemische Bestimmung der Mikrogefäßdichte (MVD, microvessel density) in Tumorbiopsien dar [Hawighorst 1997]. Hierbei werden die Endothelmarker (z.B. CD 31, CD 34) immunhistochemisch angefärbt und die Anzahl an Mikrogefäßen pro Sichtfeld im Mikroskop ausgezählt. Diese Methode ist klinisch etabliert und weist eine hohe Spezifität auf. Nachteilig sind die relativ geringe Sensitivität und Untersucher-Abhängigkeit. Tumore zeigen darüber hinaus eine inhomogene Verteilung der MVD, so das einzelne Biopsien nicht repräsentativ sein können. Die wiederholte Entnahme von Tumorbiopsien unter angiostatischer Therapie ist invasiv und erhöht das Komplikationsrisiko. Des weiteren kann die angiogenetische Aktivität eines Tumors durch die Messung angiogenetischer Faktoren im Blut oder anderen Körperflüssigkeiten abgeschätzt werden. Erhöhte bFGF Werte konnten z.B. im Liquor bei Kindern mit Hirntumoren, im Serum bei Prostatakarzinompatienten sowie im Urin von Patienten mit verschiedenen Tumorerkrankungen nachgewiesen werden [Li 1994].

Die Neovaskulatur weist typische Aspekte auf, die bildgebend untersucht werden können.

- a) Kapillaren von Tumorgefäßen zeigen eine erhöhte Permeabilität
- b) Tumoren weisen insgesamt ein vermehrtes intravasales Volumen auf
- c) Ausbildung von arterio-venösen Shunts
- d) erhöhter interstitieller Druck
- e) Expression typischer Oberflächenmarker
- f) Nebeneinander von schnellen, normalen und langsamen Flüssen (chaotisches Flussmuster)

Jeder dieser verschiedenen Aspekte kann theoretisch bildgebend untersucht werden. Die allermeisten Untersuchungen, insbesondere klinischer Art, basieren auf der MRT, da hier bei exzellenter anatomischer Auflösung physiologische Informationen gewonnen werden können. Desweiteren wird im Gegensatz zur

Computertomographie weniger Kontrastmittel benötigt und die MRT gilt aufgrund der messbaren Veränderungen im Gefäßtonus durch Kontrastmittel als schonender und besser geeignet für repetitive Messungen.

Mit der Einführung schneller sequentieller Untersuchungstechniken ist die kinetische Untersuchung des Enhancementmusters und somit des Perfusionsverhaltens von Tumoren MR-tomographisch möglich geworden. Klinisch wird dieses Vorgehen z.B. bei der Diagnostik von Mammatumoren eingesetzt, indem die Kontrastmittelanflutung in einer Läsion über die Zeit registriert wird. Ein sehr frühes Enhancement wird mit vermehrter Neovaskularisation in Verbindung gebracht [Hawighorst 1997; Griebel 1997; Frouge 1994]. Dynamische kontrastmittelgestützte MR-Untersuchungen ermöglichen somit die Charakterisierung maligner Brustläsionen mit einer hohen Sensitivität. Insgesamt ist die Betrachtung des KM-Anflutungsverhalten eine einfache, aber relativ unspezifische Methode zur Bestimmung der Neovaskularisation.

Analysen der KM-Kinetik unter Zuhilfenahme eines pharmakokinetischen 2-Kompartimenten-Modells ermöglichen die Extrapolation von Geschwindigkeitskonstanten für den Austausch von Kontrastmitteln zwischen Intravasalraum und Interstitium. Diese Koeffizienten stellen ein Maß für die Gefäßpermeabilität dar. In klinischen Studien konnte gezeigt werden, dass die Austauschrate zwischen Intravasalraum und Interstitium signifikant zwischen malignen und benignen Brustläsionen differiert. Weitere Untersuchungen zeigten darüber hinaus die prognostische Relevanz dieses Parameters. Eine Korrelation zwischen Tumolvaskularisation (MVD) und KM-Austauschrate konnte allerdings nicht nachgewiesen werden [Degani 1997; Kuhl 2000; Knopp 1999; Wasser 2003; Knopp 1994].

Typischerweise unterscheidet sich Tumolvaskularisation von physiologischen Gefäßen durch einen insgesamt erhöhten Gefäßdurchmesser. Die MRT bietet verschiedene Möglichkeiten, diese morphologischen Charakteristika zu erfassen. Der zusätzliche Signalanstieg nach Gabe von Gd-DTPA, welches schnell in das Interstitium perfundiert, gibt Auskunft über das interstitielle Volumen (interstitial volume fraction, IVF) [Weisleder 1998]. Experimentelle Untersuchungen an verschiedenen Tumorentitäten zeigen eine gute Korrelation zu den histologischen Daten für die MVD [Lewin 1999]. Andere Untersuchungen

zielen darauf ab, langzirkulierende intravaskuläre Eisenoxide zur morphologischen Untersuchung der Mikrovaskulatur heranzuziehen. Durch die starken Magnetfeldinhomogenitäten zwischen intravaskulären Eisenoxiden und Protonen im Interstitium kommt es zu ausgeprägten Suszeptibilitätsartefakten mit deutlicher Signalmindernug in T2 gewichteten Sequenzen. Die Änderung nach KM Applikation ist dabei proportional zum lokalen Blutvolumen und Blutfluß. Somit kann nicht invasiv auf die durchschnittliche Gefäßgröße innerhalb eines definierten Voxels zurückgeschlossen werden. Die Evaluierung dieser Methode im Rattengliom-Tumormodell zeigte eine exakte Korrelation der MR-tomographisch gemessenen relativen Größenrelation zwischen Tumor und grauer Substanz im Vergleich zu dem histologisch ermittelten Größenverhältnis [Dennie 1998; Boxerman 1995].

Die bisher beschriebenen Möglichkeiten der Bildgebung beruhen überwiegend auf anatomischen oder physiologischen Informationen (Blutvolumen, Blutfluß, Perfusion, Kapillarpermeabilität) [Weidner 1991; Brasch 1997; Meyer 1993]. In letzter Zeit sind darüber hinaus Anstrengungen unternommen worden, spezifische Marker der Angiogenese für die Bildgebung nutzbar zu machen. Erste Versuche, spezifische Marker der Angiogenese zu untersuchen, umfassen die Darstellung des endothelialen Integrinrezeptors $\alpha V\beta 3$ mittels MRT. Hierfür wurden paramagnetisch markierte Liposomen mit monoklonalen Antikörpern gegen den Integrinrezeptor fusioniert. Diese Methode ermöglichte ein direktes Enhancement von Neovaskulatur mit Darstellung angiogenetischer „hot spots“, die mit herkömmlicher MRT nicht erfassbar sind [Sipkins 1998].

Zielpunkt aller Bestrebungen der Darstellung von angiogenetischer Tumoraktivität sollte eine Erfassung und Beurteilung von Effekten neuer anti-angiogenetischer Tumortherapien sein. Da die antiangiogenetische Therapie in unterschiedliche Aspekte des angiogenetischen Netzwerkes eingreift, ist es derzeit allerdings unwahrscheinlich, dass eine einzelne Bildgebungsmethode ausreicht, sämtliche Therapieeffekte zu erfassen [Miller 2005; Padhani 2003].

Die wichtigsten Parameter zur biologischen Charakterisierung eines Tumors sind Proliferation, Apoptose, Metabolismus und Perfusion. Die Erfassung von Proliferation und Apoptose ist mit bildgebenden Verfahren beim Menschen schwierig; Ansätze aus den Gebieten der Nuklearmedizin bzw. der molekularen Bildgebung sind in der Erprobung, jedoch noch nicht reif für die breite

Anwendung. Für die Erfassung des Metabolismus kommen wichtige Ansätze aus der MR-Spektroskopie und der Nuklearmedizin (z.B. FDG-PET), die hier aber nicht weiter berücksichtigt werden sollen.

1.7.1 Magnetresonanztomographie (MRT)

Die Magnetresonanztomographie ermöglicht es, Schnittbilder des menschlichen Körpers in jeder Ebene zu erzeugen. Im Gegensatz zur CT und anderen Techniken, die mit Hilfe von Röntgenstrahlen Bilder herstellen, besteht nach bisherigen Erfahrungen bei einer MRT- Untersuchung kein gesundheitliches Risiko. Die Bilder entstehen durch das Magnetresonanzsignal der Wasserstoffkerne der verschiedenen Körpergewebe und machen einen hohen Weichteilkontrast möglich. Diese Resonanz wurde 1946 erstmals von Bloch [Bloch 1946] und Purcell [Purcell 1946] beschrieben und fand ihre Anwendung zunächst in der Chemie und Molekularphysik im Rahmen der spektroskopischen Strukturuntersuchung. 1973 zeigte Lauterbur, dass das Kernresonanzsignal zur Erzeugung von Schnittbildern genutzt werden kann. Damadian setzte 1977 erstmals einen MR- Tomographen zur Erzeugung von Bildern des menschlichen Körpers ein [Damadian 1977]. Danach durchlief die MRT eine rasante Entwicklung, u.a. bedingt durch Verbesserungen der Computertechnologie. Im Wesentlichen beeinflussen drei spezifische Parameter das Kernresonanzsignal in der klinischen Bildgebung:

- Dichte der Wasserstoffkerne (Spindichte)
- Spin- Gitter- Relaxationszeit T1
- Spin- Spin- Relaxationszeit T2

Die in Form von elektromagnetischen Wellen abgegebene Energie wird gemessen, verstärkt, ortskodiert und mit Hilfe von Computersystemen zu Bildern verarbeitet. Andere Effekte, die sich auf das Signal auswirken und Artefakte in den Bildern verursachen, sind v.a. die Bewegung der Kerne durch Diffusion oder Fluss im Körper. Diese Artefakte werden heutzutage nicht ausgeschaltet, sondern für die Visualisation von Phänomenen verwendet, um z.B. den Fluss der Wasserstoffkerne darzustellen.

1.7.2 Kontrastmittel

Die bildliche Darstellung anatomischer Strukturen hängt entscheidend vom Signalkontrast zwischen den einzelnen Geweben ab. Je höher dieser ist, umso genauer können einzelne Strukturen voneinander abgegrenzt werden. Die Signalintensitätsmessungen stützen sich auf das pharmakokinetische Verteilungsprinzip von Substanzen, die aus dem Intravasalraum in den Extrazellularraum diffundieren und dort aufgrund des organ- bzw. kompartmenttypischen feingeweblichen Aufbaus bzw. der Substanzeigenschaften bestimmte Gradienten erreichen [Degani 1997]. Der Einfluss von paramagnetischen Substanzen auf die Protonenrelaxation wurde schon 1946 von Bloch beschrieben. Die Darstellung der intravenösen Applikation zur Erhöhung des Gewebekontrastes folgte 1978 von Lauterbur [Lauterbur 1978]. MR-Kontrastmittel sind paramagnetische Substanzen, die durch Dipol-Dipol-Wechselwirkungen zwischen ungepaarten Elektronen und Protonen zu einer Verkürzung der longitudinalen Relaxationszeit und damit höherer Signalintensität, vor allem im T1-gewichteten Bild führen. Das gängigste kernspintomographische Kontrastmittel Magnevist® (Gd-DTPA = Gadolinium-diethylenetriamine-penta-acetic-acid) führt zu einer Verkürzung der T1- und in hohen Konzentrationen der T2-Relaxationszeit. Wegen der Toxizität der Gadoliniumionen wird es in Form eines Chelats in fester Bindung genutzt. Es diffundiert aus dem Intravasal- in den Extravasalraum, passiert nicht die intakte Blut-Hirn-Schranke und wird renal durch glomeruläre Filtration nach einer Plasmahalbwertszeit von 60-90 Minuten ausgeschieden. Es führt zu einer messbaren, ortskodierten Signaländerung, sowohl in den zu- und abführenden Gefäßen, als auch in den abhängigen Organen. Schon geringste Konzentrationen führen zu einer deutlichen Verkürzung der Relaxationszeit und starken Erhöhung der Signalintensität.

Verteilung und Gradient werden entscheidend durch die Menge und Applikationsform, die systemische und lokale Hämodynamik, Nierenfunktionsparameter, die Makro- und Mikroanatomie der Gefäße, die Kapillardichte und den Kapillaraufbau bzw. deren Schädigung und physikochemische Eigenschaften des Pharmakons bestimmt (**Abbildung 3**)

[Dawson 1990]. Die Dosierung beträgt in der Regel 0,1-0,3 mmol/kg Körpergewicht. In 1,5% der Fälle kommt es zu leichten Nebenwirkungen (Haut- und Schleimhautreaktionen, Erbrechen). Mittelschwere NW sind in 0,06% der Fälle zu erwarten (Hypotonie, Orthostase, Tachykardie) Schwere NW treten in 10^{-6} der Fälle auf (anaphylaktische Reaktion bis hin zum Schock mit kardiovaskulärem Versagen).

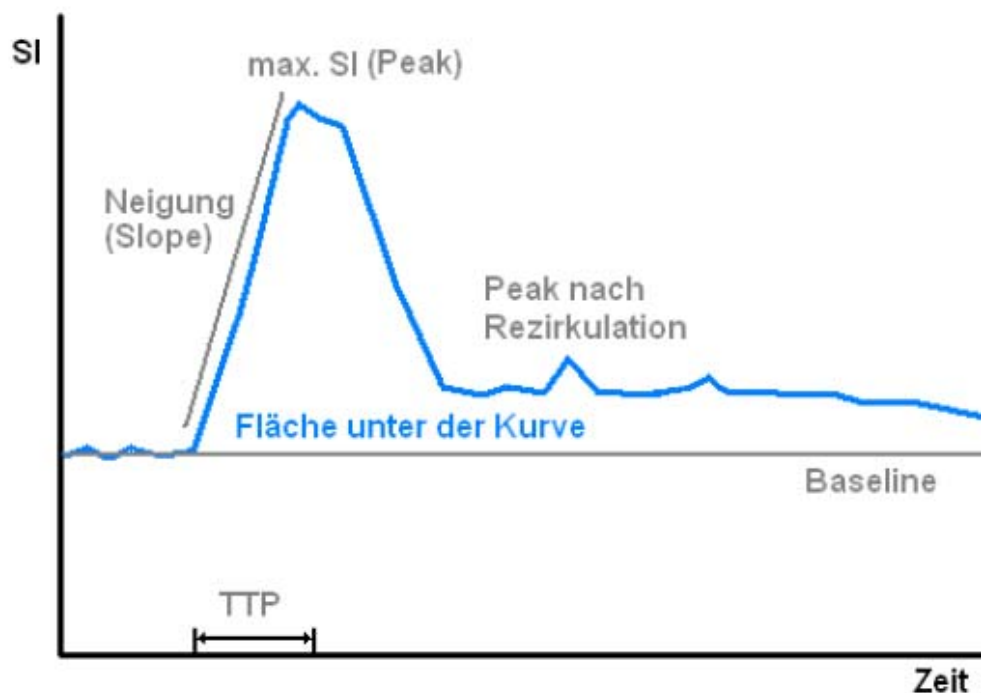


Abbildung 3

Pharmakokinetisches Prinzip der Wirkstoffverteilung. Typischer Verlauf einer schnellen intravaskulären Verteilung des KM und einige kurvenbeschreibende Merkmale.

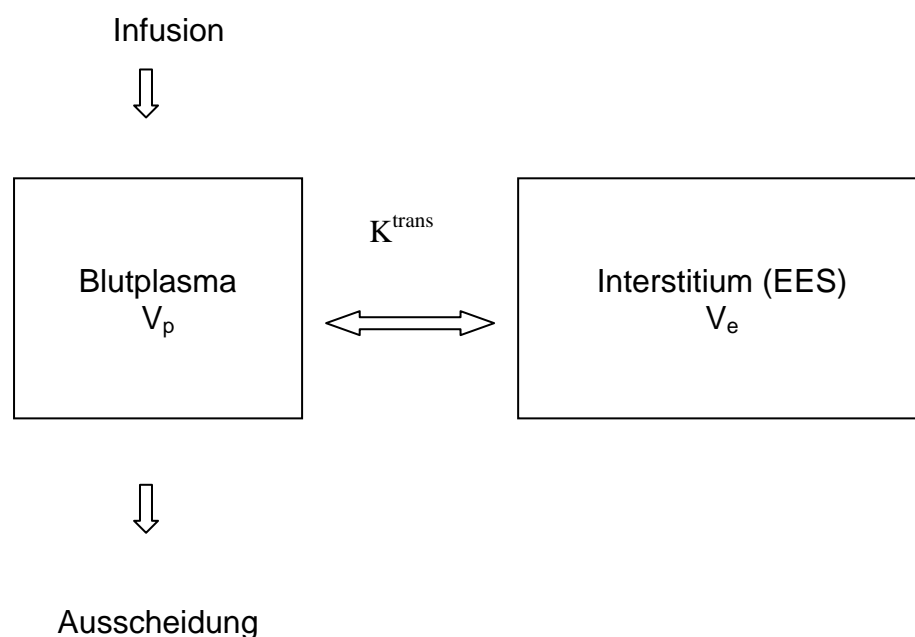
Die KM-gestützte Kernspintomographie (DCE-MRI) beruht auf wiederholter zeitversetzter Akquisition von T1 gewichteten MR-Schichtaufnahmen. Während der Datenakquisition erfolgt die Infusion eines Kontrastmittels. Das applizierte Kontrastmittel führt zu einer lokalen Änderung der T1-Relaxation und konzentrationsabhängig entsprechend zu einer lokalen Änderung der Signalintensität. Hierdurch erhält man Bilder von der Verteilung und

Anreicherung des KM im Gewebe, da der zeitliche Verlauf der Voxelintensität den Verlauf der Kontrastmittelkonzentration repräsentiert. Für die Diagnostik werden derzeit wenige überwiegend deskriptive Parameter zur Beschreibung herangezogen wie z.B: Fläche unter der Kurve (area under curve: AUC), Zeit bis zum Maximum (time to peak: TTP) oder Steigung zwischen 3 Punkten (3TP). Diese deskriptiven Parameter besitzen allerdings eingeschränkte physiologische Aussagekraft und sind abhängig von Mess- und Auswerteparametern.

Den neuen modellbasierten Ansätzen zur Auswertung der DCE-MRI liegen vereinfachte physikalische Modelle für die Beschreibung des Signalanstieges zugrunde. Die modellbasierten Ansätze zielen darauf ab, Parameter zu extrahieren, die mit physikalischen Größen korrelieren (z.B. lokale Gefäßpermeabilität).

Grundvoraussetzung ist die Verwendung von Kontrastmitteln, die sich nur in Gefäßen und im Interstitium verteilen und nicht durch Zellen aufgenommen werden, und die Annahme, dass eine Signalzunahme primär aus einer Änderung der KM-Konzentration im Interstitium resultiert.

Die Modellbasierten Ansätze betrachten diesen Vorgang somit als Diffusionsprozess zwischen 2 Kompartimenten (**Abbildung 4**).



$$(1) \quad -V_p \frac{dC_p}{dt} = K_1 \cdot (C_p - C_e) + K_2 C_p$$

$$(2) \quad -V_e \frac{dC_e}{dt} = K_1 \cdot (C_p - C_e)$$

$$(3) \quad -v_1 \frac{dC_1}{dt} = k \cdot (C_p - C_1)$$

$$(4) \quad E_p(t) = f_{enh} \left[D \cdot (a_1 \cdot e^{-m_1 t} + a_2 \cdot e^{-m_2 t}) \right]$$

$$(5) \quad E_i(t) = f_{enh} \left[D \cdot (b_1 \cdot e^{-m_1 t} + b_2 \cdot e^{-m_2 t} + b_3 \cdot e^{-K t / v_1}) \right]$$

Abbildung 4.

Pharmakokinetisches Zweikompartimentenmodell

Alle gängigen Modelle [Tofts 1991; Brix 1997 Port 2001; Tofts 1999; Kiessling 2003] basieren auf dem Grundansatz, dass dieser Diffusionsprozeß mittels Differentialgleichungen beschrieben wird. Die Lösungen dieser Differentialgleichungen liefern dann den Zeitverlauf der Konzentration im Gewebe. Die Reaktion des Gewebes ist parametrisiert durch K^{trans} und V_e und wird aus den gemessenen Kurven bestimmt. Eine weitere Voraussetzung ist die Kenntnis bzw. die Annahme über den Verlauf im Blutplasma, die sogenannte arterielle Inputfunktion (AIF). Es werden Startwerte für K^{trans} und V_e gewählt, Kurven mittels der Modellgleichungen berechnet und mit den gemessenen Kurven verglichen. Abschließend werden K^{trans} und V_e verändert bis die Kurven übereinstimmen. Hiermit werden die Parameter durch Kurvenfitting bestimmt. Der beschriebene Grundansatz beinhaltet derzeit allerdings noch gewisse Herausforderungen und Schwierigkeiten:

- Umrechnung der Signalintensität in lokale KM-Konzentration
- Bestimmung der Konzentration im Blutplasma (AIF)
- Robustheit gegenüber Fluß - und Bewegungsartefakten
- Bestimmung des intravaskulären Anteils an Signalintensität
- Interpretation/Aussagekraft der bestimmten Parameter

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die modellbasierte Auswertung Rückschlüsse auf physiologische Parameter erlaubt, die unabhängig von der

individuellen Messung sind. Alle gängigen Modellansätze besitzen einen gemeinsamen Kern und unterscheiden sich nur in der Annahme über Kontrastmittelverteilung im Blutplasma und sind auf konkrete Fragestellungen ausgerichtet.

Somit würde ein „blindes“ Adaptieren der Modelle zu systematischen Fehlern führen. In Abhängigkeit der Fragestellung muß daher vor der Anwendung geprüft werden, ob

- die Annahmen erfüllt sind,
- welche Korrekturen notwendig sind,
- und welche Aussagekraft die Parameter besitzen.

1.8 Zielsetzung

Die onkologisch orientierte Bildgebung mit Hilfe der dynamischen kontrastmittelunterstützten Kernspintomographie richtet sich zunehmend auf den Nachweis und die Differenzierung der Vaskularisierung von Neoplasien mit besonderer Aufmerksamkeit auf Gefäßpermeabilität und lokale Perfusion. Dank computerunterstützter Bildanalyse gelingt es mittlerweile, die intravasale Sauerstoffsättigung [Li 1998], die Tumordurchblutung und Endothelpermeabilität nicht invasiv zu messen [Zhu 2000]. Die Anwendung dynamischer kontrastverstärkter Kernspintomographie und die computerunterstützte Auswertung von Parameterbildern haben in der onkologischen Bildgebung gezeigt, dass es möglich ist, die Perfusion von Organen direkt zu messen.

Zur Charakterisierung der Tumorantwort auf tierexperimentelle Therapieansätze werden derzeit zur Tumorgrößenbestimmung aber überwiegend noch einfache Messmethoden (Lineal) verwendet und zusätzlich Methoden angewandt, die eine histologische Aufarbeitung der Gewebe verlangen. Mittels neuer bildgebender Methoden ist es aber möglich Tumorcharakteristika und -reaktionen anhand verschiedener Parameter nicht invasiv abzubilden. So sind neben zwei- und dreidimensionalen Messungen des Tumorgesamtvolumens, z.B. Ausmessungen von Nekrosearealen und auch die Erhebung funktioneller Parameter wie z.B. Tumordurchblutung und Gefäßdichte möglich. Mit solchen

Methoden ließen sich in Zukunft neue Modelle aufbauen, in denen alle wichtigen Parameter zur Tumorantwort über die Zeit sich nicht invasiv gewinnen lassen. Hier ist vor allem an Anwendungen im Bereich der antiangiogenetischen Tumorthherapie zu denken. Mit geeigneten Messprotokollen können die wesentlichen Parameter zu mehreren Untersuchungszeiträumen dann nicht invasiv mittels MRT gewonnen werden [Leach 2005].

Ziel der vorliegenden Arbeit war die Evaluierung der im Rahmen dieses Projektes entwickelte Softwareplattform. Diese ermöglicht das Einlesen, Nachverarbeiten und die Auswertung von funktionellen MRT-Datensätzen. Quantitative Analysen von Anreicherungskurven, pixelbasierte Falschfarbendarstellungen unterschiedlicher Parameter, der direkte Vergleich von zu unterschiedlichen Zeitpunkten erhobenen Datensätze und 3D-Darstellungen sind möglich. Des Weiteren wurden ein Zwei-Kompartimentenmodell zur Modellierung der Gewebesperfusion und eine Bewegungskorrektur implementiert. Die Evaluierung erfolgt anhand von Datensätzen, die an tumortragenden Mäusen generiert wurden.

Mit computerbasierter Auswertung der zeitbezogenen Kontrastmittelaufnahme und der Signalintensitätsänderung sollen Parameterbilder gefunden werden, die reproduzierbar zur lokalen Tumorquantifizierung verwendet werden können. Das langfristig angestrebte Ergebnis des Forschungsvorhabens soll zu der Empfehlung führen, diese Verfahren im Rahmen der onkologischen Bildgebung und zur nicht invasiven Verlaufsbeurteilung von Tumoren im Menschen anzuwenden.

Ziel der Studie ist die reproduzierbare quantitative Bestimmung der Tumormikrozirkulation, d.h. von Perfusion und Perfusionsverteilung bzw. Perfusionshomogenität im tierexperimentell erzeugten Tumor. Durch Korrelation mit dem histopathologischen Befund soll die Visualisierung und quantitative Einschätzung der Tumurvitalität mit Hilfe der gefundenen Parameter zugeordnet und bewertet werden.

2. Material und Methoden

2.1 Verwendete Tierstämme:

Für die Versuche wurden ausschließlich immundefiziente Tiere verwendet.

Die Pankreastumoren wurden in SCID Beige Mäusen (C.B-17/GbmsTac-scid-bg) der Firma M&B induziert.

SCID-Mutation: (SCID=severe combined immunodeficiency) beschreibt einen Defekt der zytotoxischen T-Zellen und der Makrophagen, gepaart mit selektiven Beeinträchtigung der Funktion der NK-Zellen.

BEIGE-Mutation: Ist eine autosomal-rezessive Mutation auf Chromosom 13 der Maus, die in einer Hypopigmentierung, erhöhter Blutungsneigung und einer Immunzellfunktionsstörung resultiert.

Der scid/scid, bg/bg Phänotyp ist durch ein Fehlen der B- und T- Lymphozyten und der funktionellen NK-Zellen und einer verlängerten Blutungszeit charakterisiert. Die Mäuse reagieren sensibel auf ionisierende Strahlung aufgrund eines Defektes in ihrem DNA-Reparatursystem. Ihr lymphatisches Gewebe ist auf ein Zehntel oder weniger der normalen Größe reduziert. Das Serum-Ig ist verringert.

Daraus ergibt sich, dass die C.B-17 SCID BEIGE Maus einen geeigneten Empfänger für Heterotransplantate darstellt und für die Untersuchung von Infektionskrankheiten verwendet wird. Humane Tumore werden kaum abgestoßen, das Tumorstadium ist aufgrund des schweren Immundefekts im Vergleich zu Nacktmäusen beschleunigt [Barbosa 1996; Froidevaux 2000; Fulop 1990].

2.2 Tierhaltung

Alle Mäuse wurden in einem speziellen Tierstall unter sterilen Bedingungen bei einer Temperatur von 24°C und einer relativen Luftfeuchtigkeit von 50-70% gehalten. Im Stall herrschten jeweils 12 Stunden Licht und 12 Stunden Dunkelheit zur Simulation eines Tag-Nacht-Rhythmus. Zwei bis maximal fünf Mäuse teilten sich einen Käfig. Die Fütterung erfolgte mit angesäuertem Wasser (HCl) und einem Zucht- und Haltungsfutter für Nackt-Ratten und -Mäuse der Firma Altromin (Altromin GmbH, Lage, Deutschland). Es handelte sich hierbei

um ein Alleinfuttermittel mit den Inhaltsstoffen Rohprotein, Rohfett, Rohfaser, Rohasche, Calcium und Phosphor. Des Weiteren waren Vitamin A, D3, E und Kupfer enthalten.

2.3 Tumorzelllinien

Es wurden zwei unterschiedliche humane Pankreasadenokarzinom-Zelllinien implantiert.

BxPC-3 ist eine mäßig bis schlecht differenzierte epitheliale, muzinproduzierende Zelllinie, die aus einer Biopsie eines humanen Adenokarzinom des Pankreas einer 61-jährigen Patientin entstanden ist. Die BxPC-3 Tumoren produzieren Mucin, CEA, human pancreas cancer-associated antigen und in geringem Maß human pancreas-specific antigen. Die Zellverdopplungszeit beträgt in der Zellkultur 48-60 Stunden [Tan 1986].

AsPC-1 ist ebenfalls eine epitheliale Zelllinie, die aus dem Aszites einer 62-jährigen Patientin mit Pankreaskopfkarcinom gewonnen wurde. Es handelt sich ebenfalls um ein Adenokarzinom des Pankreas. Die Tumore produzieren CEA, human cancer-associated antigen, human pancreas specific antigen, sowie in geringem Maß Mucin [Chen 1985].

Die Mäuse waren zum Zeitpunkt der Tumorinduktion 4-6 Wochen alt. Die Tumorzellen der Linien AsPC-1 und BxPC-3 wurden zwischen den Skapulae subkutan induziert. Hier befindet sich bei den Mäusen braunes Fettgewebe, das diese Zellen zum Anwachsen benötigen. Die Zellzahl betrug 1-5 Mio. pro Tumor in einem Volumen von 100-200µl. Das Tumorwachstum bis zu einer Größe von etwa 3x3mm dauerte bei beiden Pankreastumorzelllinien etwa 2 Wochen (**Abbildung 5**).



Abbildung 5.

Tumortragende Maus vier Wochen nach subkutaner Implantation zwischen die Scapulae.

2.4. Anästhesie

Zur Induktion einer Allgemeinanästhesie wurde den Tieren eine Mischung aus 0,8ml Ketaminhydrochlorid (Hostaket®, Intervet, Firma Bayer, Leverkusen) und 1,2ml Xylazinhydrochlorid (Rompun®2%, Firma Bayer, Leverkusen) und 8,0ml NaCl über eine 30G Injektionskanüle intraperitoneal verabreicht. Die Dosis betrug 0,1ml/10g Körpergewicht.

Die vollständig anästhesierten Tiere wurden dann entsprechend auf einer dafür vorgesehenen Vorrichtung fixiert.

Zur Kontrastmittelinjektion wurde eine Schwanzvene mittels 20G Kanüle punktiert und mit einem Verbindungsschlauch (Firma Cook, Länge 30cm) gekoppelt.

2.5. Kernspintomographie/ILAB

Die Tiere wurden im einem klinischen MRT-Gerät (Siemens Expert, 1.0 Tesla, 20mTesla/m Gradient) mittels einer eigens entwickelten, dedizierten Kleintierspule untersucht (**Abbildung 6,7**). Zur Tumorbeurteilung wurden hochauflösende T2 und PD gewichtete Bilder mittels schneller TSE Sequenzen angefertigt (TR: 26.8 ms; TE: 9.0 ms; FA: 40°; FoV: 80 mm x 40 mm; Matrix: 256 x 128; 40 Schichten, SD: 36 mm, Akquisitionszeit: 5:30 min) .

Für die Untersuchungen zur KM-Kinetik wurden schnelle Gradientenechosequenzen mit einer Zeitauflösung von < 10 sec axial durch die Tumoren gefahren (FLASH2D, TR/TE: 150/10ms, FA: 70°, FoV: 80mm x 40mm, Matrix 64 x 128, 6 Schichten, SD: 3mm, Aquisitionszeit: 12 Sekunden). Es erfolgte eine Messung vor KM-Gabe und dann Messungen nach KM-Gabe in folgender Art: In der ersten Minute alle 10 Sekunden, dann über 10 Minuten jede Minute. Die Gesamtmessdauer betrug ca. 20 Minuten. Ausgewertet wurde die KM-Kinetik innerhalb repräsentativer Tumorregion im Vergleich zu Muskelgewebe.

Die anästhesierten Tiere erhielten für die Messungen über die Schwanzvene 0,5-1 mMol/kg Gadolinium-EDTA (Magnevist) injiziert (dies entspricht 20-40µl).



Abbildung 6

Anästhesierte Nacktmaus in Kleintierspule fixiert.

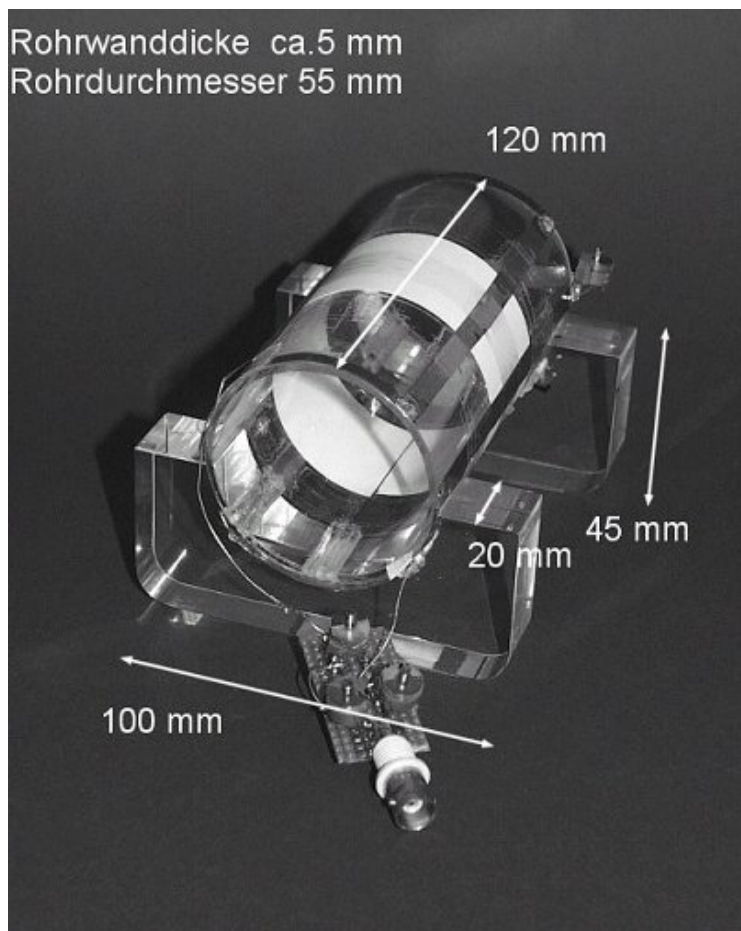


Abbildung 7
Kleintierspule

Die MRT Messungen erfolgen zu folgenden Zeitpunkten:

- Vor der Tumorinduktion
- Nach der Tumorinduktion regelmäßig bis zum Erreichen der Tumorendgröße, hieraus ergaben sich bis zu 4 Messungen. Die Messung der Tiere erfolgte in Gruppen, um eine Abgleichung zwischen experimenteller Fragestellung und Softwareanpassung zu gewährleisten.

Sämtliche Versuche an den Tieren waren durch die Tierversuchskommission der Universität genehmigt.

Die Primärdaten wurden über eine Exportfunktion von der MRT-Konsole auf den VICORA-Forschungsrechner mit integrierter ILAB Software übertragen. Dadurch konnten Übertragungsfehler durch manuelle Dateneingabe vermieden werden.

Die Auswertung der Daten erfolgte mit dem Computerprogramm Dyna Vision, das speziell für die Auswertung dynamischer Messungen für die VICORA Forschungsprojekte entwickelt wurde.

ILAB ist eine Softwareplattform zur Verarbeitung und Visualisierung medizinischer Bilder, die am *Center for Medical Diagnostic Systems and Visualization (MeVis)* in Bremen entwickelt wurde. Es ermöglicht die schnelle Entwicklung von Anwendungsprototypen für den klinischen Einsatz, basierend auf einem graphischen Programmieransatz und läuft auf Windows- und Linux-Rechnern. Dafür steht eine Vielzahl von Bildverarbeitungs-, Visualisierungs- und Interaktionsmodulen zur Verfügung, die miteinander zu mehr oder weniger komplexen Netzwerken verknüpft werden können.

Über zweidimensionale Look-Up-Tabellen kann die farblich kodierte Kontrastmittelanreicherung als physiologische Größen *Permeabilität* und *extrazelluläres Volumen* interpretiert werden. Der Algorithmus wurde dahingehend erweitert, dass sich beliebige Parameterbilddarstellungen den modellinhärenten physiologischen Größen zuordnen lassen. Dies geschieht dadurch, dass in einem vorgegebenen physiologisch sinnvollen Parameterbereich theoretische Anreicherungskurven simuliert werden und diese identisch wie die gemessenen Daten ausgewertet und farblich dargestellt werden. Mit Hilfe dieser erzeugten Kalibrationsdiagramme ist es möglich, den

Auswertungs-Algorithmus basierend auf simulierten Daten mit bekannten zugrundeliegenden physiologischen Parametern bereits vor der tatsächlichen Datenakquisition zu testen und dadurch sowohl die Parametrisierung der Auswertungskette als auch die Sequenzeinstellung der bildgebenden Modalität zu optimieren. Mit Hilfe der Kalibrationsdiagramme ist ein modellbasierter und sequenzübergreifender Vergleich von Auswertungen dynamischer MRT-Daten verschiedenen Geräte möglich, welcher insbesondere für die Auswertung der Daten im Rahmen der Tumorvitalität wichtig ist.

Die Auswertungsparameter berechneten sich direkt und indirekt aus den gemessenen Signalintensitäten. Von den Signalintensitätskurven ließen sich acht semi- quantitative Parameter berechnen:

- die maximale Kontrastmittelanreicherung (Peak Enhancement, PE). Berechnet sich aus der Differenz der Signalintensität zwischen der Baseline und dem Maximum der Kurve zwischen Messbeginn und Messende und entspricht dem Sättigungsniveau.

- die Anreicherungsgeschwindigkeit (Slope1). Berechnet sich zwischen Beginn und höchstem Punkt der Einwaschkurve und entspricht der Steigung der Einwaschkurve.

- die mittlere Anreicherungsgeschwindigkeit (mean- Intensity- to-Time-Ratio, MITR). Berechnet sich zwischen dem Startpunkt der Messreihe und dem Punkt der maximalen Intensität und entspricht der Kurvensteigung bis zum Maximalwert.

- der Zeitpunkt des Maximums (Time to Peak, TTP). Entspricht dem Messpunkt der maximalen Signalintensität.

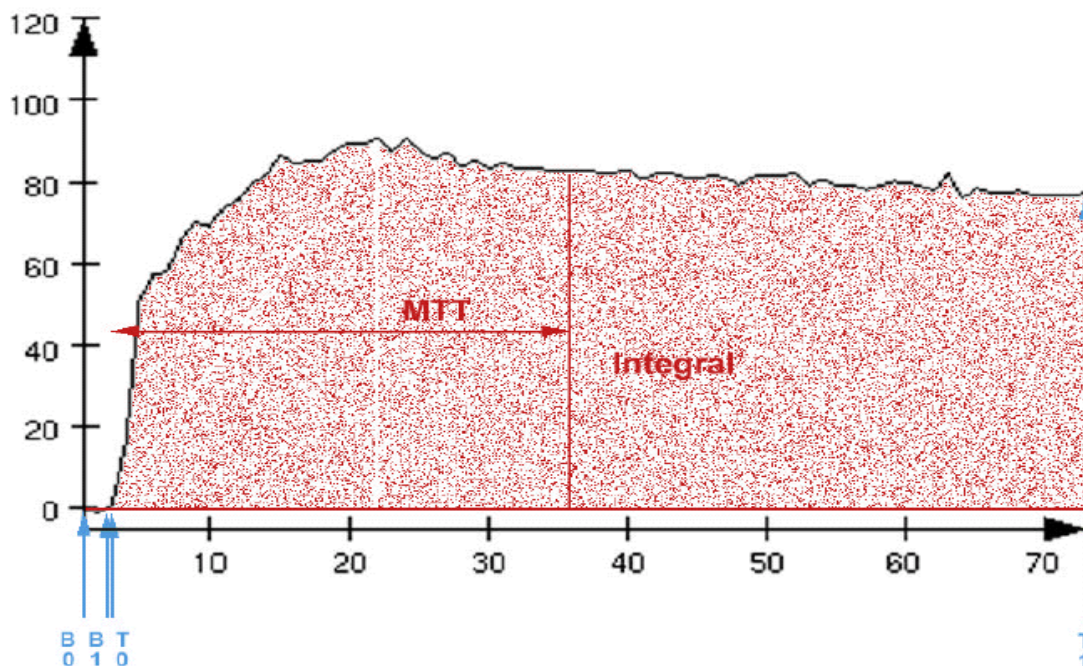
- die Auswaschgeschwindigkeit (Slope2). Berechnet sich zwischen Beginn und Ende der Auswaschkurve und entspricht der Steigung/ dem Abfall derselben.

- die mittlere Anflutungszeit des Kontrastmittels (Mean-Transit-Time, MTT). Entspricht der Fläche unter der Kurve bis zum Messpunkt der maximalen

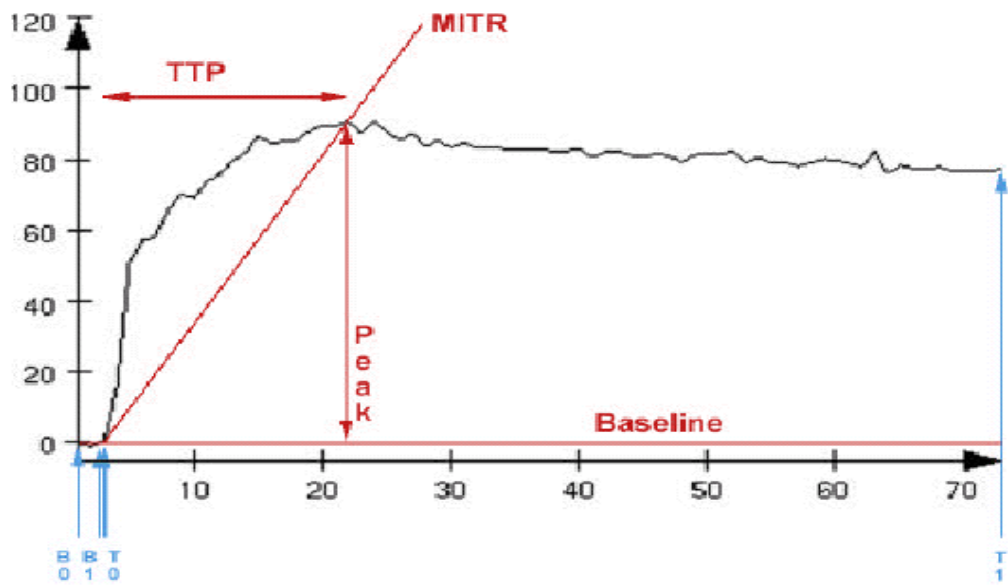
Signalintensität. Die MTT ist mit Einschränkung zu betrachten, da sie nur für Einkompartimentgewebe uneingeschränkte Aussagekraft hat. Trotzdem zeigt sie eine für das Kontrastmittel charakteristische Signalintensitätsänderung nach Anfluten.

-die Fläche unter der Kurve (Integral).

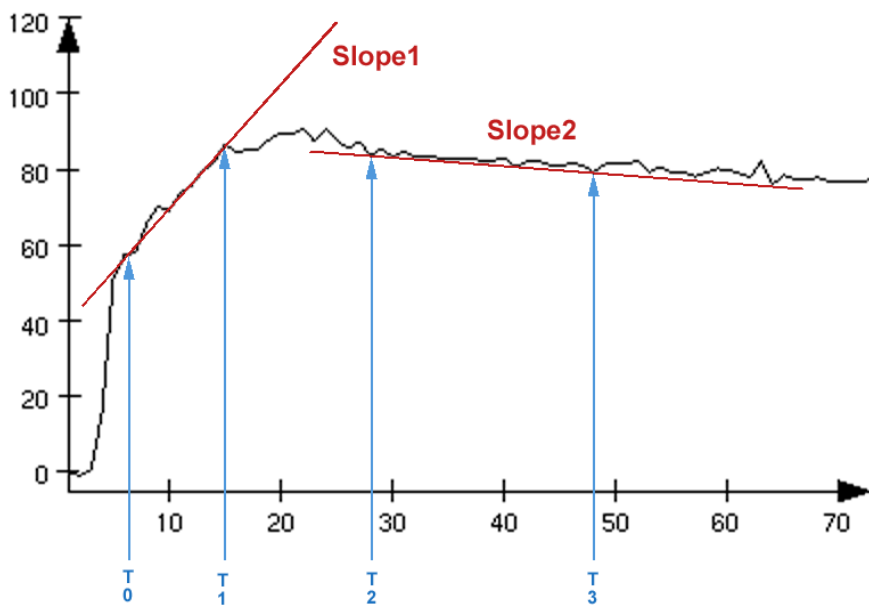
-die mittlere Signalintensität zwischen Beginn der Messung und Anfluten des Kontrastmittels (Baseline). Berechnet sich aus der Differenz des ersten Messpunktes und dem Beginn der Steigung durch Anfluten des Kontrastmittels. Um eine Baseline zu bekommen, erfolgte die Kontrastmittelgabe erst nach der 5. Messung, so dass der Beginn der Steigung zwischen der 6.- 8. Messung lag. Dieser Parameter wurde in den weiteren Auswertungen nicht weiter berücksichtigt, da ohne Kontrastmittel die Baseline der Signalintensität von nativem Gewebe entspricht und gleich 0 gesetzt wurde.



Darstellung der Parameter MTT und Integral, wobei das Integral der gesamten Fläche unter der Kurve entspricht.



Darstellung der Parameter baseline, TTP und MITR



Darstellung der Parameter slope 1 und slope 2

Parameter	Beschreibung
Peak / Peak Enhancement	Maximale relative Signalintensität bzw. Kontrastmittelkonzentration
Time to Peak (TTP)	Zeit bis zum Peak in Sekunden oder Zeitschritten
Integral	Fläche zwischen Kurve und Grundlinie
Maximum Wash-In Slope	Steilste Steigung der Kurve vor dem Peak
Maximum Wash-Out Slope	Steilste Neigung der Kurve nach dem Peak
Slope1	Anstieg der Kurve vor einem festgelegten Zeitpunkt
Slope2	Anstieg der Kurve nach einem festgelegten Zeitpunkt
Maximum Intensity to Time Ratio (MITR)	Anstieg der Kurve zwischen einem angegebenen Startpunkt und dem Punkt mit der höchsten Signalintensität zwischen dem Startpunkt und einem Endpunkt.
Blood Flow (BF)*	Blutfluss in ml/100 g/min
Blood Volume (BV)*	Blutvolumen in ml/g
Mean Transit Time (MTT)*	Mittlere Transitzeit, Verhältnis BV:BF in min

Tabelle 3

Typische Parameter einer dynamischen Studie, die aus Signalintensität- bzw. Konzentration(*)-Zeitkurven abgeleitet werden können. Die Namensgebung der Parameter ist in der Literatur nicht einheitlich festgelegt.

In die Auswertesoftware wurde das pharmakokinetische 2 Kompartimentenmodell nach Tofts & Kermode [Tofts 1991] implementiert. Kompartiment 1 stellt den Intravasalraum dar, Kompartiment 2 den extravaskulären, extrazellulären Raum dar. Nach Injektion von Kontrastmitteln kommt es zum Austausch von Kontrastmittel zwischen beiden Kompartimenten.

Mit Hilfe von komplexen Rechenalgorithmen können dann die entsprechenden Signalparameter umgerechnet werden.

Das Modell beruht auf der Annahme, dass sich das Kontrastmittel zwischen einem Plasma-Kompartiment und dem Extrazellulärraum des gesamten Körpers verteilt, ein Austausch von Kontrastmittel durch permeable Gefäßwände von angiogenetisch aktivem Tumorgewebe in das Interstitium und zurück stattfindet und das Kontrastmittel schließlich in den Nieren ausgeschieden wird. Sowohl MR-Sequenz-Parameter als auch modell- und gewebeinhärente Parameter fließen in die Berechnung der Modellkurven ein. Als freie Parameter werden eine Austauschkonstante, die abhängig ist von der Oberfläche und der Permeabilität aller Gefäße in einem Voxel, der Volumenanteil des zur Verfügung stehenden Extrazellulärraums und der Zeitpunkt des Einflutens des Kontrastmittels in die gemessenen Anreicherungskurven angepasst. Die Parameterberechnung kann sowohl Pixel für Pixel in Form von Parameterbildern, aber auch für gemittelte Anreicherungskurven über manuell eingezeichnete Regionen durchgeführt werden. Im Falle der Parameterbilder werden zusätzlich Mittelwert und Standardabweichung der berechneten Parameter für die eingezeichnete Regionen bestimmt.

Nach Abtötung der Tiere wurden die entnommenen Tumore zuerst gewogen und das Volumen mittels Wasserverdrängung bestimmt, sowie im Anschluss en bloc in Biopsiekassetten gelegt. Vor der Einbettung in Paraffin mussten die Präparate zunächst entwässert werden. Um dabei eine zu starke Schrumpfung oder Zerreißen des Präparats zu vermeiden, erfolgte die Entwässerung in einer aufsteigenden Alkoholreihe mit 70-100%igem Alkohol. Zur vollständigen Beseitigung des Alkohols wurden die Präparate aus absolutem Alkohol in Methylbenzoat (Fa. Merck; Darmstadt) und Rotihistol (Fa. Roth; Karlsruhe) übertragen. Die anschließende Einbettung erfolgte in Paraffin (Fa. Sherwood; St. Louis; USA).

Mit einem Mikrotom wurden 4 µm dicke Schnitte angefertigt und diese auf einen Objektträger aufgebracht.

2.6 Färbung

Die Präparate wurden mit Hämalaun und Eosin gefärbt. Zuvor musste das Paraffin mit Xylol gelöst und die Schnitte in einer absteigenden Alkoholreihe (100-70%) entwässert werden. Im Anschluß daran kamen die Schnitte für 5 min in Mayers Hämalaunlösung (Diagnostica Merck; Darmstadt) bis die Kerne gut gefärbt waren. Anschließend verblieben sie nach gründlichem Ausspülen unter fließendem Leitungswasser weitere 5 min zur Gegenfärbung in Eosin B (Certistain Eosin B; Diagnostika Merck; Darmstadt). Der Überschuss des Farbstoffes wurde unter fließendem Wasser ausgewaschen. Die Schnitte wurden in einer aufsteigenden Alkoholreihe entwässert und der absolute Alkohol wurde durch Xylol entfernt. Zuletzt wurden die angefärbten Schnitte zur Konservierung in Kanadabalsam (Fa. Roth; Karlsruhe) eingeschlossen.

2.7 Statistik

Die statistische Auswertung erfolgte mit Hilfe eines Statistikprogrammes (SPSS für Unix, 6.14). Die Daten wurden mit einer multivariaten Varianz-Analyse (MANOVA) miteinander verglichen. Mit dem Fisher t-Test wurden weitere Untersuchungen zu den Unterschieden von den Mittelwerten der verschiedenen Gruppen gemacht. Als statistisch signifikant wurden Werte von $p < 0,05$ angesehen.

3. Ergebnisse

Es wurden insgesamt 29 Tiere untersucht. Davon handelte es sich um 12 Mäuse mit AsPC-1 Tumor und 17 Mäuse mit BxPC-3 Tumor. Die Tumorinduktion war bei allen Mäusen erfolgreich.

Bei den AsPC-1 tumortragenden Mäusen wurden im Verlauf insgesamt 20 Messungen durchgeführt, bei den BxPC-3 tumortragenden Mäusen insgesamt 32 Messungen. Die Bildgebung funktionierte bei 26 der 29 Mäuse. Drei Tiere verstarben im Rahmen von Narkosezwischenfällen. Bei den übrigen Mäusen waren alle Datensätze auswertbar. Die qualitativen und quantitativen Kurven waren von guter Qualität. Die Auswertung eines Datensatzes war in 15 Minuten zu erledigen. Die Rohdatenanalyse erfolgte initial in „cine loop“ Technik. Hierbei konnte die Kontrastmittelanflutung und evtl. Artefakte sofort erkannt werden. Anschließend wurden Parameterbilder, insbesondere die Visualisierung der Kurvenkinetik (wash-in und wash-out in einer Dreifarbenskala kodiert), angezeigt und aufbauend auf dieser Visualisierung unterschiedliche Organregionen bzw. Tumoranteile mittels ROI's numerisch analysiert (**Abbildung 8 A**). Diese Analyse war dabei verzögerungsfrei auf einem Pentium-PC möglich. Als hilfreich erwies sich auch die Möglichkeit des Softwareassistenten unterschiedliche ROI's in unterschiedlichen Schichten desselben Datensatzes zu legen und somit Organe untereinander und mit dem Tumor über die Zeit zu vergleichen. Somit war eine alleinige und vergleichende Analyse der Kontrastmittelkinetik mit diesem Softwareassistenten möglich (**Abbildung 8 B**).

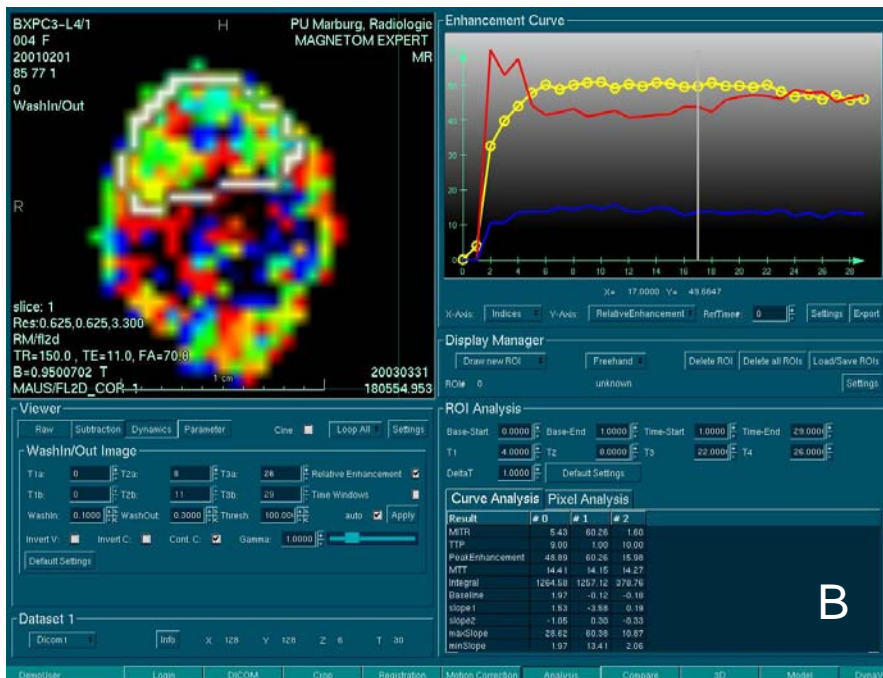


Abbildung 8

Oberflächendarstellung der DynaLab Auswertesoftware.

Screenshot der Auswertesoftware am Beispiel der Analyse der Kontrastmittelkinetik in einer Maus mit einem Pankreaskarzinom. Im linken Teil der Abbildung ist der Tumor im Parameterbild (dynamische Analyse der Kontrastmittelanreicherung) und im rechten Teil die numerische Auswertung für ROIs zu erkennen. Die ROIs sind einmal in den Tumor gelegt (gelbe Datenpunktreihe) und dann zum Vergleich in einer Niere (rot) und in der rechten Flankenmuskulatur (blau) des Tieres (A). Die ROI 2 und 3 sind auf dem unteren Parameterbild nicht zu erkennen, da sie auf zwei anderen, jeweils zeitgleich akquirierten Schichten gelegen sind (B).

Für Perfusionsuntersuchungen werden dynamische Daten erfasst. Sie enthalten Informationen über Signalveränderungen, die durch Anflutungs- und Auswaschungsvorgänge eines während der Untersuchung applizierten Kontrastmittels (KM) im Zielgewebe begründet sind. Durch Betrachtung des Verlaufs der Intensitätsänderungen können krankhafte Veränderungen der Gewebefunktion lokalisiert werden, die bei Betrachtung einer einzelnen (statischen) Aufnahme nur schwer oder überhaupt nicht erkennbar wären. So wird die verstärkte Kontrastmittelanreicherung eines gut durchbluteten Tumors deutlich. Diese dynamischen Bilddaten sind nichts anderes, als eine in regelmäßigen Zeitabständen aufgenommene Bildserie von vordefinierten Schichten durch das Untersuchungsobjekt, z.B. eine Serie von CT- oder MRT-Bildern. Die aufgezeichneten Signalintensitäten identischer Bildpositionen können entlang der Zeitachse variieren. Betrachtet man eine einzelne Bildposition und trägt die zugehörigen Signalintensitäten gegen die Zeit ab, so entsteht eine sogenannte Signalintensität-Zeit-Kurve. Dazu wählt der Benutzer Regionen (ROI, *Region of Interest*) von vermutet krankhaften Bereichen aus. Für jede ROI wird eine Kurve angezeigt, die sich aus der Mittelung der Kurven der zur Region gehörenden Bildpositionen ergibt. Die Kurvenverläufe können nun mit Referenzkurven verglichen werden, die typisch für gesunde bzw. krankhafte Gewebetypen sind. Aus den Signalintensität-Zeit-Kurven lassen sich mehrere Parameter ableiten, die ihren Verlauf charakterisieren. Zu diesen Parametern gehören beispielsweise die maximale Signalintensität bzw. die maximale Kontrastmittelanreicherung (*Peak Enhancement*) oder die Zeit vom Anfang der Kontrastmittelinjektion bis zum Erreichen der maximalen Anreicherung (*Time to Peak*). Die berechneten Parameterbilder werden auch als Parameterkarten bezeichnet, da ihren Bildpunkten in Kombination mit einer statischen Aufnahme vor der Kontrastmittelgabe anatomische Strukturen zugeordnet werden können. Bisher wurden Parameterkarten nur isoliert betrachtet. Für die Diagnose ist aber die Kombination mehrerer Parameter relevant, um die Durchblutung zu charakterisieren. Dies stellt eine besondere Herausforderung an eine Multiparameter-Visualisierung dar.

Die visuelle Analyse dieser Bilder ist ohne computergestützte Bildanalyse ein ermüdender und fehleranfälliger Prozess, da für die komplette Untersuchung sehr viele Schichtbilder betrachtet werden müssen. Eine einfache Darstellung

der Bilder auf einem Computermonitor, bietet für dieses Problem natürlich keine Lösung. Auch wenn mehrere Bilder gleichzeitig betrachtet und verglichen werden, ist eine simultane Untersuchung aller Schichten nicht möglich.

Schnittbildverfahren wie Computer- und Magnetresonanztomographie (CT, MRT) erzeugen im Gegensatz zu klassischen Röntgenübersichtsaufnahmen nahezu überlagerungsfreie Schnittbilder vom Zielobjekt. 3D-Volumendaten werden erfasst, indem aneinandergrenzende Schichten durch das Objekt definiert und aufgenommen werden. Ein Schnittbild besitzt normalerweise die Form einer $2n \times 2m$ – Matrix, in der die Signalintensitäten der jeweiligen Aufnahmemodalität abgelegt sind. Die Qualität dieser Daten ist abhängig von der erreichten Ortsauflösung und den eingestellten Aufnahmeparametern, wie die Röntgenröhrenspannung bei der CT zur Aufhärtung der Röntgenstrahlen unter Verwendung spezieller Filter oder bei der MRT z.B. die Stärke des Magnetfeldes, Echozeit TE und Repetitionszeit TR. Generell bewirken ein gutes Signal-zu-Rausch-Verhältnis und ein guter Kontrast „schöne“ Bilder. Diese Kriterien werden jedoch von der Höhe der Strahlendosis (CT) bzw. der Magnetfeldstärke (MRT) und der Länge der Aufnahmezeit beeinflusst. Weiterhin erzeugen Bewegungen Unschärfe und mindern die Qualität der Bilder. Bei den gewonnenen Daten handelt es sich um Momentaufnahmen, d.h. die Daten der Signalintensitäten wurden nur für einen einzigen Zeitpunkt aufgezeichnet. Sie bekommen deshalb auch das Attribut „statisch“ bei ihrer Benennung. Statische Daten enthalten Informationen über die Anatomie des Aufnahmeobjekts. Wegen der hohen Ortsauflösung der Bilder (z.B. wenn ein Voxel $0,5 \text{ mm} \times 0,5 \text{ mm} \times 1 \text{ mm}$ entspricht) sind auch sehr kleine Strukturen unter 2 mm Durchmesser erkennbar.. So können z.B. Tumorstadien anhand ihrer Größe und Form klassifiziert werden. Ihre diagnostische Relevanz liegt in der Lokalisation krankhafter Veränderungen und der Therapieplanung. Die Verkürzung der Aufnahmezeiten von Volumendaten ist das Resultat ständiger Weiterentwicklung der Tomographiegeräte. So ist es heute möglich, von einem Objekt in kurzen regelmäßigen Abständen über die Zeit mehrere Datensätze zu akquirieren und diese zu einem einzigen Datensatz zusammenzufassen. Zu jedem Voxel dieses Datensatzes (oder Pixel, wenn ein Schnittbild betrachtet wird) existiert zu jedem Aufnahmezeitpunkt eine Repräsentation, die eine andere Signalintensität aufweisen kann als zu einem anderen Zeitpunkt der Serie. Auf diese Weise

können anatomische und pathologische Strukturen sichtbar werden, die in einer Momentaufnahme nicht erkennbar wären. Solche Datensätze werden zur Perfusionsanalyse erstellt. Perfusion bezeichnet die Durchströmung von Gewebe mit Körperflüssigkeiten zur Ernährung und Reinigung. Die Perfusionsbildgebung ermöglicht die Erfassung des mikroskopischen Blutflusses auf Kapillarebene und so die Untersuchung von Veränderungen der Zellen im Gewebe. Dies unterscheidet sie von der Angiographie, die sich eher dafür eignet, makroskopische Veränderungen von Arterien und Venen aufzuzeigen, wie z.B. Stenosen und Aneurysmen. Bei der dynamischen Perfusionsbildgebung werden die Signalintensitätsveränderungen nach Applikation eines Kontrastmittels gemessen und dargestellt. Die aufgenommenen Daten werden in diesem Sinne als dynamische Daten bezeichnet. Für die dynamische Bildgebung wird kurz nach Beginn der Datenakquirierung ein Kontrastmittelbolus injiziert. Es wird davon ausgegangen, dass ein linearer Zusammenhang zwischen dem Aufnahmesignal und der Kontrastmittelanreicherung besteht. Dabei unterscheidet sich das zeitliche Aufnahmemuster des Kontrastmittels in gesundem Gewebe von dem in krankem Gewebe. Die räumliche Auflösung dynamischer Daten ist durch die anwendungsspezifisch geforderte Zeitauflösung begrenzt und deshalb geringer als die von statischen Bilddaten. Bei kurzen Aufnahmezeiten können nur wenige Daten erfasst werden. Als Konsequenz wird die Anzahl der Schnittbilder (z-Auflösung) oder deren x-y- Auflösung verringert oder auch beides. Es muss je nach Anwendung ein Kompromiss zwischen räumlicher und zeitlicher Auflösung gefunden werden. Damit die hervorgerufenen Änderungen der Signalintensitäten erfasst werden können, muss die zeitliche Auflösung recht hoch sein. Der zeitliche Abstand zwischen zwei Aufnahmen liegt hier bei 2 Sekunden und darunter. Die gesamte Aufnahme der Zeitserie ist in etwa einer Minute abgeschlossen. Dafür ist die Ortsauflösung geringer. Da bei der MR-Bildgebung keine Standardeinheiten für die Signalintensität existieren, die vergleichbar mit den Hounsfield-Einheiten aus der CT wären, geben die Signalintensität-Zeit-Kurven nur qualitative Darstellungen der Kontrastmittelpassage durch das Gewebe wieder. Dies gilt natürlich auch für die aus den Kurven abgeleiteten Merkmale, wie Neigung, Peak oder Fläche unter der Kurve, die separat in Form von Parameterbildern abgespeichert werden. Die so entstandenen Parameterkarten können nun als einfache

Grauwertbilder dargestellt oder in farbkodierte Repräsentationen überführt werden. Um eine quantitative Auswertung zu ermöglichen, müssen Signalintensität-Zeit-Kurven in Konzentration-Zeit-Kurven überführt werden. Die Kontrastmittelkonzentration $C(t)$ für ein Pixel aus einem MR-Bild relativer Signalintensitäten zu einem beliebigen Zeitpunkt t kann z.B. aus der bekannten longitudinalen Relaxivität des Kontrastmittels r_1 (bei der verwendeten Magnetfeldstärke und 37°C) und den Relaxationszeiten, $T_1(t)$ und T_{10} , berechnet werden. Die Konzentration-Zeit-Kurven können nun an pharmakokinetische Modelle angepasst werden, mit deren Hilfe sich dann quantitative Parameter, wie Blutfluss und Blutvolumen, berechnen lassen.

Die beiden untersuchten Pankreaskarzinomtumore unterschieden sich hinsichtlich des Kontrastmittelanflutungsverhaltens. Die AsPC-1 Tumoren zeigten dabei ein "maligneres" Anflutungsverhalten mit einem steileren Anstieg und einem rascheren Auswaschen des Kontrastmittels im Vergleich zu den BxPC-3 Tumoren. Dies korreliert auch mit dem beobachteten biologischen Verhalten der Tumoren, hier zeigten AsPC-1 Tumore ein rascheres Wachstum. Die AsPC-1 Tumore zeigten im Vergleich zu den BxPC-3 Tumoren ein statistisch signifikant höhere maximale Kontrastmittelanreicherung (Peak enhancement; **Abbildung 9**), diese betrug $90,5 \pm 33$ für die AsPC-1 Tumore und $68,9 \pm 31,4$ für BxPC-3. Des weiteren zeigten die AsPC-1 Tumore eine statistisch signifikant höhere Anreicherungsgeschwindigkeit (slope 1; **Abbildung 10**) sowie ein schnelleres wash out (slope 2; **Abbildung 11**). Die Anreicherungsgeschwindigkeit betrug bei den AsPC-1 Tumore $11,2 \pm 4,8$ und bei den BxPC-3 Tumore $8,1 \pm 3,6$. Die Auswaschrates betrug für die AsPC-1 Tumore $0,005 \pm 0,6$ und bei den BxPC-3 Tumoren $0,28 \pm 0,36$. Die mittlere Anreicherungsgeschwindigkeit (MITR), Zeitpunkt des Maximums (TTP) sowie die mittlere Anflutungszeit (MTT) unterscheiden sich nicht statistisch signifikant (**Abbildung 12, Tabelle 4**).

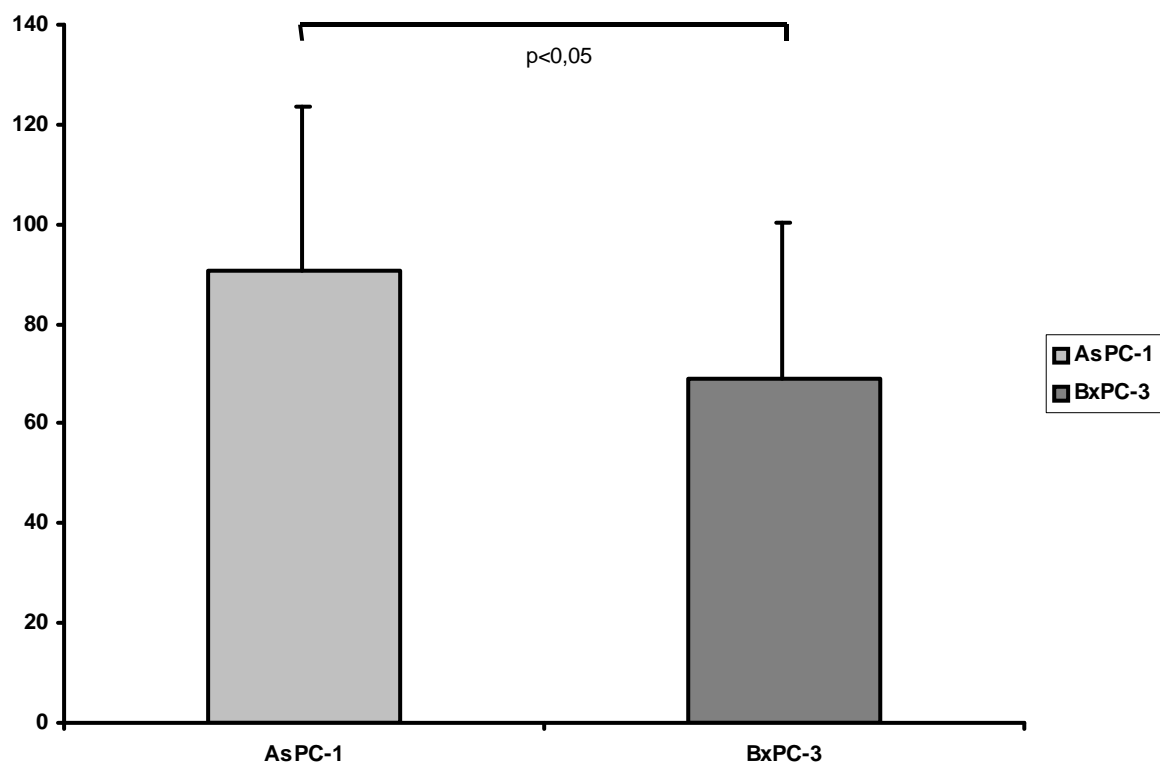


Abbildung 9.

Maximale Kontrastmittelanreicherung

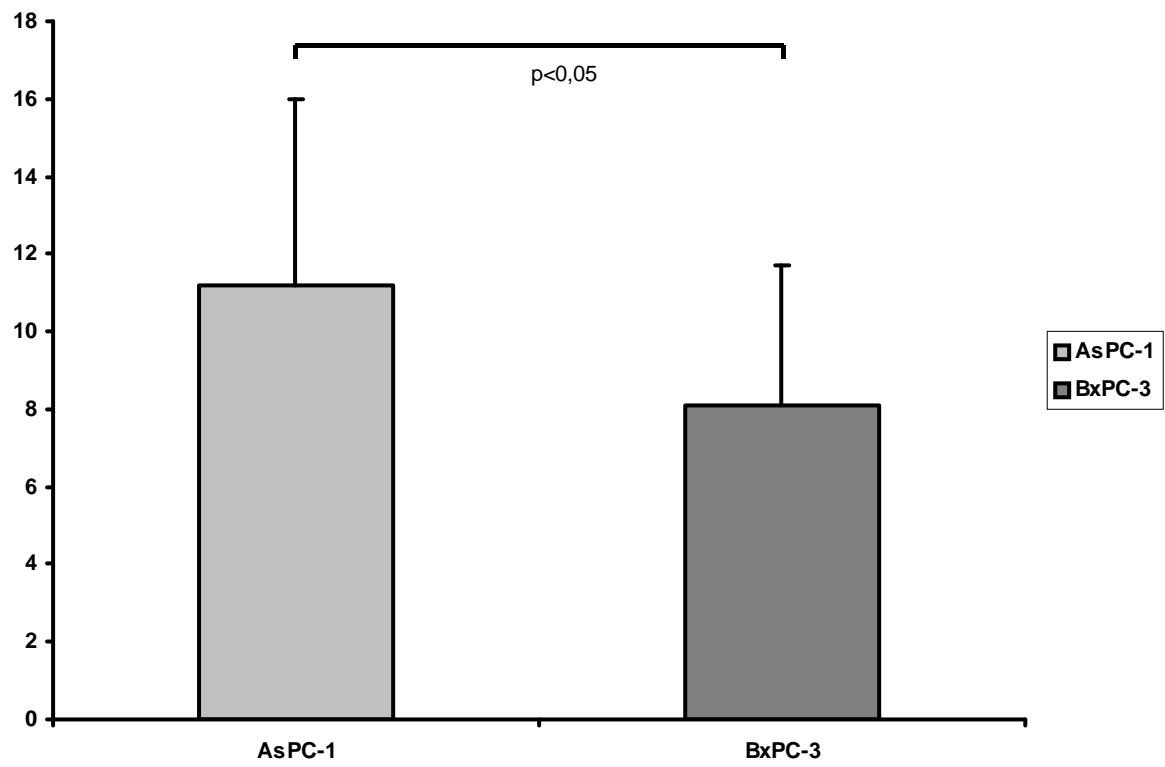


Abbildung 10.
Anreicherungsgeschwindigkeit

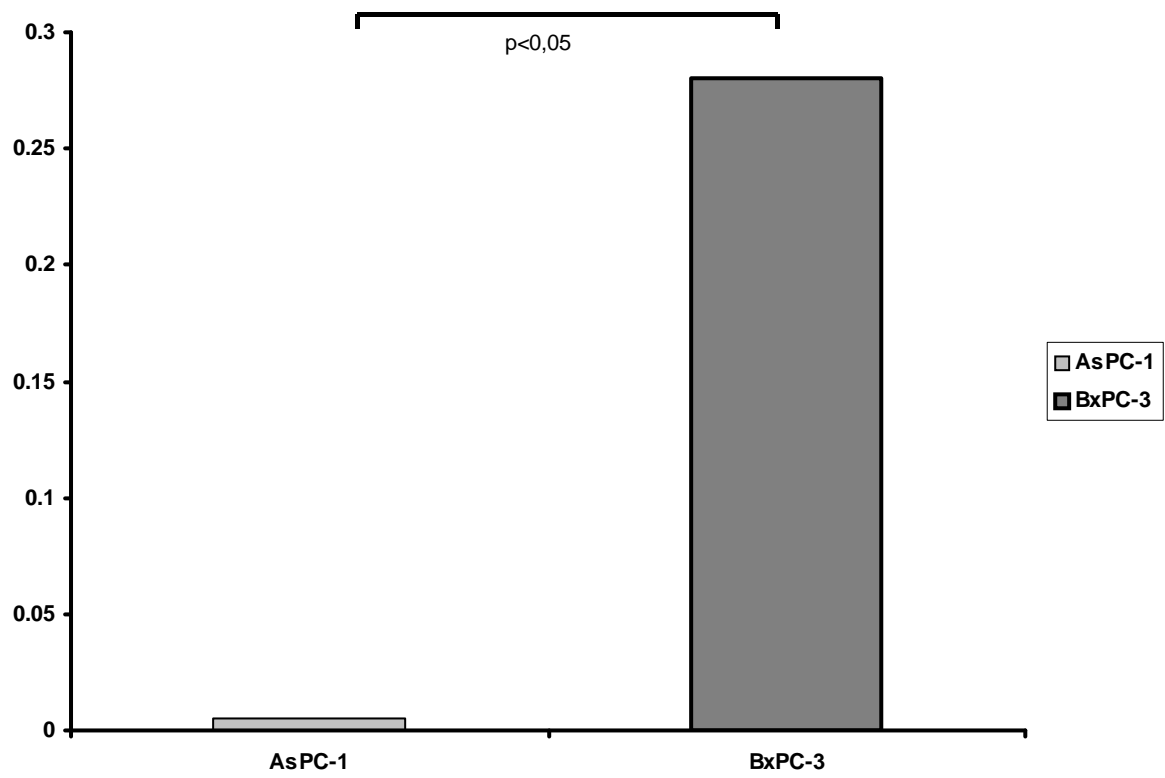


Abbildung 11.
Auswaschgeschwindigkeit

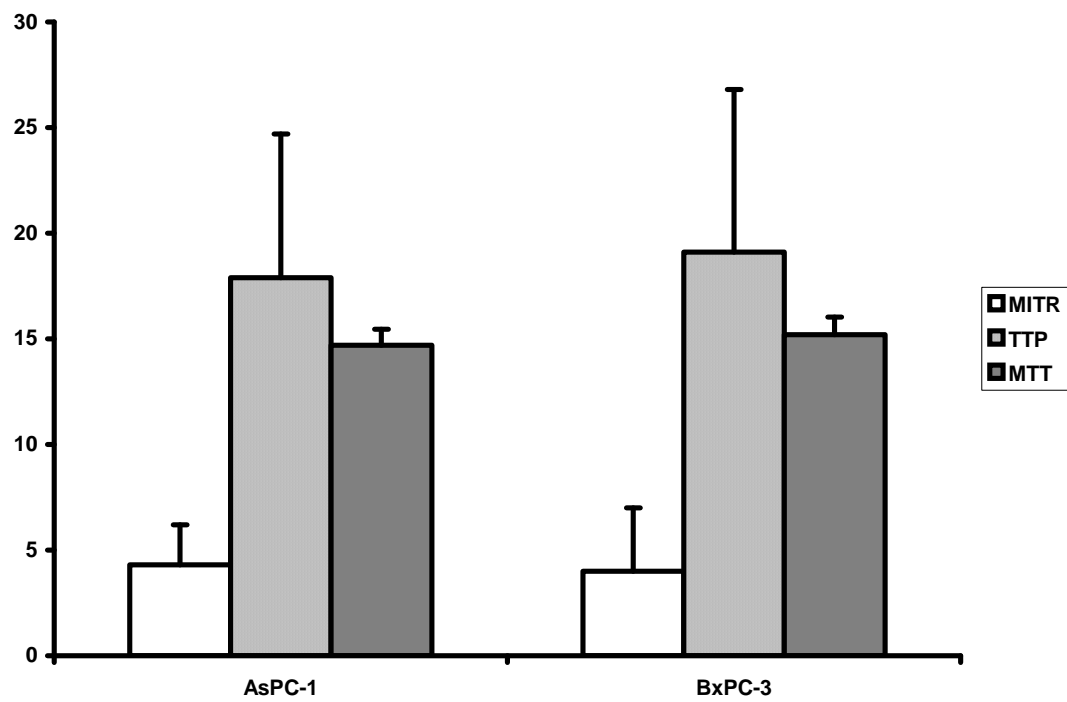


Abbildung 12.

Mittlere Anreicherungsgeschwindigkeit (MITR), Zeitpunkt bis Maximum (TTP) und mittlere Anflutungszeit des Kontrastmittels (MTT)

	AsPC-1	BxPC-3
MITR	4,3 ± 1,9	4 ± 3 (n.s.)
TTP	17,9 ± 6,9	19,1 ± 7,8 (n.s.)
MTT	14,7 ± 0,76	15,2 ± 0,83 (n.s.)
PE	90,5 ± 33	68,9 ± 31,4
Slope 1	11,2 ± 4,8	8,1 ± 3,6
Slope 2	0,005 ± 0,6	0,28 ± 0,36

Tabelle 4.

Zusammengefasste Werte der einzelnen Parameter.

Da der Softwareassistent, wie in unserem Fall für hochauflösende, pixelbasierte Analysen der Kontrastmittelkinetik und für klinische Anwendungen angewendet werden soll, spielt das Problem der Bewegungsartefakte eine relevante Rolle. Pixelbasierte und ROI-basierte Analysen sind gegenüber Bewegungsartefakten naturgemäß sehr anfällig, da ohne Korrektur von Bewegungen während bzw. zwischen den Messungen sonst falsche numerische Werte erhoben werden können. Deswegen wurde im Rahmen dieses Projektes eigens ein Algorithmus zur nachträglichen Bewegungsartefaktkorrektur entwickelt. Dieser Algorithmus basiert auf Konturerfassung und Definition von Ähnlichkeitsmaßen auf Voxel zwischen den Aufnahmezeitpunkten (**Abbildung 13,14**).

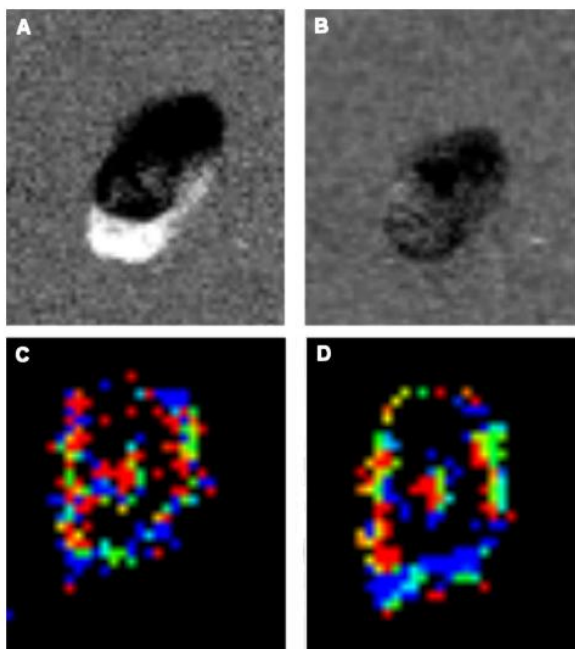


Abbildung 13.

Darstellung eines Tumors vor (linke Spalte) und nach (rechte Spalte) Bewegungskorrektur

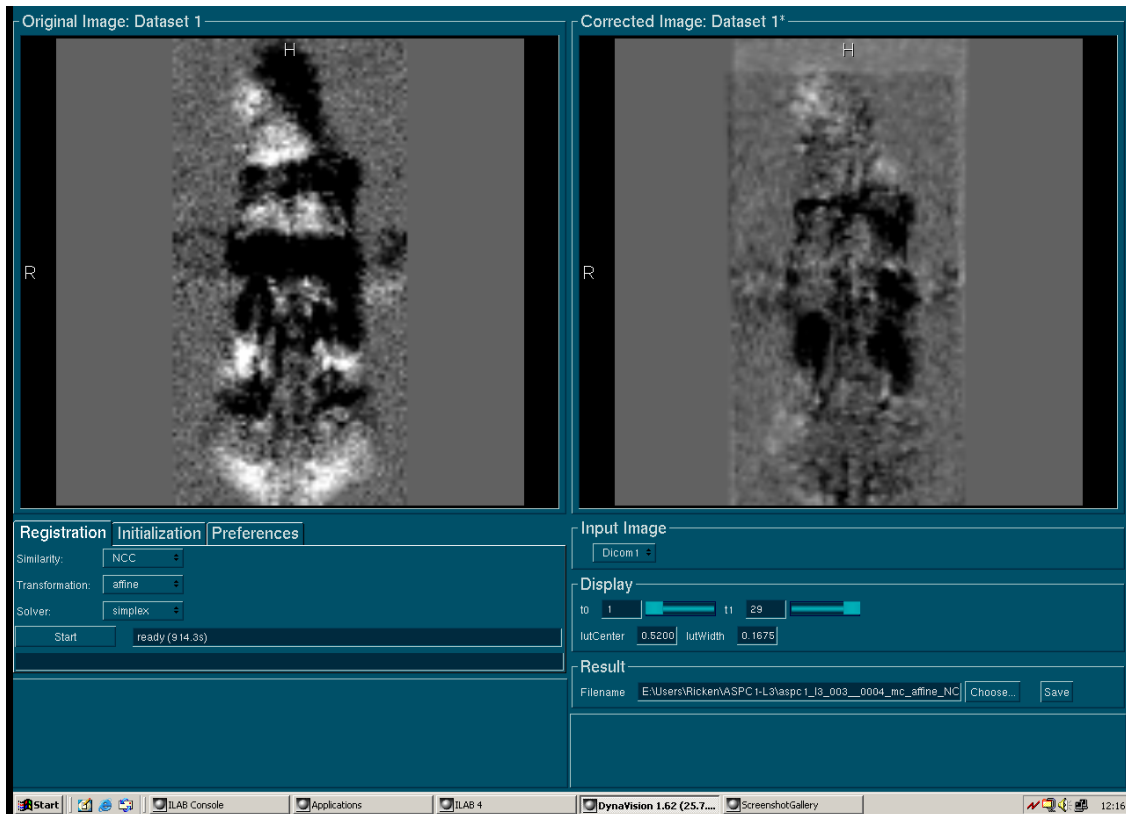


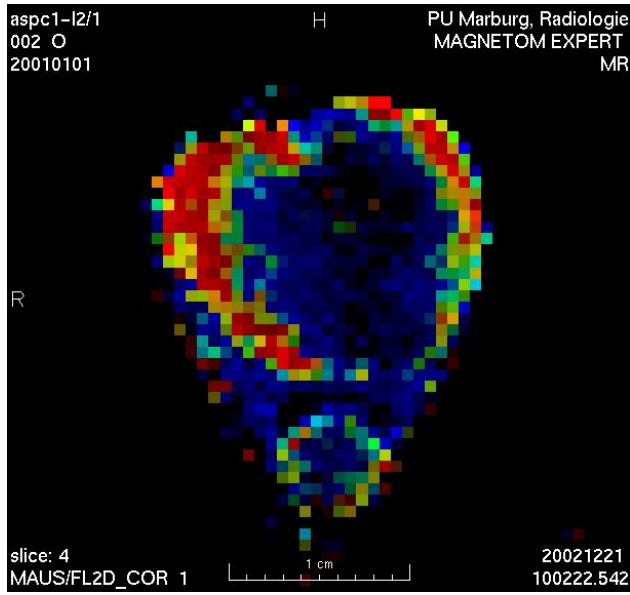
Abbildung 14.

Oberflächendarstellung der DynaLab Software vor (linke Seite) und nach (rechte Seite) Bewegungskorrektur.

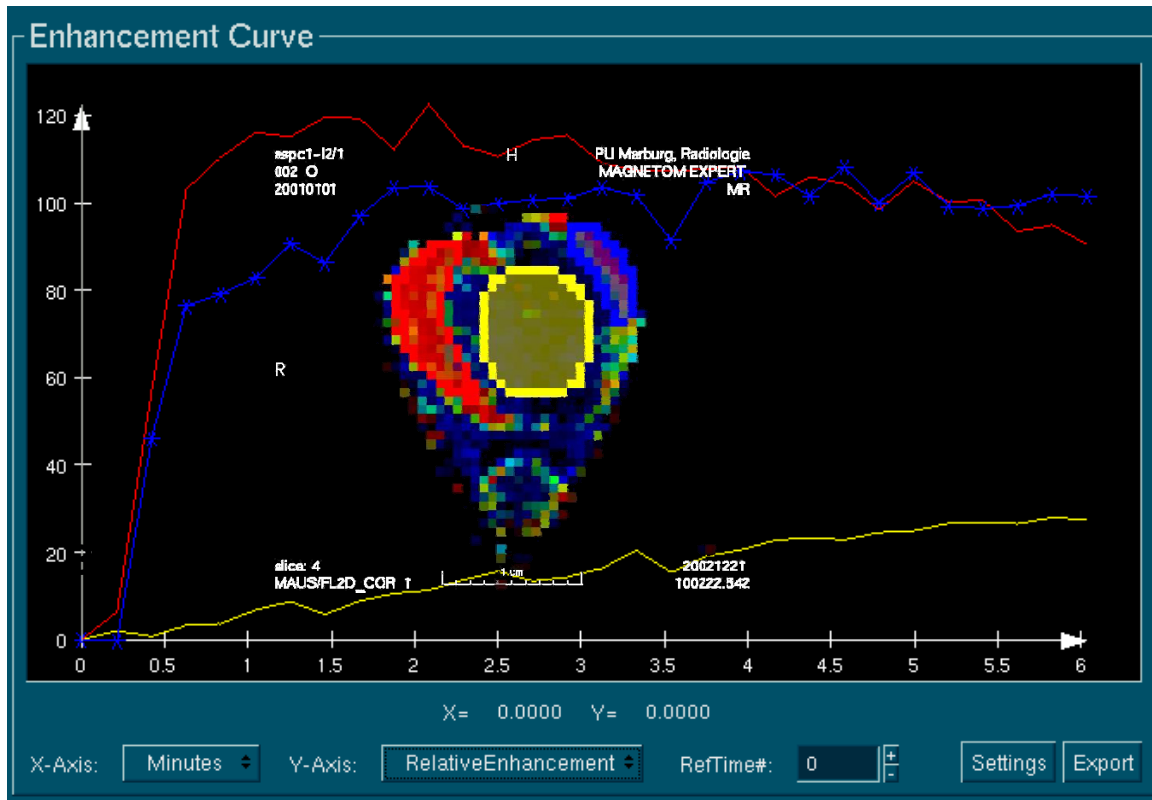
Die entnommenen Tumore unterschieden sich nicht statistisch signifikant hinsichtlich der Volumina. Das mittlere Tumorumfang der AsPC-1 Tumore lag bei $1,26 \pm 0,6$ ml, das Volumen der BxPC-3 Tumore bei $1,21 \pm 0,47$ ml.

Beide Tumorarten zeigten in den multiparametrischen Analysen ein eindeutiges heterogenes Erscheinungsbild mit überwiegend besser perfundierter Tumorperipherie und geringerer Perfusion in den zentralen Tumoranteilen. Dies korrelierte gut mit den korrespondierenden histopathologischen Schnitten der entsprechenden Tumorregionen mit Nachweis höherer Gefäß- und Zelldichte in den peripheren Tumorarealen. Eine quantitative Analyse der Mikrogefäßdichte erfolgte im Rahmen dieser Studie allerdings nicht (**Abbildung 15**).

A



B



C

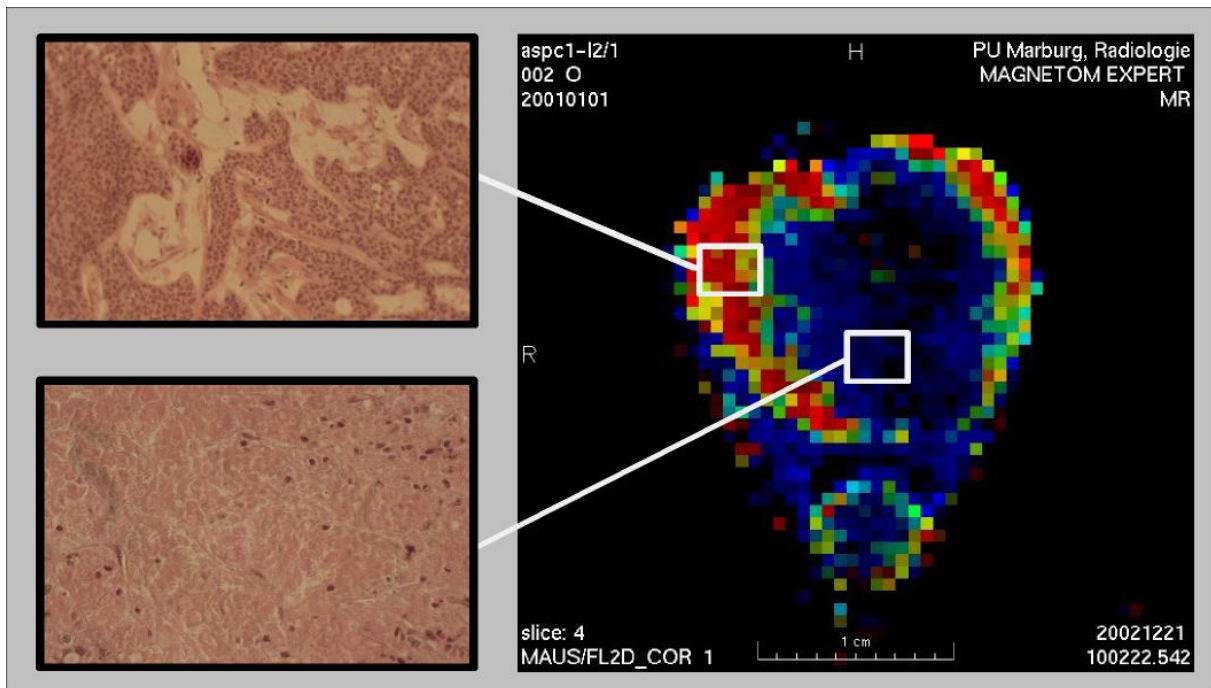


Abbildung 15.

Heterogenes Erscheinungsbild mit überwiegend besser perfundierter Tumorperipherie und geringerer Perfusion in den zentralen Tumoranteilen in den pixelbasierten Falschfarbendarstellungen (A). In den Parameterbildern entspricht Rot einem steilen wash-in, blau einem flachen wash-in (B). Korrelierend hierzu höherer Gefäß -und Zelldichte in den peripheren Tumorarealen (C).

4. Diskussion

In den letzten 30 Jahren hat die Sterblichkeit in Deutschland kontinuierlich ab- und die Lebenserwartung zugenommen, ohne dass sich zwischen 1980 und 1995 die standardisierte Sterbeziffer für bösartige Neubildungen nachhaltig verändert hat [Statistisches Bundesamt 2001]. 1995 lag das durchschnittliche standardisierte Sterbealter für Männer bei 71,6 und für Frauen bei 69,8 Jahren. Es sind vor allem Herz-Kreislauf-Erkrankungen und bösartige Neubildungen, die 1995 bei Männern und Frauen zusammengenommen für 73,3 % aller Todesfälle verantwortlich waren. Krebs war bei den 35-69jährigen Frauen und 45-64jährigen Männern die häufigste Todesursache [Statistisches Bundesamt 2001].

Zahlreiche nationale und internationale Initiativen und Studien evaluieren etablierte Konzepte und entwickeln neue Ansätze im Rahmen der Prävention, Diagnostik, Therapie und Rehabilitation von Krebserkrankungen, was auch zu kontroversen Einschätzungen führt [Sauer 1999; Jakesz 1998; Miller 1997; Saeger 1999; von Fournier 1999]. In den vergangenen Jahren konzentrierte sich das Interesse internationaler Forschergruppen u.a. auf die Tumorfriherkennung sowohl im Rahmen von Screening- Programmen als auch in der Suche nach tumorspezifischen Parametern, die eine nicht invasive und dennoch valide Einschätzung der Tumorerkrankung in frühen Krankheitsphasen bzw. unter Therapie gestattet. Ein Pfeiler der Tumordiagnostik, die qualitative Interpretation mehr oder weniger charakteristischer Kriterien einer Neoplasie in den bildgebenden Verfahren, wird zunehmend durch spezielle Untersuchungsverfahren ergänzt, die tumorassoziierte pathoanatomische und pathophysiologische Phänomene und Funktionsabläufe bis auf zelluläre Ebene sichtbar und auch quantifizierbar machen [Villringer 2001]. Zentrale Bedeutung hat in den letzten Jahren die Bildgebung der Mikrozirkulation in Tumoren erlangt, da in der Beurteilung von Therapieeffekten die Bestimmung der einem Vitalitätsindikator entsprechenden Tumolvaskularisation gegenüber der gängigen Volumenabschätzung besser abschneidet. Die dynamische kontrastverstärkte Kernspintomographie macht sich dabei die Besonderheiten neoplastisch gebildeter Gefäße zu Nutze, die sich gegenüber gesunden

Gefäßen durch eine veränderte Flusscharakteristik, veränderte Gefäßfraktion im Tumorgewebe und erhöhte Permeabilität ausweisen, die mit nichtzellgängigen Kontrastmitteln erfasst werden kann [Taylor 1999]. Für Hirntumore konnte in einer aktuellen Studie von Roberts et al. nachgewiesen werden, dass die mikrovaskuläre Permeabilität neoplasietypisch ist, enge Beziehungen zum Mitoseindex aufweist und zum Grading der Tumore eingesetzt werden kann [Roberts 2001].

Ein zweiter Aspekt ergibt sich aus der speziellen Pharmakotherapie, speziell in Indikation, Erfolgskontrolle und Monitoring der Gentherapie [Taylor 2000; Alfke 2000; Hogemann 2001]. Die angiogenetische Potenz maligner Tumore, die die wachstumsnotwendige Gefäßproliferation im Tumor induziert, ist das „Target“ der vielversprechenden antiangiogenetischen Therapie, die bereits in multizentrischen Phase I - III Studien evaluiert wird [Brower 1999]. Zusammenfassend ist zu erwarten, dass in den nächsten Jahren die molekulare Bildgebung und dynamische kontrastverstärkte Kernspintomographie aus ihrer „Laborumgebung“ in den Untersuchungsstandard zumindest größerer Zentren migrieren werden. Unterschiedlich motivierte Trends (Methodenverfügbarkeit, Anwendungsbedarf, ökonomisch verursachte und zielgerichtet modifizierte Diagnoseabläufe etc.) lassen vorhersehen, dass im Zuge der umfassenden Digitalisierung der Radiologie hocheffiziente Bildnachverarbeitungsprozesse notwendigerweise in Workstations integriert werden, die das derzeitige Bildakquisitions- und Interpretationsmanagement grundlegend verändern werden [Oellinger 1998; Funke 1999]. Zwar behauptet sich, wie Simoens et al. [Simoens 2001] für Weichteiltumoren neurogenen Ursprungs nachweisen konnten, der Experte gegenüber computerunterstützten Bildauswertungen, doch die geringe Anzahl falsch-negativer Befunde befürwortet Einsatz und Entwicklung „neuronaler Netze“ zumindest flankierend zu den „üblichen“ Bildkriterien. Darüber hinaus ist nur mittels einer computergestützten Analyse die Verwendung komplexerer pharmakokinetischer Auswertungen möglich, die eine deutliche Verbesserung der diagnostischen Aussagekraft versprechen [Degani 1997].

In der radiologischen Diagnostik werden Bilddaten akquiriert, um Lokalisation und Ausmaß krankhafter Veränderungen zu beurteilen. Die überlagerungsfreie Darstellung mit modernen Schnittbildverfahren (Computertomographie CT,

Magnetresonanztomographie MRT) ist dabei besonders wichtig, um krankhafte Veränderungen zu lokalisieren und um die Therapieplanung zu unterstützen. Viele krankhafte Veränderungen lassen sich aber nicht allein durch statische Bilder beurteilen, sondern erfordern zusätzlich die Betrachtung des zeitlichen Verlaufs. Ein Beispiel ist die Tumordiagnostik, bei der Ausmaß und zeitlicher Verlauf der Anreicherung eines vor der Untersuchung verabreichten Kontrastmittels wesentlich sind, um die Bösartigkeit eines Tumors einzuschätzen. Ein weiteres Beispiel ist die Quantifizierung des Blutflusses, die wesentlich ist, um nach Schlaganfällen oder Herzinfarkten das Ausmaß geschädigter bzw. gefährdeter Bereiche festzustellen und Therapiemöglichkeiten zu diskutieren. In diesen Fällen werden verstärkt zeitliche Serien von Bilddaten akquiriert. Die Auswertung dieser 4D-Datensätze ist aufwändig und bisher kaum standardisiert. Das dynamische Verhalten wird durch mehrere Parameter charakterisiert, wobei häufig die gleichzeitige Beurteilung mehrerer Parameter von Interesse ist.

Dynamische Bilddaten haben im Allgemeinen eine deutlich geringere räumliche Auflösung als statische. Dies hängt damit zusammen, dass eine hochaufgelöste Abbildung mehr Zeit benötigt als eine weniger hoch aufgelöste und insofern der Wunsch nach einer hohen zeitlichen Auflösung (z.B. im Sekundenbereich) nur bei einem gleichzeitigen Verzicht auf räumliche Auflösung erreichbar ist. Insbesondere entsteht dabei zumeist ein großer Schichtabstand [z] (etwa 1 cm). Die 3D-Visualisierung durch Isooberflächen- bzw. Volumenvisualisierung ist bei diesen großen Schichtabständen nicht attraktiv.

Zwar ist die Diagnostik anhand dynamischer Daten kaum standardisiert, über die relevanten Parameter besteht jedoch Konsens. Dies sind:

- das Maximum der Anreicherungskurve relativ zum Anfangswert bzw. einem Referenzwert (*peak enhancement*),
- die Zeit bis zur maximalen Anreicherung (*time to peak*),
- die Fläche unter der Anreicherungskurve, der Blutfluss bzw. das Integral (*integral*),
- der Schwerpunkt der Kurve im Bereich der Anreicherung (*mean transit time*)
sowie

- der Anstieg im Bereich der Anreicherung (*wash in*) bzw. der negative Anstieg danach (*wash out*).

Diese Kennwerte für den Intensitätsverlauf werden für einen Teil des gesunden Gewebes und einen Teil des verdächtigen Gewebes bestimmt, so dass die dabei auftretenden Unterschiede für die Diagnostik genutzt werden können. Die Messungen, z.B. die Flächenmessung, bzw. die Bestimmung des wash in- und wash out-Verhaltens beziehen sich auf bestimmte Zeitintervalle, deren Wahl von der konkreten Untersuchung abhängt.

Sobald proliferierendes Gewebe eine Größe von $1\text{-}2\text{mm}^3$ überschreitet, werden die Diffusionsstrecken für Sauerstoff und Nährstoffe zu lang, so daß Neoangiogenese das weitere Wachstum gewährleisten muss. Neben diesem Perfusionseffekt ist auch die bidirektionale parakrine Stimulation des Endothelwachstums durch die Tumorzellen und das Tumorstadium durch proliferierende Endothelien ein wichtiger Effekt der Tumorstadiumangiogenese.

Das Gleichgewicht von positiven und negativen Regulatoren entscheidet darüber ob Endothelien in einer vaskulären Homöostase verbleiben oder ob Neovaskularisation einsetzt. Neben dem rein nutritiven Effekt einer Tumorstadiumperfusion durch Neoangiogenese wurde auch ein wachstumsfördernder parakriner Effekt der Endothelien auf Tumorstadiumzellen gefunden. Auch der Prozeß der Metastasierung wird durch eine größere Tumorstadiumgefäßdichte begünstigt. In tierexperimentellen Studien konnte gezeigt werden, dass die Anzahl abgeschilfter Tumorstadiumzellen mit der Tumorstadiumgefäßdichte sowie später auftretender Lungenmetastasen korrelierte [Machianini 1992].

Eine Tumorstadiumzelle, die sich aus dem Verband der Zellen des Primärtumors ablöst und an anderer Stelle im Körper Metastasen bildet, muß eine Reihe von Barrieren überwinden sowie die Fähigkeit besitzen Zytokine und Wachstumsfaktoren zu bilden und darauf zu antworten. Angiogenese ist eine Voraussetzung für Metastasierung, da Tumorstadiumzellen in deren Abwesenheit selten in die lymphogene oder hämatogene Zirkulation abgegeben werden. Dementsprechend erweist sich die Tumorstadiumangiogenese nach klinisch-pathologischen Befunden als signifikanter, unabhängiger prognostischer Indikator bei einer Vielzahl menschlicher Tumore wie z.B. bei Karzinomen der weiblichen Brustdrüse, der Lunge, des Ösophagus. Übereinstimmend fand sich

in diesen Studien, dass die Zahl und der Grad der Tumorkapillardichte als Maß der Angiogenese mit der lymphogenen und/oder hämatogenen Metastasierung assoziiert ist und damit derzeit als wichtigster prognostischer Parameter gilt [Weidner 1991].

Im Moment gibt es keine validierte Methode, die für sich genommen den komplexen Prozess der Tumorangiogenese charakterisiert.

In den letzten Jahren sind eine Fülle verschiedener antiangiogenetischer Therapieansätze entwickelt worden und es sind eine Reihe klinischer Studien zur antiangiogenetischen Therapie im Gange. Die ersten klinischen Erfahrungen zeigen eine geringe Toxizität der Therapie, eine Therapieresistenz ist bislang nicht bekannt und eine Kombination mit herkömmlichen zytotoxischen Chemotherapeutika führt zu einer Erhöhung der therapeutischen Aktivität. Angiostatische Therapieschemata verlaufen kontinuierlich über Monate, was diese Therapieform sehr kostspielig und ein effektives Monitoring des Therapieeffektes essentiell macht. Der derzeitige Goldstandard zur Beurteilung des Therapieerfolges ist die immunhistochemische Evaluation der Mikrogefäßdichte in Biopsiepräparaten.

Die bildgebende Diagnostik sollte daher Methoden bereitstellen, die verlässlich eine nichtinvasive Quantifizierung von angiogenetischer Tumoraktivität und ein Monitoring von antiangiogenetischen Therapien unter Berücksichtigung des speziellen therapeutischen Ansatzes ermöglichen.

Die allermeisten Untersuchungen insbesondere klinischer Art, basieren auf der MRT, da hier bei guter anatomischer Auflösung physiologische Informationen gewonnen werden können. Darüber hinaus sind repetitive Untersuchungen ohne Strahlenexposition möglich.

Prinzipiell lassen sich mit allen verfügbaren Kontrastmitteln Informationen bezüglich der Mikrozirkulation gewinnen. Bei Verwendung niedrigmolekularer KM wie z.B. Gd-DTPA, ist eine schnelle Bildgebung unerlässlich, da eine schnelle Exkretion und Umverteilung in das Interstitium die Datenakquisition zeitlich einschränken.

Mit der Einführung schneller, sequentieller Untersuchungstechniken ist die kinetische Untersuchung des Enhancement-Musters und somit des Perfusionsverhaltens von Tumoren MR-tomographisch möglich geworden. Klinisch wird dieses Vorgehen z.B. bei der Diagnostik von Mammatumoren

eingesetzt, indem die KM-Anflutung in einer Läsion über die Zeit registriert wird. Ein sehr frühes Enhancement wird mit vermehrter Neovaskularisation in Verbindung gebracht. Dynamische kontrastmittelverstärkte MR-Untersuchungen ermöglichen somit die Charakterisierung maligner Brustläsionen mit einer hohen Sensitivität.

Komplexere pharmakologische Rechenmodelle ermöglichen eine Extrapolation weiterer Parameter aus kinetischen Untersuchungen. Die Analyse der KM-Kinetik unter Zuhilfenahme von pharmakokinetischen 2-Kompartimentenmodellen ermöglicht die Extrapolation von Geschwindigkeitskonstanten für den Austausch von KM zwischen Intravasalraum und Interstitium. Diese Koeffizienten stellen ein Maß für die Kapillarpermeabilität dar.

Ziel der Forschung im Bereich der Tumorvitalität ist die Entwicklung von Werkzeugen zur quantitativen Analyse der Kontrastmittelanreicherung im Tumorgewebe, welche Rückschlüsse auf die Vitalität zulässt sowie Prognosen für das Ansprechen der Tumore auf Therapien ermöglicht. Zur Analyse der Anreicherungskurven werden verschiedene Ansätze verfolgt, die auf die Ermittlung des Ein- und Auswaschverhaltens des Kontrastmittels oder aber die Berechnung von semiquantitativen und physiologischen Größen zielen. Semiquantitative Ansätze beschränken sich auf die Analyse der Kurvenformen, anhand derer Parameter wie maximale Anreicherung, mittlere Anreicherungsgeschwindigkeit usw. extrahiert werden. Zur Modellierung physiologischer Austauschprozesse zwischen Gefäßen und Gewebe werden Mehr-Kompartimenten-Modelle herangezogen; etabliert für die Tumordiagnostik ist das Zwei-Kompartimente Modell von Tofts und Kermode [Tofts 1991], mit Erweiterungen von Brix et al. [Brix 1997] Die Modellanpassung erlaubt die Ableitung von physiologischen Parametern und eine Vergleichbarkeit der Ergebnisse, die auf Grundlage von Bilddaten unterschiedlicher Scanner und evtl. unter Verwendung verschiedener Protokolle gewonnen wurden.

Am Beispiel der dynamischen MR-Mammographie haben Knopp et al. [Knopp 1995; 2001; 2002] verschiedene Ansätze hinsichtlich der Quantifizierung des Anreicherungsverhaltens und des Trennverhaltens zwischen benignen und malignen Läsionen untersucht. Dabei wurden verschiedene Methoden wie Schwellenwert, zeitabhängige und pharmakokinetische Quantifizierungen

miteinander verglichen. Die zeitliche Betrachtung der Kontrastmittelanreicherung verbessert die Charakterisierung von Läsionen deutlich. Eine gute Trennung wird bereits bei Betrachtung der relativen Intensität der Kontrastmittelanflutung und dem zeitlichen Bezug derer erreicht. Die Analyse der Anreicherungskurven korreliert mit dem vaskulären endothelialen Wachstumsfaktor (VEGF), der für das Bilden neuer Blutgefäße und somit für das Phänomen der Angiogenese in vitalen Tumoren verantwortlich ist. Neue Studien belegen, dass mit Hilfe ausgeklügelter Quantifizierung ein frühes Ansprechen von Tumoren auf Chemotherapie möglich ist, noch bevor ein sichtbares Schrumpfen der Läsion eintritt.

Aktuelle Forschungsfragen fokussieren sich auf eine individuelle Berücksichtigung der Herz-Kreislaufsituation durch Messung der arteriellen Input-Funktion und die Berücksichtigung weiterer Kompartimente, die an die Tumorentitäten angepasst sind.

Andere Ansätze untersuchen morphologische Eigenschaften der Kontrastmittelanreicherung von Tumoren und haben gezeigt, dass sie sich ebenfalls zur Unterscheidung zwischen malignen und benignen Läsionen eignen. Dabei werden Eigenschaften wie Inhomogenität der KM-Anreicherung, Schärfe des Läsionsrandes und die Form der Läsion berücksichtigt. Maligne Läsionen zeigen häufig eine weniger homogene Kontrastmittelanreicherung als benigne, haben unschärfere Ränder und eine unregelmäßigere Form. Eine Kombination der Analyse von morphologischen und physiologischen Anreicherungseigenschaften verspricht neben einem Mehrwert für die Diagnostik auch ein besseres Maß für das Ansprechen von Therapien zu sein als rein volumetrische Parameter, da physiologische Veränderungen in der Regel den morphologischen vorausgehen. Aber auch die Qualität der Tumorgrößenbestimmung basierend auf MR-Bilddaten wird diskutiert, so dass die Entwicklung von robusten und automatischen Tools zur Volumenbestimmung sinnvoll erscheint.

Die nach dem Medizinproduktegesetz zertifizierte Software auf den Plattformen großer Hersteller bietet z.T. die Möglichkeit, in einer Region of Interest eine Zeit-Intensitäts-Kurve darzustellen und zu speichern oder Subtraktionsbilder zu generieren. Aufwendigere Software von Drittanbietern zeichnen sich bei diesen Arbeiten durch einen größeren Benutzerkomfort aus und haben zusätzliche

Hilfsmittel zur Visualisierung (z.B. 3D-Ansichten, Cine-Animationen in 2D). Lösungen, die zu einer wirklichen pathophysiologisch begründeten Parametrisierung (zur Visualisierung wie zur Quantifizierung) anhand geprüfter Modelle führen, oder die die Evaluation neuer Modelle erlauben, sind als zertifiziertes Produkt nicht erhältlich - bei allen derzeit verwendeten Tools handelt es sich um im Hause entwickelte Lösungen, mit allen Einschränkungen hinsichtlich Benutzerfreundlichkeit, Flexibilität und rechtlicher Aspekte. Derzeit erhältliche Software dient v.a. der Visualisierung der Kontrastmittelaufnahme, insbesondere in der Mammadiagnostik, liefert aber weder eine Quantifizierung noch eine Parametrisierung auf Basis von Modellen.

Zur Quantifizierung der Hirnperfusion sind spezialisierte Tools verfügbar (z.B. Siemens syngo Perfusion und CT-Perfusion von GE), die für die Schlaganfalldiagnostik entwickelt wurden und auch experimentell für first-pass-Perfusionsmessungen von Hirntumoren eingesetzt wurden. Diese beinhalten Methoden zur Bestimmung von Blutvolumen, Perfusion und Größen wie Time-to-Peak im Bereich des Hirnschädels. Limitationen sind im Bereich der Bewegungskorrektur vorhanden, was die Software für die Anwendung im Bereich des Körperstammes ungeeignet macht. Die für die Charakterisierung der Mikrozirkulation in angiogenetisch aktiven Geweben wichtige Anreicherung von Kontrastmittel über einen längeren Zeitraum ist mit diesen Tools allerdings nicht möglich.

Die Tumorperfusion ist ein wichtiger Surrogatparameter zur Beurteilung der Vitalität und Aggressivität eines Tumors, für den langjährige experimentelle und klinische Erfahrungen vorliegen. Vielfältige experimentelle und klinische Studien haben zeigen können, dass die Gefäßdichte, als Ausdruck der angiogenen Potenz eines Tumors, ein unabhängiger Risikofaktor für eine frühe Progression und hämatogene Metastasierung ist.

Eine nichtinvasive Beurteilung der Tumorperfusion wurde mit verschiedenen bildgebenden Verfahren versucht. In der Magnetresonanztomographie sind vorrangig vier Methoden zu nennen:

- 1) dynamische, kontrastverstärkte, T1-gewichtete Bildgebung („T1-Dynamik“) bei der Mehrzahl aller Tumore,
- 2) dynamische, kontrastverstärkte, suszeptibilitäts-gewichtete Bildgebung („T2*-Dynamik“) bei Hirntumoren mit intakter Blut-Hirn-Schranke,

3) Techniken mit Blutbolusmarkierung („arterial spin labeling, ASL) für ausgewählte Tumore im Neurokranium und

4) Verfahren, die der neurofunktionellen Bildgebung angelehnt sind, und die die unterschiedlichen Effekte von oxygeniertem und nichtoxygeniertem Hämoglobin im Magnetfeld und den Einfluß der CO₂-Konzentration auf die Vasodilatation nutzen („Blood Oxygen Level Dependent (BOLD) Imaging“)

Die am besten erprobte und bei der größten Zahl von Tumoren anwendbare Technik ist die dynamische, kontrastverstärkte, T1-gewichtete MRT (dMRT). Beim Mammakarzinom stellt die MRT in Mehrphasentechnik eine etablierte Modalität zur Primär- und Rezidivdiagnostik dar. Die Zeitauflösung reicht jedoch für die Bestimmung pathophysiologischer Größen nicht aus. Bei Patientinnen mit Mammakarzinom unter neoadjuvanter Chemotherapie konnten mit zeitlich hochaufgelöster, dynamischer Bildgebung Veränderungen der Perfusion vor Änderungen der Tumorgroße nachgewiesen werden. Durch Chemotherapie induzierte Reaktionen des benachbarten, nicht von Tumor befallenen Gewebes müssen bei der Interpretation der Befunde berücksichtigt werden [Furmann 1997; Wasser 2003; Gilhuijs 1998].

Bei Patienten mit multiplem Myelom stellt die dynamische MRT ein wichtiges Hilfsmittel zur Beurteilung der Tumor-Response auf eine Polychemotherapie dar, insbesondere, da statische Bildgebungstechniken (Projektionsradiographie, Computertomographie, konventionelle MRT) Aussagen über das Ansprechen des Tumors nicht oder nur nach langer Beobachtungszeit zulassen. Zusätzlich scheint die Intensität der Kontrastmittelaufnahme in Myelomherden mit einem aggressiven Krankheitsverlauf und einer Häufung pathologischer Frakturen zu korrelieren [Hawighorst 1999; Moehler 2001]. In histologisch kontrollierten Studien konnte nachgewiesen werden, daß hohe dMRT-Parameter mit einem hohen Invasionsgrad und hoher Dichte von Mikrogefäßen vergesellschaftet sind. Bei Patientinnen mit Plattenepithelkarzinomen der Cervix uteri waren hohe Parameter in der dMRT mit einem aggressiven Krankheitsverlauf und dem Vorliegen einer Lymphangiosis carcinomatosa assoziiert [Mayr 1999; Hawighorst 1996; 1998].

Bei Patienten mit malignen Gliomen zeigte nach Präzisionsstrahlentherapie ein Abfallen initial hoher Parameter in der dMRT eine Response an, ein Anstieg oder gleichbleibend hohe Werte hingegen eine Progression [Hawighorst 1998].

Es erweist sich jedoch, dass die bisher benutzten, pharmakokinetischen Modelle nicht uneingeschränkt auf alle Tumore übertragbar sind. Zu verschiedenen sind lokale Gegebenheiten (z.B. Suszeptibilitätseffekte durch Knochenspongiosa, gemischte Kompartimentierung bei heterogen zusammengesetzten Geweben) und die pathophysiologischen Gegebenheiten hinsichtlich der Perfusion (z.B. Perfusions- oder Diffusionslimitierung des Substratflusses). Daher ist vielfach eine Adaptation oder Überarbeitung der Modelle erforderlich [Hess 1994; Hoffmann 1995; Lucht 2001; Port 2001; Port 1999; Tofts 1995; Brix 1997; Rueckert 1999; Evelhoch 1999]. Zu deren Verifikation sind Tiermodelle mit orthotop oder heterotop transplantierten Tumoren entwickelt und evaluiert worden, die für den prospektiven Einsatz zur Verfügung stehen [Kiessling 2002; Kiessling 2003; Marx 2003].

Die dynamische MRT ist ein wichtiges Hilfsmittel zur Beurteilung der Tumurvitalität, Tumorprognose und des Ansprechens auf nichtoperative Therapien. Die Anforderungen werden mit der Einführung antianeigener Therapien weiter wachsen (Thalidomid beim multiplen Myelom, Tyrosinkinase-Inhibitoren bei metastasierten, soliden Tumoren). Zusätzlich stellt die dMRT ein Werkzeug zur Detektion und Differentialdiagnose von Tumoren dar, insbesondere dort, wo eine Abgrenzung in der statischen Bildgebung problematisch ist (z.B. Mamma, Knochenmark). Sie ist in allen Organen einsetzbar, die während des Untersuchungszeitraums nur wenig mobil sind. Eine Anwendung z.B. in der Leber ist wegen erheblicher respiratorischer Bewegungen problematisch, wenn diese nicht durch externe Maßnahmen (z.B. Bauchkompression) reduziert werden. Im Mediastinum liegen ebenfalls atem- und pulsationsbedingte Bewegungen vor. Zur Kompensation sind Registrierungsverfahren erforderlich, die zum Spektrum der Anforderungen an den Softwareassistenten gehören. Als Anwendungsgebiet ist insbesondere das Bronchialkarzinom zu nennen.

Diese tierexperimentelle Studie zeigt deutlich den Wert des entwickelten Softwaretools für die experimentelle Forschung und klinische Anwendung. Dies Ergebnis ist deswegen besonders interessant und vielversprechend, da mit sehr kleinen Objekten und kleinen ROI's gearbeitet musste. Die Ortsauflösung der dynamischen Untersuchungen liegt bei 500µm. Trotzdem war die visuelle und numerische Datenanalyse in allen Fällen robust und einfach durchzuführen.

Darüber hinaus war die Datenanalyse relativ rasch (15 min) durchführbar und lässt darüber hinaus noch Raum für eine weitere Geschwindigkeitssteigerung, da einige Schritte noch weiter automatisiert werden können. Dieser Zeitrahmen aber lässt einen Einsatz in der klinischen Routine realisierbar erscheinen. Die quantitative Analyse der Parameter Gefäßdichte und Gefäßpermeabilität ist besonders für zukünftige Anwendungen interessant, da Therapieformen der Angiogenesehemmung und Therapieformen mit Rezeptortyrosinkinaseinhibitoren zunehmend intensiv auch klinisch beforscht werden. Hier ist eine Quantifizierung früher Therapieeffekte besonders wichtig, um bei diesen extrem teuren Therapieformen früh Responder und Non-Responder unterscheiden zu können. Desweiteren bleibt anzunehmen, dass mit zunehmend besserer Tumorcharakterisierung repetitive invasive Biopsien durch „virtuelle Biopsien“ ersetzt werden könnten.

Die Anwendbarkeit und das Vorliegen mehrerer verwendbarer Parameter, erlaubt dabei eine Flexibilität und Aussagefähigkeit der Analyse, die mit keinem der uns bekannten derzeit auf dem Markt befindlichen Softwareassistenten möglich ist. Hinzu kommt, dass mit dem zuletzt implementierten Tool zur modellbasierten quantitativen Analyse der Kontrastmittelanreicherung, quantitative Aussagen zur den Parametern Gefäßpermeabilität und Gefäßdichte möglich sind. Diese Parameter sind für die Hemmung der Angiogenese in Forschung und Klinik wichtig und lassen sich somit mit diesem Tool in Zukunft erfassen.

Die Kernspintomographie in Zusammenhang mit funktioneller Bildgebung und dedizierten Softwareplattformen bietet neben der qualitativen d.h. visuellen Analyse von Signalintensitäten und der semiquantitativen Analyse d.h. der numerischen Analyse von Signalintensitäten auch die Möglichkeit Tumore quantitativ mit Hilfe modellbasierter mathematischer Analyse der Signalintensitäten zu analysieren. Dies erlaubt eine exaktere Charakterisierung von Tumorerkrankungen, einen besseren inter-individuellen Vergleich sowie exaktere intra-individuelle Verlaufskontrollen.

Dies wird aber auch bedeuten, dass die funktionelle Kernspintomographie in Zukunft nur mit Hilfe spezieller Softwareassistenz möglich sein wird. Hierzu werden in Zukunft flexible Tools nötig sein um Daten in der klinischen Routine rasch analysieren zu können. Hierdurch ergeben sich allerdings auch

Möglichkeiten Studienergebnisse unterschiedlicher Arbeitsgruppen standardisiert zu vergleichen. Neben dem medizinischen und technologischen Einfluß den die Weiterentwicklung dieser Softwareplattformen einnehmen wird, ist diese Entwicklung auch wirtschaftlich interessant. Die Integration von Softwaretools zur Analyse von funktionellen Parametern in klinische Software macht diese überall verfügbar, zukunftssicher und einfacher anwendbar. Desweiteren können teure und nebenwirkungsreiche Therapieregime frühzeitiger hinsichtlich Erfolg und Misserfolg beurteilt werden.

5. Zusammenfassung

In der Regel werden zur Diagnostik und zum Staging von Erkrankungen bildgebende Verfahren angewandt, die in erster Linie anatomische Veränderungen aufzeigen. CT, MRT und Ultraschall detektieren Raumforderungen, Dichteveränderungen und Relaxivitätsveränderungen und ermöglichen eine Bestimmung der Vaskularität. Die in zunehmenden Maße für die individuelle Diagnose und Therapieplanung wichtigen biologischen Charakteristika können erst durch die Analyse von bioptischem Material bestimmt werden. Diese Kombination aus Bildgebung und Histologie hat einen eindeutigen Einfluß auf das therapeutische Vorgehen. Die Aussagekraft ist allerdings deutlich begrenzt, da die funktionelle Beurteilung der anatomisch basierten Bildgebung stark eingeschränkt ist und die Analyse von bioptischem Material keine Beurteilung der Ausdehnung und der regionalen Heterogenität erlaubt.

Eine biologisch basierte Bildgebung hat das Potential, die individuelle Therapie in Bezug auf die Früherkennung, die Therapieplanung und das Monitoring deutlich zu verbessern. Welche Verfahren sich bei den jeweiligen Fragestellungen letztendlich durchsetzen werden, ist derzeit noch nicht abzuschätzen und wird durch weiterführende Studien evaluiert werden müssen.

6. Literaturverzeichnis

Alfke H, Kalinowski M, Nocken F et al.. Eine Übersicht über die Molekulare Radiologie. Teil 1:Gentherapie. Rofo Fortschr Geb Rontgenstr Neuen Bildgeb Verfahr 2000;172: 949-956

Augustin HG. Antiangiogenic tumour therapy: will it work ? Trends in Pharmacol Sci 1998; 19: 212-219

Barbosa MD. Identification of the homologous beige and Chediak-Higashi syndrome genes. Nature 1996;382: 262-265

Bardeesy N, De Pinho RA. Pancreatic cancer biology and genetics. Nat Rev Cancer 2002;2: 897-909

Barinaga M (1997). From bench top to bedside. Science 1997; 278:1036-9

Beger HG. Prognosefaktoren beim Pankreaskarzinom. Langenbecks-Arch-Chir 1995: 380: 131-132

Bloch F . Nuclear Induction. Phys Ref 1946; 70: 460-474

Boxerman JL, Hamberg LM, Rosen BR, Weiskoff RM. MR contrast due to intravascular magnetic susceptibility perturbations. Magn Reson Med 1995; 34: 555-566

Brasch R, Pham C, Shames D et al.. Assessing tumor angiogenesis using macromolecular MR imaging contrast media. J Magn Reson Imaging 1997; 7: 68-74

Brem S, Brem H, Folkman J, Finkelstein D, Patz A. Prolonged tumor dormancy by prevention of neovascularization in the vitreous. Cancer Res 1976;36:2807-2812

Brix G, Schreiber W, Hoffmann U, Gückel F, Hawighorst H, Knopp MV. Methodische Ansätze zur quantitativen Beurteilung der Mikrozirkulation im Gewebe mit der dynamischen Magnetresonanztomographie. Radiologe 1997; 37: 470-480

Browder T, Butterfield CE, Kraling BM, Shi B, Marshall B, O'Reilly MS, Folkman J. Antiangiogenic scheduling of chemotherapy improves efficacy against experimental drug-resistant cancer. Cancer Res 2000; 60: 1878-1886

Brower V. Tumor angiogenesis – new drugs on the block. Nature Biotechnology 1999;17:963-969

Brown LF, Berse B, Jackman RW et al.. Expression of vascular permeability factor (Vascular Endothelial Growth Factor) and its receptors in human breast cancer. Hum Path 1995;26:86-91

Chen WH. Human pancreatic adenocarcinoma: in vitro and in vivo morphology of a new tumor line established from ascites. In vitro 1985; 18 : 24-34

Cohen J; Behind the headlines of endostatin's ups and downs; Science 1999; 283:1250-1

Christofori G. The role of fibroblast growth factor in tumor progression and angiogenesis. In Tumor angiogenesis. R. Bicknell, CE Lewis and N Ferrara, eds (Oxford Press 1996).

Cullinan S, Moertel CG, Wieand HS et al.. A phase III trial on the therapy of advanced pancreatic carcinoma Evaluation of the Mallinson regimen and combined 5-fluorouracil, doxorubicin, and cisplatin. Cancer 1990; 65: 2207-12

Damadian R. Nuclear magnetic resonance: a noninvasive approach to cancer. Hosp pract 12 (1977) 63 - 70

Dawson P., Trehella M. Intravascular contrast agents and renal failure. Clin Radiology 1990;41: 373-375

Degani H, Gusic V, Weinstein D, Fields S, Strano S. Mapping pathophysiological features of breast tumors by MRI at high spatial resolution. Nat Med 1997; 3: 780-782

De Jong JS, van Diest PJ, van der Valk P, Baak JP. Expression of growth factors, growth factor receptors and apoptosis related proteins in breast cancer: relation to apoptotic rate. Breast Cancer Res Treat 2001; 66 :201-8

Dennie J, Mandeville JB, Boxerman JL, Packard SD, Rosen BR, Weiskoff RM. NMR imaging of changes in vascular morphology due to tumor angiogenesis. Magn Reson Med 1998; 40: 793-799

Dietmar W., Siemann, P, Wenyin S. Efficacy of combined antiangiogenic and vascular disrupting agents in treatment of solid tumors. Int. J Rad. Onc. Biol. Phys. 2004; 60: 1233 – 1240

Dobelbower RR Jr, Konski AA, Merrick HW, Bronn DG Intraoperative electron beam radiation therapy (IOEBRT) for carcinoma of the exocrine pancreas. Int J Radiat Oncol Biol Phys 1991: 20: 113-118

El-Rayes BF, Shields AF, Vaitkevicius V. Developments in the systemic therapy of pancreatic cancer; Cancer Invest. 2003; 21:73-86

Evelhoch JL. Key factors in the acquisition of contrast kinetic data for oncology. J Magn Reson Imaging 1999; 10: 254-259

Ferrara N. Henzel WJ. Pituitary follicular cells secrete a novel heparin-binding growth factor specific for vascular endothelial cells. Biochem Biophys Res Commun.1989;161:831-8

Folkman J, Hanahan D. Switch to the angiogenic phenotype during tumorigenesis, Princess Takamatsu Symp. 1991; 22:339-47

Folkman J. The role of angiogenesis in tumor growth. *Semin Cancer Biol.* 1992;3:65-71

Folkman J. Angiogenesis in cancer, vascular, rheumatoid and other disease. *Nat Med* 1995; 1: 27-31

Folkman J. Tumor angiogenesis: Therapeutic implications. *N.Engl.J.Med.* 1971; 285:1182-6

Folkman J, Shing Y. Angiogenesis. *J Biol Chem* 1992 ;267:10931-10934.

Friesel RE, Maciag T. Molecular mechanisms of angiogenesis: fibroblast growth factor signal. *FASEB J* 1995;9: 919-925

Froidevaux S, Looor F. A quick procedure for identifying doubly homozygous immunodeficient scid-beige mice. *J Immunol Methods* 2000; 137: 275-279

Frouge C, Guinebretiere JM, Contesso G, Di Paola R, Blery M. Correlation between contrast enhancement in dynamic magnetic resonance imaging of the breast and tumor angiogenesis. *Invest Radiol* 1994; 29: 1043-1049

Fulop GM, Philips RA. The scid mutation in mice causes a general defect in DNA repair. *Nature* 1990; 347: 479-482

Funke M, Netsch T, Breiter N et al. Computergestützte Visualisierung digitaler Mammogramme. *Rofo Fortschr Geb Rontgenstr Neuen Bildgeb Verfahr* 1999;171:359-363

Furman-Haran,E., Grobgeld,D., Degani,H. Dynamic contrast-enhanced imaging and analysis at high spatial resolution of MCF7 human breast tumors. *J Magn Reson* 1997; 128: 161-171

Gastrointestinal Tumor Study Group: Radiation therapy combined with Adriamycin or 5-fluorouracil for the treatment of locally unresectable pancreatic carcinoma. *Cancer* 1985; 56: 2563-2568

Gattani A, Mandeli J, Chesser MR, Bruckner HW. An active biochemical modulation regimen for advanced adenocarcinoma of the pancreas. *Proc Am Soc Clin* 1992; 11: 193-198

Gimbrone MAJ, Leapman SB, Cotran RS, Folkman J. Tumor dormancy in vivo by prevention of neovascularization. *J Exp Med.* 1972;163:261-276

Ghadirian P, Lynch HAT, Krewski D. Epidemiology of pancreatic cancer: an overview. *Cancer Detect Prev* 2003;27: 87-93

Gelber RD. Gemcitabine for pancreatic cancer: how hard to look for clinical benefit? An American perspective. *Ann Oncol.* 1996;7: 335-7

Gilhuijs KG, Giger ML, Bick U. Computerized analysis of breast lesions in three dimensions using dynamic magnetic-resonance imaging. *Med. Phys* 1998; 25, 1647-1654

Griebel J, Mayr NA, de Vries A et al.. Assessment of tumor microcirculation: a new role of dynamic contrast MR imaging. *J Magn Reson Imaging* 1997;7: 111-119

Hanahan D, Folkman J. Patterns and Emerging Mechanisms of the Angiogenic Switch during Tumorigenesis, *Cell* 1996; 13: 23-28

Hawighorst H, Knapstein PG, Weikel W et al.. Angiogenesis of uterine cervical carcinoma: characterization by pharmacokinetic magnetic resonance parameters and histological microvessel density with correlation to lymphatic involvement. *Cancer Res* 1997; 57: 4777-4786

Hawighorst H, Knapstein PG, Weikel W et al.. Cervical carcinoma: comparison of standard and pharmacokinetic MR imaging. *Radiology* 1996; 201: 531-539

Hawighorst H, Weikel W, Knapstein PG et al.. Angiogenic activity of cervical carcinoma: assessment by functional magnetic resonance imaging-based parameters and a histomorphological approach in correlation with disease outcome. *Clin Cancer Res* 1998; 4: 2305-2312

Hawighorst H, Libicher M, Knopp MV, Moehler TM, Kauffmann GW, van Kaick G. Evaluation of angiogenesis and perfusion of bone marrow lesions: role of semiquantitative and quantitative dynamic MRI. *J Magn Reson Imaging* 1999;10: 286-294

Hawighorst H, Knopp MV, Debus J et al.. Pharmacokinetic MRI for assessment of malignant glioma response to stereotactic radiotherapy: initial results. *J Magn Reson Imaging* 1998; 8: 783-788

Hess T, Knopp MV, Hoffmann U, Brix G, Junkermann H, von Fournier D. Pharmakokinetische Analyse der Gd-DTPA-Anreicherung in der MRT beim Mammakarzinom. *Fortschr Röntgenstr* 1994;160: 518-523

Hoffmann U, Brix G, Knopp MV, Hess T, Lorenz WJ. Pharmacokinetic mapping of the breast: a new method for dynamic MR mammography. *Magn Reson Med* 1995; 33: 506-514

Hogemann D, Basilion JP, Weissleder R. Molekulare Bildgebung in der Magnetresonanztomographie und der Nuklearmedizin. *Radiologe* 2001;41:116-120

Holmgren L, O'Reilly MS, Folkman J. Dormancy of micrometastases: balanced proliferation and apoptosis in the presence of angiogenesis suppression. *Nature Med* 1995;1:149-15.

Jakesz R, Hausmaninger H, Samonigg H et al. Die Therapiestudien der Austrian Breast Cancer Group (ABC). Zentralbl Chir 1998;123 Suppl 5:28-32

Kalser MH, Ellenberg SS. Pancreatic cancer: adjuvant combined radiation and chemotherapy following curative resection. Arch Surg 1985; 120: 899-903.

Keck PJ, Hauser SD, Krivi G et al.. Vascular permeability factor, an endothelial cell mitogen related to PDGF. Science 1989; 246: 1309-12.

Kiessling F, Fink C, Hansen M et al.. Magnetic resonance imaging of nude mice with heterotransplanted high grade squamous cell carcinomas (scc): use of a low loaded, covalently bound Gd-HSA conjugate as contrast agent with high tumor affinity. Invest Radiol 2002;37: 193-198

Kiessling F, Heilmann M, Vosseler S et al.. Dynamic T1-weighted monitoring of vascularization in human carcinoma heterotransplants by magnetic resonance imaging. Int J Cancer 2003;104: 113-120

Kiessling F, Lichy M, Grobholz R et al.. Detektion von Prostatakarzinomen mit T1-gewichteter Kontrastmittel-unterstützter dynamischer MRT: Wertigkeit des Zweikompartimentemodells. Radiologe 2003;43: 474-480

Knopp MV. Pathophysiologic basis of contrast enhancement in breast tumors. J. Magn Reson. Imaging 1999; 10: 260-266

Knopp MV, Brix G, Junkermann H, Sinn HP. MR mammography with pharmacokinetic mapping for monitoring of breast cancer treatment during neoadjuvant therapy. MRI. Clin N America 1994; 2: 633-658

Knopp,MV. Comparison of methods for quantifying contrast enhancement exemplified by dynamic MRI mammography. Radiologe 2002; 42: 280-290

Knopp MV, Hoffmann U, Brix G, Hawighorst H, Junkermann H, van Kaick G. Schnelle MR-Kontrastmitteldynamik zur Charakterisierung von Tumoren. Radiologe 1995; 35: 964-972

Knopp MV, Giesel FL, Marcos H, Tengg-Kobligk H, Choyke P. Dynamic contrast-enhanced magnetic resonance imaging in oncology. J Magn Reson Imaging 2001; 12: 301-308

Kuhl C, Schild HH. Dynamic image interpretation of MRI of the breast. J. Magn Reson. Imaging 2000; 12: 965-974

Lauterbur PC. Augmentation of tissue water protein spin-lattice relaxation rates by in vivo addition of paramagnetic ions. Front Biol Engin 1978; 1:752

Leach MO. The assessment of antiangiogenic antivasular therapies in early-stage clinical trials using magnetic resonance imaging: issues and recommendations. British Journal of Cancer 2005; 92: 1599-1610

Lee J, Gray A, Yuan J, Luoh SM, Abraham H, Wood WJ. Vascular Endothelial Growth Factor- related protein: a ligand and specific activator of the tyrosine kinase receptor Flt-4. Proc Natl Acad Sci USA 1996;93: 1988-1992.

Leung DW, Cachianes G, Kuang WJ, Goeddel DV, Ferrara N. Vascular endothelial growth factor is a secreted mitogen. Science 1989; 246:1306-9.

Lewin M, Bredow S, Sergejev N, Marecos E, Bogdanov A, Weisleder R. In vivo assessment of vacular endothelial growth factor-induced angiogenesis. Int J Cancer 1999; 83: 798-802

Li D, Wang Y, Waight DJ Blood oxygen saturation assessment in vivo using T2* estimation. Magn Reson Med 1998; 39:685-690

Li VW, Folkert RD, Watanabe H et al.. Microvessel count and cerebrospinal fluid basic fibroblast growth factor in children with brain tumors. *Lancet* 1994; 334: 82-86

Lockhart AC, Rothenberg ML, Berlin JD. Treatment for pancreatic cancer: current therapy and continued progress. *Gastroenterology* 2005;128:1642-1654

Lowenfels AB, Maisonneuve P. Risk factors for pancreatic cancer. *J Cell Biochem* 2005;95:649-656

Lucht RE, Knopp MV, Brix G. Classification of signal-time curves from dynamic MR mammography by neural networks. *Magn Reson Imaging* 2001; 19: 51-57

Ma J, Pulfer S, Li S, Chu J, Reed K, Gallo JM. Pharmacodynamic-mediated reduction of temozolomide tumor concentrations by the angiogenesisinhibitor TNP-470. *Cancer Res* 2001; 61:5491-8

Machianini P, Fontanini G, Hardin JM, Squartini F, Angeletti FA. Relation of neovascularization to metastasis of non-small cell lung cancer. *Lancet* 1992; 340: 45-46

Mall JW, Myers JA, Xiulong Xu, Saclarides TJ, AW Philipp, Pollmann C. Leflunomid reduziert den Angiogenesescore und das Tumorwachstum subkutan implantierter Kolonkarzinomzellen im Mausmodell. *Chirurg* 2002; 73:716-720

Marx J. Building better mouse models for studying cancer. *Science* 2003; 299: 1972-1975

Mayer RJ. Pancreatic cancer. 591-593. In: Braunwald E, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL (eds.), *HPIM*, 15th edition, Mc Graw-Hill, New York 2001.

Mayr NA, Hawighorst H, Yuh WT et al.. MR microcirculation assessment in cervical cancer: correlations with histomorphological tumor markers and clinical outcome J Magn Reson Imaging 1999;10:267-276

Mendel DB, Laird AD, Smolich BD et al.. Development of SU5416, a selective small molecule inhibitor of VEGF receptor tyrosine kinase activity, as an antiangiogenesis agent. Anticancer Drug Des 2000;15:29-41

Meyer KL, Joseph PM, Mukherji B, Livolsi VA, Lin R. Measurement of vascular volume in experimental rat tumors by ¹⁹F magnetic resonance imaging. Invest Radiol 1993;28: 710-719

Miller JC, Pien HH, Sahani D, Sorensen AG, Thrall JH. Imaging angiogenesis. Applications and potential for drug development. J Natl Cancer Inst 2005;97: 172-187

Miller AB, To T, Baines CJ et al. The Canadian National Breast Screening Study: update on breast cancer mortality. J Natl Cancer Inst Monogr 1997;37-41

Moehler TM, Hawighorst H, Neben K et al.. Bone marrow microcirculation analysis in multiple myeloma by contrast-enhanced dynamic magnetic resonance imaging. Int J Cancer 2001; 93: 862-868

Moertel CG, Lefkopoulo M, Lipsitz S, Hahn RG, Klaassen D. Streptozocin – doxorubicin, streptozocin-fluorouracil, or chlorozotocin in the treatment of advanced islet-cell carcinoma. N Engl J Med 1992; 326: 519-523

Moore M. Activity of gemcitabine in patients with advanced pancreatic carcinoma. A review. Cancer 1996: 78: 633-8

Neal DE, Marsh C, Bennett MK et al.. Epidermal growth factor receptors in human bladder cancer: Comparison of invasive and superficial tumors. Lancet 1985; 1:366-36

New Guidelines to Evaluate the Response to Treatment in Solid Tumors. Journal of the National Cancer Institute, 92:3, 205- 216, <http://www.nci.nih.gov/bip/RECIST.html>

Oellinger H, Blohmer JU, Siewert C et al.. Der optimale Einsatz der MR-Mammographie (MRM) unter wirtschaftlichen Gesichtspunkten. Zentralbl Chir 1998;123 Suppl 5:42-6:42-46

Olofsson B, Pajusola K, Kaipainen A et al.. Vascular Endothelial Growth Factor B, a novel growth factor for endothelial cells. Proc Natl Acad Sci USA 1996; 93:2476-2581

Okusaka T, Kosuge T. Systemic chemotherapy for pancreatic cancer. Pancreas. 2004;28:301-4

O'Reilly MS, Holmgren L, Shing Y et al.. Angiostatin: a novel angiogenesis inhibitor that mediates the suppression of metastases by Lewis lung carcinoma. Cell 1994; 79:315- 328

Padhani AR. MRI for assesing antivasular cancer treatments. British Journal of Radiology 2003;76: S60-S80

Popescu RA, Cunningham D. Chemotherapy for advanced pancreatic cancer – some light at the end of the tunnel ?, Ann-Oncol 1997; 8: 415-416

Port RE, Knopp MV, Brix G. Dynamic contrast-enhanced MRI using Gd-DTPA: interindividual variability of the arterial input function and consequences for the assessment of kinetics in tumors. Magn Reson Med 2001;45: 1030-1038

Port RE, Knopp MV, Hoffmann U, Milker-Zabel S, Brix G. Multicompartment analysis of gadolinium chelate kinetics: blood-tissue exchange in mammary tumors as monitored by dynamic MR imaging. J Magn Reson Imaging 1999; 10: 233-241

Porta M, Fabregat X, Malats N et al.. Exocrine pancreatic cancer: symptoms at presentation and their relation to tumour site and stage. Clin Transl Oncol 2005;7:189-197.

Prox D, Becker C. Treatment of human pancreatic cancer in mice with angiogenic inhibitors; World J Surg. 2003; 27: 405-11

Purcell EM, Torrey HC, Pound RV. Resonance Absorption by nuclear magnetic moments in a solid. Phys Ref 1946; 69: 37-38

Risau W, Flamme I. Vasculogenesis. Annu Rev Cell Dev Biol 1995;11:73-91.

Robert-Koch-Institut, Krebsstatistik (<http://www.rki.de>) 2006.

Roberts HC, Roberts TP, Bollen AW et al.. Correlation of microvascular permeability derived from dynamic contrast-enhanced MR imaging with histologic grade and tumor labeling index: a study in human brain tumors Acad Radiol 2001;8:384-391

Rocha Lima CMS, Centeno B. Update on pancreatic cancer. Curr Opin Oncol 2002;14:424-430.

Rothman H, Cantrell JE Jr, Lokich J, Difino S, Harvey J, Ahlgren J. Continuous infusion 5-fluorouracil plus weekly cisplatin for pancreatic carcinoma. A mid-atlantic oncology program study. Cancer 1991; 68: 345-351

Rueckert D, Sonoda LI, Hayes C, Hill DL, Leach MO, Hawkes DJ. Nonrigid registration using free-form deformations: application to breast MR images. IEEE Trans Med Imaging 1999; 18: 712-721.

Saeger HD, Hampl M. Mammographisches Screening ab 5. oder 6. Lebensjahrzehnt? Chirurg 1999;70:380-383

Sauer H. Neue Entwicklungen in der Tumornachsorge. Versicherungsmedizin 1999;51:18-23

Schneider G, Siveke JT, Eckel F, Schmid RM. Pancreatic cancer: basic and clinical aspects. Gastroenterology 2005;128:1606-1625

Shiple WU, Wood WC, Tepper JE. Intraoperative beam irradiation for patients with unresectable pancreatic carcinoma. Ann Surg 1984; 200: 289-294

Senger DR, Galli SJ, Dvorak AM, Peruzzi CA, Harvey VS, Dvorak HF. Tumor cells secrete a vascular permeability factor that promotes accumulation of ascites fluid. Science 1983;219:983-985

Shawver LK, Schwartz DP, Mann E et al.. Inhibition of platelet derived growth factor mediated signal transduction and tumor growth by N-[4-(trifluormethyl)-phenyl]5-methylisoxazole-4-carboxamide. Clin Cancer Res 1997; 3:1167-1177

Simoens WA, Wuyts FL, De Beuckeleer LH et al. MR features of peripheral nerve sheath tumors: can a calculated index compete with radiologist's experience? Eur Radiol 2001;11:250-257

Singhal S, Mehta J, Desikan R et al.. Antitumor activity of thalidomide in refractory multiple myeloma. N Engl J Med. 1999;341:1565-1571

Sipkins DA, Cheresch DA, Kazemi MR, Levin LM, Bednarski MD, Li KC. Detection of tumor angiogenesis in vivo by alphaVbeta3-targeted magnetic resonance imaging. Nat Med 1998 4: 623-626

Statistisches Bundesamt. Allgemeine Sterblichkeit und Lebenserwartung. Gesundheitsberichtserstattung des Bundes November 1998. Statistisches Bundesamt 2001.

Statistisches Bundesamt. Sterblichkeit nach ausgewählten Todesursachen. Gesundheitsberichtserstattung des Bundes November 1998. Statistisches Bundesamt 2001

Tan MH. Characterization of a new primary human pancreatic tumor line. *Cancer Invest* 1986;4: 15-23

Tavani A., Pregnatolo A., Negri E., La Vecchia C. Alcohol consumption and the risk of pancreatic cancer. *Nutr. Cancer* 1997, 27: 157-161

Taylor JS, Tofts PS, Port R et al.. MR imaging of tumor microcirculation: promise for the new millennium *J Magn Reson Imaging* 1999;10:903-907

Taylor JS, Reddick WE. Evolution from empirical dynamic contrast-enhanced magnetic resonance imaging to pharmacokinetic MRI *Adv Drug Deliv Rev* 2000;41:91-110

Tofts PS, Kermode AG. Measurement of the blood-brain barrier permeability and leakage space using dynamic MR imaging. 1. Fundamental concepts. *Magn Reson. Med* 1991; 17, 357-367

Tofts PS, Berkowitz B, Schnall MD. Quantitative analysis of dynamic Gd-DTPA enhancement in breast tumors using a permeability model. *Magn Reson Med* 1995; 33: 564-568

Tofts PS, Brix G, Buckley DL et al.. Estimating kinetic parameters from dynamic contrast-enhanced T1-weighted MRI of a diffusible tracer: standardized quantities and symbols. *J Magn Reson Imaging* 1999; 10: 223-232

Ulrich-Pur-H, Kornek GV, Raderer M et al.. A phase II trial of adenocarcinoma. *Cancer* 2000; 88: 2505-11

Vacca A, Ribatti D, Presta M et al.. Bone marrow neovascularization, plasma cell angiogenic potential and matrix metalloproteinase-2 secretion parallel progression of human multiple myeloma. *Blood* 1999;93:3064-3073

Verhees S, Flechtner H, Queisser W et al.. Treatment of advanced pancreatic cancer with 5-fluorouracil, 4-epidoxorubicin and mitomycin C (FEM II) From the chemotherapy of gastrointestinal tumor group. *Onkologie* 1990; 13: 50-52

Villringer K, Wolf KJ. Die Bedeutung der funktionellen Magnetresonanz (fMR) für die radiologische Diagnostik. *Rofo Fortschr Geb Rontgenstr Neuen Bildgeb Verfahr* 2001;173:165-167

von Fournier D. Wissensstand zum Mammographie-Screening zur Einführung in Deutschland in das gesetzliche Früherkennungsprogramm. *Zentralbl Gynakol* 1999;121:159-165

Wagner M, Redaelli C, Lietz M, Seiler CA, Friess H, Buchler MW. Curative resection is the most important factor determining outcome in patients with pancreatic adenocarcinoma. *Br J Surg* 2004; 91:586-594

Wanebo H. J., Vezeridis M. P. Pancreatic carcinoma in perspective. A continuing challenge. *Cancer* 1996;8: 580-591

Warshaw AL, Fernández-Del Castillo C. Pancreatic carcinoma. *N Engl J Med* 1992;326:455-465

Wasser K Accuracy of tumor size measurement in breast cancer using MRI is influenced by histological regression induced by neoadjuvant chemotherapy. *Eur Radiol* 2003; 13: 1213-1223

Wasser K. Evaluation of neoadjuvant chemotherapeutic response of breast cancer using dynamic MRI with high temporal resolution. *Eur. Radiol* 2003;13: 80-87

Weidner N, Semple JP, Welch WR, Folkman J. Tumor angiogenesis and metastasis—correlation in invasive breast carcinoma. *N Engl J Med.* 1991;324:1-8

Weidner N, Carroll PR, Flax J, Blumenfeld W, and Folkman J. Tumor angiogenesis correlates with metastasis in invasive prostate carcinoma. *Am J Pathol* 1993; 143:401-409

Weisleder R, Cheng H, Marecos E, Kwonk K, Bogdanov A. Non-invasive in vivo mapping of tumor and interstitial volume fractions non invasively. *Europ J Cancer* 1998 ; 34: 1448-1454

WHO handbook for reporting results of cancer treatment. Geneva (Switzerland): World Health Organization Offset Publication No. 48; 1979

Wray CJ, Ahmad SA, Matthews JB, Lowy AM. Surgery for pancreatic cancer: recent controversies and current practice. *Gastroenterology* 2005;128:1626-1641

Xu X, Shen J, Mall JW et al.. In vitro and in vivo antitumor activity of a novel immunomodulatory drug, leflunomide: Mechanisms of action. *Biochem Pharmacol* 1999; 58:1405-1413

Xu X, Williams JW, Bremer EG, Finnegan A, Chong AS F. Inhibition of protein tyrosine kinase phosphorylation in T cells by a novel immunosuppressive agent, leflunomide. *J Biol Chem* 1995;270: 12398-12403

Yasui M, Sakamoto J, Yasui K, Morimoto T, Kurimoto K, Kuno N, Morita K. A randomized trial of intraoperative radiation therapy (IORT) vs IORT plus chemotherapy (Mtx-5-FU) for adenocarcinoma of the pancreas. *Proc Am Soc Clin* 1992; 11: 161-166

Yeo TP, Hruban RH, Leach SD, Wilentz RE, Sohn TA, Kern SE, Iacobuzio-Donahue CA, Maitra A, Goggins M, Canto MI, Abrams RA, Laheru D, Jaffee EM, Hidalgo M, Yeo CJ. Pancreatic cancer. *Curr Probl Cancer* 2002; 26:176-275

Zhu XP, Li KL, Kamaly-Asl ID, Checkley DR, Tessier JJ, Waterton JC. Quantification of endothelial permeability, leakage space, and blood volume in brain tumors using combined T1 and T2* contrast-enhanced dynamic MR imaging. *J Magn Reson Imaging* 2000; 11:575-585

7. Anhang

7.1 Verzeichnis meiner akademischen Lehrer

Meine akademischen Lehrer an der Philipps- Universität Marburg waren die Damen und Herren Dozenten und Professoren:

Arnold, Aumüller, Back, Barth, Basler, Baum, Berger, Bertalanffy, Behr, Bien, Cetin, Czubayko, Daut, Dobelstein, Dodel, Eilers, Engenhardt-Cabilic, Gemsa, Gotzen, Grau, Grimm, Griss, Grzeschik, Gudermann, Happle, Hasilik, Heeg, Hellinger, Hesse, Hofmann, Hörle, Jaspersen, Jungclas, Kälble, Kern, Klenk, Klose, Köhler, Koolman, Krause, Kretschmer, Krieg, Kroll, Kuhn, Kuni, Lang, Lange, Lennartz, Lippert, Löffler, Lorenz, Maisch, Maser, Meinhardt, Mennel, Meyer, Moll, Moosdorf, Mueller, Müller, Mutters, Neubauer, Nies, Oertel, Peter, Pfab, Rehder, Remschmidt, Renz, Richter, Rosenow, Röhm, Rothmund, Schäfer, Schmidt, Schmidt, Schnabel, Schüffel, Schulz, Seitz, Sekundo, Seyberth, Sommer, Steiniger, Stempel, Vogelmaier, Vohland, Voigt, Weihe, Werner, von Wichert, Wulf, Zielke

7.2 Danksagung

Ich danke dem Leiter der Abteilung für Strahlendiagnostik, Herrn Prof. Dr. Klose, Direktor der Abteilung für Strahlendiagnostik des Medizinischen Zentrums für Radiologie der Philipps- Universität Marburg für die Möglichkeit der Promotion.

Bei Herrn Prof. Dr. H. Alfke bedanke ich mich für die Überlassung des Themas, die Betreuung und Unterstützung bei der Durchführung der Arbeit.

Herrn Boris Keil danke ich für die gute Unterstützung bei der gesamten Arbeit.

Der Medizinisch-Technischen Assistentin Frau Beate Kleb sei für die Einarbeitung und die Assistenz bei den experimentellen Arbeiten gedankt.

Bei allen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern der Abteilung für Strahlendiagnostik, besonders den MTA`s am MRT bedanke ich mich für die freundliche Unterstützung bei der Durchführung dieser Arbeit.