

Aus dem Institut für Röntgendiagnostik der Fakultät für Medizin
der Technischen Universität München
(Direktor Univ.-Prof. Dr. E. Rummeny)

Wertigkeit Sinerem®-verstärkter Magnetresonanztomographie des Knochenmarks bei Patienten mit Non-Hodgkin Lymphomen vor und nach Mobilisierungstherapie

Stefanie L. M. Lohr

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät für Medizin der Technischen Universität
München zur Erlangung des akademischen Grades eines
Doktors der Medizin genehmigten Dissertation.

Vorsitzender:

Univ.-Prof. Dr. D. Neumeier

Prüfer der Dissertation:

1. Univ.-Prof. Dr. E. Rummeny
2. apl. Prof. Dr. H. Bernhard

Die Dissertation wurde am 22.11.2006 bei der Technischen Universität München
eingereicht und durch die Fakultät für Medizin am 18.07.2007 angenommen.

*Ich widme diese Arbeit meinem
Großvater Dr. med. Magnus Willburger.*

Abkürzungsverzeichnis

| | |
|----------|---|
| BKS | Blut-Knochenmark-Schranke |
| CHOP | Kombinationschemotherapie aus Cyclophosphamid, Doxorubicin, Vincristin (= Oncovin) und Prednison |
| CLL | Chronische lymphatische Leukämie |
| CR | Komplette Remission |
| CVP | Kombinationschemotherapie aus Cyclophosphamid, Vincristin und Prednison |
| G-CSF | Granulocyte-colony stimulating factor |
| GE | Gradientenecho |
| et al. | und andere |
| FFE | Fast Field Echo |
| FLASH | Fast Low-Angle Shot (= T1-gewichtete FFE) |
| FOV | Field of view (engl. für Bildausschnitt) |
| FSE | Fast Spin Echo (= TSE) |
| ILSG | International Lymphoma Study Group |
| IPI | International Prognostic Index |
| i.v. | intravenös |
| kg | Kilogramm |
| KMT | Knochenmarkstransplantation |
| LWK | Lendenwirbelkörper |
| MRT | Magnetresonanztomographie |
| ms | Millisekunde |
| MW | Mittelwert |
| N | Noise (engl. für Rauschen) |
| n | Anzahl der Patienten |
| NHL | Non-Hodgkin Lymphom |
| p | Wert des Testniveaus |
| PACS | Picture Archiving and Communication System |
| PBSZT | Periphere Blutstammzelltransplantation |
| p.i. | post injektionem |
| R-CHOP | Kombinationschemotherapie aus Rituximab, Cyclophosphamid, Doxorubicin, Vincristin (= Oncovin) und Prednison |
| R.E.A.L. | Revised European and American Lymphoma Classification for NHL |
| RES | Retikuloendotheliales System |
| RF | Risikofaktor |
| ROI | Region of Interest (Untersuchungsregion) |
| SE | Spin Echo |
| SEM | Standard error of the mean (engl. für Standardfehler des Mittelwertes) |
| SI | Signalintensität |
| SNR | Signal to Noise Ratio |
| SPIO | Superparamagnetic Iron Oxide Particles |
| SPSS | Superior Performing Statistical Software |
| STIR | Short Time Inversion Recovery |
| SZT | Stammzelltransplantation |
| T1 | Zeitkonstante der longitudinalen Relaxation |
| T2 | Zeitkonstante der Querrelaxation |
| TE | Echozeit |
| TI | Inversionszeit |
| TR | Repetitionszeit |

| | |
|-------|---|
| TSE | Turbo Spin Echo |
| USPIO | Ultrasmall Superparamagnetic Iron Oxide Particles |
| VCI | Vena cava inferior |
| vs. | versus |
| WHO | World Health Organization |

Anmerkung:

Der in dieser Arbeit verwendete Begriff der Mobilisierungstherapie bezeichnet die zum Zwecke der Mobilisierung von peripheren Blutstammzellen für nachfolgende Stammzelltransplantation durchgeführte Mobilisierungstherapie mit darauf folgender G-CSF-Verabreichung.

Inhaltsverzeichnis:

Abkürzungsverzeichnis

| | |
|--|-----------|
| 1 Einleitung | 7 |
| 1.1 Ziel dieser Arbeit | 9 |
| 2 Grundlagen | 10 |
| 2.1 Das Knochenmark | 10 |
| 2.1.1 Anatomie und Funktion | 10 |
| 2.1.2 Stammzellen und Zellreihen des Knochenmarks | 11 |
| 2.1.3 Knochenmarkskonversion | 12 |
| 2.2 Non-Hodgkin Lymphome | 14 |
| 2.2.1 Allgemeines zu Non-Hodgkin Lymphomen | 14 |
| 2.2.2 Therapiemöglichkeiten beim NHL | 17 |
| 2.3 Autologe Stammzelltransplantation | 19 |
| 2.3.1 Allgemeines zur Knochenmarks- und Stammzelltransplantation | 19 |
| 2.3.2 Von der Mobilisation bis zur PBSZT | 20 |
| 2.3.3 Filgrastim – rekombinantes G-CSF | 22 |
| 2.4 Grundlagen der MRT | 24 |
| 2.4.1 Physikalische Grundlagen der MRT | 24 |
| 2.4.2 Pulssequenzen – Eine kurze Einführung | 27 |
| 2.4.3 MRT des Knochenmarks | 29 |
| 2.4.4 Kontrastmittel in der MRT | 31 |
| 2.4.5 Sinerem® - Das ultrakleine superparamagnetische MRT-Kontrastmittel | 35 |
| 3 Material und Methoden | 38 |
| 3.1 Das Patientenkollektiv | 38 |
| 3.2 Studienuntersuchung | 39 |
| 3.3 Sinerem® – Herstellung und Dosierung | 39 |
| 3.4 Bildgebung und Pulssequenzen | 40 |
| 3.5 Datenanalyse | 42 |
| 3.5.1 Quantitative Datenanalyse | 42 |
| 3.5.2 Stammzellapherese | 44 |
| 3.5.3 Korrelationsanalyse | 45 |

| | |
|--|-----------|
| 3.5.4 Qualitative Datenanalyse | 45 |
| 3.6 Statistische Auswertung | 46 |
| 4 Ergebnisse | 47 |
| 4.1 Quantitative Datenanalyse | 47 |
| 4.1.1 Pre- und Post-contrast-Aufnahmen der Wirbelsäule | 47 |
| 4.1.2 Dynamische Datenanalyse | 50 |
| 4.1.3 Vergleich von MR-Daten und CD34+ Zellen | 55 |
| 4.2 Qualitative Datenanalyse | 55 |
| 5 Diskussion | 58 |
| 5.1 Schlusswort | 64 |
| 6 Zusammenfassung | 65 |
| 7 Anhang | 66 |
| 7.1 Literaturverzeichnis | 66 |
| 7.2 Abbildungsverzeichnis | 74 |
| 7.3 Tabellenverzeichnis | 74 |
| 7.4 Anlagen | 74 |
| 7.5 Lebenslauf | 77 |
| 7.6 Erklärung | 78 |
| 7.7 Danksagung | 79 |

1 Einleitung

In der Vergangenheit basierte die Darstellung des Knochenmarks mit bildgebenden Verfahren auf der konventionellen Radiologie, der Nuklearmedizin (z.B. Szintigraphie des Knochenmarks) und der Computertomographie [82]. Mit der Einführung der Magnetresonanztomographie (MRT) und deren Weiterentwicklung mit verbesserten Sequenzen und kürzeren Aufnahmezeiten sowie der Möglichkeit Kontrastmittel zu verwenden, hat sich die MRT zur wichtigsten bildgebenden Modalität des Knochenmarks entwickelt.

Sinerem® ist ein neues Kontrastmittel für die MRT, das sich derzeit in der klinischen Erprobung befindet und in Europa kurz vor der Zulassung steht. Es besteht aus ultrakleinen superparamagnetischen Eisenoxidpartikeln (USPIO = Ultrasmall Superparamagnetic Iron Oxide Particles), die von Dextran umhüllt sind [25]. Sinerem® kann als zellspezifisches, makromolekulares Bloodpool-Kontrastmittel bezeichnet werden [20, 63], welches durch seine Partikelgröße, die mit etwa 35 nm der Größe von Plasmaproteinen entspricht, nach intravenöser Applikation zunächst im intravaskulären Raum verweilt. Nach Austritt durch ein diskontinuierliches Endothel von Mikrogefäßen in Organen wie z.B. Leber, Milz, Lymphknoten und Knochenmark, wird Sinerem® von den Zellen des retikuloendothelialen Systems (RES) phagozytiert [14, 72, 77].

Um ins Knochenmarksinterstitium zu gelangen, müssen die Eisenoxidpartikel die Blut-Knochenmark-Schranke (BKS) überschreiten. Diese setzt sich zusammen aus fenestriertem Endothel der Knochenmarkssinusoide und angrenzenden Perizyten. Die BKS kontrolliert den Zellverkehr zwischen vaskulärem Kompartiment, den Sinusoiden, und interstitiellem Kompartiment, dem hämatopoetisch aktiven Kompartiment [32, 66]. Ist das hämatopoetische Knochenmark gesund, so reichert sich weniger als 5% der intravasal verabreichten Menge an USPIO im Knochenmarksinterstitium an [55, 77]. Diese Menge reicht jedoch aus, um sichtbare Veränderungen der Signalintensität des Knochenmarks im MRT-Bild hervorzurufen [55]. Bestrahlung und Chemotherapie, so auch die Mobilisierungstherapie vor einer Apherese peripherer Blutstammzellen, erhöhen die Permeabilität der BKS, indem sie das Sinusendothel verändern [15, 59, 60]. Dadurch werden Austritt und Akkumulation der Eisenoxid-Partikel im interstitiellen Kompartiment erleichtert. Eine experimentelle Studie konnte zeigen, dass solche

Permeabilitätsveränderungen, welche durch eine Strahlentherapie hervorgerufen wurden, durch die Verwendung von Sinerem® mit der MRT in vivo quantifiziert werden können [15].

Nachdem Sinerem® die BKS passiert hat, wird es im Knochenmarkinterstitium von den Makrophagen des RES-Systems phagozytiert [26, 72, 77]. Ein Granulozyten-Kolonie stimulierender Faktor (G-CSF = Granulocyte-colony stimulating factor), welcher im Rahmen der Mobilisierungstherapie gegeben wird, verursacht eine Hyperplasie der normalen hämatopoetischen Zellen im Knochenmark [22, 24, 42, 43]. Diese Reaktion im Knochenmark ist erwünscht, da sie eine schnellere Rekonstitution des hämatopoetischen Knochenmarks ermöglicht und die Ausschwemmung von hämatopoetischen Vorläuferzellen durch die BKS ins periphere Blut unterstützt, von wo aus die Zellen bei Apherese gesammelt werden. Die G-CSF induzierte Vermehrung der normalen hämatopoetischen Zellen, u.a. der RES-Zellen, kann folglich anhand des Grades der USPIO-Retention abgeschätzt werden, da die zelluläre USPIO-Aufnahme innerhalb des Knochenmarks mit steigender Zellularität zunimmt [15].

Im Gegensatz zum normalem hämatopoetischen Knochenmark reichern sich USPIO nicht in fokalen Knochenmarks-Neoplasien an, da diese keine RES-spezifischen Makrophagen enthalten [55, 71]. In früheren Arbeiten konnte bereits gezeigt werden, dass USPIO den Kontrast zwischen hyperzellulärem normalem Mark nach Mobilisierungstherapie und malignen Knochenmarksinfiltrationen erhöhen [14, 55].

1.1 Ziel dieser Arbeit

Die Studie wurde zur Evaluierung der diagnostischen Aussagekraft des Kontrastmittels Sinerem® in der MRT-Bildgebung des Knochenmarks bei Patienten mit malignen Non-Hodgkin Lymphomen (NHL) vor und nach Mobilisierungstherapie für nachfolgende Stammzellapherese durchgeführt.

Die Ziele der vorliegenden Arbeit waren im Einzelnen:

- 1.) Darstellung des Knochenmarks mit Sinerem®-unterstützter MRT; dabei wurden statische Aufnahmen vor bzw. nach Kontrastmittelapplikation sowie eine dynamische Studie während der Sinerem®-Infusion angefertigt.
- 2.) Quantitative Auswertung der durch Sinerem® hervorgerufenen Signalveränderungen und Bewertung von Permeabilitätsveränderungen der BKS.
- 3.) Korrelation der Daten aus der MRT mit der Anzahl mobilisierter CD34+ Stammzellen.
- 4.) Beurteilung von Ausmaß und Erkennbarkeit neoplastischer Läsionen des Knochenmarks auf nativen Bildern im Vergleich zu Aufnahmen nach Sinerem®-Applikation.

2 Grundlagen

2.1 Das Knochenmark

2.1.1 Anatomie und Funktion

Das Knochenmark ist gemessen am seinem Gewicht mit etwa 2600 g nach Knochen, Muskeln und Fett das viertgrößte Organ des erwachsenen Menschen [46, 73]. Das hämatopoetische Knochenmark, welches zwischen den trabekulären Knochenstrukturen liegt, besteht aus Blutzellen und deren Vorläufern, univakuolären Fettzellen, bindegewebigem Stroma aus Kollagen Typ III und Fibronektin, RES-Zellen mit und ohne phagozytotischer Aktivität und Knochenmarkssinusoiden (Abbildung 2.1) [16, 73]. Das retikuläre Bindegewebe schafft zusammen mit Retikulumzellen, Fettzellen, Endothel, Makrophagen und T-Lymphozyten ein optimales Mikroklima, in dem sich Stamm- und Vorläuferzellen der Zellreihen differenzieren können [80].

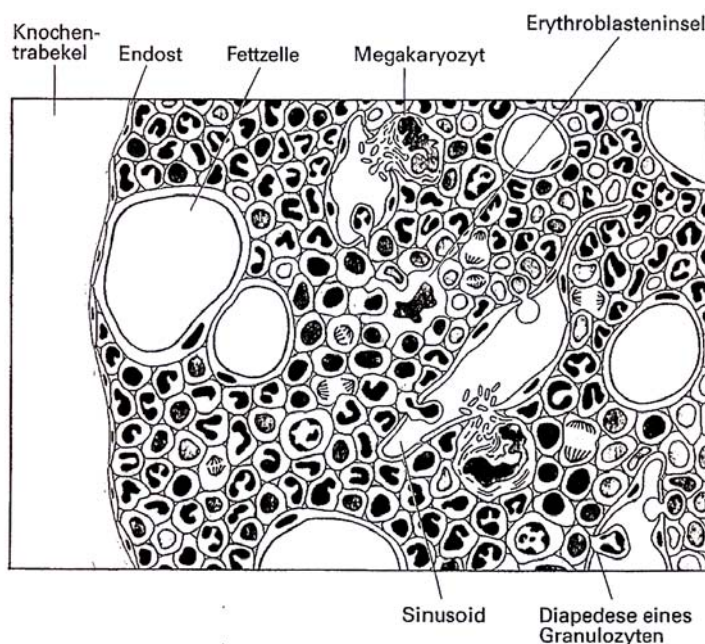


Abbildung 2.1: Knochenmarksquerschnitt (mit freundlicher Genehmigung von Walter de Gruyter) [44].

Die Blutversorgung des Knochenmarks stammt aus den Vasa nutritiva des Knochens, die sich im Markraum in Arteriolen verzweigen, um dann in ein weitlumiges System von gewundenen Sinusoiden zu münden. Die Sinusoide wiederum fließen in das venöse System [16]. Die Wände der Sinusoide bestehen aus einem sehr dünnen, fenestrierten

Endothel ohne Basallamina und einer dem Endothel außen anliegenden Adventitia [65, 80]. Das Endothel übt als BKS funktionelle Kontrolle über den Zellverkehr zwischen Knochenmarksinterstitium und Gefäßkompartiment aus [16, 66] und garantiert, dass bei Bedarf reife Blutzellen unter Verformung durch sich kurzfristig bildende Mikroporen in der Sinusendothel in das periphere Blut gelangen, jedoch unreife Zellen sowie hämatopoetische Stammzellen im blutbildenden Knochenmark bleiben [16, 66]. Umgekehrt können Zellen unter bestimmten Umständen auch aus dem Blut in das Knochenmarksinterstitium gelangen, was man sich bei der Stammzelltransplantation zunutze macht.

2.1.2 Stammzellen und Zellreihen des Knochenmarks

Die Hämatopoese erfolgt beim gesunden Erwachsenen im Knochenmark. Auch die Vorstufen der Lymphozyten entstehen im Knochenmark, verlassen dieses jedoch früh, um in Thymus (T-Lymphozyten) oder Lymphknoten (B-Lymphozyten) auszureifen. Die Blutzellen entwickeln sich aus einer pluripotenten Stammzelle mit der Fähigkeit, sich selbst zu erneuern oder zu differenzieren [80]. Aus den Stammzellen entwickeln sich unter Einwirkung von Transkriptionsfaktoren und stimulierenden Wachstumsfaktoren, vor allem Interleukinen und Kolonie-stimulierenden Faktoren, ausgereifte Blutzellen (Abbildung 2.2) [16, 69, 80]. Als Oberflächenantigen besitzen unipotente und pluripotente Kolonie-formende Zellen CD34, welches bei ausgereiften Blutzellen nicht mehr nachweisbar ist [2, 5]. Stammzellen können unter physiologischen Bedingungen, insbesondere nach körperlicher Arbeit, in geringer Menge im peripheren Blut gefunden werden [69].

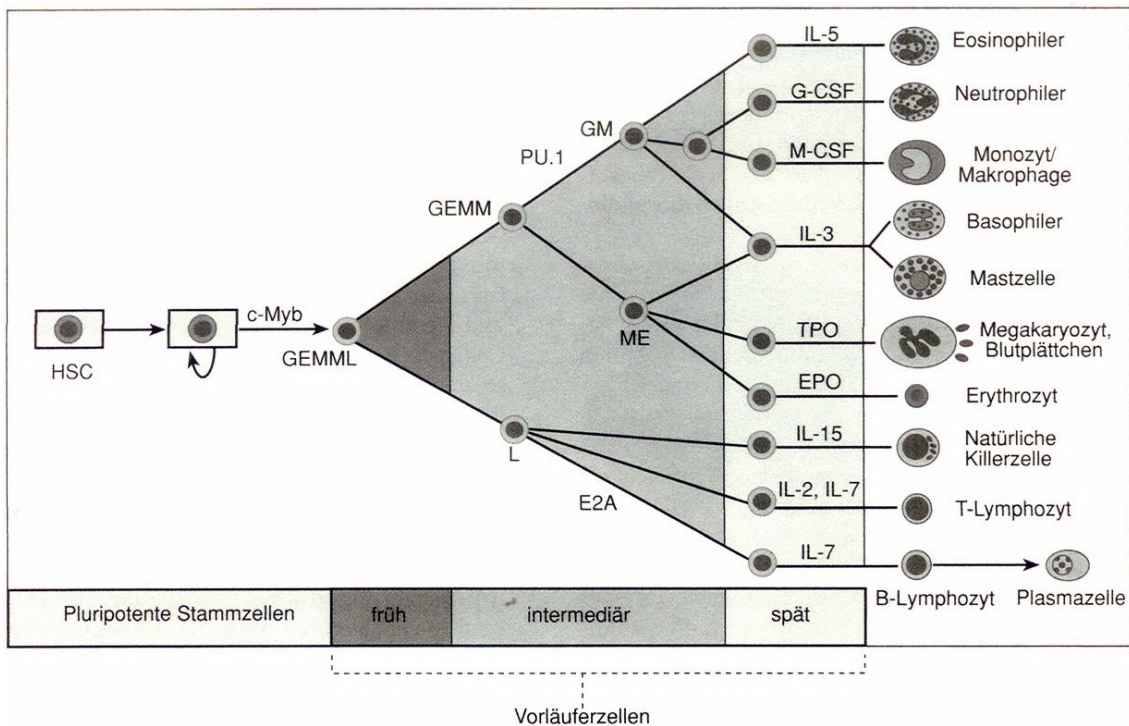


Abbildung 2.2: Hämatopoese, schematische Darstellung. Entwicklung von der pluripotenten, hämatopoetischen Stammzelle (HSC) bis zu den ausgereiften Blutzellen. GEMML Ursprungszelle für Granulo-, Erythro-, Mono-, Megakaryozyten, L für Lymphozyten und natürliche Killerzellen; GEMM Ursprungszelle für Granulo-, Erythro-, Mono-, Megakaryozyten, GM Ursprungszelle für Granulo- und Monozyten; ME Ursprungszelle für Megakaryo- und Erythrozyten (mit freundlicher Genehmigung von Elsevier) [80].

2.1.3 Knochenmarkskonversion

Zum Zeitpunkt der Geburt enthält nahezu das gesamte Skelettsystem hämatopoetisch aktives Knochenmark [40]. Mit zunehmendem Alter nimmt der Anteil an hämatopoetischem Knochenmark von distal nach proximal ab. Der Verlust an hämatopoetischen Zellen wird durch die Vermehrung von Fett und Fettzellen in den Markräumen der Knochen ausgeglichen [30, 40, 48, 54, 70, 73]. Hämatopoetisch aktives Knochenmark erscheint makroskopisch rot und ist durch ein ausgedehntes Netz an Sinusoiden gut vaskularisiert. Inaktives Mark mit hohem Fettanteil zeigt sich makroskopisch in gelber Farbe und enthält deutlich mehr kleine Kapillaren und dünnwandige Venen anstatt großlumiger Sinusoide [40, 73]. Mit 20-25 Jahren ist noch in Wirbelkörpern, Rippen, Sternum, Ilium, Scapulae, Schädelkalotte sowie proximalen Anteilen von Femur und Humerus hämatopoetisch aktives Knochenmark zu finden [16,

40, 70, 73]. Die zunehmende Verfettung des Markes ist mit einer Plateauphase während der vierten Dekade bis ins hohe Alter zu finden [30].

Während sich rotes, hämatopoetisch aktives Knochenmark aus etwa 40% Wasser, 40% Fett und 20% Protein zusammensetzt, enthält Fettmark ca. 15% Wasser, 80% Fett und 5% Protein [73]. Die physiologische Konversion des Knochenmarks muss bei der Beurteilung von pathologischen Prozessen stets berücksichtigt werden [40, 48].

Das Fettmark kann sich innerhalb kurzer Zeit wieder in hämatopoetisch aktives Mark umwandeln, wenn das Knochenmarkssystem bei Zuständen mit großem Bedarf an zusätzlicher Hämatopoese gestresst wird. Als Stressoren wirken chronische Anämie und Herzinsuffizienz, Knochenmarksveränderungen wie Myelofibrose, Infarkte, maligne Knochenmarksinfiltration und Multiples Myelom sowie Knochenmarks- und Stammzelltransplantation [40, 73, 82]. Die Rekonversion zu rotem Mark verläuft von proximal nach distal, beginnend in Wirbelkörpern und flachen Knochen [40, 73].

Weitere Reize für Veränderungen der Zellularität und damit des Signalverhaltens des Knochenmarks stellen Chemotherapeutika und hämatopoetische Wachstumsfaktoren wie G-CSF dar. Chemotherapie induziert zunächst eine Zellablation, Weitstellung der Sinusoide und Ausbildung eines Ödems [34]. Das Knochenmark wird im Verlauf normo- oder hypozellulär mit relativ hohem Fettanteil. Im Verlauf kommt es zur Regeneration der hämatopoetischen Zellen, und zwar meist in Bereichen, in denen besonders viele Fettzellen zu finden sind. Diese Befunde zu unterschiedlichen Zeitpunkten nach Chemotherapie wurden bereits mit bildgebenden Verfahren wie der MRT oder der MR-Spektroskopie nachgewiesen [23, 73]. G-CSF, welches als hämatopoetischer Wachstumsfaktor effektiv zur schnelleren und stärkeren Rekonstitution des Knochenmarks nach Chemotherapie oder zur Mobilisierung von Stammzellen für nachfolgende Stammzelltransplantation eingesetzt wird (siehe 2.3.3), induziert einen Anstieg der Zellularität des Knochenmarks [41, 42].

2.2 Non-Hodgkin Lymphome

2.2.1 Allgemeines zu Non-Hodgkin Lymphomen

NHL sind maligne klonale Neoplasien, die von den B- oder T-Lymphozyten des lymphatischen Gewebes ihren Ausgang nehmen. Etwa 30% der NHL manifestieren sich leukämisch. Als Sonderformen gelten das Multiple Myelom mit primärer Manifestation im Knochenmark sowie die chronische lymphatische Leukämie (CLL oder leukämisches B-Zell-Lymphom) [31].

Die Inzidenz von NHL in Deutschland beträgt 10-15 Neuerkrankungen pro 100.000 Einwohner im Jahr mit steigender Tendenz. Männer erkranken geringfügig häufiger als Frauen (m : w = 1,5 : 1); der Häufigkeitsgipfel liegt im höheren Lebensalter (Median 60 Jahre) [31, 39]. AIDS-Patienten haben eine bis zu 1000-fach erhöhte Inzidenz von NHL [31]. In der Pathogenese von NHL spielen chromosomale Mutationen eine große Rolle, insbesondere durch Translokationen entstandene Hybrid-Gene mit Verlust an Tumorsuppressorgenen oder Aktivierung von Onkogenen. Als Risikofaktoren gelten neben einem geschwächten Immunsystem und Autoimmunerkrankungen, Infektion durch Viren (HTLV 1 und 2, EBV, HIV) oder Bakterien (Helicobacter), Exposition gegenüber radioaktiven Strahlen oder chemischen Stoffen und genetische Prädisposition [31, 39].

Zur Einteilung der NHL wurden unterschiedliche Klassifikationen entwickelt. Die Kiel-Klassifikation nach Prof. Lennert unterscheidet zwischen blastischen und zytischen NHL und dominierte eine Zeit lang die klinische Einteilung in Europa. Parallel dazu existierte die Working Formulation, die von Pathologen und Klinikern entwickelt wurde und besonders in den USA akzeptiert war. Erst die Autoren der Revised European and American Lymphoma (R.E.A.L. [29]) Klassifikation der Internationalen Lymphoma Study Group (ILSG) verknüpften das morphologische Erscheinungsbild mit Informationen über Immunphänotyp, Genetik und klinischen Eigenschaften [3, 29]. Die heute gängige WHO-Klassifikation (2001) ist eine international akzeptierte Version der R.E.A.L.-Klassifikation zur Einteilung der neoplastischen Erkrankungen von hämatopoetischen und lymphatischen Geweben [36]. Die WHO-Klassifikation unterscheidet zwischen Linienzugehörigkeit (B- oder T-Zell-Lymphom) und weiter nach Differenzierungs- und Reifungsgrad der Zellen (Tabelle 2.1) [11, 31].

Im klinischen Alltag werden indolente (niedrigmaligne, ca. 70%) und aggressive (hochmaligne, ca. 30%) Lymphome unterschieden. In ca. 85% der Fälle finden sich B-Zell-Lymphome, während T-Zell-Lymphome mit etwa 15% deutlich seltener sind [31, 39]. Die häufigsten histologischen Typen sind das diffuse großzellige B-Zell-Lymphom (31%) und das folliculäre B-Zell-Lymphom (22%) [3].

B-Cell Neoplasms (B-Zell Neoplasien)

Precursor B-cell neoplasm (Vorläufer B-Zell Neoplasien)

Precursor B-lymphoblastic leukemia / lymphoma

Mature B-cell neoplasms (ausgereifte B-Zell Neoplasien)

B-cell chronic lymphocytic leukemia / small lymphocytic lymphoma

B-cell prolymphocytic lymphoma

Lymphoplasmacytic lymphoma

Splenic marginal zone B-cell lymphoma (+ / - villous lymphocytes)

Hairy-cell leukemia

Plasmacytoma / Plasma cell myeloma

Extranodal marginal zone B-cell lymphoma of MALT type

Nodal marginal zone B-cell lymphoma (+/- monocytoid B cells)

Follicular lymphoma

Mantle-cell lymphoma

Diffuse large B-cell lymphoma

Mediastinal large B-cell lymphoma

Primary effusion lymphoma

Burkitt's lymphoma / Burkitt cell leukemia

T-Cell and NK-Cell Neoplasms (T-Zell Neoplasien)

Precursor T-cell neoplasm (Vorläufer T-Zell Neoplasien)

Precursor T-lymphoblastic lymphoma / leukemia

(precursor T-cell acute lymphoblastic leukemia)

Mature (peripheral) T-cell neoplasms (ausgereifte T-Zell Neoplasien)

T-cell prolymphocytic leukemia

T-cell granular lymphocytic leukemia

Aggressive NK-cell leukemia

Adult T-cell lymphoma / leukemia (HTLV-1 +)

Hepatosplenic gamma-delta T-cell lymphoma

Subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma

Mycosis fungoides / Sézary syndrom

Anaplastic large-cell lymphoma, T / null cell, primary cutaneous type

Peripheral T-cell lymphoma, not otherwise characterized

Angioimmunoblastic T-cell lymphoma

Anaplastic large-cell lymphoma, T / null cell, primary systemic type

Tabelle 2.1: WHO-Klassifikation (World Health Organization) der NHL (Quelle: [11]).

NHL verursachen zu Beginn der Erkrankung meist keine spezifischen Beschwerden. Mehr als zwei Drittel der Patienten konsultieren einen Arzt wegen schmerzlosen,

persistierenden Lymphknotenvergrößerungen [19, 39]. In etwa 20% der Fälle liegen auch unspezifische Beschwerden wie Infektanfälligkeit oder eine B-Symptomatik mit Fieber, Nachtschweiß oder Gewichtsabnahme vor. Diese sind bei aggressiven Histologien oder bei Befall von Leber und extranodalen Regionen ausgeprägter zu finden [19, 39]. Schreitet die Krankheit fort, so kommt es in bis zu 50% der Fälle zu Knochenmarksinfiltration mit Blutbildveränderungen, sowie Hautbefall oder monoklonaler Gammopathie [19, 31, 39].

Die Stadieneinteilung der NHL erfolgt ähnlich wie beim Morbus Hodgkin nach einer modifizierten Ann-Arbor-Klassifikation (Tabelle 2.2) in vier Stadien (I-IV). Subklassen werden nach primär nodalem oder extranodalem Befall, Bulk-Tumoren und dem Auftreten von B-Symptomatik unterteilt [11, 19, 45].

| Stadium | Befallene Regionen |
|---------|---|
| I | Befall einer einzelnen Lymphknotenregion. |
| II | Befall von multiplen Lymphknotenregionen auf derselben Seite des Zwerchfells. |
| III | Befall von multiplen Lymphknotenregionen auf beiden Seiten des Zwerchfells. |
| IV | Multiple extranodale Regionen oder Lymphknoten und extranodaler Befall. |
| Zusatz | A / B: ohne / mit Allgemeinsymptomen (Fieber, Nachtschweiß, Gewichtsverlust von >10% des Körpergewichts innerhalb von 6 Monaten). X: Bulk >10 cm E: Extranodaler Befall oder einzelne isolierte Region extranodaler Erkrankung. |

Tabelle 2.2: Ann-Arbor-Klassifikation zur Stadieneinteilung von NHL (übersetzt aus [11, 19]).

Für den Sonderfall Multiples Myelom gilt die Stadieneinteilung nach Durie und Salmon (1975) in drei Stadien (I-III), welche anhand von Tumorzellmasse und klinischen Parametern (Hämoglobin-Wert, Serum-Calcium, röntgenologische Befunde des Skeletts, Konzentration an monoklonalen Antikörpern) unterteilt werden. Subklasse A und B geben genauere Auskunft über die Nierenfunktion [18]. Die CLL wird nach Binet (1981) in Stadium A-C eingeteilt. Im Stadium A liegt ein Lymphknotenbefall von <3 Regionen vor, im Stadium B ein Lymphknotenbefall von >3 Regionen und im Stadium C zusätzlich ein Hämoglobin <10,0 g/dl und/oder eine Thrombozytenzahl <100.000/ μ l [7].

Der Internationale Prognostische Index (IPI) wurde 1993 entwickelt und macht als international akzeptierter Index bei neu diagnostizierten NHL prognostische Aussagen

möglich [58]. Er basiert auf den als Risikofaktoren (RF) definierten Charakteristiken Alter >60 Jahre, Tumorstadien III und IV nach Ann-Arbor, LDH-Konzentration im Serum weniger als zweimal im Normbereich, reduzierter Allgemeinzustand nach der Eastern Cooperative Oncology Group Skala (nicht als ambulant geltender Patient) und Befund von >1 extranodalen Krankheitsherd. Anhand der vorliegenden RF wurden vier Patientengruppen unterteilt: Low-risk (0-1 RF), low-intermediate (2 RF), high-intermediate (3 RF) und high-risk (4-5 RF). Die Rate der Patienten, die eine komplette Remission (CR) erreicht, wurde bei der low-risk-Gruppe mit 87% deutlich höher angegeben als bei der high-risk-Gruppe mit 44%, und auch das 5-Jahres-Überleben ist mit 73% in der low-risk-Gruppe deutlich höher als für die high-risk-Gruppe mit 26% (Tabelle 2.3) [58].

| Risikogruppe | RF | CR | 5-JÜR |
|-------------------|----------|-----|-------|
| Low | 0 oder 1 | 87% | 73% |
| Low-intermediate | 2 | 67% | 51% |
| High-intermediate | 3 | 55% | 43% |
| High | 4 oder 5 | 44% | 26% |

Tabelle 2.3: Darstellung des Erreichens einer kompletten Remission (CR) und der 5-Jahres-Überlebensrate (5-JÜR) von Patienten der vier Risikogruppen nach dem Internationalen Prognostischen Index (IPI) der NHL für alle Altersgruppen (aus [58]).

Der IPI wurde zunächst für aggressive NHL entwickelt, anschließend auch auf niedrigmaligne NHL übertragen. Er berücksichtigt jedoch nicht Faktoren wie Ansprechen auf Therapie, Dauer bis zum Erreichen einer kompletten Remission und molekulare Veränderungen.

2.2.2 Therapiemöglichkeiten beim NHL

In der Behandlung von NHL gibt es aufgrund sehr unterschiedlicher Entwicklungsstufen und Ursprünge der malignen Zellen verschiedene Therapiestrategien. Grundsätzlich gilt, dass bei indolenten Lymphomen eher zurückhaltend, bei hochmalignen Lymphomen aggressiv therapiert wird. Die Behandlung findet in der Regel in spezialisierten Therapiezentren nach aktuellen Studienprotokollen statt. Als Therapiemodalitäten stehen lokale Strahlentherapie, lokale (z.B. intrathekale) oder systemische Chemotherapie, Zytokin- oder Immuntherapie (Interferone), Antikörpertherapie mit dem anti-CD20-Antikörper Rituximab (RituxanTM, Genentech Inc., USA und MabThera®, Roche Pharma

(Schweiz) AG) und Hochdosischemotherapie mit nachfolgender allogener oder autologer Knochenmarks- bzw. peripherer Stammzelltransplantation zur Verfügung [31, 39].

Indolente NHL werden meist erst in einem fortgeschrittenen Krankheitsstadium klinisch auffällig. Sie können in frühen Stadien (I und II) häufig mit kurativem Ansatz therapiert werden, während die zahlreicher gesehenen Stadien III und IV trotz Therapie durch einen progredienten Krankheitsverlauf mit kurzzeitigen Remissionen und erneuten Rezidiven gekennzeichnet sind [11, 19]. Die mittlere Überlebenszeit indolenter Lymphome beträgt etwa 10 Jahre [11]. In der Therapie niedrigmaligner NHL werden vor allem Bestrahlung und Chemotherapie eingesetzt, wie die Kombinations-Chemotherapie nach dem CVP-Schema (Cyclophosphamid, Vincristin, Prednison) oder das aggressivere CHOP-Schema (Cyclophosphamid, Doxorubicin, Vincristin = Oncovin, Prednison), eventuell kombiniert mit Rituximab (R-CHOP) [11, 49]. Bei asymptomatischen Patienten kann bei engmaschiger Kontrolle der Laborparameter ohne negativen Einfluss auf das Überleben weiter zugewartet werden („watch and wait“ Strategie) [11, 19, 49]. In Erprobung sind weitere Substanzen wie Interferone, Purinanaloga und Stammzelltransplantation nach Hochdosischemotherapie [31, 49]. Niedrigmaligne Lymphome können in einen aggressiveren Lymphomtyp übergehen [11].

Die Therapie von aggressiven NHL erfolgt risikoadaptiert in Abhängigkeit von Alter, Tumorstadium, Histologie, Risikofaktoren und Allgemeinzustand des Patienten. Ohne adäquate Therapie schreitet die Erkrankung rasch fort und endet innerhalb kurzer Zeit letal. Stadium I und II werden meist standardmäßig mit der Kombinationschemotherapie nach dem CHOP-Schema behandelt, wobei die bis zu 8 Zyklen mit kurzen Therapieintervallen durch den hämatopoetischen Wachstumsfaktor G-CSF (siehe 2.3.3) unterstützt werden [11, 12, 49]. Bei NHL der B-Zell-Reihe mit dem Oberflächenmarker CD20 kommt mit großem Therapieerfolg zusätzlich Rituximab zum Einsatz (R-CHOP) oder ein radioaktiv markierter monoklonaler CD20-Antikörper [11, 12]. Zusätzlich werden durch lokale Bestrahlung vorhandene Bulk-Tumore verkleinert [11].

Bei therapierefraktären Lymphomen und in der Sekundärtherapie von Rezidiven nach Remission erhalten ausgewählte Patienten eine Hochdosischemotherapie mit autologer Knochenmarks- (KMT) oder peripherer Blutstammzelltransplantation (PBSZT) [11, 12, 49]. Es wurde gezeigt, dass die Hochdosischemotherapie mit autologer KMT oder PBSZT

für diese Patienten ein höheres kuratives Potenzial besitzt als eine Kombinationschemotherapie oder Chemotherapie kombiniert mit Radiotherapie [51]. Es ist anzumerken, dass insbesondere der Zeitpunkt des Einsatzes von autologer KMT oder PBSZT sowohl in der Primärtherapie als auch in der Sekundärtherapie nach Rezidiv weiterhin Gegenstand der Diskussion ist.

2.3 Autologe Stammzelltransplantation

2.3.1 Allgemeines zur Knochenmarks- und Stammzelltransplantation

Bei der Behandlung maligner Erkrankungen limitiert die Toleranz der körpereigenen, gesunden Zellen gegenüber Zytostatika und Bestrahlung deren Einsatzmöglichkeiten. Die KMT oder PBSZT sind bei nicht auf Therapie ansprechenden NHL oder Patienten mit Krankheitsrezidiv eine zwar risikoreiche, aber immerhin potentiell kurative Therapiemöglichkeit. Durch KMT oder PBSZT tolerieren die Patienten eine weitaus aggressivere Behandlung. So konnte selbst beim Einsatz hoch dosierter Chemotherapie oder ausgedehnter Bestrahlung die therapieassoziierte Mortalität der Patienten deutlich verringert werden, da es durch KMT oder PBSZT zu einer schnelleren Rekonstitution des Knochenmarks kommt. Durch die Transplantation wird die Aplasiephase verkürzt, in welcher neutropenes Fieber, lebensgefährliche Infektionen und andere Komplikationen den Patienten bedrohen. Eine besonders schnelle Erholung der Knochenmarksfunktion wird durch PBSZT erreicht [6, 19, 38, 46].

Ebenso wie bei der KMT wird zwischen allogener PBSZT, der Transfusion von Spender-Blutstammzellen, und autologer PBSZT, bei der vor der myeloablativen Therapie entnommene, körpereigene Zellen transfundiert werden, unterschieden. Vorteil der allogenen Transplantation besteht vor allem in dem hohen kurativen Potenzial, da der Empfänger gesunde Spenderzellen erhält, während bei der autologen Transplantation nicht ausgeschlossen werden kann, dass durch Krebszellen verunreinigtes Material transfundiert wird. Nachteil der allogenen KMT oder PBSZT besteht allerdings in der Gefahr einer Graft-versus-Host-Erkrankung, die den Empfänger möglicherweise zu

lebenslanger Einnahme von Medikamenten wegen der notwendigen Immunsuppression zwingen.

2.3.2 Von der Mobilisation bis zur PBSZT

Unter Mobilisation wird die Ausschwemmung von Stammzellen aus dem Knochenmark in das periphere Blut verstanden. Eine begrenzte Anzahl an hämatopoetischen Vorläuferzellen kann im peripheren Blut auch unter physiologischen Umständen nachgewiesen werden [69].

Damit eine für die Rekonstitution des Knochenmarks nach Transplantation ausreichende Zahl an Stammzellen durch Stammzellapherese, die Separation der weißen Blutkörperchen aus dem peripheren Blut, gesammelt werden kann, müssen die Stammzellen im Blut vermehrt zu finden sein. Es wurde gezeigt, dass nach Chemotherapie eine verstärkte Mobilisation von Stammzellen ins periphere Blut stattfindet [69], welche durch Verabreichung von G-CSF oder GM-CSF nach der Chemotherapie noch schneller und ausgeprägter erreicht wird [17, 38, 62, 69].

2.3.2.1 Mobilisierung der Stammzellen

Patienten, die für eine PBSZT vorgesehen sind, erhalten je nach Studienprotokoll zunächst eine mobilisierende Chemotherapie, der die Verabreichung von G-CSF folgt. Die peripheren Blutzellen erreichen zunächst eine gewollte Phase der Leukopenie mit niedrigen Leukozytenzahlen. Nach einigen Tagen erholt sich die Blutbildung, unterstützt durch den hämatopoetischen Wachstumsfaktor G-CSF (siehe 2.3.3), und es werden das Ausgangsniveau oder sogar stark erhöhte Leukozytenzahlen erreicht.

Im Hinblick auf die Apherese wird neben einem Differentialblutbild regelmäßig die Anzahl an CD34+ Zellen im peripheren Blut kontrolliert, um den geeigneten Tag der Stammzellsammlung zu bestimmen. Die CD34+ Zellen ermöglichen eine direktere Messung der Progenitorzellen im Blut, da das Oberflächenantigen CD34 auf den primitiven hämatopoetischen Zellen exprimiert wird, nicht jedoch auf ausgereiften Blutzellen [2, 5]. In Studien wurde gezeigt, dass vor allem CD34+ Zellen ein großes Potenzial für die hämatopoetische Rekonstitution nach Transplantation besitzen [4, 5, 69].

Der optimale Zeitpunkt für die Apherese ist erreicht, wenn eine für die PBSZT ausreichende Menge an CD34+ Zellen pro Kilogramm (kg) Körpergewicht in ein bis zwei Sitzungen gesammelt werden kann, welche eine möglichst schnelle hämatopoetische Rekonstitution garantiert. Als Grenzwert für eine schnelle Erholung der Knochenmarksfunktion wird je nach Autor eine Anzahl von mindestens 2×10^6 CD34+ Zellen pro kg Körpergewicht benötigt [27, 69, 74].

2.3.2.2 Einflussfaktoren und Versagen bei Mobilisation

Die Ausbeute an Progenitorzellen wird von der hämatopoetischen Reserve jedes Menschen bestimmt. Diese wird wiederum durch Krankheiten, Bestrahlung des Knochenmarks oder Medikamente wie Zytostatika beeinflusst und scheint von Alter und Geschlecht unabhängig zu sein [27]. Es besteht eine positive Korrelation zwischen Ausbeute an Progenitorzellen bei Mobilisation und Dosis der Mobilisierungstherapie, Schwere der Immunsuppression nach Mobilisierungstherapie und Geschwindigkeit der Erholung der Leukozytenzahl. Die Anzahl früher erhaltener Chemotherapien, Dosis und Feldgröße vorausgegangener Bestrahlungen oder die Infiltration des Knochenmarks mit malignen Zellen sind deutlich mit dem Versagen einer Mobilisation assoziiert [27, 69].

Auch wenn der hämatopoetische Wachstumsfaktor G-CSF zur Unterstützung der Mobilisation gegeben wird, so ist es bisher nicht möglich, präzise Voraussagen über die Effektivität einer Mobilisationsbehandlung zu machen [69]. Bei bis zu 20% der Patienten kann trotz Mobilisierungstherapie und G-CSF-Applikation keine ausreichende Menge an Stammzellen für eine Hochdosischemotherapie und nachfolgende PBSZT gesammelt werden [64].

Eine Studie von Fu et al. (2006) zeigte, dass bei Patienten, deren Menge an Stammzellen im Vollblut vor Mobilisation $2,65 \times 10^6$ CD34+ Zellen pro Liter überschreitet, ein Versagen, also eine zu geringe Zellmenge des Transplantats für PBSZT, sehr unwahrscheinlich ist. Bei Patienten, die vor Mobilisation unter diesem Wert lagen, trat eine unzureichende Anreicherung an Progenitorzellen in der Stammzellapherese deutlich häufiger auf (2% vs. 24%) [21].

2.3.2.3 Rekonstitution der Knochenmarksfunktion

Werden die mobilisierten und gesammelten Stammzellen nach einer Hochdosischemotherapie transfundiert und zusätzlich der hämatopoetische Wachstumsfaktor G-CSF appliziert, so dauert es ca. 10 Tage bis zum zuverlässigen Engraftment, wobei sich die Blutplättchenzahl im Vergleich zur Neutrophilenzahl etwas verzögert erholt [19, 28, 74]. Diese Zeitspanne entspricht in etwa der Dauer bis zur Koloniebildung in vitro und damit der Dauer, die infundierte Progenitorzellen für das Homing benötigen [69]. Homing bezeichnet hierbei die molekularen Interaktionen, durch die Stammzellen nach intravenöser Applikation in das Knochenmark gelangen und dort zur Ansiedlung und Teilung oder Differenzierung führen [67]. Bei der PBSZT erholt sich die Blutbildung deutlich schneller als bei der KMT (Erholung der Granulozyten bei KMT bis zu 20 Tage) [6, 19, 28, 57]. Dadurch sind die Patienten deutlich kürzere Zeit auf Antibiotika und Transfusionen angewiesen [6], was die Dauer der Hospitalisierung verkürzt und die mit der Prozedur assoziierten Mortalität verringert [69].

2.3.2.4 Transplantatkontamination und Purgingmethoden

Eine noch nicht optimal gelöste Tatsache der autologen KMT und PBSZT besteht in der Kontamination des Transplantats mit Tumorzellen. Es wurden Methoden entwickelt, um maligne Zellen vor Apherese in vivo oder aber nach Apherese aus dem Transplantat selbst zu entfernen. Eine Induktionschemotherapie vor dem Sammeln peripherer Stammzellen kann bereits in vivo die Anzahl maligner Zellen reduzieren. Das durch Stammzellapherese entstehende Produkt kann unterschiedlichen „Reinigungsprozeduren“ unterzogen werden, so zum Beispiel einer positiven Selektion hämatopoetischer Progenitorzellen mit Hilfe von Anti-CD34-Antikörpern (Immunaффinitätsverfahren) oder einer Depletion maligner Zellen durch Komplementlyse. Weiterhin gibt es Versuche einer Expansion gesammelter CD34+ Zellen ex vivo [35, 38].

2.3.3 Filgrastim – rekombinantes G-CSF

Filgrastim (Neupogen®, Amgen Inc., USA) ist ein rekombinantes Glykoprotein, das aus Bakterienkolonien von *Escherichia coli* gewonnen wird und eine dem körpereigenen G-CSF vergleichbare Wirkung zeigt. Es kann subkutan oder als Kurzinfusion intravenös verabreicht werden. G-CSF wird vor allem bei Erkrankungen eingesetzt, bei denen eine

Unterstützung der körpereigenen Abwehr durch Anhebung der Neutrophilenzahl im peripheren Blut notwendig wird oder vor Stammzellsammlung für eine nachfolgende PBSZT zur Förderung der Mobilisation von hämatopoetischen Progenitorzellen in das periphere Blut [1].

Durch Applikation von G-CSF nach Chemotherapie konnte eine Abnahme der Dauer und Schwere der Neutropenie sowie eine Reduktion der Fieberepisoden gezeigt werden [24, 42]. Dies erlaubt eine aggressivere Behandlung, da durch die schnellere Erholung der Zellzahl der nächste Chemotherapiezyklus früher begonnen werden kann. Mehrere Studien zeigen, dass unter myelo- und immunsuppressiver Therapie die Gefahr einer Infektion deutlich verringert werden kann [22, 24, 42]. Nach PBSZT verkürzen sich durch Verabreichung von G-CSF Dauer der Neutropenie und Anzahl der Fiebertage deutlich [6, 24, 42]. Ebenso nimmt die Dauer der Thrombozytopenie und der Bedarf an Thrombozytenkonzentraten nach Hochdosischemotherapie ab, obwohl das Wachstum der Megakaryozyten nicht direkt stimuliert wird [57].

G-CSF induziert die Proliferation sowie die Differenzierung hämatologischer Stammzellen [42] und eine Zunahme der Knochenmarkszellularität [22, 24, 42, 43]. Die Reifungsdauer der neutrophilen Granulozyten im Blut verkürzt sich von vier auf einen Tag bei konstant bleibender Halbwertszeit in der Zirkulation von acht Stunden [43]. Während sich die Menge an Progenitorzellen im Knochenmark weitgehend konstant verhält, kommt es im peripheren Blut zu einer Zunahme an Vorläuferzellen [17, 42, 69]. Bereits vier Stunden nach Injektion kann eine Zunahme der Neutrophilenzahl im peripheren Blut nachgewiesen werden, deren Spitzenwert dosisabhängig ist und nach etwa sieben Tagen kontinuierlicher Gabe ein Plateau erreicht [42, 43]. Bei Absetzen des G-CSF wird nach drei bis sechs Tagen das Ausgangsniveau erreicht [43]. Im peripheren Blutbild kommt es zu einer Linksverschiebung mit frühen Entwicklungsstufen der Neutrophilen wie Myelozyten, Promyelozyten und z.T. Myeloblasten [42, 43].

Wird G-CSF in hohen Dosen verabreicht, so können Lymphozyten und Monozyten im peripheren Blut leicht ansteigen, und es kann zu einem Abfall an Thrombozyten kommen [42, 43]. Als häufigste unerwünschte Wirkung treten Knochenschmerzen v.a. im Bereich der Lendenwirbelsäule, der Rippen und des Sternums sowie Schwitzen und Müdigkeit auf [1, 42, 43].

2.4 Grundlagen der MRT

2.4.1 Physikalische Grundlagen der MRT

Die klinische MRT nutzt die Kerne von Wasserstoffatomen (^1H) zur Bildgebung und arbeitet ohne ionisierende Strahlen. Wasserstoffatome besitzen ein positiv geladenes Proton im Kern, um das ein negativ geladenes Elektron kreist. Das Proton dreht sich mit konstanter Geschwindigkeit um sich selbst, d.h. es besitzt einen Spin, wodurch es als rotierende Masse m einen Drehimpuls M besitzt und seine Rotationsachse stets beibehalten will. Außerdem entsteht durch die rotierende elektrische Ladung ein magnetisches Moment B , welches von externen Magnetfeldern und elektromagnetischen Wellen beeinflusst werden kann. Die durch den Magnetvektor B in einer Empfangsspule induzierte Spannung macht man sich in der MRT zu Nutze [53, 68, 76].

Wasserstoffatome sind das im Körper am häufigsten vorkommenden Element und können aufgrund ihres großen magnetischen Moments leicht als Resonanzsignal nachgewiesen werden [53]. Normalerweise sind die magnetischen Momente ungeordnet und neutralisieren sich gegenseitig. Wird jedoch ein äußeres Magnetfeld B_0 angelegt, so richten sich die magnetischen Momente B der Atomkerne parallel oder antiparallel zu diesem Magnetfeld aus. Dabei ist die parallele Ausrichtung häufiger und besitzt ein geringeres Energieniveau als die antiparallele Ausrichtung. Es bildet sich eine messbare makroskopische Magnetisierung in Richtung des äußeren Magnetfelds B_0 [53, 68, 76].

Die Ausrichtung der Spins parallel zum Magnetfeld geschieht allmählich und ist begleitet von Präzessionsbewegungen (Ausweichbewegungen) in einer bestimmten Frequenz, die zu Energieverlust führen. Die Frequenz der Präzessionsbewegungen ist proportional zur Magnetfeldstärke B_0 und nennt sich Larmorfrequenz ω_0 (Abbildung 2.3) [53, 68, 76].

In einem äußeren Magnetfeld stabilisiert sich das System in einer Längsmagnetisierung M_z parallel zum magnetischen Feld B_0 . Wird nun durch ein hochfrequentes elektromagnetisches Wechselfeld mit einer der Larmorfrequenz entsprechenden Frequenz Energie eingebracht, so kippen die Längsmagnetisierungen in einem definierten Winkel aus der Z-Richtung heraus, d.h. die Spins werden angeregt. Die Anregungen werden als Pulse von wenigen Millisekunden (ms) Dauer durch ein elektromagnetisches

Wechselfeld eingestrahlt [53, 76]. Werden die Spins mit einem 90° -Impuls in die XY-Ebene ausgelenkt, so kommt es zu einer transversalen Magnetisierung M_{XY} , die in der Empfangsspule eine Wechselspannung induziert und ein messbares MRT-Signal erzeugt [68, 76].

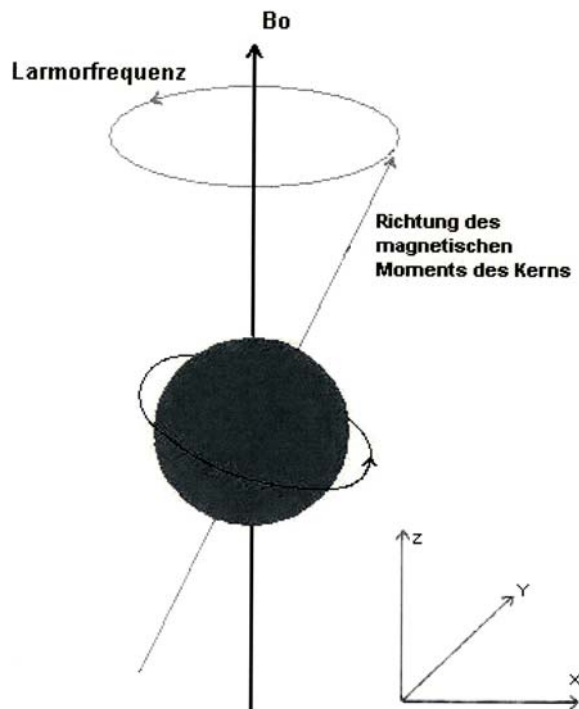


Abbildung 2.3:
Präzessionsbewegung eines Atomkerns mit magnetischem Moment um die Achse des äußeren Magnetfelds B_0 . Die Achsen X , Y und Z stehen senkrecht zueinander. Werden die Protonen mit einem 90° -Impuls angeregt, so bewegt sich das magnetische Moment der Kerne aus der Z -Richtung heraus in die XY -Ebene (adaptiert aus [53, 76]).

2.4.1.1 Longitudinale und transversale Relaxation

Durch zwei unterschiedliche Vorgänge nimmt das MRT-Signal, d.h. die messbare Magnetisierung in XY-Ebene, ab, und es stellt sich wieder der Ausgangszustand vor der Anregung ein.

T1 oder longitudinale Relaxation: Die transversale Magnetisierung in der XY-Ebene nimmt nach den Anregungen wieder ab, und die Spins kippen entsprechend des äußeren Magnetfelds in die Z-Richtung zurück. Das MRT-Signal nimmt mit kleiner werdendem Magnetisierungsvektor M_{XY} ab, die Längsmagnetisierung M_Z wieder zu, bis der Ausgangswert erreicht ist. Dies wird longitudinale Relaxation genannt und ist mit Abgabe von Energie an die Umgebung, das „Gitter“, verbunden (Spin-Gitter-Relaxation). Die Zeitkonstante des Vorgangs nennt sich T1-Relaxationszeit und beträgt zwischen 100 und

2000 ms. Sie ist von der Stärke des äußeren Magnetfelds B_0 und der inneren Molekülbewegung abhängig [53, 68, 76].

T2/T2* oder transversale Relaxation: Direkt nach der Anregung präzedieren alle Spins synchron in Phase, d.h. alle Spins präzedieren in einem Winkel von 0° . Geht diese Phasenkohärenz verloren, so nimmt der Gesamtvektor ab und mit ihm das MRT-Signal. Die Dephasierung kann durch Beeinflussung benachbarter Spins untereinander geschehen, der Spin-Spin-Wechselwirkung. Die Zeitkonstante der transversalen Relaxation T2 ist durch einen 180° -Impuls nicht beeinflussbar (siehe 2.4.2.1) und zum Großteil von der Stärke des Magnetfelds B_0 unabhängig.

Stets vorhandene Inhomogenitäten des äußeren Magnetfelds und andere äußere Einflüsse führen zu einer zusätzlichen Dephasierung, welche durch die Zeitkonstante T2* beschrieben wird und durch einen 180° -Impuls ausgeglichen werden kann (siehe 2.4.2.1). Die T2-Relaxationszeit liegt zwischen 10 und 1000 ms und läuft somit schneller ab als die Spin-Gitter-Relaxation [53, 68, 76].

Die Gewebe im Körper unterscheiden sich in ihrer Protonendichte, der longitudinalen T1-Relaxationszeit und transversalen T2-Relaxationszeit. Diese drei Faktoren bestimmen den Bildkontrast und damit die Helligkeit des jeweiligen Gewebes auf dem MRT-Bild [50]. Die Protonendichte gibt an, wie viele Spins pro Volumeneinheit anregbar sind und mit ihnen das erreichbare Signalmaximum. Werden T1- und T2-Einflüsse gering gehalten, so entsteht ein protonengewichtetes Bild. Die T1-Zeit entspricht auch der Erholungszeit der Spins vor der Anregung. Ist ein Bild T1-gewichtet, so wird es hauptsächlich von T1 bestimmt. Die T2-Zeit bestimmt die Geschwindigkeit der Abnahme des MRT-Signals. T2-gewichtete Bilder sind in ihrem Kontrastverhalten von T2 bestimmt [76].

2.4.1.2 Repetitionszeit und Echozeit

Repetitionszeit: Um ein MRT-Bild zu erhalten, muss viele Male nacheinander angeregt und gemessen werden. Die Zeit zwischen zwei aufeinander folgenden Anregungen in und derselben Schicht heißt Repetitionszeit TR und beeinflusst entscheidend den T1-Kontrast [76]. Je mehr Zeit zwischen zwei Anregungen verstreicht, desto mehr Spins erreichen eine komplette Rückkehr zur Längsmagnetisierung und können nach der nächsten Anregung das Signal verstärken und umgekehrt. Gewebe mit kurzem T1

relaxieren rasch und können auch nach kurzer TR wieder angeregt werden; sie erscheinen auf dem Bild als helle Strukturen. Gewebe mit langem T1 stellen sich durch die geringere Längsmagnetisierung dunkel dar. Ein solches Bild ist T1-gewichtet. Wird TR lang gewählt so enthält das Bild weniger T1-Information und ist weniger T1-gewichtet.

Echozeit: Die Zeitspanne, die zwischen Anregung und Messung des Signals liegt, nennt man Echozeit TE. Die Echozeit beeinflusst den T2-Kontrast [76]. Eine kurze TE bewirkt eine geringe T2-Gewichtung, da die T2-Relaxation erst begonnen hat und die Signale noch nicht stark abgeklungen sind. Eine lange TE führt zu deutlichen Unterschieden zwischen den Geweben. Gewebe mit kurzem T2 haben die meiste Signalintensität verloren und stellen sich dunkel dar, Gewebe mit langem T2 sind als signalreich zu erkennen.

2.4.2 Pulssequenzen – Eine kurze Einführung

Im folgenden Abschnitt werden die für diese Studie relevanten Sequenzen der MRT-Bildgebung besprochen.

2.4.2.1 Spin Echo Sequenz

Bei der Spin Echo Sequenz erfolgt die Anregung in der Regel mit einem 90°-Impuls. Die entstehende transversale Magnetisierung zerfällt aufgrund von statischen Feldinhomogenitäten mit T2*. Nach Ablauf der Hälfte der TE wird ein 180°-Impuls gesendet, woraufhin sich die Spins am Ende der TE wieder in Phase treffen. Die Regeneration der Quermagnetisierung M_{XY} wird als Spin Echo (SE) bezeichnet. Das Ergebnis ist eine Ausschaltung der statischen Magnetfeldinhomogenitäten. Das gemessene MRT-Signal entspricht dem T2, der substanz- bzw. gewebespezifischen Relaxationszeit. Die SE-Sequenz ist gegenüber statischen Feldinhomogenitäten und anderen Einflüssen des MRT-Systems relativ unempfindlich und ermöglicht die Aufnahme von protonengewichteten sowie T1- und T2-gewichteten Aufnahmen. Durch die lange Messzeit ist die Sequenz jedoch anfällig gegenüber Bewegungsartefakten [53, 76].

Für die in der Studie verwendete modifizierte T1-gewichtete SE-Sequenz mit deutlich verkürzter Bildaufnahmezeit wird gerätespezifisch bei Siemens-Scannern die

Bezeichnung Fast Spin Echo (FSE) oder bei Philips-Scannern Turbo Spin Echo (TSE) gebraucht. Dabei werden mehrere 180° -Pulse pro TR appliziert und jeweils zwischen den Echos der Phasencodierungsgradient kurzzeitig eingeschaltet, ein Gradient zur gezielten Phasenverschiebung der Spins entlang einer Achse mit dem Ziel der Ortskodierung in Y-Richtung. Es werden mehrere Messungen schneller Phasencodierungen mit einer Anregung gemacht. Je länger die TR-Zeit von SE-Sequenzen desto mehr 180° -Pulse können gesetzt werden. Die Sequenz ist deshalb geeignet für eine T2-Gewichtung. Für T1-gewichtete FSE bzw. TSE wird TR kurz gewählt [50, 76].

2.4.2.2 STIR-Sequenz

Die STIR-Sequenz (Short TI Inversion Recovery) wird zur Unterdrückung des Fettsignals verwendet. Es wird zunächst ein 180° -Inversionsimpuls ausgesendet, durch den die Spins antiparallel in der longitudinalen Ebene $-Z$ ausgerichtet werden. Daraufhin richten sich die Spins je nach T1-Relaxationszeit des Gewebes wieder parallel aus und es folgt ein 90° -Impuls. Die Zeit zwischen den beiden Impulsen nennt sich Inversionszeit (Inversion Time, TI).

Hat ein Gewebe beim Aussenden des 90° -Impulses die Transversalebene erreicht, so wird der Magnetisierungsvektor in die Longitudinalebene umgelenkt und es wird kein MRT-Signal gemessen. Diese Technik wird Short TI Inversion Recovery genannt. Die Inversionszeit für eine komplette Fettsuppression auf einem 1,5 Tesla-Scanner beträgt etwa 150 ms. Ein Nachteil der Sequenz kann eine Abnahme des Signal-zu-Rausch-Verhältnisses sein [50, 76].

2.4.2.3 Gradientenechosequenz

Bei der Gradientenecho (GE) Sequenz (für Siemens-Scanner), oder auch Fast Field Echo (FFE) Sequenz (für Philips-Scanner), werden an Stelle eines Hochfrequenzimpulses die Gradientenspulen zur Erzeugung des Echos verwendet. Dazu werden die Spins durch einen Frequenzcodierungsgradienten, ein Gradient zur Ortskodierung in X-Richtung, mit negativer Polarität dephasiert und durch Umschaltung auf positive Polarität rephasiert, wodurch es zum Echo kommt. Durch das Wegfallen eines 180° -Pulses können kurze Repetitionszeiten erreicht werden, was die Bildaufnahmezeit deutlich verkürzt und die Anfälligkeit durch Bewegungsartefakte vermindert; lokale Feldinhomogenitäten werden

nicht ausgeglichen. Für eine T1-Gewichtung mit minimalem T2*-Kontrast ohne Suszeptibilitätsartefakte muss TE so kurz wie möglich gewählt werden. Ist bei sehr kurzer TR noch Signal von der vorangegangenen Anregung messbar, so kann dieses durch „Spoiling“, spezielle Gradienten- oder Hochfrequenzimpulse, zerstört werden. Das Ergebnis ist eine T1-gewichtete FFE- (Philips) oder FLASH-Sequenz (Siemens) [76].

Je nach gewählter TE kann die Magnetisierung von Fett und Wasser parallel zueinander sein (in-phase), oder antiparallel (opposed-phase). In einer In-Phase-Situation wird für Gewebe, die sowohl Fett als auch Wasser enthalten, eine hohe Signalintensität gemessen, während in einer Opposed-Phase-Situation die Magnetisierungen von Fett- und Wasserkomponente sich gegenseitig so beeinflussen, dass es zu einem Signalverlust kommt. Dies wird verursacht durch das Fehlen eines 180°-Impulses bei GE-Sequenzen, der die schnellere Wasserkomponente so umlenken könnte, dass sie mit der langsameren Fettkomponente wieder in Phase ist [50].

2.4.3 MRT des Knochenmarks

Die MRT ist für die Untersuchungsregion Wirbelsäule und Spinalkanal eine sehr geeignete Form der Bildgebung. Sie ermöglicht eine nicht-invasive in vivo Darstellung von großen Abschnitten der Wirbelsäule in mehreren Schichten mit hohem Weichteilkontrast und ergänzt sinnvoll invasive, nur in begrenzter Zahl durchführbare Knochenmarksbiopsien und -aspirationen [53]. Es wird das Knochenmark als Ganzes dargestellt, während die Biopsie wichtige Aussagen über sehr kleine Untersuchungsbereiche zulässt, welche jedoch nicht auf das gesamte Skelett übertragbar sind.

In der MRT können mit Hilfe von Phased-Array-Spulen, mehrere aneinander grenzende Einzelspulen zum Senden und Empfangen, bis zu 40 cm lange Bildbereiche konstruiert werden, ohne dass es zu einem Abfall des Signal-zu-Rausch-Verhältnisses und einer Verschlechterung der Bildqualität kommt [53, 76]. Die geeignete Schichtdicke beträgt etwa 3-4 mm. Durch die verschiedenen Pulssequenzen kann die Darstellung der Untersuchungsregion sehr stark variiert werden. Das resultierende MRT-Bild wird durch die jeweiligen Anteile an rotem, hämatopoetischen Mark, gelbem Fettmark und Knochen trabekeln beeinflusst [73]. Morphologische Änderungen infolge von Knochenmarkerkrankungen, Chemo- oder Strahlentherapie sowie physiologische,

altersabhängige Veränderungen der Wirbelsäule können in der MRT gut beurteilt werden [48, 61].

In der Wahl der Pulssequenzen gelten T1- und T2-gewichtete sowie STIR-Sequenzen als vorteilhaft, wobei sich je nach gewählten Sequenzparametern oder technischen Parametern die Signalintensität der verschiedenen Anteile stark ändern kann [53, 73].

T1-gewichtete SE-Aufnahmen mit kurzer TR- und TE-Zeit bieten einen guten anatomischen Überblick. Zellreiches hämatopoetisches Knochenmark präsentiert sich durch seine Zusammensetzung aus Wasser, Fett und Protein (siehe 2.1) und anderen Faktoren mit langer T1-Relaxationszeit relativ dunkel (etwas heller als Muskel), bei steigendem Fettgehalt durch Knochenmarkskonversion heller. Fettreiches, gelbes Knochenmark dagegen stellt sich durch die kurze T1-Relaxationszeit des Fettes hyperintens dar, ähnlich der Signalintensität von subkutanem Fettgewebe. Bei hohem Fettgehalt im Wirbelkörper ergibt sich daraus ein guter Kontrast zwischen gelbem Knochenmark und zellreichem hämatopoetischen Knochenmark oder neoplastischen Läsionen. Auf T2-gewichteten Scans mit längerer TR und TE lassen sich Unterschiede von rotem und gelbem Mark weniger gut erkennen. Pathologische Prozesse mit längerer Relaxationszeit als das normale Knochenmark können gut identifiziert werden, Prozesse mit einer dem Mark entsprechenden Relaxationszeit allerdings nicht. Auf fettsupprimierten STIR-Sequenzen lassen sich ebenfalls zellreiche Läsionen von umgebendem Fettmark gut abgrenzen [48, 53, 73].

2.4.3.1 Diagnostische Grenzen der MRT in der Darstellung des Knochenmarks

Die mit zunehmendem Alter stattfindende Knochenmarkskonversion von vorwiegend rotem, hämatopoetischen zu gelbem, fettreichen Knochenmark [48, 54, 73] kann sich wie beschrieben (siehe Abschnitt 2.1.3) umkehren. Im Zuge der Rekonversion nimmt im Knochenmark die Anzahl an hämatopoetischen Zellen und RES-Zellen und somit auch des Wasseranteils zu [41, 42, 73].

Eine diffuse Knochenmarksinfiltration kann dem MRT-Signal eines hämatopoetisch aktiven Knochenmarks auf T1-gewichteten Bildern, nämlich relativ dunklem Gewebe mit geringer Signalintensität, sehr stark ähneln, so dass eine exakte Differenzierung

unmöglich wird [41, 73]. Die Konversion von rotem zu gelbem Knochenmark sowie umgekehrt die Rekonversion von gelbem zu rotem Mark kann im Verlauf einen unregelmäßigen Aspekt haben, und deshalb fokalen Knochenmarksinfiltrationen sehr ähnlich sehen [54, 61, 73].

Erschwerend in der Differentialdiagnostik wirken sich die gängigen Tumorthérapien aus. Während die Applikation von G-CSF durch Stimulation des hämatopoetischen Knochenmarks zu einer Abnahme der Signalintensität des Knochenmarks auf T1-gewichteten Aufnahmen führt [41], entsprechend einem zellreichen, hämatopoetisch aktivem Mark, so ändert sich das Aussehen eines mit Zytostatika behandelten Knochenmarks von dunkel während der Phase des Ödems bis hin zu hell entsprechend seines Fettanteils [73].

Durch Markierung des normalen hämatopoetischen Knochenmarks mit zellspezifischen Kontrastmitteln könnte eine Differenzierung zwischen gesundem, das Kontrastmittel aufnehmendem Knochenmark und nicht speichernden, neoplastischen Infiltrationen verbessert werden. Vertreter zellspezifischer Kontrastmittel sind Eisenoxid-haltige Kontrastmittel wie beispielsweise Sinerem®. Dieses wird selektiv von Zellen des RES aufgenommen [14, 77], nicht jedoch von neoplastischen Läsionen, die deutlich weniger oder keine RES-Zellen enthalten [55, 71]. Eine Studie von Daldrup-Link et al. (2002) zeigte, dass Eisenoxid-haltige Kontrastmittel wie Sinerem® in der Lage sind den Kontrast zwischen Knochenmarkstumoren und hämatopoetischem Knochenmark verstärken [14].

2.4.4 Kontrastmittel in der MRT

In der MRT erweiterten sich diagnostische Aussagekraft und Indikationsspektrum durch den Einsatz von Kontrastmitteln erheblich. So liegen die Vorteile gegenüber der nativen, unverstärkten MRT in verbesserter Sensitivität und Spezifität in der Differentialdiagnostik von Tumoren, Entzündung, Multipler Sklerose, Ischämie, degenerativen Prozessen und Traumata. Zusätzlich können mit Hilfe von MRT-Kontrastmitteln nicht-invasive funktionelle Untersuchungen erfolgen sowie Aussagen über Organperfusion und Organfunktion gemacht werden [53].

2.4.4.1 Wirkungsweise von MRT-Kontrastmitteln

Der Kontrast der Signalintensitäten verschiedener Gewebe zueinander wird von intrinsischen, körpereigenen sowie extrinsischen, gerätespezifischen Parametern bestimmt. Die körpereigenen Faktoren beinhalten u.a. Protonendichte, T1- und T2-Relaxationszeiten, Änderungen in der Gewebezusammensetzung und physiologische Vorgänge wie Diffusion, Perfusion und Flusseigenschaften von Blut oder Liquor. Zu den extrinsischen Faktoren zählen Homogenität und Stärke des Magnetfelds, Spulentypen und Pulssequenzen [52, 76].

Durch Verwendung von Kontrastmitteln in der MRT werden die intrinsischen Eigenschaften der Gewebe verändert. Das MRT-Signal, das bei Nativaufnahmen durch Dipol-Dipol-Wechselwirkung zwischen den Kernen entsteht, wird bei Verwendung eines Kontrastmittels von der Wechselwirkung zwischen der verwendeten Substanz und den Kernen bestimmt. Dies bedeutet, dass nicht das Kontrastmittel selbst auf den Aufnahmen zu sehen ist, sondern der Einfluss des Kontrastmittels auf das Relaxationsverhalten der Protonen [53, 76].

Kontrastmittel verkürzen T1- und T2-Relaxationszeiten und führen dadurch zu Signalveränderungen [76]. Diese Wirkung auf das Signalverhalten beruht auf ungepaarten Außenelektronen der Kontrastmittelmoleküle, deren paralleler Spin sich in einem magnetischen Feld zu einem Nettoelektronenspin addiert. Aufgrund der starken Wechselwirkung zwischen Kontrastmitteln und Protonen wird die Relaxation der Protonen beeinflusst und damit wiederum die Signalintensität des Gewebes [53, 76].

Wird durch das Kontrastmittel die T1-Relaxationszeit verkürzt, so führt dies zu einer Zunahme des T1-Signals, das Gewebe erscheint auf T1-gewichteten Aufnahmen heller. Verkürzt das Kontrastmittel die T2-Relaxationszeit, so fällt das T2-Signal ab und das Gewebe stellt sich auf T2-gewichteten Aufnahmen dunkler dar [68].

Die Relaxivitäten R_1 und R_2 ($\text{mmol}^{-1} \cdot \text{l} \cdot \text{s}^{-1}$) sind ein Maß für die Wirksamkeit eines Kontrastmittels und unabhängig von dessen Konzentration [76].

2.4.4.2 Einteilung der MRT-Kontrastmittel

Durch ihre unterschiedliche Wirkungsweise und Zusammensetzung ist eine Einteilung der einzelnen MRT-Kontrastmittel schwierig. Viele Substanzen sind noch Gegenstand der Forschung und in der klinischen Anwendung jeweils nur für bestimmte Organsysteme zugelassen [52].

Neben der Unterteilung in T1- und T2-Kontrastmittel (siehe 2.4.4.1) unterscheidet man weiterhin unspezifische und spezifische Kontrastmittel. Unspezifische Kontrastmittel wie paramagnetische Gadolinium-(III)-Komplexe (Gd-DTPA, Gd-DOTA) verteilen sich im intravaskulären und interstitiellen Raum sämtlicher Organe und werden fast vollständig über die Nieren ausgeschieden. Sie erlauben Aussagen über physiologische Parameter wie beispielsweise die renale Funktion [25, 53, 75].

Als organspezifische Kontrastmittel gelten z.B. hepatobiliäre sowie RES-spezifische Kontrastmittel. Diese Kontrastmittel reichern sich spezifisch nur in bestimmten parenchymatösen Organen an und führen zu Signalveränderungen dieses Zielgewebes, während Läsionen des Organs, wie beispielsweise Metastasen, ihre ursprüngliche Signalintensität beibehalten. In Europa sind die hepatobiliären, paramagnetischen Substanzen Gd-BOPTA, Mn-DPDP sowie Gd-EOB-DTPA für die Leberdiagnostik zugelassen.

RES-spezifische Kontrastmittel bestehen aus superparamagnetischen Eisenoxid-Nanopartikeln und einer Hülle aus Dextran. Sie reichern sich in Organen des RES wie Leber, Milz, Lymphknoten sowie Knochenmark an und führen zu einem Signalverlust des Gewebes. Die Gruppe der Ferumoxide, auch SPIO (Superparamagnetic Iron Oxide Particles) genannt, werden in der Leberdiagnostik eingesetzt. Vertreter sind Endorem® (Guerbet, Frankreich) oder Resovist® (Schering AG, Deutschland). Die Gruppe der Ferumoxtrane oder USPIO (Ultrasmall Superparamagnetic Iron Oxide Particles) wurde zur Diagnostik von Lymphknotenmetastasen entwickelt und wird momentan in Phase-III-Studien getestet (siehe 2.4.5) [25, 53].

2.4.4.3 Superparamagnetismus

Die Substanzklassen der Kontrastmittel bestehen aus Atom- oder Molekülverbänden, die in magnetischen Feldern auf unterschiedliche Weise reagieren. Es werden

diamagnetische, ferromagnetische, paramagnetische und superparamagnetische Substanzen unterschieden [53, 76].

Als paramagnetische Substanzen gelten Metallionen der seltenen Erden und Übergangsmetalle (z.B. Gd^{3+}), welche eine positive magnetische Suszeptibilität besitzen. Befindet sich eine paramagnetische Substanz in einem äußeren Magnetfeld (z.B. im Rahmen der MRT), so verstärkt sich deren Magnetfeld effektiv und es entwickelt sich eine makroskopische Magnetisierung, welche ohne äußeres Magnetfeld wieder nachlässt. Diamagnetismus bezeichnet den gegenteiligen Effekt, nämlich eine Abschwächung des Magnetfelds [53, 76, 81].

Das Kontrastmittel Sinerem® besteht aus ultrakleinen, superparamagnetischen Eisenoxid-Partikeln. Seine paramagnetischen Eigenschaften verhalten sich so, dass sich das magnetische Moment um den Faktor 10–1000 verstärkt, was als Superparamagnetismus bezeichnet wird [52]. Die magnetischen Eigenschaften von solchen gekörnten ferromagnetischen Festkörpern sind abhängig von der Korngröße. Bei Verkleinerung der Korngröße nimmt die Anzahl der magnetischen Bezirke pro Korn ab. Unterhalb einer kritischen Größe ist es energetisch ungünstig mehrere dieser Bereiche auszubilden – es existiert also nur noch ein magnetischer Bezirk pro Korn, d.h. alle atomaren magnetischen Momente eines Korns sind parallel zueinander angeordnet. Unterhalb einer weiteren kritischen Größe ist eine stabile Ausrichtung des magnetischen Gesamtmoments aus energetischen Gründen nicht mehr möglich. Der Festkörper als Ganzes verhält sich nun paramagnetisch mit der Besonderheit, dass nicht die magnetischen Momente einzeln, sondern in Blöcken auf externe Magnetfelder reagieren. Diese besondere Form des Paramagnetismus wird als Superparamagnetismus bezeichnet. Die so erreichte makroskopische Magnetisierung im äußeren Magnetfeld führt zu einer Verkürzung der R1- und R2-Relaxationszeiten. Die parallele Orientierung der Spins hebt sich nach der Entfernung aus dem magnetischen Feld auf; es resultiert keine Nettomagnetisierung. Als superparamagnetische Substanzen gelten Ferrite und Magnetite, u.a. USPIO [52, 53, 76].

Um eine ausreichende Stabilität und Verträglichkeit von paramagnetischen und superparamagnetischen Substanzen zu gewährleisten, welche aus toxischen Metallionen bestehen, sind sie in der klinischen Anwendung entweder in Komplexe integriert, deren

Komplexliganden (z.B. DTPA, DOTA, etc.) spezifisch die toxische Substanz binden, oder sie werden dazu ummantelt (z.B. mit Dextran oder Carboxydextran) [52, 76].

2.4.5 Sinerem® - Das ultrakleine superparamagnetische MRT-Kontrastmittel

Ferrumoxtran-10 ist in Europa unter dem Handelsnamen „Sinerem®“ (Guerbet Gruppe, Aulnay-sous-Bois, Frankreich), in den USA als „Combixel™“ (Advanced Magnetics Inc., Cambridge, Mass., USA) bekannt. Sinerem® gehört zur Gruppe der USPIO, der ultrakleinen superparamagnetischen Eisenoxid-Partikel. Es wurde zur Verbesserung des Lymphknotenstagings bei malignen Erkrankungen entwickelt und wird aktuell in klinischen Phase-III-Studien in weiteren Anwendungsbereichen getestet, u.a. der Bildgebung von Knochenmark und Leber, der MRT-Angiographie und Perfusionsstudien von Myokard und ZNS [25].

In chemischer Zusammensetzung ähnelt Sinerem® dem SPIO Endorem®. Beide besitzen Fe₂O₃ und Fe₃O₄ im Kern und eine Hülle aus Dextran. Das Coating stabilisiert den Komplex, minimiert die Interaktion von Sinerem® mit Plasmaproteinen und verbessert die Verträglichkeit [37, 52, 53, 78]. Insgesamt entspricht die Verträglichkeit von Sinerem® etwa der anderer MRT-Kontrastmittel [25]. In Tabelle 2.4 sind die häufigsten Nebenwirkungen von Sinerem® dargestellt.

| Häufigste Nebenwirkung | Häufigkeit in % |
|------------------------|-----------------|
| Rückenschmerz | 3,2 % |
| Kopfschmerz | 3,0 % |
| Pruritus | 2,6 % |
| Urtikaria | 2,4 % |
| Flush | 2,3 % |
| Wärmegefühl | 1,85 % |
| Hautausschlag | 1,5 % |
| Thoraxschmerz | 1,1 % |
| Bauchschmerz | 1,1 % |

Tabelle 2.4: Nebenwirkungen durch das Kontrastmittel Sinerem® in klinischen Studien [25].

Der Partikeldurchmesser von Sinerem® ist mit 20-50 nm (MW 35 nm) etwa viermal kleiner als der von SPIO (MW 120 nm) und entspricht etwa dem Durchmesser von Plasmaproteinen. Die Plasma-Halbwertszeit von Sinerem® wird bei Menschen mit mehr als 24 Stunden angegeben. Die R1-Relaxivität von Sinerem® beträgt 28-31 mmol⁻¹ * l * s⁻¹

und ist deutlich kleiner als die R2-Relaxivität von $98-106 \text{ mmol}^{-1} \cdot \text{l} \cdot \text{s}^{-1}$ (0,48 Tesla, 20 MHz) [25].

USPIO zirkulieren länger in der Blutbahn als die größeren SPIO, da letztere rasch von den RES-Zellen der Leber und Milz aufgenommen werden. Sie werden deshalb auch als Bloodpool-Kontrastmittel bezeichnet [20, 63]. USPIO erreichen neben Leber und Milz auch Lymphknoten und Knochenmark und induzieren dort Signalveränderungen [55, 75, 77]. Weniger als 5% des intravenös applizierten Kontrastmittels überschreitet aufgrund seiner Größe das intakte Sinus-Endothel und gelangt in das Knochenmark, wo es spezifisch von den RES-Zellen des hämatopoetischen Knochenmarks phagozytiert wird [14, 72, 77]. Dies reicht aus, um eine Abnahme der Signalintensität auf den MRT-Aufnahmen zu erkennen [55]. Da neoplastische Läsionen keine USPIO anreichern, wird eine bessere Abgrenzung der Läsionen von gesundem Knochenmark möglich [14, 55, 71].

Das Signal der Blutgefäße normalisiert sich einige Tage nach Sinerem®-Applikation, das der Lymphknoten nach 7 Tagen und das Signal der Leber erst nach 1 bis 2 Monaten, da der enzymatische Abbau der Kontrastmittelmoleküle in den Lysosomen der Phagozyten langsam erfolgt [25, 79]. Das anfallende Eisen, etwa 182 mg bei normaler Dosierung von Sinerem® für einen Patienten mit 70 kg Körpergewicht, wird in den physiologischen Eisenstoffwechsel eingeschleust (Eisenbestand eines Mannes mit 70 kg Körpergewicht ca. 50 mg/kg bzw. 3,5 g [31]) [25, 79].

Sinerem® führt zu einer Verkürzung der T1- und T2-Relaxationszeiten [55]. Es verursacht ein positives Kontrastverhalten des Blutes auf T1-gewichteten MRT-Bildern und kann aufgrund seiner relativ langen Plasma-Halbwertszeit als Bloodpool-Kontrastmittel für Perfusionsstudien, z.B. des Knochenmarks, genutzt werden [10, 77]. Erreicht das Kontrastmittel das Knochenmark, wird es von Zellen des RES phagozytiert. Das intrazelluläre Kontrastmittel führt zu einem Signalabfall des Knochenmarks auf späten Aufnahmen nach der Kontrastmittelapplikation [14, 55, 77].

Die Effekte des Sinerem® auf die Signalintensität sind folglich auf die Kompartimentalisierung der Eisenoxid-Partikel zurückzuführen: Die induzierten Signalveränderungen werden zunächst durch den Bloodpool-Effekt des Kontrastmittels

dominiert. Das Eisen befindet sich in den Blutgefäßen (intravaskulär – extrazellulär) und bewirkt einen T1-Effekt. Dieser T1-Effekt bleibt bestehen, wenn die Eisenoxid-Partikel aus den Sinusoiden des Knochenmarks in das Knochenmarksinterstitium gelangen (extravaskulär – extrazellulär). Erst durch RES-Phagozytose und Abnahme der Interaktion der phagozytierten Eisenoxid-Partikel mit den umgebenden Protonen kommt es nun zu einer Zunahme des T2/T2*-Effekts (extravaskulär – intrazellulär) [55].

3 Material und Methoden

3.1 Das Patientenkollektiv

Das Patientenkollektiv bestand aus 22 Patienten mit histologisch gesicherten malignen NHL, darunter 10 Männer und 12 Frauen im Alter von 28 bis 70 Jahren (mittleres Alter 50,7 Jahre). Die Studie wurde durch die Ethikkommission der Medizinischen Fakultäten der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster sowie der Technischen Universität München genehmigt. Den Patienten wurden Ablauf und Ziel der Studie beschrieben, und sie erhielten einen vorgefertigten, ausführlichen Aufklärungsbogen zum Eigenstudium. Der Untersuchung wurde mit Unterzeichnung der Einverständniserklärung zugestimmt.

Als Einschlusskriterien galten histopathologisch bestätigtes NHL und der Zeitpunkt vor (Gruppe A) oder nach (Gruppe B) Mobilisierungstherapie für nachfolgende Stammzellapherese. Ausschlusskriterien waren Alter unter 18 Jahren, die allgemein gültigen Kontraindikationen der MRT wie Metallimplantate, Herzschrittmacher oder intrakranielle Klips, weiterhin Schwangerschaft, Stillzeit, schwere anaphylaktische Reaktionen auf Eisen, Kontrastmittel oder andere Medikamente in der Vorgeschichte, sowie Patienten mit Hämosiderose, Leberzirrhose und anderen schweren Lebererkrankungen. Außerdem durften die Patienten noch nicht an der Studie teilgenommen haben und im Zeitraum von vier Wochen vor der Studie kein Eisenoxidhaltiges Kontrastmittel erhalten haben.

Die beiden Geschlechter wurden nicht getrennt ausgewertet, da in vorausgegangenen Studien bei der Darstellung des Knochenmarks keine relevanten Unterschiede zwischen Männern und Frauen festgestellt werden konnten [48, 54].

Es wurden zwei Gruppen von Patienten bestimmt:

Gruppe A bestand aus 9 Patienten (3 Männer und 6 Frauen, Alter 42-70 Jahre, mittleres Alter 57,2 Jahre), die keine Mobilisierungstherapie erhielten. Die pathologische Diagnose, durch Biopsie der Tumorregion bestätigt, ergab Multiples Myelom (n=6) und andere NHL (n=3).

Gruppe B bestand aus 13 Patienten (7 Männer und 6 Frauen, Alter 28-60 Jahre, mittleres Alter 48,2 Jahre). Die Biopsie der Tumorregion bestätigte die Diagnosen Multiples Myelom (n=4) und andere NHL (n=9). Diese Patienten erhielten 11-18 Tage (im Mittel 13,3 Tage) vor der MRT eine Mobilisierungstherapie, sowie 8-14 Tage (im Mittel 10,3 Tage) vor der Untersuchung dosiert nach Körpergewicht (<75 kg / >75 kg) jeweils 30 Mio. (n=3) oder 48 Mio. (n=10) Einheiten Neupogen® subkutan, entsprechend 300 µg bzw. 400 µg G-CSF. Die Konditionierungsschemata richteten sich nach laufenden Therapieprotokollen; die eingesetzten Kombinationen waren Ifosfamid - Epirubicin - Etoposid (IEV, n=4), Rituximab - Dexamethason - Ara-C - Cisplatin (R-DHAP, n=2), Cyclophosphamid – Doxorubicin – Vincristin - Prednison (CHOP, n=3), Ara-C (n=2) und andere (n=2). Die MRT wurde am Tag der Stammzellapherese (n=7), einen Tag vor (n=1) oder einen Tag nach Stammzellapherese (n=4) durchgeführt.

3.2 Studienuntersuchung

Die Studie begann mit der Aufnahme der nativen statischen Sequenzen (im Folgenden als Pre-contrast-Sequenzen bezeichnet). Dann wurden die dynamischen Scans begonnen, während derer das Kontrastmittel infundiert wurde. Die Untersuchung endete mit den Post-contrast-Aufnahmen, entsprechend der Pulssequenzen aus den Pre-contrast-Scans.

Während der Infusion des Kontrastmittels über den Zeitraum der gesamten dynamischen Untersuchung war stets ein Arzt anwesend. Nach der Untersuchung wurde der Patient auf die Station zurück begleitet, wo er mindestens 24 Stunden nach der MRT beobachtet wurde.

3.3 Sinerem® – Herstellung und Dosierung

Das Kontrastmittel Sinerem® (Guerbet Gruppe, Aulnay-sous-Bois, Frankreich) wurde als 1 g Trockensubstanz geliefert, welche mit 10 ml einer 0,9%igen Natriumchlorid-Lösung aufgelöst wurde. Somit ergab sich eine Lösung mit 20 mg Fe/ml und 57 mg Dextran/g. Anhand einer Tabelle des Herstellers (siehe 7.4) wurde die benötigte Dosis bestimmt. Die empfohlene Dosis von 0,045 mmol Fe/kg Körpergewicht (2,6 mg/kg oder 0,13 ml/kg) wurde wiederum mit 100 ml 0,9%iger Natriumchlorid-Lösung substituiert. Diese so

zubereitete Lösung wurde während der dynamischen Untersuchung über einen 0,22 μm Filter als Kurzinfusion über ca. 20 Minuten intravenös verabreicht. Ausführliche Informationen über Sinerem® sind im Abschnitt 2.4.5 zusammengefasst.

3.4 Bildgebung und Pulssequenzen

Die MRT erfolgte an 1,5-Tesla Ganzkörpermagneten. Zur Untersuchung wurde eine Spine-Phased-Array Oberflächenspule mit selektiven Empfangsmodi verwendet. Alle Patienten erhielten dynamische Sinerem®-verstärkte T1-gewichtete GE-, sowie statische T1-SE- und STIR-Sequenzen vor und nach Kontrastmittelapplikation. Die Pre-kontrast-Bilder wurden direkt vor Verabreichung des Kontrastmittels aufgenommen. Anschließend erfolgten alle 30 Sekunden repetitive dynamische Scans bis zur Gesamtdauer von 20 min nach Beginn der Sinerem®-Infusion (p.i.). Die Post-kontrast-Aufnahmen wurden direkt nach den dynamischen Scans mit denselben Sequenzen durchgeführt, welche schon für die Pre-kontrast-Aufnahmen verwendet wurden.

Gruppe A (Magnetom Vision, Siemens, Erlangen, Deutschland) erhielt sagittale T1-gewichtete Fast Spin Echo-Aufnahmen (FSE; 600/12 ms Repetitionszeit TR/Echozeit TE) mit einer Schichtdicke von 4 mm, einem Schichtabstand von 0,4 mm, einem Bildausschnitt (field of view = FOV) von 450 mm, einer Matrix von 264 x 512 Pixel und einer Erfassungszeit von 3:35 min. Die sagittalen Short TI Inversion Recovery-Sequenzen (STIR; 5420/29 ms TR/TE) wurden mit einer Schichtdicke von 4 mm, einem Schichtabstand von 0,4 mm, einem FOV von 450 mm, einer Matrix von 140 x 256 Pixel und einer Erfassungszeit von 3:32 min durchgeführt. Die dynamischen Scans wurden axial in einer 2D T1-gewichteten Fast Low-Angle Shot-Sequenz (FLASH; 60°/50/4 ms α /TR/TE) aufgenommen mit einer Schichtdicke von 4 mm, einem Schichtabstand von 0,4 mm, einem FOV von 250 mm und einer Matrix von 192 x 256 Pixel (Tabelle 3.1).

In Gruppe B (Philips ACS NT, Best, Die Niederlande) bestanden die Pre- und Post-kontrast-Scans aus einer sagittalen T1-gewichteten Turbo Spin Echo-Sequenz (TSE; 500/17 ms TR/TE) mit einer Schichtdicke von 4 mm, einem Schichtabstand von 0,4 mm, einem FOV von 450 mm, einer Matrix von 256 x 512 Pixel und einer Erfassungszeit von 2:53 min, sowie aus einer sagittalen STIR-Sequenz (1150/29 ms) mit einer Schichtdicke von 4 mm, einem Schichtabstand von 0,4 mm, einem FOV von 450 mm, einer Matrix von

3.4 Bildgebung und Pulssequenzen

256 x 512 Pixel und einer Erfassungszeit von 5:45 min. Die dynamischen Scans wurden unter Verwendung einer sagittalen T1-gewichteter Fast Field Echo-Sequenz (FFE; 60°/150/2,6 ms α /TR/TE) mit einer Schichtdicke von 4 mm, einem Schichtabstand von 0,4 mm, einem FOV von 450 mm und einer Matrix von 192 x 256 Pixel durchgeführt (Tabelle 3.1).

| Gruppe A | | | | | |
|---|----------------------|--------------------------------------|----------|----------------|----------------------|
| Sequenz | α /TR/TE (ms) | Schichtdicke/ Schichtabstand (mm) | FOV (mm) | Matrix (Pixel) | Erfassungszeit (min) |
| Statische Pulssequenzen (je vor und nach Kontrastmittelapplikation): | | | | | |
| Sagittale T1 FSE | 600/12 | 4/0,4 | 450 | 264x512 | 3:35 |
| Sagittale STIR | 5420/29 | 4/0,4 | 450 | 140x256 | 3:32 |
| Dynamische Pulssequenzen: | | | | | |
| Axiale 2D T1w FLASH | 60°/50/4 | 4/0,4 | 250 | 192x256 | 0,5 jede, insg. 20 |
| Gruppe B | | | | | |
| Sequenz | α /TR/TE (ms) | Schichtdicke/ Schichtabstand (mm) | FOV (mm) | Matrix (Pixel) | Erfassungszeit (min) |
| Statische Pulssequenzen (je vor und nach Kontrastmittelapplikation): | | | | | |
| Sagittale T1 TSE | 500/17 | 4/0,4 | 450 | 256x512 | 2:53 |
| Sagittale STIR | 1150/29 | 4/0,4 | 450 | 256x512 | 5:45 |
| Dynamische Pulssequenzen: | | | | | |
| Sagittale T1w FFE | 60°/150/2,6 | 4/0,4 | 250 | 192x256 | 0,5 jede, insg. 20 |

Tabelle 3.1: Pulssequenzen der Studienuntersuchung für Gruppe A (Magnetom Vision, Siemens, Erlangen, Deutschland) und B (Philips ACS NT, Best, Die Niederlande).

Die wiederholten dynamischen Scans wurden während einer Erfassungszeit von insgesamt 20 min durchgeführt, wobei die Sinerem®-Infusion nach 2 dynamischen Prekontrast-Aufnahmen gestartet wurde (jeweils 30 s). Das Sinerem® wurde dann während der Gesamtdauer von 20 min kontinuierlich infundiert.

Die Patienten der Gruppe A erhielten die MRT zwischen 2002 und 2003 an einem Siemens-Scanner, während die Patienten der Gruppe B zwischen 2003 und 2004 an einem Philips-Scanner untersucht wurden.

Anmerkung:

Die TR der Pre- und Post-contrast-STIR-Sequenz von Gruppe A ist mit 5420 ms deutlich länger als diejenige der Gruppe B mit 1150 ms, was zu einem stärkeren T2/T2*-Effekt führte sowie zu einem geringen zusätzlichen T1-Effekt mit entgegengesetzter Wirkung. Außerdem betrug bei Gruppe A die TE der dynamischen T1-gewichteten FLASH-Sequenz 4 ms (in-phase) und der Gruppe B die TE der dynamischen T1-gewichteten FFE-Sequenz 2,6 ms (opposed-phase). Die opposed-phase Sequenz für Gruppe B wurde kreiert, um das zellreiche Knochenmark besser von fettreichem Knochenmark unterscheiden zu können.

3.5 Datenanalyse

Die Datenauswertung erfolgte für Gruppe A und B getrennt, da die Untersuchung an zwei unterschiedlichen MRT-Scannern durchgeführt worden war. Die Signalintensitäten einzelner Patienten wurden stichprobenartig auf dem jeweils anderen Scanner ausgewertet, wobei die Daten übereinstimmten.

3.5.1 Quantitative Datenanalyse

Im Rahmen der quantitativen Datenauswertung wurden die Signalintensitäten (SI) des normalen Knochenmarks, der Vena cava inferior (VCI) und des Hintergrundrauschens (noise = N) der Pre- und Post-contrast-Aufnahmen als auch der dynamischen Aufnahmen gemessen. Für die Bestimmung der SI wurden Wirbelkörper mit homogenem Signal ausgewählt. Wirbelkörper mit Gefäßen, fokalen neoplastischen Läsionen, Artefakten oder anderen Pathologien wie Infarkten oder vorausgegangener Bestrahlung wurden ausgeschlossen. Auf einer mittleren Schicht der sagittalen Aufnahmen wurden in jeweils 3-4 Wirbelkörper Messfelder mit möglichst großer anatomischer Fläche, so genannte „Regions of Interest“ (ROI), platziert, und der Mittelwert der gemessenen SI bestimmt (Abbildung 3.1). Die ROI's der zu vergleichenden Bilder der verschiedenen Sequenzen eines Patienten wurden in die betroffenen Wirbelkörper kopiert, wodurch jeweils dieselbe Fläche gemessen werden konnte.

In Gruppe A wurde nach vorausgehenden sagittalen Pre-kontrast-Aufnahmen ein Wirbelkörper für die axialen dynamischen Scans bestimmt und ebenfalls anhand einer möglichst großen ROI und den oben genannten Kriterien die SI bestimmt.

Die SI-Werte wurden gegenüber leichten Variationen des Spektrometers korrigiert, indem sie durch die SI des Hintergrundrauschens (noise = N) dividiert wurden:

$$\text{SNR} = \text{SI}_{\text{Knochenmark}} / \text{SI}_{\text{noise}}$$

Die Kontrastzunahme von Blut und Knochenmark wurde quantifiziert als:

$$\Delta \text{SI} = \text{SNR}_{\text{post}} - \text{SNR}_{\text{pre}}$$

(wobei post = nach Sinerem®-Applikation und pre = vor Sinerem®-Applikation).

Die relative Signalveränderung des Knochenmarks verglichen mit der Signalveränderung des Blutes wurde folgendermaßen errechnet:

$$| \Delta \text{SI}_{\text{Knochenmark}} / \Delta \text{SI}_{\text{Blut}} * 100 | (\%)$$

(Dabei wurde für jeden Patienten $\Delta \text{SI}_{\text{Knochenmark}}$ durch $\Delta \text{SI}_{\text{Blut}}$ zum Zeitpunkt x der dynamischen Studie dividiert.)

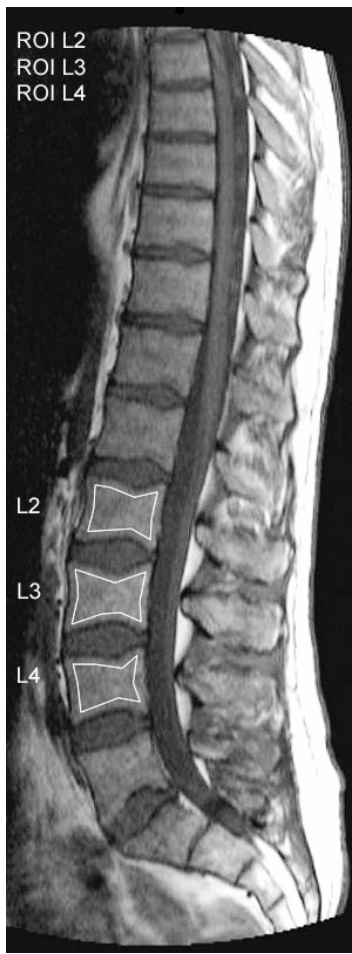


Abbildung 3.1: Beispiel für die Lage der Messbereiche (ROI) in den Wirbelkörpern LWK 2, LWK 3 und LWK 4 zur Bestimmung der Signalintensität (SI). Daraus wurde für jeden Patienten eine mittlere SI berechnet.

3.5.2 Stammzellapherese

Die Patienten der Gruppe B erhielten nach der Mobilisierungstherapie für die Tage bis zur Stammzellapherese G-CSF (Neupogen®, Amgen Inc, USA). Um den Tag der Stammzellapherese zu bestimmen, wurde in regelmäßigen Blutabnahmen durch das hämatologische Labor unseres Klinikums (Klinikum rechts der Isar, Technische Universität München) die Anzahl der CD34+ Zellen im peripheren Vollblut bestimmt. Die Apherese wurde durchgeführt, wenn die Anzahl an CD34+ Zellen im peripheren Blut auf einen Wert von mindestens 20 CD34+ Zellen/ μ l Vollblut angestiegen war, wodurch gewährleistet wurde, dass in einer Apherese-Sitzung mindestens 2×10^6 CD34+ Zellen/kg Körpergewicht gesammelt werden konnten, also eine ausreichende Menge an CD34+ Zellen für zwei Transplantatbeutel (ein Beutel für die PBSZT und ein Reservebeutel).

In der Korrelationsanalyse verwendeten wir die Anzahl der CD34+ Zellen, die pro μl peripheren Vollbluts bestimmt wurden, da die Gesamtzahl der Zellen im Transplantat (wie oben beschrieben, mindestens 2×10^6 CD34+ Zellen/kg Körpergewicht für eine autologe PBSZT nach Hochdosischemotherapie) von der Dauer der Zellsammlung abhängig ist.

Ein Patient erhielt die Mobilisierungstherapie, jedoch keine nachfolgende PBSZT, da die Anzahl der CD34+ Zellen im peripheren Blut keinen ausreichenden Anstieg zeigte.

3.5.3 Korrelationsanalyse

In der Korrelationsanalyse wurde die Anzahl mobilisierter CD34+ Zellen/ μl peripheren Vollbluts mit den quantitativen Daten aus den dynamischen Sinerem®-verstärkten Aufnahmen, der relativen Signalveränderung des Knochenmarks, verglichen.

Der initiale Anstieg gilt als Ausdruck des Blutvolumens im Knochenmark; das weiter zunehmende Enhancement von dem initialen Anstieg bis zum Ende der dynamischen Studie 20 min p.i. spiegelte die Permeabilität der BKS und die maximale Signalveränderung des Knochenmarks wider.

Außerdem wurde eine Korrelationsanalyse durchgeführt mit den quantitativen Daten der statischen Aufnahmen, und zwar den ΔSI -Werten, welche eine Abschätzung der RES-Zellen im Knochenmark ermöglichen.

3.5.4 Qualitative Datenanalyse

Zur qualitativen Datenanalyse wurden zwei erfahrene Radiologen hinzugezogen, die unabhängig voneinander alle Bilder anhand eines vorgefertigten Bogens (siehe 7.4) auswerteten. In einer Sitzung wurden entweder Pre- oder Post-contrast-Aufnahmen einer Gruppe in randomisierter Reihenfolge evaluiert. Um einem Lerneffekt vorzubeugen, wurde zwischen den Sitzungen ein Abstand von mindestens 14 Tagen festgesetzt. Beide Untersucher waren bis zu diesem Zeitpunkt nicht an der Studie beteiligt. Daten, welche eine eindeutige Zuordnung und Wiedererkennung der Patienten ermöglichen (u.a. Name, Geburtsdatum, Untersuchungszeitpunkt), wurden stets ausgeblendet. Alle Bilder wurden digital an einer PACS-Workstation (Picture Archiving and Communication System) befundet.

Die Radiologen wurden aufgefordert das Knochenmark nach Vorhandensein und Anzahl fokaler neoplastischer Läsionen zu bewerten, die Größe jeder entdeckten Läsion zu bestimmen (<1 cm oder >1 cm) und den Grad der Erkennbarkeit der Läsion anhand einer Entscheidungsskala mit 3 Stufen einzuordnen (1 = schlecht erkennbar, 2 = gut erkennbar, 3 = sehr gut erkennbar).

Zur Beurteilung der Pathologie dieser Läsionen wurden teilweise bereits erfolgte Biopsien, aber insbesondere andere bildgebende Verfahren (MRT, CT, konventionelle Röntgenaufnahmen, Knochen-Scans) und Follow-up Untersuchungen herangezogen, welche bis spätestens ein Jahr nach der Beendigung der Studie durchgeführt wurden.

3.6 Statistische Auswertung

Die quantitativen Daten der Untersuchung wurden als Mittelwerte (MW) und Standardfehler des Mittelwerts (Standard Error of the Mean, SEM) angegeben. MW innerhalb einer Gruppe wurden mit Hilfe eines t-Tests für verbundene Stichproben (paired student's t-test) durchgeführt, zum Vergleich der Daten von Gruppe A und B miteinander der t-Test für unverbundene Stichproben (student's t-test for independent samples). Das statistische Signifikanzniveau wurde für $p < 0,05$ festgelegt.

Mittels linearer Regressionsanalyse wurde überprüft, ob ein Zusammenhang zwischen den dynamischen Δ SI-Daten und der Anzahl CD34+ Zellen besteht. Die Daten wurden angegeben als Pearson'scher Korrelationskoeffizient r und den p -Werten aus dem t-Test. Alle Tests wurden als zweiseitige t-Tests durchgeführt.

Im Rahmen der qualitativen Auswertung wurden die Daten der beiden beurteilenden Radiologen als MW angegeben und mittels Varianzanalyse verglichen. Alle statistischen Berechnungen wurden mit SPSS-10,0 für Windows (Superior Performing Statistical Software, SPSS Inc., Chicago, IL, USA) durchgeführt.

4 Ergebnisse

Die Infusion des Kontrastmittels musste in keinem Fall unterbrochen werden. Es traten keinerlei Kontrastmittelunverträglichkeiten wie lokale oder systemische Reaktionen auf. Die Untersuchung musste bei keinem der Patienten vorzeitig beendet werden.

4.1 Quantitative Datenanalyse

4.1.1 Pre- und Post-kontrast-Aufnahmen der Wirbelsäule

Das hämatopoetische Knochenmark ließ nach Sinerem®-Infusion sowohl auf den T1-gewichteten SE- wie auch auf den STIR-Aufnahmen Signalveränderungen erkennen (Abbildung 4.1).

Auf den T1-gewichteten SE-Aufnahmen wurde nach Kontrastmittelgabe eine Zunahme des Knochenmarkssignals gemessen. Die Zunahme der SNR-Werte des Knochenmarks war für beide Gruppen A und B nicht signifikant ($p > 0,05$). Für Gruppe A stieg die SNR von $11,73 \pm 1,24$ auf $12,72 \pm 1,33$ an, für Gruppe B von $11,15 \pm 0,59$ auf $12,37 \pm 0,67$. (Tabelle 4.1, Abbildung 4.2, Abbildung 4.3)

Auf den STIR-Bildern nahm das Signal des Knochenmarks nach Sinerem®-Applikation für beide Gruppen signifikant ab ($p < 0,05$). Die SNR für Gruppe A betrug nativ $12,09 \pm 2,15$ und $6,19 \pm 1,40$ nach Kontrastmittel bzw. für Gruppe B $8,30 \pm 0,63$ vor und $7,23 \pm 0,59$ nach Sinerem® (Tabelle 4.1, Abbildung 4.2, Abbildung 4.3).

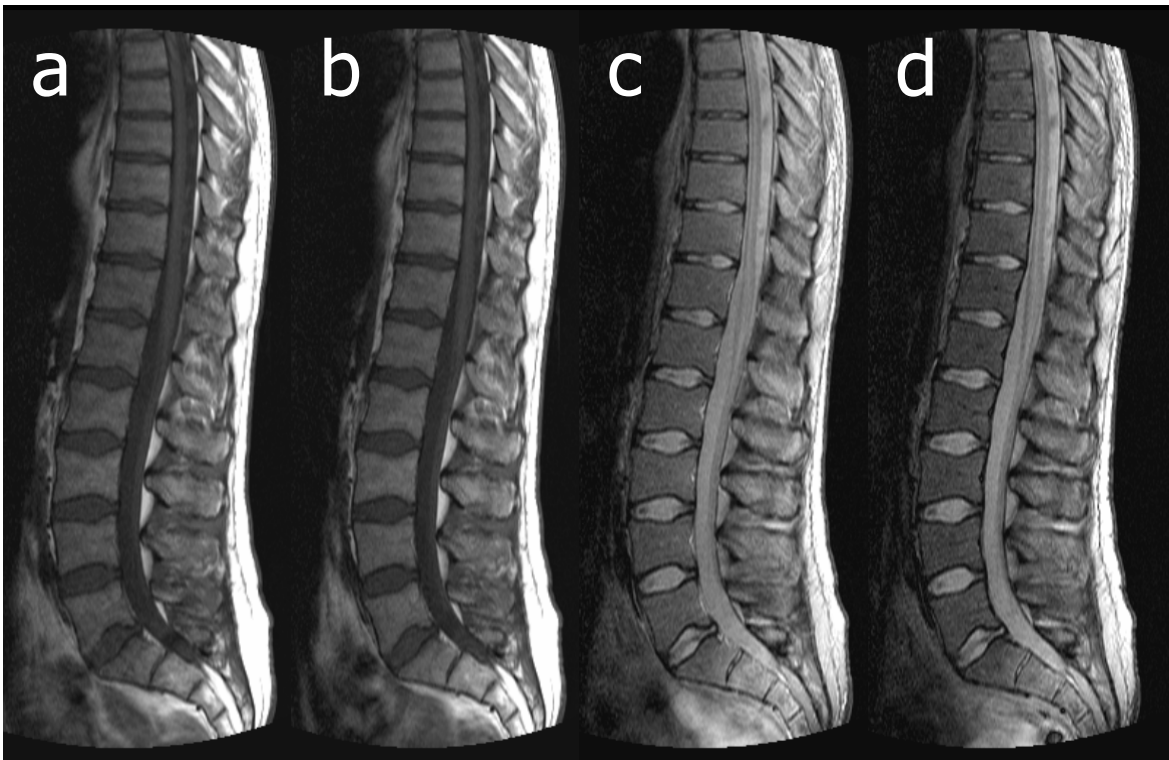


Abbildung 4.1: MRT-Aufnahmen der lumbalen und unteren thorakalen Wirbelsäule eines 24-jährigen Mannes. Bild (a) und (b) zeigen die sagittale T1-gewichtete TSE-Sequenz (500/17 ms TR/TE), Aufnahmen (c) und (d) die sagittale STIR-Sequenz (1150/29 ms TR/TE) jeweils vor bzw. nach Kontrastmittelapplikation. Auf den T1-gewichteten Bildern ist eine leichte, durch Sinerem® bedingte Signalzunahme, auf den STIR-Aufnahmen eine deutliche, negative Signalveränderung zu erkennen.

| Gruppe A | | | |
|-------------|---------------|--------------|--------------|
| Pulssequenz | | T1-FSE | STIR |
| SNR | Pre-kontrast | 11,73 ± 1,24 | 12,09 ± 2,15 |
| | Post-kontrast | 12,72 ± 1,33 | 6,19 ± 1,4 |
| | Signifikanz | p>0,05 | p=0,001 |
| Gruppe B | | | |
| Pulssequenz | | T1-TSE | STIR |
| SNR | Pre-kontrast | 11,15 ± 0,59 | 8,30 ± 0,63 |
| | Post-kontrast | 12,37 ± 0,67 | 7,23 ± 0,59 |
| | Signifikanz | p>0,05 | p=0,001 |

Tabelle 4.1: SNR-Daten (MW ± SEM) der Pre- und Post-kontrast-Sequenzen für Gruppe A und B. Für beide Gruppen findet sich auf den STIR-Aufnahmen ein signifikanter Signalabfall durch Sinerem®. Auf den T1-gewichteten Bildern zeigten beide Gruppen eine nicht signifikante Zunahme des Knochenmarkssignals.

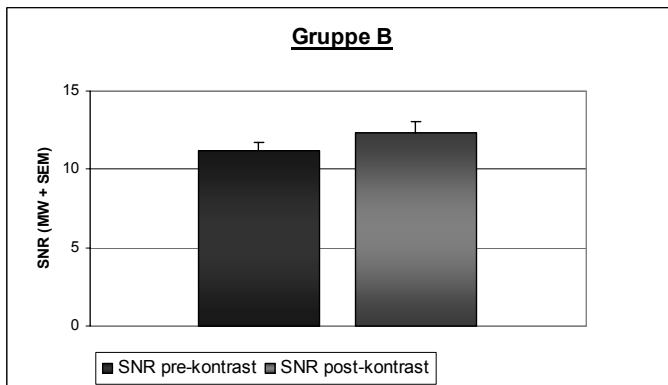
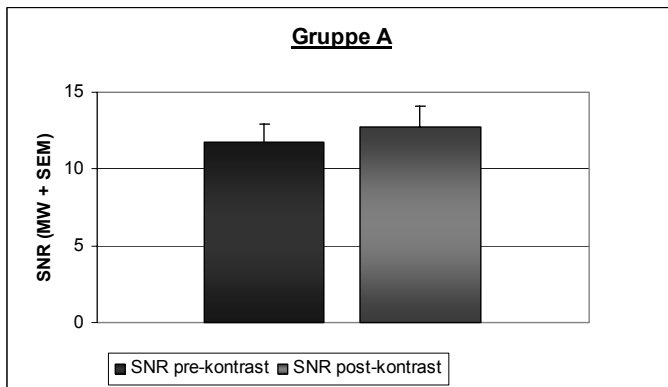


Abbildung 4.2: SNR (MW + SEM) der T1-gewichteten SE-Sequenz der Gruppe A und B vor und nach Sinerem®-Applikation. Für beide Gruppen zeigt sich eine nicht signifikante Zunahme der SNR ($p > 0,05$).

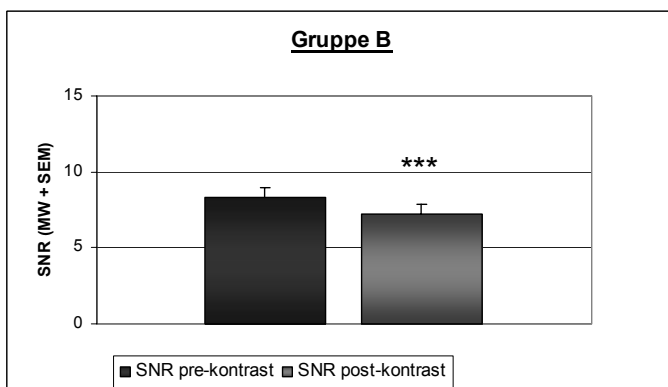
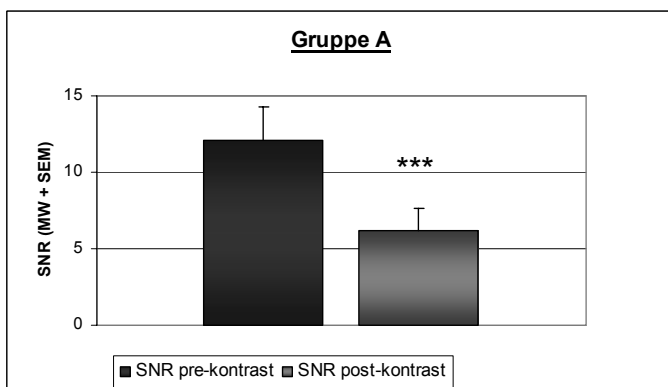


Abbildung 4.3: SNR (MW + SEM) der STIR-Sequenz für Gruppe A und B vor und nach Sinerem®-Applikation. Die SNR fällt für beide Gruppen nach Sinerem®-Infusion signifikant ab ($p = 0,001$).

4.1.2 Dynamische Datenanalyse

In Gruppe B konnten die dynamischen Daten für einen Patienten aufgrund eines technischen Fehlers nicht korrekt gespeichert werden. Deshalb wurden nur 12 Patienten in die Analyse der dynamischen Daten einbezogen.

4.1.2.1 Vena Cava Inferior (VCI)

Das Blut in der VCI zeigte auf den T1-gewichteten GE-Aufnahmen eine deutliche, stets positive Signalzunahme, deren Kurvenverlauf in beiden Gruppen sehr ähnlich war. Die Signalintensität der VCI stieg bis zu 8 min p.i. für Gruppe A und bis zu 6 min p.i. für Gruppe B steil an; danach erreichte sie für beide Gruppen ein Plateau.

Der Signalanstieg ΔSI der VCI erreichte nach 20 Minuten den Endwert 2,28 bei Gruppe A und 13,54 bei Gruppe B. Die SNR des venösen Blutes stieg für beiden Gruppen signifikant an ($p < 0,05$) (Abbildung 4.5, Abbildung 4.7).

4.1.2.2 Wirbelsäule

In Gruppe A war nach Sinerem®-Applikation für alle Patienten eine weniger starke Signalzunahme des Knochenmarks zu erkennen als dies für die VCI der Fall war. Die SNR des Knochenmarks stieg bis zum Ende der dynamischen Untersuchung nicht signifikant ($p > 0,05$) um etwa 10 % an.

Am Ende der dynamischen Studie nach 20 min betrug der Signalanstieg ΔSI 0,43. Die ΔSI -Werte des Knochenmarks und der VCI (Abbildung 4.4, Abbildung 4.5) als auch die relativen ΔSI -Werte (Abbildung 4.8) erreichten nach einem initialen Anstieg ein Plateau.

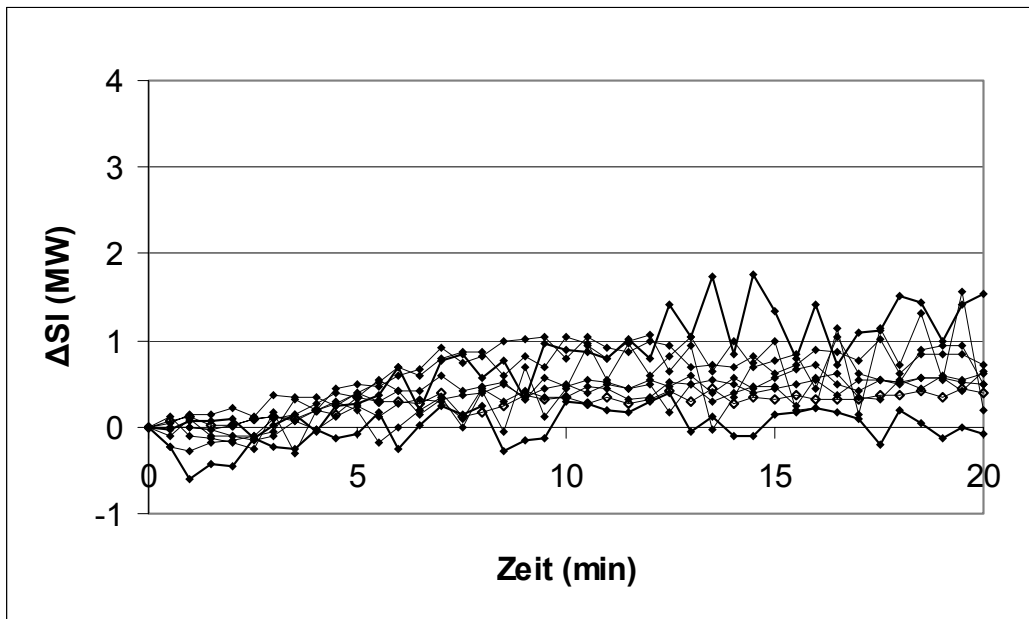


Abbildung 4.4: ΔSI -Werte (MW) des Knochenmarks der einzelnen Patienten aus Gruppe A über die Zeit (min).

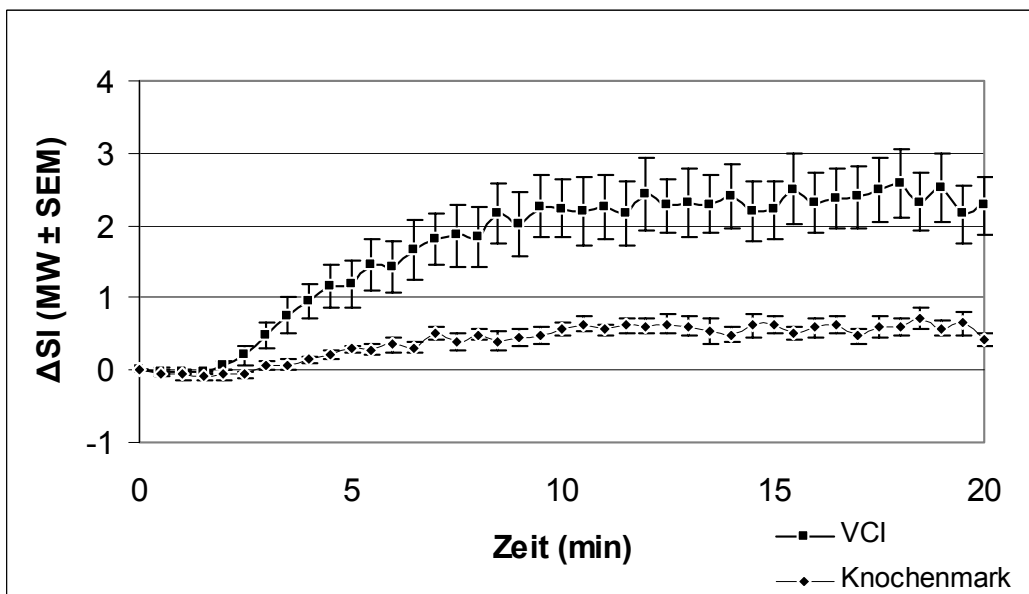


Abbildung 4.5: ΔSI -Werte (MW \pm SEM) der VCI und des Knochenmarks für Gruppe A über die Zeit (min). Es zeigt sich ein steiler Anstieg und darauf folgendes Plateau des Signals der VCI sowie ein flacherer Anstieg des Knochenmarkssignals, ebenfalls gefolgt von einem Plateau.

Für Gruppe B zeigte der Signalverlauf während der kinetischen Untersuchung aufgrund der opposed-phase Situation zwei gegensätzliche Richtungen. Die Hälfte der Patienten zeigte nach Sinerem®-Applikation ein positives, die andere Hälfte der Patienten ein negatives Signalverhalten des Knochenmarks.

Die SNR-Werte des Knochenmarks stiegen bei den Patienten mit positivem Signalverhalten signifikant um etwa 100% ($p < 0,05$) an und fielen bei den Patienten mit negativem Signalverhalten signifikant um ca. 30% ($p < 0,05$) ab. So betrug der Endwert der ΔSI für die ansteigende Hälfte 5,48, für die abfallende Hälfte -2,49 (Abbildung 4.6, Abbildung 4.7).

Das Signal der Wirbelkörper stieg bei denjenigen Patienten an, welche auf nativen T1-gewichteten TSE-Aufnahmen eine gleiche oder verringerte Signalintensität des Knochenmarks im Vergleich zu den Bandscheiben aufwiesen, was auf ein zellreiches Knochenmark hindeutet. Der Signalabfall erfolgte bei Patienten, die, einem konvertierten und fettreichen Knochenmark entsprechend, auf den T1-gewichteten Pre-kontrast-TSE-Aufnahmen im Vergleich zu den Zwischenwirbelkörpern eine erhöhte Signalintensität zeigten.

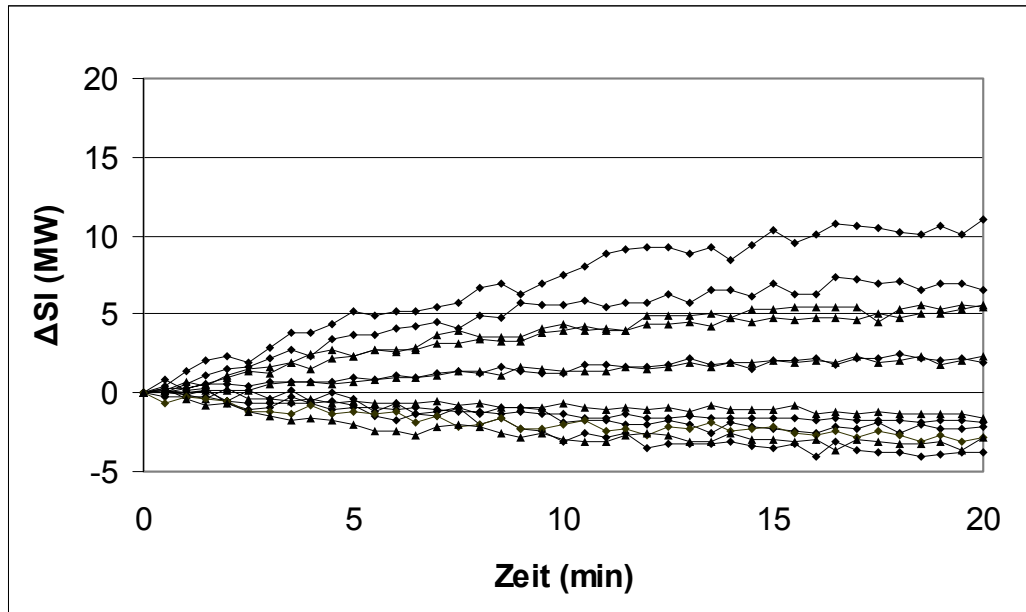


Abbildung 4.6: ΔSI (MW) des Knochenmarks der einzelnen Patienten aus Gruppe B über die Zeit (min).

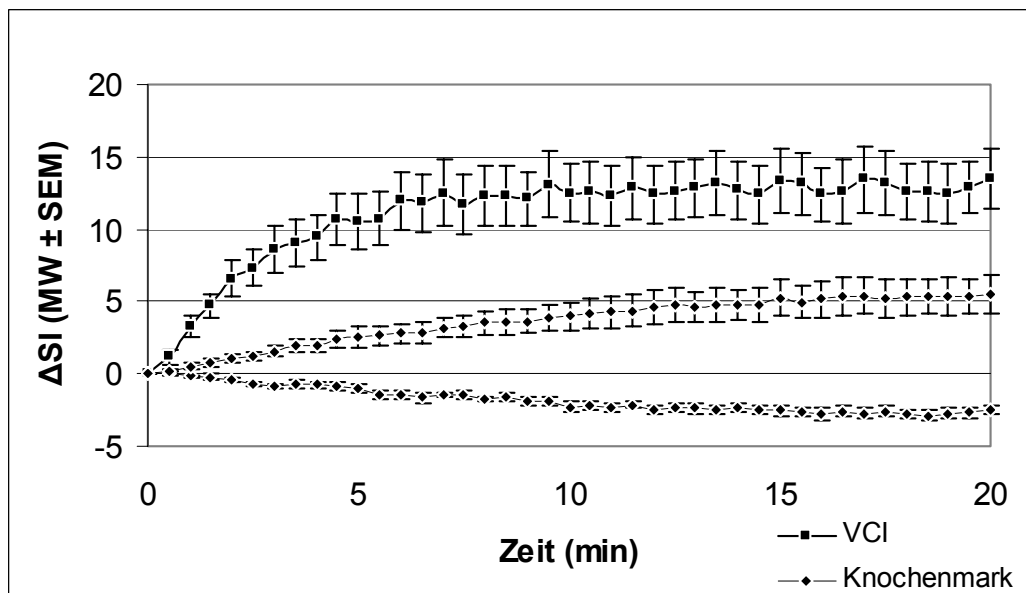


Abbildung 4.7: ΔSI -Werte ($MW \pm SEM$) der VCI und des Knochenmarks für Gruppe B über die Zeit (min). Es findet sich ein steiler Anstieg und ein Plateau im Signalverlauf der VCI sowie die beiden, sich gegenseitig verhaltenden Signalverläufe der Patienten, hinweisend auf zellreiches (ansteigendes Signal) und fettreiches (abfallendes Signal) Knochenmark.

Die Δ SI-Werte des Knochenmarks in Gruppe B (Abbildung 4.7) nahmen nach dem initialen Signalanstieg als Ausdruck einer erhöhten Durchlässigkeit der BKS noch weiter zu bzw. ab. Ebenso stiegen die relativen Δ SI-Werte des Knochenmarks (Abbildung 4.8) nach initialem steilem Signalanstieg weiter an. Die relativen Δ SI-Werte des initialen Anstiegs (bis 6 min p.i.), des weiteren Anstieges von 6 bis 20 min p.i., und die maximale Zunahme der relativen Δ SI-Daten (0–20 min p.i.) waren bei Patienten mit zellreichem Knochenmark signifikant höher als bei Patienten mit fettreichem Knochenmark ($p < 0,05$). Außerdem war der Signalverlust auf Post-contrast-STIR-Aufnahmen, angegeben als Δ SI-Werte, bei Patienten mit ansteigender SI auf dynamischen T1-gewichteten GE-Aufnahmen signifikant stärker ausgeprägt als bei Patienten mit abfallender SI ($-1,58 \pm 0,38$ gegenüber $-0,62 \pm 0,28$), was auf eine größere Anzahl an RES-Zellen im Knochenmark hinweist.

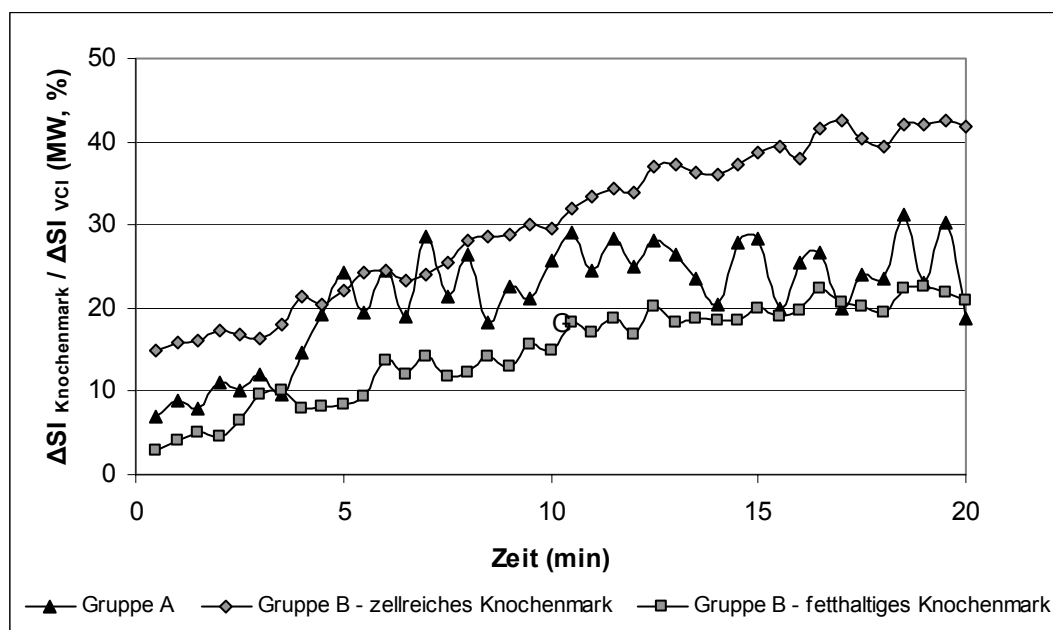


Abbildung 4.8: Relative Δ SI-Werte (MW, %) über die Zeit (min) für Gruppe A und B. Für Gruppe B wurden die Daten der Patienten mit zellreichem bzw. fettreichem Knochenmark getrennt beurteilt. Der initiale Signalanstieg, als Ausdruck der Durchblutung des Knochenmarks, war bei Patienten mit zellreichem Knochenmark deutlich stärker ausgeprägt als bei Patienten mit fettreichem Knochenmark. Nach dem initialen Anstieg erreichte Gruppe A ein Plateau, während bei Gruppe B das Signal weiter steigt, entsprechend einer durch die Mobilisierungstherapie gesteigerten Permeabilität der BKS.

4.1.3 Vergleich von MR-Daten und CD34+ Zellen

Die Stammzellapherese wurde bei Patienten der Gruppe B bei einer Zellzahl von 28 bis 580 CD34+ Zellen pro μl peripheren Vollbluts (MW 261 CD34+ Zellen/ μl Vollblut) durchgeführt, wobei der Wert unmittelbar vor der Zellsammlung bestimmt wurde.

Die Anzahl der mobilisierten CD34+ Zellen pro μl Vollblut bei Patienten mit zellreichem Knochenmark und folglich positivem Signalverhalten in den T1-gewichteten dynamischen Scans (244 ± 82 CD34+ Zellen/ μl) unterschied sich nicht signifikant von der Anzahl mobilisierter CD34+ Zellen pro μl Vollblut bei Patienten mit konvertiertem, fettreichen Knochenmark und abfallender Signalintensität in der kinetischen Analyse (322 ± 80 CD34+Zellen/ μl) ($p > 0,05$).

In der Betrachtung aller Patienten der Gruppe B bestand zwischen den einzelnen Abschnitten der dynamischen Scans und der Anzahl mobilisierter CD34+ Zellen pro μl peripheren Vollblutes eine negative, jedoch nicht signifikante Korrelation. Im Einzelnen sind dies die initiale steile Signalzunahme des Knochenmarks zu Beginn der dynamischen Studie als Ausdruck des Blutvolumens im Knochenmark ($r=0,45$, $p=0,17$), die weitere Zunahme der $\Delta\text{SI}_{\text{Knochenmark}} / \Delta\text{SI}_{\text{Blut}}$ nach dem initialen Anstieg bis zum Ende der dynamischen Studie 20 min p.i. als Ausdruck der Permeabilität der BKS ($r=0,55$, $p=0,08$) und der maximale Signalanstieg des Knochenmarks am Ende der dynamischen Aufnahmen 20 min p.i. ($r=0,58$, $p=0,06$).

4.2 Qualitative Datenanalyse

Ein Patient aus Gruppe B wurde aufgrund schwerer Infarkte im Knochenmark aus der qualitativen Datenanalyse ausgeschlossen. Es wurden somit 22 Patienten in diese Auswertung einbezogen.

Fokale Tumorinfiltrationen des Knochenmarks wurden bei 13 von den insgesamt 22 Patienten auf den nativen und bei 15 Patienten auf den Post-contrast-Aufnahmen nach Sinerem®-Infusion erkannt (Tabelle 4.2). Unter den 15 Patienten mit fokalen Läsionen des Knochenmarks waren alle 9 Patienten aus Gruppe A vor Mobilisierungstherapie und 6 Patienten (50% der Patienten) aus Gruppe B nach Mobilisierungstherapie zum Zeitpunkt der Stammzellapherese.

Bis auf einen Patienten aus Gruppe B mit multiplen Läsionen (>30), wurden alle Infiltrationsherde sowohl auf den Pre- als auch auf den Post-kontrast-Scans ausgezählt. Auf den Pre-kontrast-Bildern wurden insgesamt 88 Läsionen entdeckt, davon 49 Läsionen <1 cm und 39 Läsionen >1 cm Durchmesser. Auf den Aufnahmen nach Sinerem®-Applikation wurden 116 Läsionen gezählt, darunter 76 Läsionen <1 cm und 40 Läsionen >1 cm.

Bei der Beurteilung der subjektiven Erkennbarkeit des Beobachters wurden auf den Pre-kontrast-Aufnahmen 12 Läsionen mit „1“ (schlecht erkennbar), 34 mit „2“ (gut erkennbar) und 41 mit „3“ (sehr gut erkennbar) bewertet. Von den Läsionen nach Kontrastmittel-Applikation erhielten 13 Läsionen die Wertung „1“, 29 Läsionen die Wertung „2“ und 74 Läsionen die Wertung „3“.

Insgesamt war die Erkennbarkeit der fokalen Infiltrationsherde auf Sinerem®-verstärkten Aufnahmen im Vergleich zu den Pre-kontrast-Aufnahmen signifikant besser ($p=0,002$, Abbildung 4.9). Auf den Post-kontrast-Bildern konnten signifikant mehr Läsionen <1 cm erkannt werden ($p=0,006$), während für die Läsionen >1 cm Durchmesser keine Signifikanz gefunden wurde ($p<0,8$). Nach Sinerem®-Infusion war die subjektive Erkennbarkeit der Läsionen besser als ohne Kontrastmittel, und es erhielten signifikant mehr Läsionen die Wertung „3“ (sehr gut erkennbar, $p<0,05$).

| Patienten | Pre-kontrast | Post-kontrast | Signifikanz |
|-----------------------------------|--------------|---------------|-------------|
| Anzahl der Patienten mit Läsionen | 13 | 15 | |
| Läsionen insgesamt | 88 | 116 | $p=0,002$ |
| Läsionen <1 cm | 49 | 76 | $p=0,006$ |
| Läsionen >1cm | 39 | 40 | |

| Subjektive Erkennbarkeit der Läsionen | | | |
|---------------------------------------|----|----|----------|
| 1 (schlecht erkennbar) | 12 | 13 | |
| 2 (gut erkennbar) | 34 | 29 | |
| 3 (sehr gut erkennbar) | 41 | 74 | $p=0,05$ |

Tabelle 4.2: Ergebnisse der qualitativen Datenauswertung der Knochenmarksläsionen. Es wurden vor Sinerem®-Applikation bei 13, nach Sinerem®-Applikation bei 15 Patienten Läsionen diagnostiziert.

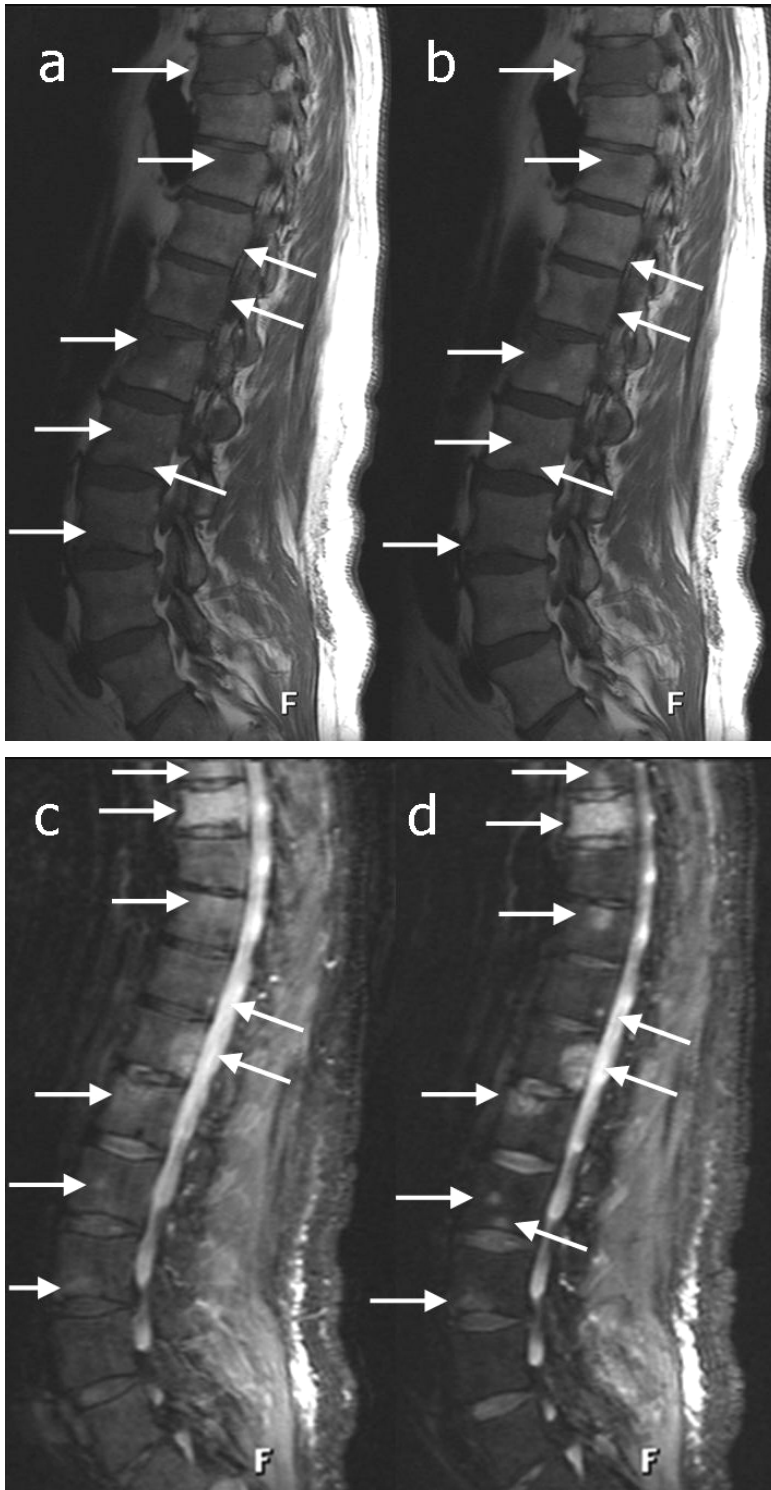


Abbildung 4.9: MRT-Aufnahmen der unteren thorakalen und lumbalen Wirbelsäule einer 42-jährigen Frau mit multiplen fokalen Tumorinfiltrationen (Pfeile). Bild (a) und (b) zeigen die sagittale T1-gewichtete FSE-Sequenz (600/12 ms TR/TE) vor (a) bzw. nach (b) Sinerem®-Applikation; Bild (c) und (d) zeigen die sagittale STIR-Sequenz (5420/29 ms TR/TE) vor (c) und nach (d) Sinerem®-Applikation. Die starke Signalabnahme des Knochenmarks nach Sinerem®-Infusion auf STIR-Aufnahmen führte zu einer wesentlich besseren Abgrenzung von fokalen neoplastischen Läsionen (Pfeile). Außerdem war die kleine (<1 cm) neoplastische Läsion am Boden des 2. LWK auf dem Pre-kontrast-STIR-Bild nicht sichtbar.

5 Diskussion

Die in dieser Studie ermittelten Daten zeigen, dass die Sinerem®-verstärkte MRT dazu geeignet ist, Veränderungen des Knochenmarks, welche durch Mobilisierungstherapie induziert wurden, zu erfassen und die Erkennbarkeit fokaler neoplastischer Infiltrationen des Knochenmarks zu verbessern.

Die Ergebnisse unserer klinischen Studie legen dar, dass es nach einer Mobilisierungstherapie gegenüber nicht behandeltem Knochenmark zu einer gesteigerten Akkumulation von Sinerem® im Knochenmark kommt. Diese verstärkte Anreicherung des Kontrastmittels nach Mobilisierungstherapie könnte durch eine erhöhte Durchlässigkeit der BKS für USPIO-Partikel aufgrund von Veränderungen des Sinusendothels verursacht sein. Durch das Zytostatikum Cyclophosphamid induzierte Veränderungen des Sinusendothels wurden in einer Studie von Shirota et al. (1991) beschrieben. Es bildeten sich zunächst Verschorfung und Blasen des Endothels; daraufhin kam es zu einer Verkleinerung der Endotheloberfläche bis hin zum Verlust der Membranstabilität und damit zum Funktionsverlust der BKS. Ein weiterer Befund war eine gesteigerte Phagozytoseaktivität der Makrophagen im Knochenmarksinterstitium [59]. Ein ähnliches Verhalten des Sinusendothels wird durch die Bestrahlung der Wirbelsäule erzeugt [13, 60]. Nach Bestrahlung konnte durch die MRT eine deutlich gesteigerte Aufnahme eines makromolekularen Kontrastmittels (CMD-Gd-DOTA) im Knochenmark festgestellt werden, welches eine nicht bestrahlte, gesunde BKS praktisch nicht überschreiten kann [13].

Ein direkter Zusammenhang zwischen der Akkumulation von Sinerem®-Partikeln und der Permeabilität der BKS wurde in einer experimentellen Studie an Kaninchen nachgewiesen. In dieser Studie wurde eine gesteigerte Aufnahme von Sinerem® in das Knochenmark nach Bestrahlung gemessen, welche - elektronenmikroskopisch bestätigt - mit den Veränderungen der BKS direkt korrelierte [15].

In unserer Studie wurde eine Sinerem®-Anreicherung im hämatopoetischen Knochenmark beobachtet. Diese führte auf USPIO-verstärkten STIR-Aufnahmen zu einer deutlicheren Abgrenzung der fokalen Knochenmarksläsionen, welche das RES-spezifische Kontrastmittel nicht anreicherten. Dies stimmt überein mit früheren Berichten über einen verbesserten Kontrast zwischen Sinerem®-verstärktem, normalem Knochenmark und fokalen Läsionen des Knochenmarks [14, 55, 71]. Die USPIO-Partikel

werden phagozytiert und von Makrophagen des RES gespeichert, die Teil des normalen hämatopoetischen Knochenmarks sind. USPIO akkumulieren daher nicht in fokalen Tumordinfiltrationen, da diese keine Makrophagen enthalten [14, 55]. Folglich verursacht die Verwendung von Sinerem® als MRT-Kontrastmittel einen stärkeren Kontrast zwischen gesundem Knochenmark, das sich nun signalärmer darstellt, und fokalen Tumordinfiltraten, welche ein konstant helles Signal auf T2-gewichteten Aufnahmen zeigen.

Die beschriebenen Eigenschaften des MRT-Kontrastmittels Sinerem®, nämlich das Überschreiten von hyperpermeablem Gefäßendothel und die nachfolgende Phagozytose durch Makrophagen, verlaufen in einer bestimmten zeitlichen Abfolge und mit unterschiedlichen MRT-Charakteristika.

Während der frühen Phase der Perfusion wird die Eisenanreicherung im Knochenmarksinterstitium von der Durchlässigkeit der BKS bestimmt. Die im Knochenmarksinterstitium stattfindende Phagozytose ist ein langsamer Prozess, der erst Stunden nach Eisenoxid-Applikation vollständig abgeschlossen ist [9, 26, 77]. Das T1-Enhancement, das auf den dynamischen Scans während und nach der Sinerem®-Verabreichung beobachtet wurde, ist auf das Vorliegen von nicht-kompartimentalisierten Eisenoxid-Partikeln und freies, ungebundenes Wasser zurück zu führen. Eine Studie über das Signalverhalten von Lymphknoten nach Sinerem®-Infusion schildert, dass das T1-Verhalten der USPIO nicht-kompartimentalisierte Eisenoxid-Partikel benötigt, die mit freien Wasserprotonen reagieren [26].

Mit zunehmender Dauer nach Sinerem®-Infusion akkumulieren die USPIO-Partikel im Knochenmarksinterstitium und werden nach und nach von den RES-Zellen phagozytiert. Innerhalb dieser Zellen kompartimentalisieren die Eisenoxid-Partikel und sammeln sich in sekundären Lysosomen, was die Interaktion der Partikel mit Wasserprotonen einschränkt, den T1-Effekt verringert und den Suszeptibilitätseffekt der Partikel erhöht [10, 47].

Folglich wurden die Beobachtungen unserer Studie zu Beginn der dynamischen Scans von der vaskulären Verteilung und endothelialen Permeabilität der extrazellulären Eisenoxid-Partikel dominiert, während die Beobachtungen auf den Post-kontrast-Aufnahmen von den intrazellulären, phagozytierten Eisenoxiden beeinflusst wurden.

Unsere Studie lässt einige Schlussfolgerungen für potentielle klinische Anwendungsmöglichkeiten zu. Die Verwendung von makromolekularen MRT-Kontrastmitteln, wie es Sinerem® ist, ermöglicht eine nicht-invasive Beurteilung der Permeabilität der BKS [8, 56]. Dies könnte für die Überwachung einer Therapie nützlich sein und eine frühe Einschätzung des Effektes einer Bestrahlung oder Chemotherapie auf das Knochenmark zulassen. Durch unsere Daten aus der Sinerem®-unterstützten MRT war es uns ferner möglich, Perfusionsveränderungen im Bereich der BKS durch die Mobilisierungstherapie zu diagnostizieren. Wir gingen von der Theorie aus, dass eine erhöhte Durchlässigkeit der BKS die Mobilisierung der CD34+ Zellen erleichtert, und dass wir folglich in der Lage sein würden die Ausbeute an CD34+ Zellen in der Stammzellapherese durch die Untersuchung mit Sinerem®-verstärkter MRT vorauszusagen. Jedoch konnten wir zwischen unseren MRT-Parametern, welche direkt oder indirekt mit dem Blutvolumen des Knochenmarks oder der Permeabilität der BKS assoziiert sind, und der Menge mobilisierter CD34+ Zellen keinen Zusammenhang feststellen. Die dynamische Sinerem®-verstärkte MRT des Knochenmarks vor Stammzellapherese scheint für die hier beurteilte Patientenpopulation im klinischen Alltag nicht von entscheidendem Vorteil zu sein.

Andererseits konnte durch die Verwendung von Sinerem® als MRT-Kontrastmittel eine verbesserte Darstellung von fokalen Knochenmarksläsionen auf den Aufnahmen nach Kontrastmittelapplikation belegt werden. Sogar für unsere kleine Patientengruppe vor Stammzellapherese für nachfolgende autologe PBSZT fanden wir bei 6 von 12 Patienten (50%) fokale Knochenmarksläsionen. Eine Infiltration des Knochenmarks vor Stammzellapherese bedeutet eine mögliche Verunreinigung des Apherisats durch Tumorzellen und sollte deshalb bekannt sein. Weitere Studien müssen zeigen, ob Patienten mit fokalen Knochenmarksläsionen vor Stammzellapherese nach der erfolgten PBSZT eine schlechtere Prognose haben als Patienten ohne fokale Läsionen.

Da keine Biopsien der einzelnen, in der qualitativen Datenauswertung als malignitätsverdächtig beurteilten Läsionen mit histologischer und zytologischer Aufarbeitung des Materials erfolgten, konnte kein direkter histologischer Nachweis für die Infiltration des Knochenmarks durch das NHL erbracht werden. Nichts desto trotz kann von einem malignen Charakter der Läsionen ausgegangen werden, da durch die gewählten Pulssequenzen die Mehrzahl anderer fokaler Läsionen wie z.B. Hämangiome

auszuschließen waren und sich die bewerteten Läsionen auch nach Sinerem®-Applikation wie Metastasen präsentierten, d.h. kein Kontrastmittel anreicherten, sondern sich sogar mit mehr Kontrast vom speichernden Gewebe abhoben. Außerdem wurden früher durchgeführte Biopsien, andere bildgebende Verfahren (MRT, CT, konventionelle Röntgenaufnahmen, u.a.) und Follow-up Untersuchungen zur Beurteilung der Pathologie dieser Läsionen herangezogen, welche bis spätestens ein Jahr nach der Beendigung der Studie durchgeführt wurden.

Die beiden Patientengruppen wurden an zwei unterschiedlichen MRT-Scannern untersucht, weshalb die SNR- und ΔSI -Daten nicht direkt vergleichbar waren. Für beide Gruppen wurde auf den STIR-Aufnahmen eine Abnahme des Knochenmarkssignals nach Sinerem®-Verabreichung beobachtet. Jedoch war die TR der STIR-Sequenz in Gruppe B (1150 ms) deutlich kürzer als in Gruppe A (5420 ms), was zu einem niedrigeren Signal von Geweben mit langer T1-Relaxationszeit führt und dadurch zu einem geringeren Eisenoxid-induzierten Signalabfall. Deshalb empfehlen wir für eine zukünftige klinische Anwendung die Wahl einer längeren Repetitionszeit.

Die dynamischen Scans zeigten, dass in Gruppe B nach Mobilisierungstherapie eine stärkere Eisenoxid-Akkumulation im Knochenmark zu finden war als in der nicht behandelten Gruppe A. Die genaue Differenz der Eisenanreicherung kann allerdings mit unseren Daten nicht angegeben werden, da für beide Gruppen unterschiedliche Pulssequenzen verwendet wurden. Die dynamische Studie wurde mit der Absicht durchgeführt, eine Einschätzung der Permeabilität der BKS zu ermöglichen und die Daten der Permeabilitätsuntersuchung von Gruppe B mit der Anzahl an CD34+ Zellen zu korrelieren. Die TE wurde so gering wie möglich gewählt, um störende T2/T2*-Effekte auf den T1-gewichteten dynamischen Aufnahmen zu minimieren. Für Gruppe B verwendeten wir daher eine opposed-phase Sequenz, auch um die fettreichen Wirbelkörper von den Wirbelkörpern mit höherem Wassergehalt (Zellgehalt) weiter zu differenzieren und um diese Daten mit der Anzahl CD34+ Zellen zu korrelieren.

Der durch Sinerem® verursachte T1-Effekt wird lediglich durch Veränderungen des Wasseranteils verursacht, während der Magnetisierungsvektor von Fett konstant bleibt. Das bedeutet, dass die Signalintensität abhängig vom Fettgehalt des Wirbelkörpers nach Sinerem®-Applikation entweder ansteigt, was einem hohem Zellanteil und niedrigem

Fettgehalt entspricht, oder abfällt, was bei Wirbelkörpern mit hohem Fettanteil des Knochenmarks der Fall ist. Trotzdem korreliert die Permeabilität der BKS auf den dynamischen Scans für beide Gruppen, unabhängig davon ob in-phase (Gruppe A) oder opposed-phase (Gruppe B) aufgenommen, mit dem Ausmaß an Eisenoxid-Akkumulation innerhalb des Knochenmarks über die Zeit und kann am Anstieg der Kurve für dynamische ΔSI -Daten des Knochenmarks abgeschätzt werden. Des Weiteren war bei Patienten mit sehr zellreichem Knochenmark ein signifikant stärkerer T1-Perfusionseffekt erkennbar als für Patienten mit fettreichem Knochenmark. Der geringere T1-Effekt der Patienten mit fettreichem Knochenmark könnte durch das geringere Blutvolumen in den Wirbelkörpern mit höherem Fettanteil bedingt sein, was zu einer geringeren Perfusion mit Sinerem® führt, und durch die geringere Menge an zellassozierten Wasserprotonen, die für den T1-Effekt verantwortlich sind.

Zudem zeigen unsere Daten, dass Patienten mit fettreichem Knochenmark sogar nicht signifikant mehr CD34+ Zellen mobilisierten als Patienten mit zellreichem Knochenmark. Eine mögliche Erklärung könnte die Beobachtung aus einer Studie von Islam et al. [34] sein, die eine gesteigerte Proliferation von hämatopoetischen Stammzellen in der Umgebung von Ansammlungen univakuolärer Fettzellen fanden. Dies ist ein Hinweis auf die Notwendigkeit eines intakten Stromas und der umgebenden Fettzellen für Funktion und Proliferation der hämatopoetischen Stammzellen. Zukünftige Studien könnten den genauen Wasser- und Fettgehalt des Knochenmarks quantifizieren und diese exakteren Daten mit der Anzahl mobilisierter CD34+ Stammzellen korrelieren.

Zum Schluss ist festzustellen, dass es uns mit Hilfe der Sinerem®-verstärkten MRT, einer nicht-invasiven in vivo Bildgebung, in unserer Studie möglich war, funktionelle Informationen über die Pathophysiologie des Knochenmarks zu erhalten.

Die von den MRT-Daten abgeleitete Permeabilität der BKS war im behandelten Knochenmark höher als im nicht behandelten Knochenmark. Die Einschätzung der Durchlässigkeit der BKS ließ zwar keine direkte Voraussage über die Anzahl der mobilisierten CD34+ Zellen zu. Eine höhere diagnostische Aussagekraft der Ganzkörper-MRT gegenüber Biopsie, Knochen- und ^{67}Ga -Szintigraphie zum Nachweis einer fokalen Knochenmarksbeteiligung bei Patienten mit NHL wurde bereits beschrieben [33].

Durch das MRT-Kontrastmittel Sinerem® konnte in unserer Studie die Darstellung und Abgrenzung fokaler Knochenmarksläsionen gegenüber den nativen, nicht-verstärkten

MRT-Aufnahmen verbessert werden. Diese Beobachtung ermutigt zu weiterführenden Studien an größeren Patientengruppen und anderen Tumorarten sowie zu nachfolgenden Korrelationsanalysen zwischen der Existenz und Menge an Knochenmarksläsionen, bestimmt durch Sinerem®-verstärkte MRT, und dem Langzeitüberleben der Patienten.

5.1 Schlusswort

Die vorliegende Studie soll neue Einsatzmöglichkeiten des USPIO Sinerem® als Kontrastmittel in der MRT für Patienten mit malignen Erkrankungen evaluieren.

Bei der Suche und Darstellung fokaler Knochenmarksinfiltration kann die Sinerem®-verstärkte MRT als Ergänzung zur Knochenmarksbiopsie eine umfassendere Beurteilung des Krankheitsstadiums ermöglichen. Insbesondere gilt dies für kleine, fokale Läsionen des Knochenmarks, die nicht im Bereich der Biopsieregionen lokalisiert sind und die durch andere bildgebende Methoden nicht darstellbar sind. In Bezug auf die Mobilisierung von Stammzellen durch Mobilisierungstherapie werden weiterführende Studien nötig sein, um neue Methoden oder Einflussfaktoren zu definieren, die eine Prognose der Ausbeute an CD34+ Zellen eines Patienten zulassen. Die Bestimmung der Permeabilität der BKS durch Sinerem®-verstärkte MRT ist ein viel versprechendes Verfahren, das weitere klinische Anwendung in nachfolgenden Studien an größeren Patientenpopulationen finden könnte.

Auch wenn die MRT heute noch eine zeitaufwändige Untersuchungsmethode ist, so steigt ihr Stellenwert in der Diagnostik maligner Erkrankungen weiter an. Dies ist zum einen dem technischen Fortschritt der Geräte und den neu entwickelten, schnelleren Pulssequenzen zu verdanken. Zum anderen wurden in den vergangenen Jahren neue MRT-Kontrastmittel entwickelt, u.a. das USPIO Sinerem®, welche eine spezifische Darstellung von Organen, Geweben und Pathologien in guter Qualität mit hoher Sensitivität und Spezifität ermöglichen. Wird Sinerem® in naher Zukunft auf dem europäischen Markt zugelassen, so werden Studien mit größeren Fallzahlen möglich sein, eventuell mit einigen in dieser Arbeit genannten weiterführenden Zielsetzungen, neuen Einsatzbereichen oder gänzlich anderen Fragestellungen, um die Wertigkeit der USPIO-verstärkten MRT in der Diagnostik maligner Erkrankungen zu bestätigen.

6 Zusammenfassung

Wertigkeit Sinerem®-verstärkter Magnetresonanztomographie des Knochenmarks bei Patienten mit Non-Hodgkin Lymphomen vor und nach Mobilisierungstherapie

Ziel: Ziel der Studie war die Evaluierung der diagnostischen Aussagekraft des superparamagnetischen Kontrastmittels Sinerem® in der MRT des Knochenmarks zur Quantifizierung von Permeabilitätsveränderungen der Blut-Knochenmark-Schranke (BKS) und Darstellung maligner Knochenmarksinfiltration bei Patienten mit malignen NHL vor und nach Mobilisierungstherapie.

Material und Methoden: 22 Patienten mit NHL (9 Patienten vor und 13 Patienten nach Mobilisierungstherapie) erhielten eine MRT der Wirbelsäule mit dynamischen T1-GE-, sowie statischen T1-SE- und STIR-Sequenzen vor, während und nach Sinerem®-Applikation. Daten der dynamischen Scans wurden mit der Menge mobilisierter CD34+ Zellen korreliert und die Anzahl fokaler Knochenmarksläsionen vor und nach Sinerem®-Gabe verglichen.

Ergebnisse: Sinerem®-verstärkte MRT konnte die Permeabilitätszunahme der BKS durch Mobilisierungstherapie erfassen, welche jedoch nicht mit der Anzahl an CD34+ Zellen korrelierte. Sinerem® verbesserte die Erkennbarkeit fokaler Knochenmarksinfiltrationen signifikant ($p < 0,05$).

7 Anhang

7.1 Literaturverzeichnis

1. Amgen, "www.neupogen.com/pi.html"; "Neupogen®, Filgrastim - Product Information" (Stand 29.07.2006). 2004, Amgen Inc., California, USA.
2. Andrews RG, Singer JW, Bernstein ID, "Monoclonal antibody 12-8 recognizes a 115-kd molecule present on both unipotent and multipotent hematopoietic colony-forming cells and their precursors". *Blood*, 1986. 67(3): 842-5.
3. Armitage JO, "A clinical evaluation of the International Lymphoma Study Group classification of non-Hodgkin's lymphoma. The Non-Hodgkin's Lymphoma Classification Project". *Blood*, 1997. 89(11): 3909-18.
4. Berenson RJ, Andrews RG, Bensinger WI, Kalamasz D, Knitter G, Buckner CD, Bernstein ID, "Antigen CD34+ marrow cells engraft lethally irradiated baboons". *J Clin Invest*, 1988. 81(3): 951-5.
5. Berenson RJ, Bensinger WI, Hill RS, Andrews RG, Garcia-Lopez J, Kalamasz DF, Still BJ, Spitzer G, Buckner CD, Bernstein ID, et al., "Engraftment after infusion of CD34+ marrow cells in patients with breast cancer or neuroblastoma". *Blood*, 1991. 77(8): 1717-22.
6. Beyer J, Schwella N, Zingsem J, Strohscheer I, Schwaner I, Oettle H, Serke S, Huhn D, Stieger W, "Hematopoietic rescue after high-dose chemotherapy using autologous peripheral-blood progenitor cells or bone marrow: a randomized comparison". *J Clin Oncol*, 1995. 13(6): 1328-35.
7. Binet JL, Auquier A, Dighiero G, Chastang C, Piguët H, Goasguen J, Vaugier G, Potron G, Colona P, Oberling F, Thomas M, Tchernia G, Jacquillat C, Boivin P, Lesty C, Duault MT, Monconduit M, Belabbes S, Gremy F, "A new prognostic classification of chronic lymphocytic leukemia derived from a multivariate survival analysis". *Cancer*, 1981. 48(1): 198-206.
8. Brasch RC, Shames DM, Cohen FM, Kuwatsuru R, Neuder M, Mann JS, Vexler V, Muhler A, Rosenau W, "Quantification of capillary permeability to macromolecular magnetic resonance imaging contrast media in experimental mammary adenocarcinomas". *Invest Radiol*, 1994. 29 Suppl 2: S8-11.
9. Brillet PY, Gazeau F, Luciani A, Bessoud B, Cuenod CA, Siauve N, Pons JN, Poupon J, Clement O, "Evaluation of tumoral enhancement by superparamagnetic

- iron oxide particles: comparative studies with ferumoxtran and anionic iron oxide nanoparticles". *Eur Radiol*, 2005. 15(7): 1369-77.
10. Chambon C, Clement O, Le Blanche A, Schouman-Claeys E, Fria G, "Superparamagnetic iron oxides as positive MR contrast agents: in vitro and in vivo evidence". *Magn Reson Imaging*, 1993. 11(4): 509-19.
 11. Chang A, Ganz P, Hayes D, Kinsella T, Pass H, Schiller J, Stone R, Strecher V, "Oncology - An Evidence-Based Approach." New York: Springer & Business Media, Inc. USA 2006: p. 1247-1268.
 12. Coffey J, Hodgson DC, Gospodarowicz MK, "Therapy of non-Hodgkin's lymphoma". *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 2003. 30(Suppl. 1): S28-36.
 13. Daldrup-Link HE, Link TM, Rummeny EJ, August C, Könemann S, Jürgens H, Heindel W, "Assessing permeability alterations of the blood-bone marrow barrier due to total body irradiation: in vivo quantification with contrast enhanced magnetic resonance imaging." *Bone Marrow Transplantation*, 2000. 25: 71-78.
 14. Daldrup-Link HE, Rummeny EJ, Ihssen B, Kienast J, Link TM, "Iron-oxide-enhanced MR imaging of bone marrow in patients with non-Hodgkin's lymphoma: differentiation between tumor infiltration and hypercellular bone marrow". *Eur Radiol*, 2002. 12(6): 1557-66.
 15. Daldrup HE, Link TM, Blasius S, Strozyk A, Konemann S, Jurgens H, Rummeny EJ, "Monitoring radiation-induced changes in bone marrow histopathology with ultra-small superparamagnetic iron oxide (USPIO)-enhanced MRI". *J Magn Reson Imaging*, 1999. 9(5): 643-52.
 16. Detlev D, Wolfgang Z, "Benninghoff Anatomie, Band 1". Urban & Schwarzenberg, 1994.
 17. Duhrsen U, Villeval JL, Boyd J, Kannourakis G, Morstyn G, Metcalf D, "Effects of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor on hematopoietic progenitor cells in cancer patients". *Blood*, 1988. 72(6): 2074-81.
 18. Durie BG, Salmon SE, "A clinical staging system for multiple myeloma. Correlation of measured myeloma cell mass with presenting clinical features, response to treatment, and survival". *Cancer*, 1975. 36(3): 842-54.
 19. Fauci AS, Braunwald E, Isselbacher K, Wilson JD, Martin JB, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, "Harrison´s Principles of Internal Medicine". 14. Auflage 1998. New York: McGraw-Hill Companies, Inc. 1998: 700-730.

20. Frank H, Weissleder R, Brady TJ, "Enhancement of MR angiography with iron oxide: preliminary studies in whole-blood phantom and in animals". *AJR Am J Roentgenol*, 1994. 162(1): 209-13.
21. Fu P, Bagai RK, Meyerson H, Kane D, Fox RM, Creger RJ, Cooper BW, Gerson SL, Laughlin MJ, Koc ON, Lazarus HM, "Pre-mobilization therapy blood CD34(+) cell count predicts the likelihood of successful hematopoietic stem cell mobilization". *Bone Marrow Transplant*, 2006. 38(3): 189-96.
22. Gabrilove JL, Jakubowski A, Scher H, Sternberg C, Wong G, Grous J, Yagoda A, Fain K, Moore MA, Clarkson B, et al., "Effect of granulocyte colony-stimulating factor on neutropenia and associated morbidity due to chemotherapy for transitional-cell carcinoma of the urothelium". *N Engl J Med*, 1988. 318(22): 1414-22.
23. Gerard EL, Ferry JA, Amrein PC, Harmon DC, McKinstry RC, Hoppel BE, Rosen BR, "Compositional changes in vertebral bone marrow during treatment for acute leukemia: assessment with quantitative chemical shift imaging". *Radiology*, 1992. 183(1): 39-46.
24. Groopman JE, Molina JM, Scadden DT, "Hematopoietic growth factors. Biology and clinical applications". *N Engl J Med*, 1989. 321(21): 1449-59.
25. Guerbet, "Investigator`s Brochure - Sinerem®". 2005(Version n° 09).
26. Guimaraes R, Clement O, Bittoun J, Carnot F, Frija G, "MR lymphography with superparamagnetic iron nanoparticles in rats: pathologic basis for contrast enhancement". *AJR Am J Roentgenol*, 1994. 162(1): 201-7.
27. Haas R, Mohle R, Fruhauf S, Goldschmidt H, Witt B, Flentje M, Wannenmacher M, Hunstein W, "Patient characteristics associated with successful mobilizing and autografting of peripheral blood progenitor cells in malignant lymphoma". *Blood*, 1994. 83(12): 3787-94.
28. Harausseau JL, Attal M, Milpied N, Marit G, "Comparison of autologous bone marrow transplantation and peripheral blood stem cell transplantation after first remission induction treatment in multiple myeloma." *Bone Marrow Transplantation*, 1995. 15: 963-969.
29. Harris NL, Jaffe ES, Stein Hea, "A revised European-American classification of lymphoid neoplasmas: a proposal from the International Lymphoma Study Group." *Blood*, 1994. 84(5): 1361-1392.

30. Hartsock RJ, Smith EB, Petty CS, "Normal Variations with Aging of the Amount of Hematopoietic Tissue in Bone Marrow from the Anterior Iliac Crest. a Study Made from 177 Cases of Sudden Death Examined by Necropsy". *Am J Clin Pathol*, 1965. 43: 326-31.
31. Herold G, "Innere Medizin 2006": Herausgeber Gerd Herold 2006: 23, 63-66.
32. Hudson G, Yoffey JM, "Ultrastructure of reticuloendothelial elements in guinea-pig bone marrow". *J Anat*, 1968. 103(Pt 3): 515-25.
33. Iizuka-Mikami M, Nagai K, Yoshida K, Sugihara T, Suetsugu Y, Mikami M, Tamada T, Imai S, Kajihara Y, Fukunaga M, "Detection of bone marrow and extramedullary involvement in patients with non-Hodgkin's lymphoma by whole-body MRI: comparison with bone and ⁶⁷Ga scintigraphies". *Eur Radiol*, 2004. 14(6): 1074-81.
34. Islam A, Catovsky D, Galton DA, "Histological study of bone marrow regeneration following chemotherapy for acute myeloid leukaemia and chronic granulocytic leukaemia in blast transformation". *Br J Haematol*, 1980. 45(4): 535-40.
35. Jacobsen E, Freedman A, "B-cell purging in autologous stem-cell transplantation for non-Hodgkin lymphoma". *Lancet Oncol*, 2004. 5(12): 711-7.
36. Jaffe ES, Harris NL, Diebold J, Müller-Hermelink HK, "World Health Organization Classification of lymphomas: A work in progress." *Annals of Oncology*, 1998. 9(Suppl. 5): 25-30.
37. Jung CW, "Surface properties of superparamagnetic iron oxide MR contrast agents: ferumoxides, ferumoxtran, ferumoxsil". *Magn Reson Imaging*, 1995. 13(5): 675-91.
38. Kanz L, "[High dose therapy and stem cell transplantation. A new path in tumor therapy]". *Internist (Berl)*, 1997. 38(11): 1045-9.
39. Kompetenznetz-maligne-Lymphome, "www.lymphome.de", Information über Non-Hodgkin-Lymphome, "Kompetenznetz maligne Lymphome" (Stand 31.07.2006). 2005.
40. Kricun ME, "Red-yellow marrow conversion: its effect on the location of some solitary bone lesions". *Skeletal Radiol*, 1985. 14(1): 10-9.
41. Layer G, Sander W, Traber F, Block W, Ko Y, Ziske CG, König R, Vahlensieck M, Schild HH, "[The diagnostic problems in magnetic resonance tomography of the bone marrow in patients with malignomas under G-CSF therapy]". *Radiologe*, 2000. 40(8): 710-5.

42. Lieschke GJ, Burgess AW, "Granulocyte colony-stimulating factor and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (1)". *N Engl J Med*, 1992. 327(1): 28-35.
43. Lindemann A, Herrmann F, Oster W, Haffner G, Meyenburg W, Souza LM, Mertelsmann R, "Hematologic effects of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor in patients with malignancy". *Blood*, 1989. 74(8): 2644-51.
44. Linß W, Fanghänel J, "Histologie - Zytologie, Allgemeine Histologie, Mikroskopische Anatomie". 1. Auflage 1999. Berlin, New York: Walter de Gruyter 1999: 113.
45. Lister TA, Crowther D, Sutcliffe SB, Glatstein E, Canellos GP, Young RC, Rosenberg SA, Coltman CA, Tubiana M, "Report of a committee convened to discuss the evaluation and staging of patients with Hodgkin's disease: Cotswolds meeting". *J Clin Oncol*, 1989. 7(11): 1630-6.
46. Machann J, Pereira PL, Einsele H, Kanz L, Claussen CD, Schick F, "[The MR characterization of the composition of the hematopoietic bone marrow. The findings in generalized neoplasms and the monitoring of therapy]". *Radiologe*, 2000. 40(8): 700-9.
47. Metz S, Bonaterra G, Rudelius M, Settles M, Rummeny EJ, Daldrop-Link HE, "Capacity of human monocytes to phagocytose approved iron oxide MR contrast agents in vitro". *Eur Radiol*, 2004. 14(10): 1851-8.
48. Moore SG, Dawson KL, "Red and yellow marrow in the femur: age-related changes in appearance at MR imaging". *Radiology*, 1990. 175(1): 219-23.
49. Multani P, White CA, Grillo-Lopez A, "Non-Hodgkin's lymphoma: review of conventional treatments". *Curr Pharm Biotechnol*, 2001. 2(4): 279-91.
50. Nitz WR, Reimer P, "Contrast mechanisms in MR imaging." *Categorical Course ECR 2000*, 2000.
51. Philip T, Guglielmi C, Hagenbeek A, et al., "Autologous bone marrow transplantation as compared with salvage chemotherapy in relapses of chemotherapy-sensitive non-Hodgkin's lymphoma." *N Engl J Med*, 1995. 333(23): 1540-1545.
52. Reimer P, Vosschenrich R, "[Contrast agents in MRT. Substance, effects, pharmacology and validity]". *Radiologe*, 2004. 44(3): 273-83.
53. Reiser M, Semmler W, "Magnetresonanztomographie". 3. Auflage 2002. Berlin, Heidelberg, New York: Springer-Verlag 2002: 4-33, 41-73, 111-131, 453-457.

54. Ricci C, Cova M, Kang YS, Yang A, Rahmouni A, Scott WW, Jr., Zerhouni EA, "Normal age-related patterns of cellular and fatty bone marrow distribution in the axial skeleton: MR imaging study". *Radiology*, 1990. 177(1): 83-8.
55. Seneterre E, Weissleder R, Jaramillo D, Reimer P, Lee AS, Brady TJ, Wittenberg J, "Bone marrow: ultrasmall superparamagnetic iron oxide for MR imaging". *Radiology*, 1991. 179(2): 529-33.
56. Shames DM, Kuwatsuru R, Vexler V, Muhler A, Brasch RC, "Measurement of capillary permeability to macromolecules by dynamic magnetic resonance imaging: a quantitative noninvasive technique". *Magn Reson Med*, 1993. 29(5): 616-22.
57. Sheridan WP, Begley CG, Juttner CA, Szer J, To LB, Maher D, McGrath KM, Morstyn G, Fox RM, "Effect of peripheral-blood progenitor cells mobilised by filgrastim (G-CSF) on platelet recovery after high-dose chemotherapy". *Lancet*, 1992. 339(8794): 640-4.
58. Shipp MA, "A predictive model for aggressive non-Hodgkin's lymphoma. The International Non-Hodgkin's Lymphoma Prognostic Factors Project". *N Engl J Med*, 1993. 329(14): 987-94.
59. Shirota T, Tavassoli M, "Cyclophosphamide-induced alterations of bone marrow endothelium: implications in homing of marrow cells after transplantation". *Exp Hematol*, 1991. 19(5): 369-73.
60. Shirota T, Tavassoli M, "Alterations of bone marrow sinus endothelium induced by ionizing irradiation: implications in the homing of intravenously transplanted marrow cells". *Blood Cells*, 1992. 18(2): 197-214.
61. Smith SR, Williams CE, Davies JM, Edwards RH, "Bone marrow disorders: characterization with quantitative MR imaging". *Radiology*, 1989. 172(3): 805-10.
62. Socinski MA, Cannistra SA, Elias A, Antman KH, Schnipper L, Griffin JD, "Granulocyte-macrophage colony stimulating factor expands the circulating haemopoietic progenitor cell compartment in man". *Lancet*, 1988. 1(8596): 1194-8.
63. Stillman AE, Wilke N, Li D, Haacke M, McLachlan S, "Ultrasmall superparamagnetic iron oxide to enhance MRA of the renal and coronary arteries: studies in human patients". *J Comput Assist Tomogr*, 1996. 20(1): 51-5.
64. Stockerl-Goldstein KE, Reddy SA, Horning SF, Blume KG, Chao NF, Hu WW, Johnston LF, Long GD, Strober S, Wong RM, Feiner RH, Kobler S, Negrin RS, "Favorable treatment outcome in non-Hodgkin's lymphoma patients with "poor"

- mobilization of peripheral blood progenitor cells". *Biol Blood Marrow Transplant*, 2000. 6(5): 506-12.
65. Tavassoli M, "Structure and function of sinusoidal endothelium of bone marrow". *Prog Clin Biol Res*, 1981. 59B: 249-56.
66. Tavassoli M, "Bone Marrow: Structure and Function." Alan R. Liss, Inc., New York, 1983.
67. Tavassoli M, Hardy CL, "Molecular basis of homing of intravenously transplanted stem cells to the marrow". *Blood*, 1990. 76(6): 1059-70.
68. Thurn P, Bücheler E, Lackner KJ, Thelen M, "Einführung in die radiologische Diagnostik." 10. Auflage 1998. Thieme Verlag, Stuttgart: Thieme Verlag Stuttgart 1998: 25-28, 43-48.
69. To LB, Haylock DN, Simmons PJ, Juttner CA, "The biology and clinical uses of blood stem cells". *Blood*, 1997. 89(7): 2233-58.
70. Vahlensieck M, Schmidt HM, "[The normal bone marrow and its variations in MRT]". *Radiologe*, 2000. 40(8): 688-93.
71. Vande Berg BC, Lecouvet FE, Kanku JP, Jamart J, Van Beers BE, Maldague B, Malghem J, "Ferumoxides-enhanced quantitative magnetic resonance imaging of the normal and abnormal bone marrow: preliminary assessment". *J Magn Reson Imaging*, 1999. 9(2): 322-8.
72. Vassallo P, Matei C, Heston WD, McLachlan SJ, Koutcher JA, Castellino RA, "AMI-227-enhanced MR lymphography: usefulness for differentiating reactive from tumor-bearing lymph nodes". *Radiology*, 1994. 193(2): 501-6.
73. Vogler JB, Murphy WA, "Bone marrow imaging". *Radiology*, 1988. 168(3): 679-93.
74. Weaver CH, Hazelton B, Birch R, Palmer P, Allen C, Schwartzberg L, West W, "An analysis of engraftment kinetics as a function of the CD34 content of peripheral blood progenitor cell collections in 692 patients after the administration of myeloablative chemotherapy". *Blood*, 1995. 86(10): 3961-9.
75. Weinmann HJ, Ebert W, Misselwitz B, Schmitt-Willich H, "Tissue-specific MR contrast agents". *Eur J Radiol*, 2003. 46(1): 33-44.
76. Weishaupt D, Köchli VD, Marincek B, "Wie funktioniert MRI?" 4. Auflage 2003. Berlin, Heidelberg, New York: Springer-Verlag 2003: 1-10, 92-104.
77. Weissleder R, Elizondo G, Wittenberg J, Rabito CA, Bengele HH, Josephson L, "Ultrasmall superparamagnetic iron oxide: characterization of a new class of contrast agents for MR imaging". *Radiology*, 1990. 175(2): 489-93.

78. Weissleder R, Heautot JF, Schaffer BK, Nossiff N, Papisov MI, Bogdanov A, Jr., Brady TJ, "MR lymphography: study of a high-efficiency lymphotropic agent". Radiology, 1994. 191(1): 225-30.
79. Weissleder R, Stark DD, Engelstad BL, Bacon BR, Compton CC, White DL, Jacobs P, Lewis J, "Superparamagnetic iron oxide: pharmacokinetics and toxicity". AJR Am J Roentgenol, 1989. 152(1): 167-73.
80. Welsch U, "Welsch: Sobotta, Lehrbuch Histologie". 2. Auflage 2005: Elsevier GmbH, Urban & Fischer Verlag München 2005: 224-233.
81. Wikipedia, "<http://de.wikipedia.org/wiki/Paramagnetismus>"; Suchwort "Paramagnetismus" in "Wikipedia - Die freie Enzyklopädie", Wikimedia Foundation Inc. (Stand 07.11.2006). 2006.
82. Yoshida H, Asai S, Yashiro N, Iio M, "MRI of bone marrow". Radiat Med, 1985. 3(1): 47-55.

7.2 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 2.1: Knochenmarksquerschnitt.

Abbildung 2.2: Hämatopoese, schematische Darstellung.

Abbildung 2.3: Präzessionsbewegung eines Atomkerns.

Abbildung 4.1: MRT-Aufnahmen der lumbalen und unteren thorakalen Wirbelsäule eines 24-jährigen Mannes.

Abbildung 4.2: SNR (MW + SEM) der T1-gewichteten SE-Sequenz der Gruppe A und B vor und nach Sinerem®-Applikation.

Abbildung 4.3: SNR (MW + SEM) der STIR-Sequenz für Gruppe A und B vor und nach Sinerem®-Applikation.

Abbildung 4.4: Δ SI-Werte (MW) des Knochenmarks der einzelnen Patienten aus Gruppe A über die Zeit.

Abbildung 4.5: Δ SI-Werte (MW \pm SEM) der VCI und des Knochenmarks für Gruppe A über die Zeit (min).

Abbildung 4.6: Δ SI (MW) des Knochenmarks der einzelnen Patienten aus Gruppe B über die Zeit (min).

Abbildung 4.7: Δ SI-Werte (MW \pm SEM) der VCI und des Knochenmarks für Gruppe B über die Zeit (min).

Abbildung 4.8: Relative dynamisch Δ SI-Werte (MW, %) über die Zeit (min) für Gruppe A und B.

Abbildung 4.9: MRT-Aufnahmen der unteren thorakalen und lumbalen Wirbelsäule einer 42-jährigen Frau mit multiplen fokalen Tumordinfiltrationen.

7.3 Tabellenverzeichnis

Tabelle 2.1: WHO-Klassifikation der NHL.

Tabelle 2.2: Ann-Arbor-Klassifikation zur Stadieneinteilung von NHL.

Tabelle 2.3: Darstellung des Erreichens einer kompletten Remission und der 5-Jahres Überlebensrate von Patienten der vier Risikogruppen nach dem Internationalen Prognostischen Index.

Tabelle 2.4: Nebenwirkungen durch das Kontrastmittel Sinerem®.

Tabelle 3.1: Pulssequenzen der Studienuntersuchung für Gruppe A und B.

Tabelle 4.1: SNR-Daten (MW \pm SEM) der Pre- und Post-contrast-Sequenzen für Gruppe A und B.

Tabelle 4.2: Ergebnisse der qualitativen Datenauswertung der Knochenmarksläsionen.

7.4 Anlagen

I Auswertungsbogen zur Durchführung der qualitativen Auswertung

II Dosierungstabelle für Sinerem®

I. Dosierungstabelle (in ml) für das in 10 ml einer 0,9%iger Natriumchlorid-Lösung aufgelösten Sinerem®. Zur Infusion erneute Verdünnung der entsprechenden Dosis mit 100 ml 0,9%ige Natriumchlorid-Lösung.

TABLE OF THE DOSE TO BE ADMINISTERED ACCORDING TO BODY WEIGHT

| Kg | Dose | Kg | Dose | Kg | Dose | Kg | Dose |
|----|------|----|------|-----|------|-----|------|
| 40 | 5,2 | 63 | 8,2 | 86 | 11,2 | 109 | 14,2 |
| 41 | 5,3 | 64 | 8,3 | 87 | 11,3 | 110 | 14,3 |
| 42 | 5,5 | 65 | 8,5 | 88 | 11,4 | 111 | 14,4 |
| 43 | 5,6 | 66 | 8,6 | 89 | 11,6 | 112 | 14,6 |
| 44 | 5,7 | 67 | 8,7 | 90 | 11,7 | 113 | 14,7 |
| 45 | 5,9 | 68 | 8,8 | 91 | 11,8 | 114 | 14,8 |
| 46 | 6,0 | 69 | 9,0 | 92 | 12,0 | 115 | 15,0 |
| 47 | 6,1 | 70 | 9,1 | 93 | 12,1 | 116 | 15,1 |
| 48 | 6,2 | 71 | 9,2 | 94 | 12,2 | 117 | 15,2 |
| 49 | 6,4 | 72 | 9,4 | 95 | 12,4 | 118 | 15,3 |
| 50 | 6,5 | 73 | 9,5 | 96 | 12,5 | 119 | 15,5 |
| 51 | 6,6 | 74 | 9,6 | 97 | 12,6 | 120 | 15,6 |
| 52 | 6,8 | 75 | 9,8 | 98 | 12,7 | 121 | 15,7 |
| 53 | 6,9 | 76 | 9,9 | 99 | 12,9 | 122 | 15,9 |
| 54 | 7,0 | 77 | 10,0 | 100 | 13,0 | 123 | 16,0 |
| 55 | 7,2 | 78 | 10,1 | 101 | 13,1 | 124 | 16,1 |
| 56 | 7,3 | 79 | 10,3 | 102 | 13,4 | 125 | 16,3 |
| 57 | 7,4 | 80 | 10,4 | 103 | 13,4 | 126 | 16,4 |
| 58 | 7,5 | 81 | 10,5 | 104 | 13,5 | 127 | 16,5 |
| 59 | 7,7 | 82 | 10,7 | 105 | 13,7 | 128 | 16,6 |
| 60 | 7,8 | 83 | 10,8 | 106 | 13,8 | 129 | 16,8 |
| 61 | 7,9 | 84 | 10,9 | 107 | 13,9 | 130 | 16,9 |
| 62 | 8,1 | 85 | 11,1 | 108 | 14,0 | 131 | 17,0 |

II. Auswertungsbogen zur Durchführung der qualitativen Auswertung.

| | | | | | | | |
|---|-------------------|-------|--------------------|---|-------------------|-------|--------------------|
| Name des Patienten: | | | | Sequenz: | | | |
| Altersentsprechendes Knochenmark ohne Hinweis auf Infiltration durch ein malignes Geschehen | | | | +/- Sinerem®: <input type="text"/> | | | |
| fokaler Befall | | | | <input type="text"/> | | | |
| Anzahl der tumorverdächtigen Läsionen <1 cm | | | | <input type="text"/> | | | |
| Anzahl der Läsionen >1 cm | | | | <input type="text"/> | | | |
| mehr als 10 Läsionen erkennbar | | | | <input type="text"/> | | | |
| <u>Subjektive Erkennbarkeit der verdächtigen Läsion:</u> | | | | 1 - schlecht 2 - mittel 3 - gut erkennbar | | | |
| | Lokali- sation | Größe | Erkenn- barkeit | | Lokali- sation | Größe | Erkenn- barkeit |
| Läsion 1 | | | | Läsion 16 | | | |
| Läsion 2 | | | | Läsion 17 | | | |
| Läsion 3 | | | | Läsion 18 | | | |
| Läsion 4 | | | | Läsion 19 | | | |
| Läsion 5 | | | | Läsion 20 | | | |
| Läsion 6 | | | | Läsion 21 | | | |
| Läsion 7 | | | | Läsion 22 | | | |
| Läsion 8 | | | | Läsion 23 | | | |
| Läsion 9 | | | | Läsion 24 | | | |
| Läsion 10 | | | | Läsion 25 | | | |
| Läsion 11 | | | | Läsion 26 | | | |
| Läsion 12 | | | | Läsion 28 | | | |
| Läsion 13 | | | | Läsion 29 | | | |
| Läsion 13 | | | | Läsion 30 | | | |
| Läsion 15 | | | | | | | |

7.5 Lebenslauf

PERSÖNLICHE DATEN

Name: Stefanie Luise Magdalena Lohr
 Geburtsdaten: 25. Juli 1978 in Memmingen
 Nationalität: Deutsch
 Familienstand: Ledig

AUSBILDUNG

1989 – 1998 Gymnasium in Ottobeuren und Memmingen
 • Allgemeine Hochschulreife, Juni 1998
 2000 – 2006 Studium der Humanmedizin
 2000 – 2002 LMU München
 • Ärztliche Vorprüfung, März 2002
 2002 – 2006 TU München
 • 1. Staatsexamen der Medizin, März 2003
 • 2. Staatsexamen der Medizin, März 2005
 • 3. Staatsexamen der Medizin, Mai 2006
 Mai 2006 Approbation als Ärztin

MEDIZINISCHE AUSBILDUNG

Famulaturen:

Sep 2002 Praxis für Innere Medizin / Hausärztliche
 Versorgung, Berlin
 Jul 2003 Radiologie, Institut für diagnostische Radiologie
 Klinikum rechts der Isar, TU München
 Sep 2003 Emergency Medicine, Emergency Department, Royal
 Melbourne Hospital, University of Melbourne, Australien
 Feb 2004 Gynäkologie und Geburtshilfe, Abteilung für Gynäkologie
 und Geburtshilfe, Städtisches KH München-Schwabing

Praktisches Jahr:

Apr 2005 – Aug 2005 Anästhesie, Institut für Anästhesiologie,
 Klinikum rechts der Isar, TU München
 Aug 2005 – Dez 2005 Chirurgie, Departamento de Cirugía, Hospital Militar
 Central, Universidad de Buenos Aires, Argentinien
 Dez 2005 – Mär 2006 Innere Medizin, Department für Innere Medizin,
 UniversitätsSpital Zürich, Schweiz

Weiterbildung als Ärztin:

seit Okt 2006 Assistenzärztin, Basisweiterbildung Chirurgie,
 Kreisklinik Fürstfeldbruck, Lehrkrankenhaus der
 LMU München

7.6 Erklärung

Ich erkläre an Eides statt, dass ich die der Fakultät für Medizin der Technischen Universität München zur Promotionsprüfung vorgelegte Arbeit mit dem Titel:

Wertigkeit Sinerem®-verstärkter Magnetresonanztomographie des Knochenmarks bei Patienten mit Non-Hodgkin Lymphomen vor und nach Mobilisierungstherapie.

in dem Institut für Röntgendiagnostik des Klinikums rechts der Isar der Technischen Universität München unter der Anleitung und Betreuung durch Prof. Dr. med. E. J. Rummeny, Dr. med. S. Metz und Prof. Dr. med. H. E. Daldrup-Link ohne sonstige Hilfe erstellt und bei der Abfassung nur die gemäß § 6 Abs. 5 angegebenen Hilfsmittel benutzt habe.

- Bei der Studienuntersuchung der Patienten der Gruppe A war ich nicht anwesend; bei den Studienuntersuchungen von Gruppe B war ich persönlich anwesend. Die Auswertung beider Gruppen wurde von mir persönlich durchgeführt.
- Ich habe die Dissertation in keinem anderen Prüfungsverfahren als Prüfungsleistung vorgelegt.
- Ich habe den angestrebten Doktorgrad noch nicht erworben und bin nicht in einem früheren Promotionsverfahren für den angestrebten Doktorgrad endgültig gescheitert.
- Teile der Dissertation wurden mit Zustimmung der Fakultät für Medizin veröffentlicht:

Metz S., Lohr S., Settles M., Beer A., Woertler K., Rummeny E.J., Daldrup-Link H.E (2006) „Ferrumoxtran-10-enhanced MR imaging of the bone marrow before and after conditioning therapy in patients with non-Hodgkin lymphomas.” European Radiology 16 (3): 598-607.

Die Promotionsordnung der Technischen Universität München ist mir bekannt.

Ort, Datum

Unterschrift (S. Lohr)

7.7 Danksagung

Herrn Prof. Dr. med. E. J. Rummeny (Institut für Röntgendiagnostik, Klinikum rechts der Isar, Technische Universität München) danke ich für die Ermöglichung der Promotion und für die konstruktive Kritik bei der Durchsicht des Manuskripts.

Ein sehr großer Dank gilt Prof. Dr. med. H. E. Daldrup-Link (University of California, San Francisco, USA) für die Initiierung der Studie, sowie den vielseitigen Anregungen bei der Durchführung der Arbeit.

Ganz besonders danke ich dem Betreuer meiner Promotionsarbeit, Herrn Dr. med. S. Metz (Institut für Röntgendiagnostik, Klinikum rechts der Isar, Technische Universität München), für die hervorragende Unterstützung während der Studiendurchführung und der Anfertigung dieser Arbeit.

Ich danke der Firma Guerbet (Guerbet-Gruppe, Aulnay-sous-Bois, Frankreich) für die Genehmigung dieser Studie außerhalb der angestrebten Indikation des Kontrastmittels Sinerem® in der Bildgebung von Lymphknoten.

Prof. Dr. med. Ch. Peschel (III. Medizinische Klinik) möchte ich für die Genehmigung der Studie danken, Herrn Dr. med. H. Menzel (III. Medizinische Klinik) für seine Mitwirkung bei der Betreuung und Rekrutierung der Patienten.

Ich möchte mich weiterhin bei folgenden Mitarbeitern des Klinikums rechts der Isar der Technischen Universität München bedanken:

Herrn M. Settles und C. Ganter für die Beratung in den technischen Details sowie den Erläuterungen über die Feinheiten der MR-Physik.

Herrn Dr. med. A. Beer und PD Dr. med. K. Woertler (Institut für Röntgendiagnostik) für die Befundung der auszuwertenden MR-Aufnahmen.

Den Mitarbeitern des Instituts für Röntgendiagnostik des Klinikums rechts der Isar der Technischen Universität München für die Unterstützung und Mithilfe bei der Studienuntersuchung, insbesondere dem Team um K. Jaensch.

Herrn Peter für Informationen bzgl. der Stammzellapherese, Frau Hollweck (Institut für Medizinische Statistik und Epidemiologie) die mir in statistischen Fragen zur Seite stand. Rainer Haseneder danke ich für die Hilfe am Computer.

Ganz besonders danke ich meinen Eltern, die mich während meines Studiums und der Promotionsarbeit in jeder Hinsicht unterstützt und gefördert haben. Ein ebenso großer Dank gilt meinem Freund für die großartige Unterstützung, die vielen Ratschläge, seine endlose Geduld beim Zuhören und für die vielen aufmunternden Worte, die mich immer wieder von neuem motiviert haben.