

Aus dem Zentrum für Radiologie und Endoskopie, Klinik und
Poliklinik für Diagnostische und Interventionelle Radiologie
(Direktor: Prof. Dr. G. Adam) des Universitätsklinikums
Hamburg-Eppendorf

Magnetresonanzelastographie der Brust
In-vivo- und in-vitro-Studien zur Darstellung der
Elastizität von Brusttumoren und Brustgewebe

Dissertation

Zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
Der medizinischen Fakultät der Universität Hamburg

vorgelegt von:

Maïke Halim-Biesterfeldt aus Hamburg

Hamburg 2011

Angenommen von der Medizinischen Fakultät am: 21.09.2011

Veröffentlicht mit der Genehmigung der medizinischen Fakultät der Universität
Hamburg

Prüfungsausschuss, der/die Vorsitzende: PD Dr. J. Lorenzen

Prüfungsausschuss 2. Gutachter/in: Prof. Dr. E. Dikomey

Prüfungsausschuss 3. Gutachter/in: Prof. Dr. C. Weber

Für meine Familie

1. Inhaltsverzeichnis	Seite
1. Inhaltsverzeichnis	4
2. Einleitung	6
2.1 Überblick	6
2.2 Grundlagen	11
2.3 Bisherige klinische Untersuchungen	13
2.4 Ziele dieser Arbeit	17
3. In-vitro-Untersuchungen	18
3.1 Einleitung	18
3.2 Versuchsaufbau	20
3.3 Ergebnisse	24
3.4 Histologischer Aufbau maligner Tumoren und ihre Elastizität	27
3.4.1 Methodik	27
3.4.2 Ergebnisse	29
4. MR-Elastographie	32
4.1 Theoretische Grundlagen	32
4.1.1 Rekonstruktion	34
4.2 Messaufbau	36
4.2.1 Aufbau des MR-Tomographen	36
5. Menstruationszyklus und Elastizität	38
5.1 Theoretische Hintergründe	39
5.1.1 Hormonell-physiologische Regelkreisläufe	39
5.1.2 Physiologie der Brustdrüse	41
5.2 Material und Methoden	43
5.2.1 Patientenbrücke und Oszillator	43

5.2.2 Patienten.....	47
5.3 Analyse der Daten	48
5.4 Ergebnisse	49
6. Diskussion	53
6.1 Grundlagen	53
6.2 In-vitro-Untersuchungen	56
6.3 Menstruationszyklus abhängige Elastizitätsveränderungen.....	61
7. Zusammenfassung	65
8. Abbildungsverzeichnis.....	67
9. Literaturverzeichnis.....	69
10. Danksagung.....	74
11. Lebenslauf.....	75
12. Eidesstattliche Erklärung.....	76

2. Einleitung

2.1 Überblick

Das Mammakarzinom stellt heutzutage in Deutschland und anderen hoch industrialisierten Ländern mit jährlich mehr als 700.000 Neuerkrankungen weltweit die häufigste Krebserkrankung der Frau dar. In Deutschland erkranken jährlich über 57.000 Frauen an Brustkrebs, davon 40% im Alter unter 60 Jahren. Brustkrebs ist für 27,8 % aller Krebsneuerkrankungsfälle bei Frauen und mehr als ein Drittel der Neuerkrankungen bei Frauen unter 60 Jahren verantwortlich.

Dabei zeigen Mortalität und Morbidität eine steigende Tendenz, heutzutage wird ca. jede zehnte Frau in ihrem Leben mit der Diagnose Brustkrebs konfrontiert. Der Häufigkeitsgipfel der Erkrankung liegt zwischen dem 35. und 55. Lebensjahr, so dass auch schon junge Frauen betroffen sind, was sowohl einschneidende familiäre als auch berufliche Veränderungen bedingt.

Im Verlauf versterben pro Jahr ca. 19.000 Frauen an Brustkrebs und/oder an dessen begleitenden Folgeerkrankungen. Die relative 5-Jahre-Überlebensrate beträgt aktuell 76% [1].

Die Erkrankungsraten für Deutschland liegen im europäischen Vergleich im mittleren Drittel. In Dänemark, Belgien, Schweden und den Niederlanden ist die Erkrankungswahrscheinlichkeit deutlich höher, in südeuropäischen Ländern wie Spanien, Griechenland und Portugal deutlich niedriger.

Folgende Risikofaktoren sind heutzutage bekannt:

- Frauen, in deren naher Verwandtschaft Brustkrebserkrankungen aufgetreten sind, tragen ein erhöhtes Brustkrebsrisiko.
- Genetische Veränderungen, wie das BRCA-1 und -2 Gen, steigern das Risiko, an Brustkrebs zu erkranken.
- Eine frühe erste Regelblutung (Menarche), Kinderlosigkeit, ein höheres Alter bei der ersten Geburt, ein später Eintritt in die Wechseljahre (Klimakterium), eine Hormonersatztherapie in Klimakterium und Postmenopause, sowie ionisierende Strahlung sind ebenfalls mit einem erhöhten Risiko für Brustkrebs assoziiert.

In verschiedenen Studien wurden auch Zusammenhänge zu Übergewicht, Bewegungsmangel, fett- und kalorienreicher Nahrung sowie regelmäßigem Alkoholkonsum beobachtet [1]. Klinische Untersuchungen haben gezeigt, dass die Mortalität wesentlich mitbestimmt wird durch die Größe des Tumors, den Befall von Lymphknoten und den Zeitpunkt der Entdeckung [2].

Im Rahmen der Brustkrebsvorsorge sind die klinische Untersuchung mit Inspektion und Palpation, die Mammographie sowie die Mamma-Sonographie die am weitesten verbreiteten Methoden zur Früherkennung von Pathologien der weiblichen Brust. Sie dienen der primären Mortalitätssenkung sowie der Vorverlagerung einer Diagnose in frühe Stadien der Erkrankung und somit der Verbesserung der Prognose.

Trotz allem gibt es selbst bei umfangreichen klinischen Untersuchungen und der Vielzahl an diagnostischen Möglichkeiten immer wieder Probleme bei der Detektion sowie der Abklärung von auffälligen Befunden. So hat die Mammographie beispielsweise bei jungen Frauen mit radiologisch dichtem Brustparenchym eine deutlich verminderte Sensitivität und Spezifität. Auch mit dem Einsatz von Sonographie gelingt hier die Unterscheidung von Läsionen in benigne und maligne nicht eindeutig sicher.

Als weitere diagnostische Methode steht die kontrastmittelunterstützte MR-Mammographie zur Verfügung, die sich besonders durch ihre hohe Sensitivität auszeichnet, letztendlich aber wegen der gleichzeitig eingeschränkten Spezifität nur für spezielle Fragestellungen eingesetzt wird, und nicht als Screening-Methode geeignet ist [3].

Die aber häufig erste Untersuchung, die durch einen Arzt bei Verdacht auf einen suspekten Befund oder im Rahmen der Früherkennung durchgeführt wird, ist die Palpation. Unter dem Begriff Palpation versteht man das Abtasten eines Organs mit den Fingern.

Dies erfolgt durch den Arzt oder auch durch die Frau im Rahmen der Selbstuntersuchung als wichtige Maßnahme, um Veränderungen frühzeitig zu erkennen. Pathologische Veränderungen im Gewebe, wie z.B. Karzinome, sind häufig durch eine Veränderung der Elastizität, und damit der Härte, zum umliegenden gesunden Gewebe abgrenzbar. Durch das charakteristisch destruierende Wachstum maligner Tumore kommt es zur Zerstörung der

physiologischen Gewebsarchitektur mit zentralen Gewebsnekrosen und perifokalen Fibrosierungen. Diese Umbauvorgänge führen zu einer messbaren Änderung der Elastizität, bzw. der Härte und zu einer eingeschränkten Verformung des Gewebes. Damit sind Abweichungen im lokalen Tastbefund ein Indiz für den Arzt, weitere notwendige diagnostische Untersuchungen zur Abklärung durchzuführen.

Limitierende Faktoren bei der Palpation sind zum Einen die Größe des Tumors, zum Anderen die Lage im umliegenden Gewebe sowie die regionale Beschaffenheit des Gewebes, wie z.B. eine ausgeprägte knotige Mastopathieform, die die Aussagekraft der Palpation erheblich einschränken kann. In früheren Studien konnte gezeigt werden, dass ein Tumor nur dann mittels Palpation entdeckt werden kann, wenn sein Elastizitätsmodul 150-200% höher als das des umgebenden Gewebes ist [4]. So entgehen gerade kleinere oder tiefer im Gewebe gelegene Tumoren der Palpation und machen sie damit zu einem unzureichenden Detektionsinstrument.

Eine weitere und nicht zu vernachlässigende Einschränkung stellt die subjektive Bewertung eines Tastbefundes und die klinische Erfahrung eines jeden Untersuchers dar. Damit gibt es zurzeit kein nicht-invasives bildgebendes Verfahren, mit dem sicher zwischen gutartigen Veränderungen und bösartigen Läsionen der weiblichen Brust unterschieden werden kann. Bisher führte ein palpatorisch und mammographisch abklärungsbedürftiger Befund dazu, ihn über eine invasive Methode, wie die Stanzbiopsie, histologisch abzusichern. Insgesamt bedeutet dies eine hohe Zahl an Eingriffen, die kostenintensiv sind und zusätzlich den Patienten belasten.

Die Entwicklung neuer diagnostischer Verfahren zur Darstellung zusätzlicher Gewebeparameter, wie z.B. der Elastizität, die das Potential zur Erhöhung der Spezifität besitzen, ist daher sinnvoll und notwendig.

Ein solches neues diagnostisches Verfahren stellt die Magnetresonanzelastographie dar. Mit Hilfe dieses diagnostischen Verfahrens können physikalische Eigenschaften, wie zum Beispiel Härte und Elastizität, in einem Schnittbildverfahren sichtbar gemacht werden. So wie der Arzt beim Tastbefund die Symmetrie, Härte und Verformbarkeit des Knotens prüft, so

nutzt auch diese Methode die Elastizität des Gewebes, um zwischen guten und bösartigen Tumoren zu unterscheiden.

Dass Brustkrebs unter günstigen Umständen von außen ertastbar ist, zeigt, dass bösartige Tumore offenbar zu erheblichen Veränderungen (Verhärtungen) des Gewebes führen.

Mit der MR-Elastographie (MRE) können diese Verhärtungen sichtbar gemacht werden- und zwar einschließlich der in der Tiefe gelegenen Brustgewebsabschnitte, die der tastenden Hand entgehen würden: mit Hilfe der MRE können diese Verhärtungen exakt und objektiv ermittelt und als Schnittbild dreidimensional dargestellt werden [5, 6].

Dabei wird die MRT als Messapparatur mit der MRE kombiniert, um die Wellenausbreitung im Gewebe zu messen und damit etwas über die Elastizität des jeweiligen Gewebes zu erfahren. Die elastischen Eigenschaften des Gewebes beeinflussen die Wellenausbreitung und bei bekannter (oder gemessener) Wellenausbreitung ist es möglich, die elastischen Eigenschaften zurückzuberechnen.

Die MRT basiert dabei auf der Kopplung der magnetischen Eigenschaften der Atomkerne mit externen Radio- und Magnetfeldern. Dies ermöglicht es, Bilder des Körperinneren zu erzeugen, wobei der Kontrast der Bilder normalerweise proportional zu bestimmten lokalen Relaxationszeiten oder der Dichte des Kernspins ist. Dieser Kontrast kann jedoch dahingehend modifiziert werden, als dass er proportional zur Bewegung eines Objektes ist. Das Einbringen der sinusförmigen mechanischen Welle in das Gewebe führt zu einer periodischen Oszillation.

Hier wurde die MRT-Messung mit der mechanischen Welle so synchronisiert, dass der Kontrast im MRT-Bild proportional zur Welle ist.

Die MRT dient somit lediglich als "Kamera", um einen "Schnappschuss" der mechanischen Welle im Gewebe zu generieren. Mehrere Schnappschüsse zu unterschiedlichen Zeiten erzeugen einen Film, der die kontinuierliche Ausbreitung der Welle im Gewebe approximiert. Diese Bildabfolge stellt die Grundlage für die anschließende Rekonstruktion der elastischen Parameter dar. Damit ist es mit der MR-Elastographie als ein neuartiges Bildgebungsverfahren möglich, die in-vivo-Elastizitätsverteilung eines

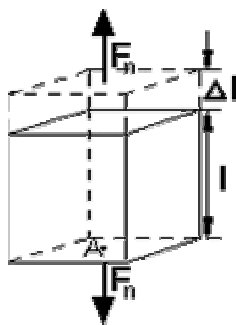
Gewebes zu messen [5]. Die MR-Elastographie wird daher auch "MR-tomographische Tastuntersuchung" genannt. Insofern besteht die Hoffnung, gemessen an der Bedeutung dieses Parameters, dass die MRE als objektives Verfahren einen additiven Nutzen zur Malignom-Abklärung bringt.

2.2 Grundlagen

Definition der Elastizität

Die Elastizität stellt physikalisch die Eigenschaft eines Stoffes dar, einer einwirkenden Kraft einen mechanischen Widerstand entgegen zu setzen und nach dem Entlasten seine Ausgangsform wieder einzunehmen. Jedes biologische Gewebe besitzt elastische Eigenschaften. Diese Eigenschaften eines Gewebes werden durch die mikroskopisch und makroskopisch strukturelle Organisation ihrer Moleküle bestimmt [7]. Um die Elastizität von Gewebe mittels bildgebender Verfahren darstellen zu können, bedarf es eines Verständnisses, wie sich die Elastizität eines Körpers unter verschiedenen Umständen verändern kann.

Wirken auf einen festen Körper äußere Kräfte, die im Gleichgewicht sind, so tritt eine Änderung der Form und des Volumens ein, es kommt zu seiner Deformation. Dabei wird eine elastische Deformation so definiert, dass die Form- und Volumenänderung vollständig zurückgehen, wenn die Kräfte aufhören zu wirken, sofern die Deformation eine bestimmte Grenze nicht überschritten hat: Der Körper verhält sich **elastisch**. Unter dem Einfluss einer



Normalkraft F_n (bzw. einer Normalspannung σ) erfährt der Körper eine Verlängerung Δl (siehe Abbildung).

Im elastischen Bereich ist diese Längenänderung Δl proportional zur Normalkraft F_n bzw. σ .

$$\sigma \sim \frac{\Delta l}{l}$$

Gleichung 1

Die relative Längenänderung $\Delta l/l$ definiert man als Dehnung ε :

$$\varepsilon = \frac{\Delta l}{l} \quad \text{Gleichung 2}$$

Aus Gleichung 1 und Gleichung 2 ergibt sich das Hookesche Gesetz für elastische Verformung:

$$\sigma = E \times \varepsilon \quad \text{Gleichung 3 (Hookesches Gesetz)}$$

Das Hookesche Gesetz besagt, dass eine elastische Deformation ε eines Körpers linear proportional zur anliegenden Spannung σ ist. Der Proportionalitätsfaktor E wird Elastizitätsmodul genannt. Er ist eine Werkstoffkonstante, die den Zusammenhang zwischen Spannung und Dehnung bei der Verformung eines festen Körpers bei linear elastischem Verhalten beschreibt. Der Betrag des Elastizitätsmoduls ist umso größer, je mehr Widerstand ein Material seiner Verformung entgegensetzt. Ein Material mit hohem Elastizitätsmodul ist also steif, ein Material mit niedrigem Elastizitätsmodul ist nachgiebig.

Der Elastizitätsmodul ist als Steigung des Graphen im Spannungs-Dehnungs-Diagramm bei einachsiger Belastung innerhalb des linearen Elastizitätsbereichs definiert:

$$E = \frac{\Delta \sigma}{\Delta \varepsilon} = \text{const}$$

Dabei bezeichnet σ die mechanische Spannung (Normalspannung, nicht Schubspannung) und ε die Dehnung. Die Dehnung ist das Verhältnis von Längenänderung zur ursprünglichen Länge.

2.3 Bisherige klinische Untersuchungen

Neben der Palpation stehen bisher als diagnostische nicht-invasive Methoden die Mammasonografie, die Mammografie sowie die Kontrastmittel-MRT zur Verfügung.

Letzteres wird als Ergänzungsverfahren zur Mammographie zum Ausschluss bzw. Nachweis von Karzinomen angewandt und kommt in solchen Fällen vornehmlich zum Einsatz, die stanzbioptisch nicht erreichbar sind oder mit anderen konventionellen Methoden nicht beurteilbar sind. Sie besitzt eine hohe Sensitivität (94-100%), aber eine vergleichsweise niedrige Spezifität (37-97%) [8].

Aufgrund der geringen Spezifität wird die KM-MR-Mammographie in Verbindung mit bestehenden oder noch durchzuführenden Mammographie-Befunden durchgeführt. Gebiete, in denen sie eingesetzt wird, sind z. B. bei Frauen mit vorheriger Ablatio und Wiederaufbauplastik mit Silikon und einem noch hohem Rezidivrisiko. Auch das mammographisch röntgendichte Gewebe bei Mastopathie, stark vernarbtes Gewebe bei multiplen Voroperationen, oder die thoraxwandnahe Beurteilung auf ein Karzinom sind Bereiche, in denen man mit der KM-MR-Mammographie differenzierendere Befunde erreichen kann. Limitierende Bereiche sind zum Einen entzündliche Prozesse in der Brust, da durch den Entzündungsprozess eine lokal erhöhte Durchblutung resultiert und damit übermäßig viel Kontrastmittel angereichert wird und zum Anderen Gewebe mit verdächtig gruppiertem Mikrokalk, die durch solch eine Untersuchung nicht nach ihrer Dignität untersucht werden können [9,10]. Auf der Suche nach einem zusätzlichen gewebsscharakterisierenden Parameter erschien die Elastizität viel versprechend. Ausgehend davon, dass mittels Darstellung der viskoelastischen Eigenschaften eines Gewebes genauere Informationen über den zellulären Aufbau dieses Gewebes sichtbar werden, wurde daraufhin als eine diagnostische Ergänzung die Elastographie in die MRT-Untersuchung integriert.

Im Rahmen einer früheren klinischen Studie der Radiologischen Klinik des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf wurden in Zusammenarbeit mit der

Firma Philips eine ausgewählte Gruppe von 20 Patientinnen und 15 Probandinnen mittels MRE untersucht. Da diese Studie mit ihren Ergebnissen als Vorreiter zu der vorliegenden Arbeit zu betrachten ist, soll im Weiteren noch ausführlicher darauf eingegangen werden.

Nachdem der experimentelle Messaufbau der MRE zuvor bei einem kleineren Patientenkollektiv überprüft worden war, fand die Erprobung des Verfahrens an dem zuvor beschriebenen Kollektiv von insgesamt 35 Personen statt.

Dabei sollte im Speziellen die Wertigkeit des Verfahrens bei der Differenzierung bezüglich benigner und maligner Läsionen überprüft werden. Von den 20 Patientinnen, die am Folgetag nach dieser Untersuchung operiert wurden, hatten 15 einen histologisch nachgewiesenen malignen Befund und 5 einen benignen Befund. Bei allen 20 Patientinnen war vorher eine Palpation der Mammae durchgeführt worden: Von den malignen Tumoren war außer in 2 Fällen, bei denen der Tumor eine Größe von 1 und 1,5cm hatte, ein Herdbefund zu tasten. Die 5 benignen Tumoren waren allesamt palpabel.

Zusätzlich zu den 20 Patientinnen wurden noch 15 gesunde Probandinnen zum Vergleich und zur Evaluierung der Variabilität der regulären Elastizität bei gesundem Brustdrüsengewebe unter denselben Bedingungen untersucht. Die Patientinnen und Probandinnen wurden mit dem in Kapitel 4.2 beschriebenen Messaufbau an einem Philips Gyroscan ACS-NT 1.5Tesla MR-Gerät untersucht. Insgesamt betrug die Messzeit einer Untersuchung 30 min.

Die Auswertung erfolgte mit Hilfe einer Computer-Software, die mittels einer region-of-interest (ROI) die mittlere Elastizität berechnen konnte. Die ROI wurde visuell innerhalb des Tumors platziert, die Elastizität dieses Areal bestimmt und mittels eines Elastogramms bildlich dargestellt.

Die malignen Tumore stellten sich mit einer höheren Elastizität als das umliegende reguläre Gewebe dar. Die malignen Tumore erreichten dabei einen Median von 15,9 kPa mit einer großen Streuung der Werte von 8-28 kPa. Im Gegensatz zu den malignen Tumoren zeigten die benignen Mamma-Tumoren eine signifikant niedrigere Elastizität ($p=0,0012$ vs. maligne Tumoren) mit einem Median von 7,0 kPa und einer Streuung von 2-8 kPa. Gesundes Brustparenchym sowie Fettgewebe zeigten die niedrigsten

Elastizitätswerte und ließen sich signifikant von den malignen Tumoren abgrenzen [11].

Die Ergebnisse der damaligen Studie konnten auch durch eine weitere Studie der Arbeitsgruppe der Radiologischen Klinik der Universität Bonn um PD Dr. Christiane Kuhl bestätigt werden. Diese Gruppe testete ein Patientenkollektiv von 60 Patientinnen mit gut- und bösartigen Tumoren mittels des Verfahrens der MRE, deren Ergebnisse die vorangegangenen bestätigen konnten.

Sie zeigten, dass sich das neue Verfahren zur weiterführenden Diagnostik von Tumoren eignet, bei denen bislang anhand der Magnet-Resonanz-Mammographie nicht geklärt werden konnte, ob sie gut oder bösartig sind [12].

Auch McKnight *et al.* konnten in ihren Studien zeigen, dass mittels der MR-Elastographie ein neuer Parameter zur Gewebscharakterisierung für in-vivo-Untersuchungen zur Verfügung steht. Jedoch kam es bei ihren Studien zu Überschneidungen der Härte von benignen und malignen Tumoren, so dass hier bisher keine genaue Unterscheidung anhand der Elastizität möglich war. Weiterführende Verbesserung in der Datenanregung und Datenaquisition mittels MR sowie ein größeres Patientenkollektiv sind ihrer Meinung nach hilfreich [13].

In einer weiteren Arbeitsgruppe um Xydeas *et al.* konnten diese in ihrem untersuchten Patientenkollektiv mittels MRE gute Unterscheidungen zwischen malignen und benignen Läsionen herausarbeiten. Sie sehen das Verfahren der MRE als sehr viel versprechend für die weitere ergänzende Brustdiagnostik an. Sie stellten jedoch auch fest, dass lediglich der Parameter der Elastizität eine Unterscheidung nicht vollständig möglich macht. Vielmehr ist es ihrer Meinung nach nötig, mehr detaillierte histopathologische Informationen über die verschiedenen Tumorentitäten herauszufinden, um so gerade auch die atypisch erscheinenden Karzinome, die z.B. sehr weich imponieren, herausfiltern zu können.

Als einen limitierenden Faktor stellten sie den Zeitaufwand für eine Untersuchung dar; durch die lange Akquisitions- und Rekonstruktionszeit ist dieses Verfahren aktuell noch nicht für den klinischen Alltag geeignet. Weitere Verbesserungen in schnelleren MR-Sequenzen und

Rekonstruktionsalgorithmen könnten aber ihrer Meinung nach helfen, dieses Problem zu lösen [14].

Eine weitere Studie an einem Patientenkollektiv von 57 Patientinnen mit der Verdachtsdiagnose eines malignen Brusttumors wurde von Siegmann *et al.* erst kürzlich durchgeführt. Dabei kamen sie zu dem Ergebnis, dass die MR-Elastographie in Kombination mit herkömmlichen Untersuchungen einen deutlichen additiven Nutzen bringt. Es zeigte sich, dass mittels MRE und Kontrastmittelverstärkter MRT die Diagnostikrate eines malignen Tumors deutlich gesteigert werden konnte.

Weitere Untersuchungen an einem größeren Patientenkollektiv und kleineren Brustläsionen, die z.B. primär nur im MRT sichtbar sind, wären hier sinnvoll und noch abzuwarten [15].

2.4 Ziele dieser Arbeit

Da die Palpation als alleiniges Messinstrument der Elastizität von Gewebe nicht ausreichend ist, wurde die MRE als ein mögliches neues Messinstrument für die Elastizität entwickelt. Diese konnte, wie schon im vorherigen Kapitel beschrieben, auch schon Erfolg versprechende Ergebnisse in bisherigen Untersuchungen erbringen.

Zurzeit liegen aber nur wenige Daten zu in-vitro-Messungen der Elastizität von Brustgewebe und Tumoren vor [16, 17]. Zusätzlich existieren keine Messdaten zur Bestimmung der physiologischen Bandbreite der Elastizität von Brustparenchym unter hormonellem Einfluss.

Folgende Zielsetzungen wurden daher für diese Arbeit formuliert:

1. In einem in-vitro-Goldstandard-Experiment sollen Brust-Tumoren und Brustparenchym zur Bestimmung der Elastizität untersucht werden. Hierbei soll der Zusammenhang zwischen histologischem Aufbau und viskoelastischen Eigenschaften von Tumoren dargestellt werden.
2. Untersuchung der Menstruationszyklusabhängigkeit der Elastizität von Brustparenchym mit der MR-Elastographie

3. In-vitro-Untersuchungen

3.1 Einleitung

Das Ziel der in-vitro-Studie war es herauszufinden, ob sich eine Korrelation ableiten lässt zwischen dem histologischen Aufbau eines Tumors, seiner Härte und der damit verbundenen Elastizität.

Eine Kombination aus der Härte bzw. der Elastizität und dem Grad der Nicht-Linearität verspricht eine Möglichkeit der Differenzierung zwischen gut- und bösartigen Tumoren.

Biologisches Gewebe zeigt im Allgemeinen bezüglich seiner Elastizität nicht-lineare Eigenschaften, das heißt, dass bei einem ansteigenden Druck, der auf dieses Gewebe wirkt, gleichzeitig die Elastizität exponentiell ansteigt [7, 18,19]. Die biologische Gewebsarchitektur ist zusammengesetzt aus den originären Zellen sowie der extrazellulären Matrix. Die extrazelluläre Matrix besteht aus verschiedenen Proteinen, die nutritive und supportive Funktionen für das Gewebe haben sowie auch eine Barriere-Bildende Funktionen gegenüber fremden Zellen. Werden die Zellen durch ein Karzinom befallen, so verändert sich die originäre physiologische Gewebsarchitektur.

In den zentralen Tumoranteilen eines Karzinoms finden sich häufig Tumorzellnekrosen, die durch die Gewebshypoxie bedingt sind. In den Randbereichen der Tumore finden sich dagegen eine vermehrte Ansammlungen von kollagenem Bindegewebe, die durch den Tumor und die mit ihm verbundenen immunologischen Prozesse induziert werden. Diese Bildung von kollagenreichem Bindegewebe und eine daraus folgende vermehrte perifokale Fibrosierung werden histopathologisch als desmoplastischer Umbauvorgang bezeichnet [20].

Durch diese Umbauvorgänge resultiert das histologische Bild eines ungleichmäßigen Gewebsaufbaus mit möglicher heterogener Verteilung der Elastizität.

Maligne Tumoren zeigen, im Gegensatz zu intaktem biologischen Gewebe, typischerweise einen höheren Wert an Nicht-Linearität; dies zeigt sich mikroskopisch an einer verminderten und teilweise zerstörten Vernetzung

zwischen den Proteinen, welches durch eine Ausschüttung von Proteinasen hervorgerufen wird [21].

Im Unterschied zu biologischem Gewebe zeigen synthetische Materialien ein relativ konstantes Elastizitätsmodul (Youngs Modulus) bei ansteigendem Druck [22]. Der Anstieg der Elastizität im Zusammenhang mit einwirkendem Druck kann gut mit einer Exponentialfunktion beschrieben werden. Anhand der initialen Härte eines zu untersuchenden Gewebstückes bei keinem Druck ($E \geq 0$) und des Parameters $\alpha \geq 0$, welcher ein Wert für den Anstieg der Nicht-Linearität bei Druck darstellt, kann man die Eigenschaften eines Gewebstückes charakterisieren.

Ein Gewebstück, welches über die intakten Proteine der Extrazellulären Matrix gut vernetzt ist, zeigt unter Druck eine nahezu konstante Elastizität, und von daher auch niedrige α -Werte. Durch Zerstörung der vernetzten Proteine und Zerstörung der Zell-Architektur durch maligne Zellen sollten sich bei Karzinom-Präparaten ansteigende Werte für α zeigen.

3.2 Versuchsaufbau

Um die elastischen Eigenschaften von Brustgewebstumoren und physiologischem Brustgewebe unter verschiedenen Druckbedingungen bestimmen zu können, wurde ein Messaufbau als Goldstandard-Experiment entwickelt. Ein solcher Aufbau der Messapparatur ist in Abbildung 1 dargestellt.

Dabei handelt es sich um einen soliden Aluminiumblock der Größe 10x10cm, einen Aluminiumstempel mit einem definierten Durchmesser von 2cm und einem Hochpräzisionskraftmesser, der mit dem Stempel verbunden war. Über den Grad der Kompression einer Spiralfeder konnte die aufgewandte Kraft bestimmt werden.



Abb.1 Messapparatur zur Bestimmung der Elastizität von exzidiertem Brustgewebe

Für die in-vitro-Messungen wurden frisch exzidierte Brustgewebspräparate unmittelbar nach der Operation ohne vorherige Formaldehydfixierung auf dem Aluminiumblock ausgelegt.

Zur besseren Identifikation wurde bei kleinen Tumoren und duktalem Carcinoma in situ (DCIS), die aufgrund Ihrer biologischen Beschaffenheit nicht eindeutig sichtbar und palpabel waren, zuvor von den Exzidaten eine Präparateradiographie angefertigt und die Tumorregion mit Drähten markiert. Die Messungen dauerten im Schnitt ca. 3 Minuten und die Präparate wurden direkt im Anschluss in der Pathologie weiter histologisch untersucht.

Der Stempel wurde auf der zu untersuchenden Tumorregion, bzw. dem zu untersuchenden Gewebstück im Zentrum platziert und dann kontinuierlich abgesenkt. Die exzidierten Tumoren bzw. Gewebstücke waren grundsätzlich größer als der Durchmesser des Aluminiumstempels, wie in der schematischen Abbildung Nr.2 dargestellt. Durch diese Vorbereitung konnten Grenzflächenartefakte vermieden werden.

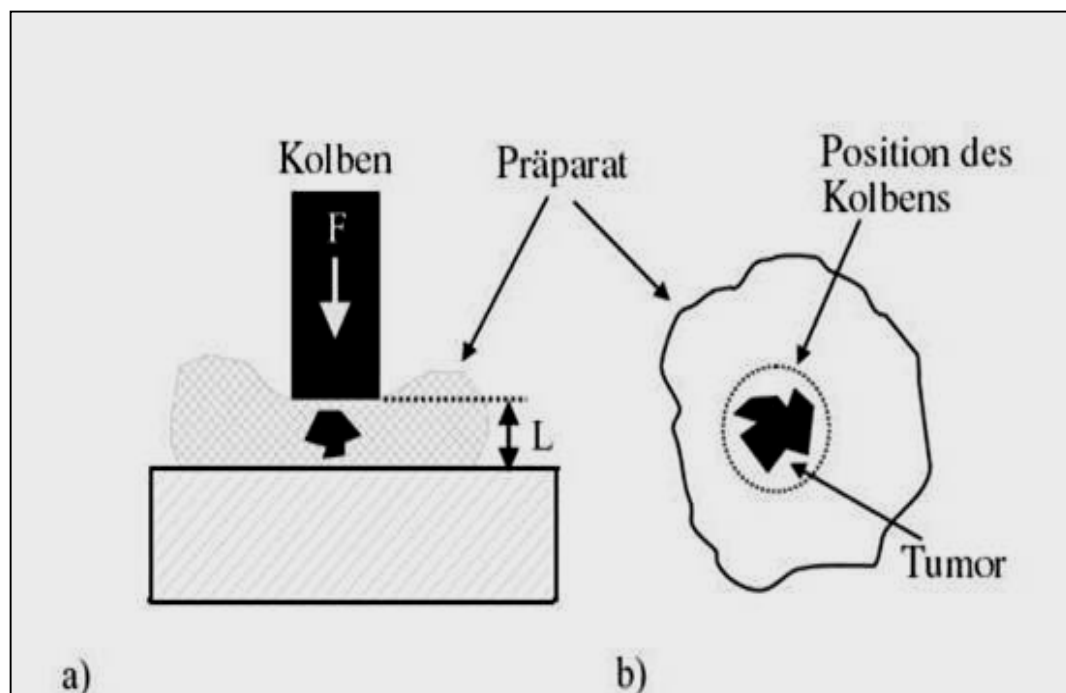


Abb.2a) Schematische Zeichnung des in-vitro-Experiments. Ein Aluminiumstempel definierter Größe wird auf das zu untersuchende Areal abgesenkt. Dabei wird die aufgewandte Kraft sowie die Längenänderung des Tumors gemessen, um daraus die Elastizität zu berechnen.

b) Ansicht von oben, die Tumorlokalisierung wurde vorher mittels Präparateradiographie bestimmt.

Vor jeder Messung wurden die lineare Beziehung zwischen der aufzuwendenden Kraft und der Position des Stempels kalibriert. Dazu wurde der Stempel bis zum eben gegebenen Kontakt mit dem Aluminiumblock abgesenkt und die Ausgangslänge notiert. Zu diesem Zeitpunkt wurde noch keine Kraft (F) aufgewendet, so dass $F = 0$. Im Folgenden wurde die Kraft in weiteren Schritten von 0,2 Newton (N) auf 8 Newton erhöht und die jeweilige gemessene Länge notiert. Hieraus ergaben sich 41 Messungen.

Zur Fehlerbestimmung erfolgte ein linearer Regressionsfit zwischen der aufgewandten Kraft und der Position des Stempels und der damit erfolgten Längenänderung von der Ausgangslänge. Die Abweichung der Messwerte wurde bestimmt. Mit einem mittleren Korrelationskoeffizienten von 0,999988 wurde die lineare Beziehung in der Kalibration zwischen aufgewandter Kraft und der Position des Stempels sehr genau dargestellt. Über diesen so kalibrierten Messaufbau wurden dann im nächsten Schritt die jeweils zu untersuchenden Gewebestücke komprimiert und die benötigte Kraft F im Verhältnis zur Längenänderung L bestimmt (Abb. 2a+ b).

Mit der Formel für den benötigten Druck $P = \frac{\text{Kraft}(N)}{\text{Fläche}}$ und der relativen

Längenänderung (ε), die die Ausgangslänge (L_0) berücksichtigt

($\varepsilon = \frac{L_0 - L}{L_0}$) lässt sich die Elastizität des zu untersuchenden Gewebes

bestimmen: $E(\varepsilon) = \frac{\Delta P}{\Delta \varepsilon}$.

Bei künstlichem Gewebe ist eine gleich bleibende relative Druckerhöhung nötig, um eine konstante relative Längenänderung zu erzeugen. Somit entspricht bei künstlichem Gewebe $E(\varepsilon)$ der Ausgangselastizität E_0 und ist eine Konstante.

Für biologisches Gewebe, wie in diesem Fall Brustgewebe, ist bekannt, dass es bei Ausüben eines Druckes auf das Gewebe, anders als bei künstlichem Gewebe, zu einem exponentiellen Anstieg der Härte kommt [23].

Deshalb gilt hier folgende Gleichung:

$$E(\varepsilon) = E_0 e^{\alpha \varepsilon}$$

Die Basiselastizität E_0 und seine exponentielle Zunahme α können dann als Parameter aus dem Verlauf der Kurve $E(\varepsilon) = \frac{\Delta P}{\Delta \varepsilon}$ abgeleitet werden. Dieses wird in Abbildung 3 dargestellt.

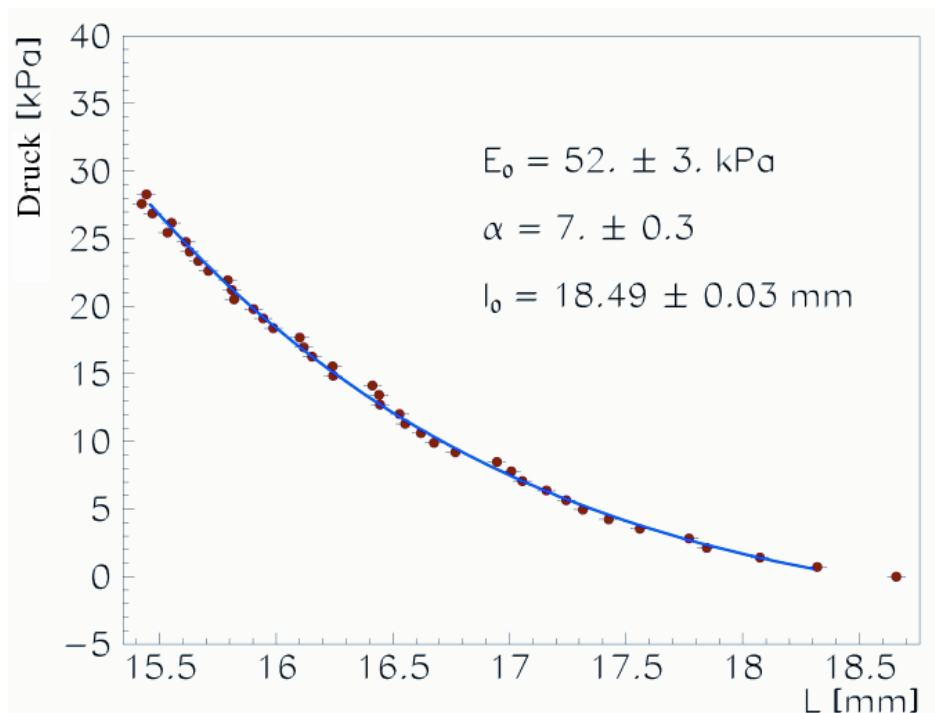


Abb.3 In diesem Diagramm ist die Änderung der Länge (mm) auf der x-Achse im Verhältnis zum eingesetzten Druck (kPa) auf der y-Achse für einen malignen Brusttumor aufgetragen. Die Kurve zeigt den für biologisches Gewebe typischen exponentiellen Verlauf, und es kann so aus dem Verlauf der Kurve die Basiselastizität E_0 , der exponentielle Anstieg α und die Ausgangslänge l_0 der Probe abgelesen werden.

Von den so gesammelten Messwerten wurden jeweils der Median, der Mittelwert und die Standardabweichung für die verschiedenen Tumor- und Gewebsarten berechnet. Eine statistische Auswertung erfolgte mit Hilfe des Mann-Whitney-U-Test. Signifikanz wurde bei einem p-Wert von kleiner 0,05 angenommen.

3.3 Ergebnisse

Für die in-vitro-Messungen wurden insgesamt 81 Brustgewebspräparate untersucht, davon entfielen 26 auf Brustkarzinome, 7 auf benigne Tumoren (Fibroadenome), 23 auf Präparate mit histologisch nachgewiesener Mastopathie, 12 auf Präparate mit duktalem Carcinoma in situ (DCIS) und 13 auf fetthaltiges Parenchym (histologisch nahezu in Fettgewebe umgewandelt).

Die Gruppe der Brustkarzinome setzte sich aus histologisch unterschiedlichen Karzinomarten zusammen. Um dem damit auch verbundenen unterschiedlichen Strukturaufbau gerecht zu werden, wurden die Karzinome in ihre histologischen Untergruppen aufgeteilt. Daraus ergab sich jeweils eine Anzahl von 14 invasiv-duktalem Karzinomen, 8 invasiv-lobulären Karzinomen und 4 Sonderformen, die sich aus 2 muzinösen, einem tubulären und einem papillären Karzinom zusammensetzten.

Die Abbildung 4 stellt die Elastizitätswerte dieser verschiedenen Präparate grafisch dar. Dabei erreichte die Gruppe der malignen Tumoren die höchsten Elastizitätswerte mit einem Median von 61 kPa und einem Mittelwert (MW) von 69 kPa. Die Standardabweichung (SD) betrug 35. Betrachtet man hier nur die am Häufigsten vorkommenden malignen Brusttumoren, nämlich die invasiv-duktalem und invasiv-lobulären Karzinome, so zeigte sich dann sowohl ein erhöhter Median von 68 kPa sowie ein erhöhter Mittelwert von 76 kPa (SD: 35). Die Gewebspräparate mit ausgeprägter Mastopathie folgten mit einem Median von 37 kPa (MW: 47 kPa; SD: 30), gefolgt von den DCIS-Präparaten mit einem Median von 23 kPa (MW: 25 kPa; SD: 12), des Weiteren die Gruppe der Fibroadenome mit einem Median von 21 kPa (MW: 28 kPa; SD: 18) und Fett mit 17 kPa (MW: 16 kPa; SD: 7).

Der Median der Elastizität der malignen Brusttumoren unterschied sich dabei signifikant (Mann-Whitney-U-Test) von mastopathischen Gewebspräparaten $p=0,0104$, von Fibroadenomen mit $p=0,0026$ sowie DCIS und Fett mit $p<0,001$.

Die graphische Darstellung der Verteilung aller malignen Tumoren zeigte eine große Streuung der Elastizitätswerte (25-159 kPa). Hervorgerufen durch

diese große Streuung kam es zu Überschneidungen der Elastizitätswerte von „weichen“ malignen Tumoren mit niedrigen Elastizitätswerten und besonders „harten“ mastopathisch veränderten Gewebsarealen mit höheren Elastizitätswerten. Im Bereich der Sonderformen der malignen Tumoren ließ sich mit der Elastizität als Parameter keine Unterscheidung zu anderen Gewebeentitäten treffen. Hier kam es zu Überlappungen mit allen anderen Gewebsarten.

In-vitro Ergebnisse

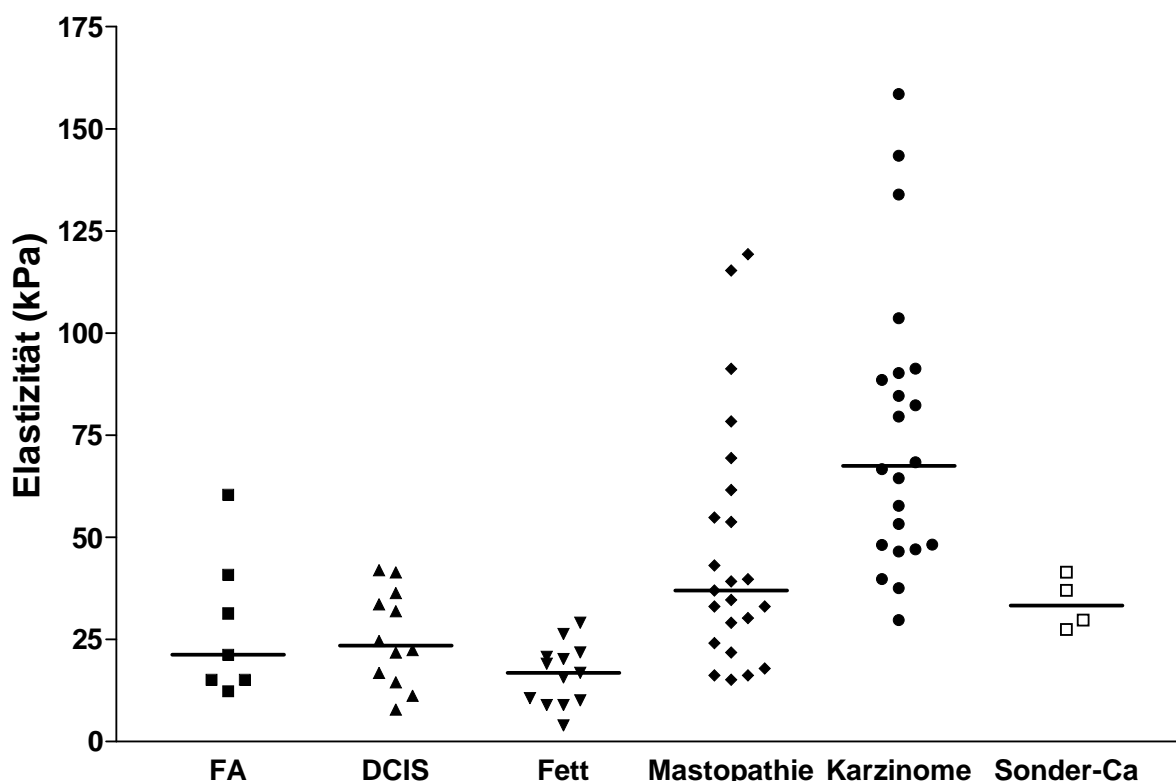


Abb.4 Darstellung der Elastizitätswerte der verschiedenen Gewebearten. Mit dem eingezeichneten Balken wird der Median der jeweiligen Gewebsart und ihrer Daten markiert (FA= Fibroadenom, DCIS= Duktales Carcinoma in situ, Sonder-CA= muzinöse, papilläre und tubuläre Karzinome)

In der Aufteilung der malignen Brusttumoren in ihre histologischen Eigenschaften und im anschließenden Vergleich untereinander zeigten sich der Median und Mittelwert der invasiv-duktaalen Karzinome mit 81 kPa bzw. 85 kPa (SD: 37; Standardfehler: 10) höher als bei den invasiv-lobulären Karzinomen mit einem Median von 57 kPa und einem Mittelwert von 60 kPa (SD: 26; Standardfehler: 9). Dieser Unterschied des Medians war allerdings aufgrund der großen Varianz der Werte nach dem Mann-Whitney-U-Test nicht signifikant ($p= 0,0946$). Die Tumorarten der Sonderformgruppe (muzinöse, tubuläre und papilläre Karzinome) waren signifikant weicher mit einem Median von 33 kPa (MW: 34 kPa; SD: 6, Standardfehler: 3) als die anderen beiden Tumorentitäten ($p= 0,0035$ versus invasiv-duktaale Karzinome und $p= 0,0485$ versus invasiv-lobuläre Karzinome).

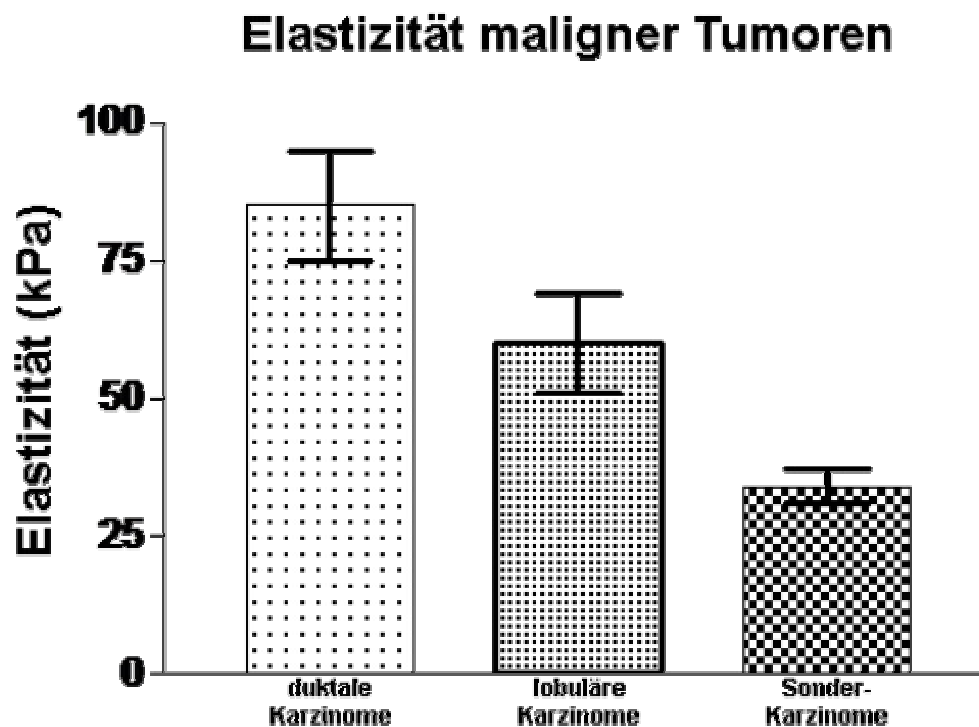


Abb.5 Darstellung der Mittelwerte der Elastizität der verschiedenen Tumorentitäten (Ductal-invasiv, lobuläre Karzinome und Sonderformen der Karzinome- tubuläre, papilläre und muzinöse) mit dem entsprechenden Standardfehler des Mittelwertes.

3.4 Histologischer Aufbau maligner Tumoren und ihre Elastizität

3.4.1 Methodik

Im zweiten Schritt der in-vitro-Untersuchungen sollten die histologischen Eigenschaften der verschiedenen Tumoren genauer untersucht werden.

Der histologische Aufbau von Gewebe kann mittels gängiger Färbeverfahren der Pathologie sowie anschließender Mikroskopie dargestellt werden. Dazu wurden vorhandene Großflächenparaffinblöcke herausgesucht, die zuvor in der Pathologie hergestellt worden waren. Bei 16 von 26 malignen Tumoren konnten dann jeweils zwei ergänzende repräsentative histologische Stufenschnitte von ca. 3-4µm mit dem Mikrotom angefertigt werden, die den gesamten Tumorquerschnitt gut abgebildet enthielten. Histologisch handelte es bei den 16 zu untersuchenden Tumoren um 9 invasiv-duktales Karzinome, 4 Karzinome vom invasiv-lobulären Typ, sowie jeweils ein muzinöses, ein tubuläres und ein papilläres Karzinom. Im Durchschnitt betrug die Tumorgröße 2,7cm (1,5-5,5cm).

Um die paraffinierten Großflächenschnitte färben zu können, müssen diese zuerst entparaffiniert werden. Dazu werden die Objektträger mit den Schnitten in Xylol gestellt, um anschließend über eine absteigende Alkoholreihe in destilliertes Wasser gebracht und abschließend mit den jeweiligen Farbstoffen gemäß der Färbereihe angefärbt zu werden.

Für die erste Färbereihe wurden 16 Großflächenschnitte mit Hämatoxylin-Eosin (H.-E.) gefärbt, die anderen 16 Schnitte mit dem Färbeverfahren nach Masson-Goldner. Die Hämatoxylin-Eosin Färbung ist die gebräuchlichste Standardfärbung in der Pathologie. Hämalan als einer der Färbebestandteile ist ein basischer Farbstoff und färbt saure Gewebebestandteile, wie z.B. Zellkerne mit DNA und RNA, blauviolett. Eosin ist ein saurer Farbstoff und führt zu einer roten Färbung des Zytoplasmas und zu einer rot-orangen Färbung der kollagenen Fasern. In einer zweiten Färbereihe wurden die anderen, noch unbehandelten, 16 Großflächenschnitte mit einer Trichrom-Färbung nach Masson-Goldner gefärbt. Diese Färbung besteht aus den

einzelnen Bestandteilen Eisenhämatoxylin/ Ponceau de Xylidine/ Orange G/ Säurefuchsin/ Azophloxin/ Lichtgrün. Mit dieser Färbung erreicht man, dass die Zellkerne braunschwarz gefärbt werden, während die kollagenen Fasern des Bindegewebes grün und das Zytoplasma rötlich zur Darstellung kommen. Nachdem die Färbereien abgeschlossen waren, wurden die gefärbten Großflächenschnitte entwässert und mit Kunstharz unter ein Deckglas gebracht.

Anschließend wurden die so angefertigten und gefärbten Schnitte im Konsensusverfahren mit einem ärztlichen Mitarbeiter der Abteilung für Gynäkopathologie (Priv. Doz. Dr. Riethdorf) des Universitätsklinikums Eppendorf beurteilt. In dieser mikroskopischen Beurteilung der gefärbten Präparate fand eine visuelle Einteilung des Großflächenschnittes statt.

Dabei wurden die prozentualen Anteile von vorhandenem Bindegewebe, der Tumorzellanteil mit seinen Tumornekrosen, sowie das Fettgewebes am untersuchten Tumorquerschnitt untersucht und notiert. Die prozentualen Anteile der einzelnen Gewebs- und Tumorkomponenten wurden mit Hilfe der linearen Regression im Verhältnis zur gemessenen Elastizität aus dem vorherigen in-vitro-Messexperiment analysiert.

3.4.2 Ergebnisse

In der mikroskopischen Auswertung zeigte sich, dass der Hauptanteil der Tumorregion überwiegend durch Tumorzellen und Bindegewebe ausgefüllt wurde. Bei einigen Tumoren fand sich im Zentrum und in Randbereichen neben einer geringeren Verteilung von Fett auch ein kleiner Anteil von Tumorzellnekrosefeldern. Die Abbildung 6 verdeutlicht die visuelle Aufteilung der Tumorregion in prozentualen Anteilen- der Anteil des Bindegewebes betrug im Median 45% (15-70%), der Anteil der Tumorzellen stellte sich mit 42,5% (25-75%) dar. Die in geringen Mengen an der zu untersuchenden Tumorregion beteiligten Anteile von Fett und Tumorzellnekrosen betrugen im Median 12,5% (0%-40%).

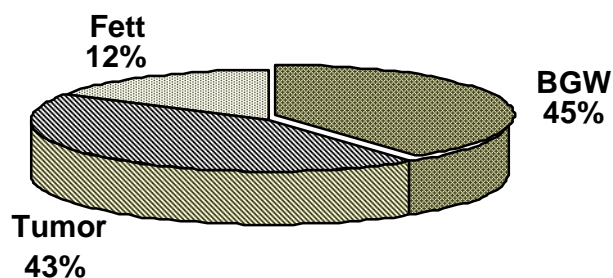


Abb.6 Prozentuale Verteilung der Tumorzellen und fetthaltigen Tumoranteile sowie des Anteils an Bindegewebe an den untersuchten Großflächenschnitten

Nach der visuellen Beurteilung sollte eine Vergleichsanalyse der gemessenen Elastizität und dem histologischen Aufbau durchgeführt werden. Hierzu wurden die relativen Anteile der einzelnen Tumorbestandteile (Tumorzellen, Fettgewebe, Bindegewebe) im Verhältnis zur gemessenen Gesamtelastizität des Tumors in den nachfolgenden Diagrammen dargestellt (Abb.7).

In der linearen Regressionsanalyse zeigte sich eine signifikante Korrelation zwischen dem prozentualen Bindegewebsanteil und der Elastizität des Tumors mit $p= 0,020$. Der Anteil der Tumorzellen, sowie des Fettgewebes, konnte keine signifikante Korrelation zur Höhe der gemessenen Elastizität nachweisen ($p= 0,685$ versus Tumorzellen und $p= 0,0799$ versus Fettgewebe).

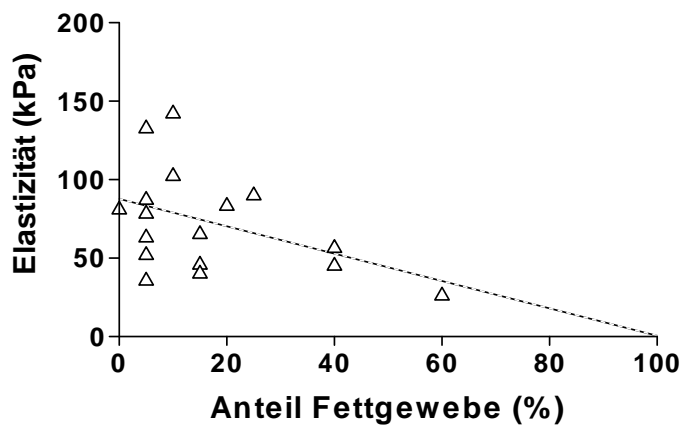
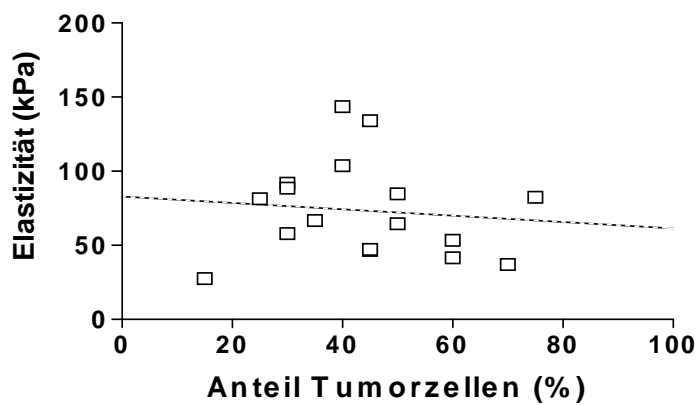
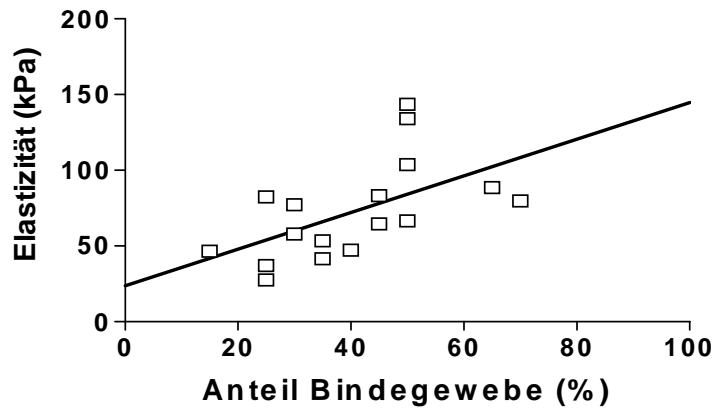
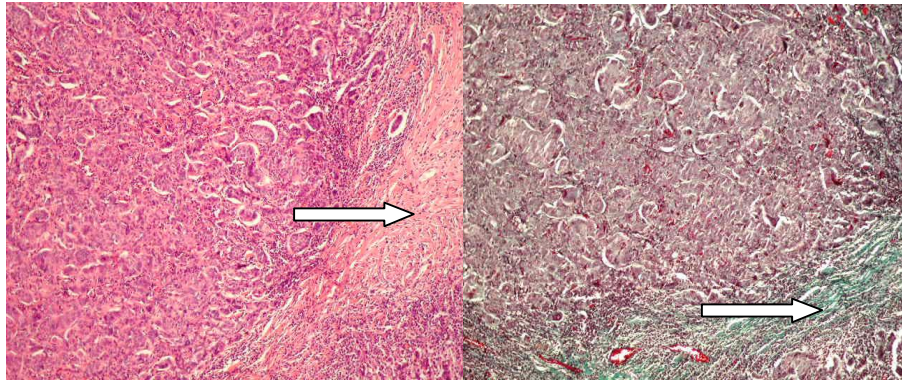


Abb.7 Diagramm der Elastizität der untersuchten invasiven Karzinome im Verhältnis zum relativen Anteil des Bindegewebes (Fibrose) an der Tumorregion (**Abb. oben**) und im Verhältnis zum Tumorzellanteil (**mittlere Abb.**) bzw. Fettgewebe (**Abb. unten**): Die gerade Linie stellt den Fit der linearen Regressionsanalyse dar. Nur die Korrelation aus dem Anteil des Bindegewebes am untersuchten Tumorexizidat und der gemessenen Elastizität war signifikant.

Die Abbildung 8 veranschaulicht zwei Präparate, die mit zwei unterschiedlichen Färbemethoden behandelt wurden, um so den Anteil an Bindegewebe und speziell den Kollagenanteil im Tumor und der Umgebung sichtbar zu machen.

a)



b)

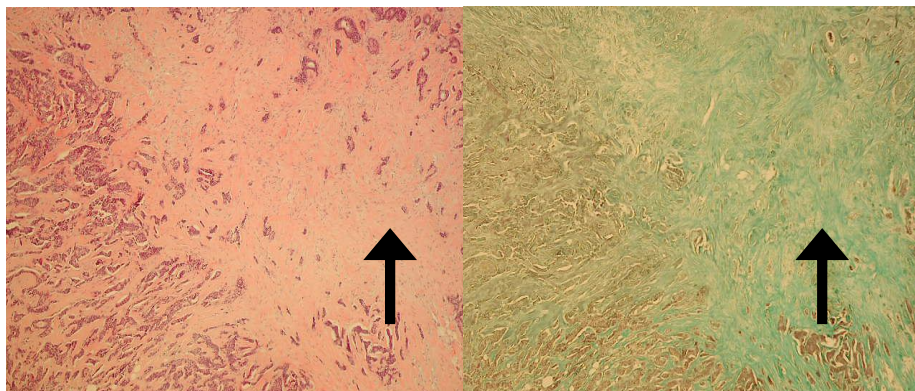


Abb.8 Histologischer Schnitt eines a) invasiv-duktales Karzinoms mit einer Elastizität von 28 kPa und b) invasiv-duktales Karzinoms mit einer Elastizität von 89 kPa. Dargestellt sind die HE-Färbung (linkes Bild) und die Trichrom-Färbung nach Masson-Goldner (rechtes Bild). **Bild a)** zeigt den deutlich geringen Anteil des BGWs in HE (offener Pfeil) mit der dazu passenden geringen Kollagenfärbung in der Masson-Goldner Färbung (grün). Dem gegenüber steht der sichtbare überwiegende Anteil an Bindegewebe (Pfeil) bei dem in **b)** dargestellten Karzinom, welches die Tumorregion mit faserreichem Kollagengewebe durchsetzt.

4. MR-Elastographie

4.1 Theoretische Grundlagen

Die Eigenschaften einer mechanischen Welle, d.h. die Amplitude und die Phase, werden durch die lokalen elastischen Eigenschaften des Gewebes bestimmt. Die lokale Abweichung der eingebrachten Welle in Hinblick auf ihre Länge und Amplitude ist Ausdruck der lokalen Härte bzw. Elastizität des Brustgewebes. Die Einkopplung der mechanischen Welle in das Gewebe führt zu einer Vibration des Gewebes in einer Größenordnung von 30-400µm. Diese diskreten Bewegungen des Gewebes sind ausreichend, um von einer bewegungssensitiven MR-Sequenz gemessen zu werden (Abb.9a+b).

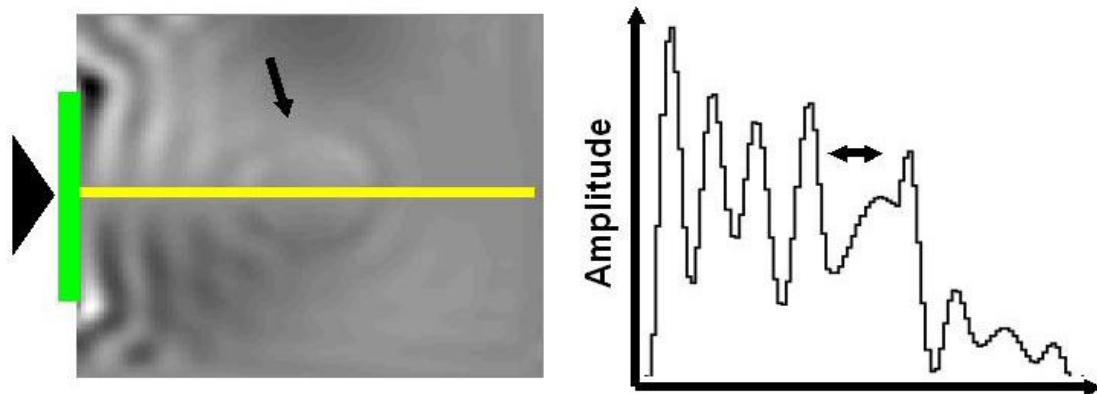


Abb.9 a) MR-Phasenbild eines MR-Experimentes mit einem Phantom aus Polyvinylalkohol. Eingeschlossen ist eine umschriebene Verhärtung (Pfeil). Die Ausbreitung der mechanischen Welle vom Punkt der Anregung des Oszillators (grüner Balken) in die Peripherie ist gut abgrenzbar.

b) Analysiert man die Ausbreitung der Welle entlang der gelben Linie, so kommt es zum Einen zu einer Änderung der Wellenlänge im Bereich der Verhärtung (Doppelpfeil) und zum Anderen, bedingt durch die Läsion und die Dämpfung der Welle im Gewebe, zu einer Abnahme der Amplitude mit zunehmender Entfernung vom Oszillator.

Dieser Schritt wurde über einen Messaufbau realisiert, der es ermöglichte, mittels eines in die MR-Spule integrierten Oszillators mechanische sinusförmige Wellen in die Brust einzubringen und anschließend anhand spezieller phasensensitiver MR-Sequenzen die Ausbreitung der Welle im Gewebe zu bestimmen. Die Ausbreitung mechanischer Wellen in komplexen viskosen Medien (wie z.B. Gewebe) wird physikalisch durch eine partielle Differentialgleichung beschrieben, d.h. die lokalen Eigenschaften der Welle werden über Materialkonstanten (Dichte, Kompressibilität, Dämpfung und Elastizität) mit den Eigenschaften der Welle in der nächsten Nachbarschaft in Verbindung gesetzt. Nimmt man die beiden ersten Größen im Gewebe als konstant an (d.h. Dichte und Kompressibilität), ist es möglich, bei bekannter Wellenausbreitung auf die Dämpfung sowie die Elastizität zurückzuschließen.

4.1.1 Rekonstruktion

In der dynamischen MRE werden die sinusförmigen mechanischen Wellen mit einer Frequenz von 65Hz mittels eines Oszillators in das zu untersuchende Gewebe eingebracht. Wie bei einem Stein, der ins Wasser geworfen wird, übertragen sich die Schwingungen auf die Brust, die dadurch leicht vibriert. Diese Untersuchung dauert etwa fünfzehn Minuten.

Kurz nach Einsetzen der mechanischen Vibration kommt es zu komplexen Wellenausbreitungsphänomenen innerhalb des Gewebes. Um das Rekonstruktionsproblem zu vereinfachen, beginnt die Bildgebungssequenz erst ca. 2 Sekunden nach Einsetzen der mechanischen Oszillation. Dieser Zeitbereich ist notwendig, um eine stationäre Wellenausbreitung während der Bildaquisition zu erreichen. Mit Hilfe von oszillierenden Magnetfeldgradienten kommt es zu Phasenverschiebungen der Spins jedes Bildelements (Voxel) der angeregten MR-Schicht im Verhältnis zur Amplitude und Phase der mechanischen Welle. Durch die Hilfe einer phasenstabilen MR-Datenaquisition kann dann eine Momentaufnahme der sich bewegenden Welle innerhalb einer Schicht gezeigt werden [5]. Die Rekonstruktion wird in Abbildung 10 schematisch dargestellt.

Durch acht unterschiedliche Messzeitpunkte der MR-Sequenz ergibt sich daraus ein unterschiedliches MR-Phasenbild für jeden einzelnen Punkt zu einem definierten Zeitpunkt. Um die viskoelastischen Parameter des Gewebes zu berechnen, erfordert dies die Invertierung des Differentialgleichungssystems. Die mittels der MRE erzeugten Bilder sind somit rein synthetisch und werden indirekt aus den Charakteristika der Wellenausbreitung abgeleitet, wobei die MRT der Messung der Welle dient. In diesem Phasenbild zeigt sich somit zu einem bestimmten Zeitpunkt ein Abbild der lokalen Schwingung der mechanischen Welle im Gewebe an genau diesem Bildpunkt.

Rekonstruktion

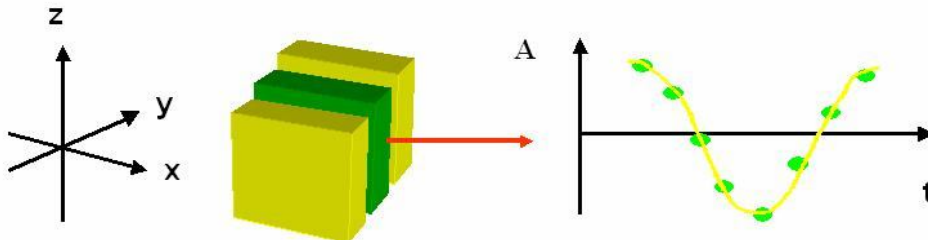


Abb.10 Schematische Darstellung des Rekonstruktionsprinzips: Mit der entwickelten MR-Sequenz wird ein Stapel von angrenzenden Schichten von jeweils 2,5 mm Schichtdicke angeregt. Diese erfolgt entsprechend des gewählten bewegungssensitiven MR-Gradienten in den drei Raumrichtungen (z, y, x). Durch unterschiedliche Zeitverzögerung des Starts der MR-Sequenz im Verhältnis zur mechanischen Anregung des Oszillators werden 8 MR-Phasenbilder einer jeden Schicht erstellt.

Aus diesen verschiedenen acht MR-Phasenbildern können jetzt durch Fourier-Transformation die Frequenz und Amplitude der Schwingung eines jeden Pixels rekonstruiert und per nachgeschalteter Rekonstruktionssoftware zusammengerechnet werden, um aus diesen Daten das Elastizitätsmodul für die unterschiedlichen Schichten zu berechnen [6, 24].

4.2 Messaufbau

4.2.1 Aufbau des MR-Tomographen

Für die Untersuchungen stand ein 1,5 Tesla Hochfeldmagnet zur Verfügung (ASC-NT, Philips Medical Systems), der mit einem Powertrak 6000 System ausgestattet war, welches eine Gradientenfeldstärke von 23mT/m in 0,2ms besitzt. Die Ausbreitung der mechanischen Welle im Brustgewebe wird mit einer so genannten bewegungssensitiven MR-Sequenz dargestellt.

Die Differenz zur Standard Spinechosequenz ist die Verwendung von sinusförmigen Gradienten. Deshalb wurde die Produktsoftware insofern modifiziert, als dass es möglich war, neben trapezoidförmigen bewegungskodierenden Gradienten, wie sie zum Beispiel bei diffusionsgewichteten MR-Sequenzen verwendet werden, auch sinusförmige Gradienten vom System erkennen zu lassen.

Die Abbildung 11 zeigt eine Übersicht über die sinusförmigen Gradienten, den zeitlichen Ablauf, sowie die MR-Sequenz.

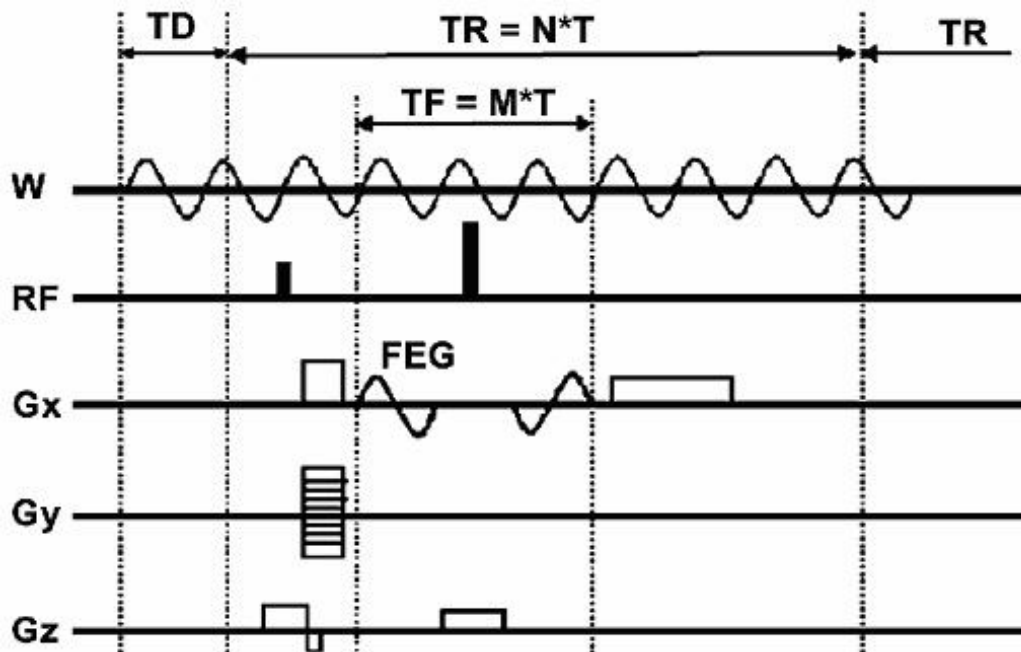


Abb.11 Die Ausbreitung der mechanischen Welle (W) im Brustgewebe wird mit einer so genannten bewegungssensitiven MR-Sequenz dargestellt. Einzige Änderungen gegenüber der Standard Spinechosequenz sind die sinusförmigen Gradienten (FEG: flow encoding gradients) vor und hinter dem 180-Grad Radiofrequenzpuls (RF). Der zeitliche Ablauf (T) der MR-Sequenz muss dabei auf die Besonderheiten des MRE Experimentes abgestimmt werden. Die Bildgebungssequenz muss eine Repetitionszeit (TR) aufweisen, welche ein ganzzahliges Vielfaches ($TR=N \cdot T$) der Anregungsfrequenz ($TF=M \cdot T$) ist. Dadurch ist die Bildgebung phasenstabil zur mechanischen Anregung. Dies ermöglicht es, die mechanische Welle zu einem definierten Zeitpunkt innerhalb der Schwingungsperiode abzubilden und durch definierte Verschiebung des Messzeitpunktes (TD) eine dynamische Darstellung der Schwingung eines jeden Voxel zu erhalten. Die Wahl des Gradientenkanals (Gx, Gy und Gz) bestimmt, welche räumliche Komponente der mechanischen Welle gemessen wird.

5. Menstruationszyklus und Elastizität

In diesem zweiten Teil der Arbeit, der in-vivo-Studie, sollte die Elastizität des gesunden Brustgewebes prämenopausaler Frauen unter physiologischen hormonellen Veränderungen untersucht werden.

Die bisherigen Studien zur MRE hatten sich mit der Detektion von Unterschieden in der Elastizität bei gut- und bösartigen Tumoren befasst. Dabei konnte bisher gezeigt werden, dass mit Hilfe der Elastographie Unterschiede in der Elastizität von in-vitro-Brustgewebe deutlich gemacht werden können. Es sollte nun untersucht werden, ob und in wieweit eine Veränderung der Brustgewebselastizität während des monatlichen Menstruationszyklus unter in-vivo-Bedingungen nachzuweisen und evtl. für weitere Studien mit der MRE zu berücksichtigen ist.

Um die Elastizität von Brustgewebe mittels Magnetresonanztomographie zu messen, wurde zu Beginn des MR-Elastographie-Projektes ein Messaufbau entwickelt, der es ermöglichte, mit Hilfe der bekannten MR-Spulen mechanische Wellen in das Brustgewebe zu leiten. Dieser Messaufbau wird im Weiteren unter Punkt 5.2.1 beschrieben.

5.1 Theoretische Hintergründe

5.1.1 Hormonell-physiologische Regelkreisläufe

Dem monatlichen Menstruationszyklus einer Frau liegt ein Regelkreis zugrunde, der sich aus einer Verbindung zwischen Hypothalamus, Adenohypophyse und Ovarien zusammensetzt. Diese drei Organe interagieren über einen hormonellen Feed-Back-Regelkreis miteinander.

Durch die pulsatile Freisetzung des Gonadotropin-Releasing-Hormon (GnRH) aus dem Hypothalamus wird die Synthese, Speicherung und eine ebenfalls pulsatile Ausschüttung der Gonadotropine FSH (Follikelstimulierendes Hormon) und LH (Luteinisierendes Hormon) aus der Adenohypophyse induziert. Diese pulsierende Ausschüttung ist insofern wichtig, um eine Desensibilisierung der Rezeptoren an der Hypophyse zu verhindern.

Der physiologische Menstruationszyklus läuft in 28 Tagen mit einer Schwankungsbreite von +/- 3Tagen ab und kann in vier Phasen eingeteilt werden: Die Follikelphase (frühe, mittlere und späte Follikelphase), die ovulatorische Phase, die Lutealphase und die Menstruationsphase.

Die erste Zyklushälfte (1-12 Tag), auch Follikel- oder Proliferationsphase genannt, ist charakterisiert durch einen progressiven Anstieg des Östradiol-17 β im Serum, welches von den heranreifenden Follikeln produziert wird. FSH stimuliert das Follikelwachstum, so dass nach Ausreifen mehrerer Follikel ein selektierter dominanter Follikel heranwächst mit ansteigender Östradiolproduktion. Durch einen negativen Feed-back-Mechanismus kommt es zur Unterdrückung der FSH-Sekretion und Atresie der anderen Follikel, zugleich erfolgt ein langsamer Anstieg des LH-Spiegels. In der Zyklusmitte, zwischen dem 10-14 Tag, wird durch eine ausreichend hohe Östradiol-Konzentration ein LH-Peak hervorgerufen, der zur Ovulation nach ca. 24 Stunden führt. Nach der Ovulationsphase (13-15 Tag) kommt es zur Bildung eines Corpus luteum (Gelbkörper), welches aus dem Rest des Follikels entsteht. Das Corpus luteum produziert das Hormon Progesteron, welches seine höchste Konzentration am 7-8 Tag nach der Ovulation erreicht und neun bis elf Tage post ovulationem schnell abfällt.

Die Lutealphase ist gekennzeichnet durch den Übergang der östrogendominanten Follikelphase in die Progesterondominanz und dauert ca. 14 Tage. Das Progesteron führt am Endometrium des Uterus zu einer vermehrten Sekretion, weshalb diese Phase auch als Sekretionsphase (16-28 Tag) bezeichnet wird. Zwei Tage vor der einsetzenden Menstruation beginnt der Zeitpunkt der menstruellen Phase mit folgendem Anstieg des FSH und wiederum beginnender Rekrutierung der Follikel für den nachfolgenden Zyklus.

5.1.2 Physiologie der Brustdrüse

Die Brustdrüsen, Glandulae mammae, sind bei beiden Geschlechtern vorhanden. Bei weiblichen Individuen unterliegen sie ab der Pubertät zyklusabhängigen Veränderungen und einem vermehrten Wachstum. Anatomisch besteht die weibliche Brust bei erwachsenen Frauen aus einer Zusammensetzung von Brustdrüsenparenchym, Fett und Bindegewebe.

Die Brustdrüse ist aus 15-20 Läppchen aufgebaut. Die Ausführungsgänge jedes Läppchens, die so genannten Milchgänge, münden in die Brustwarze (Mamille). Der Bindegewebsapparat, der die Brustdrüse umkleidet und einzelne Nachbardrüsen voneinander trennt, wird als Stroma bezeichnet und besteht zum Einen aus zellreichem Bindegewebe, sowie zum Anderen aus straffen septenartigen Bindegewebssträngen und verleiht der Brust so ihre Form und Festigkeit. Bindegewebsfasern können als Kollagenfasern, als retikuläre Fasern und als elastische Fasern auftreten; dabei sind die Kollagenfasern die am Häufigsten vorkommenden Bindegewebsfasern.

Die Länge von Kollagenfasern wird durch den jeweils ausgeübten Spannungszustand bestimmt: Wird über längere Zeit die Spannung erhöht, werden die Kollagenfasern länger- dies gilt auch für die umgekehrte Vorgehensweise. Elastische Fasern können als elastisch verzweigtes Netz oder als elastisches Band auftreten und kommen häufig zusammen mit Kollagenfasern im Stroma von Organen vor. Charakteristisch sind neben dem Bindegewebe die Interzellularräume, die mit amorpher Grundsubstanz gefüllt sind und dem lockeren Bindegewebe die Fähigkeit geben, Wasser zu speichern.

Die tubulären (röhrenförmigen) Milchgänge sind mehrfach verzweigt und haben je nach Durchmesser ein- bis zweischichtiges Epithel. Im Zuge des prämenstruellen hormonellen Östrogenanstiegs können sich die Milchgänge reversibel verlängern und parallel mit einer vermehrten Hydratation der Bindegewebszellen zu einer Volumenzunahme für diesen Zeitraum führen. Dieser theoretische Hintergrund wird durch den klinischen Bericht vieler Frauen unterstützt, die besonders prämenstruell über ein Spannungsgefühl der Brüste berichten. Vornehmlich in der zweiten Zyklushälfte, in der

Lutealphase, tritt dieses Spannungsgefühl beider Mammae bei ca. 50% der Frauen auf, welches aus einer Größenzunahme der weiblichen Brust durch Gewebswassereinlagerung von ca. 15-40ml in dieser Zyklushälfte resultiert [25].

5.2 Material und Methoden

5.2.1 Patientenbrücke und Oszillator

Die Firma Philipps, Hamburg, hat diesen Messaufbau entwickelt und gebaut und uns dankenswerter Weise für diesen Teil des Projekts zur Verfügung gestellt. Die Messungen für diese Studie wurden in den Räumen der Firma Philipps durchgeführt. Für die Untersuchung wurde ein 1,5-Tesla Kernspintomograph (ACS-NT; Philips Medical Systems) benutzt unter Verwendung einer MR-Spinesequenz mit TR: 500ms, TE: 45ms, FOV: 102mm, Matrix 64x 64.

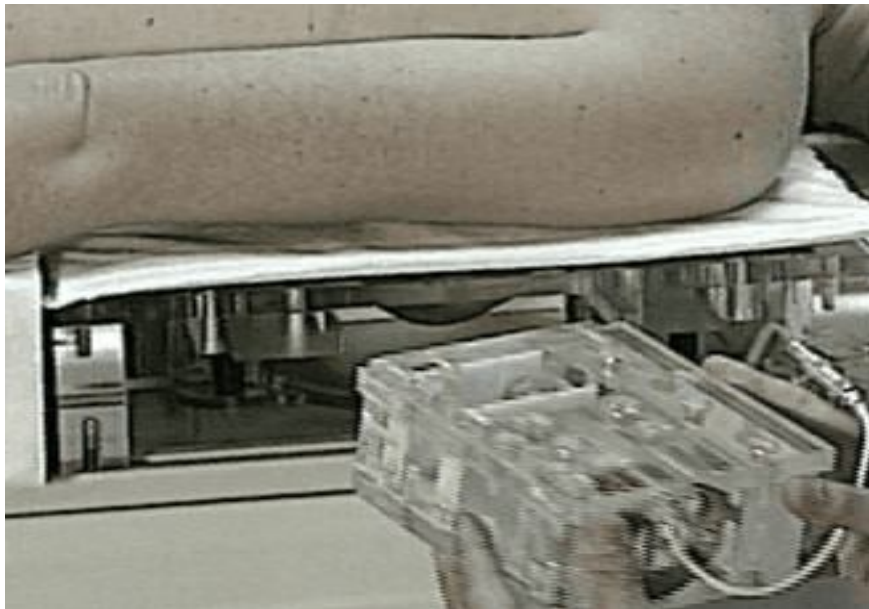


Abb. 12 Aufbau der Patientenbrücke

Wie in Abbildung 12 und schematisch in Abbildung 13 dargestellt, befanden sich die Probandinnen während der Messung in Bauchlage, wobei die Arme jeweils seitlich am Körper positioniert sind und der Kopf zur Seite gedreht liegt. Bei allen Probandinnen wurde die rechte Brust während dieses Projektes untersucht. In Abbildung 12 kann man erkennen, wie der Oszillator positioniert wird, eine weitere Darstellung des Oszillators innerhalb der MRE-Brücke findet sich in Abb.13.

Die MR-Brustuntersuchungseinheit, in der die beiden Mammae frei nach unten hängend positioniert sind, findet sich auf Höhe der weiblichen Brust. In diese Brustuntersuchungseinheit sind eine MR-Empfangsspule sowie ein Oszillator integriert. Die MR-Empfangsspule besteht insgesamt aus 4 Einzelsynergiespulen, wodurch es durch diesen Synergiebetrieb möglich ist, entweder alle Spulen gleichzeitig oder nur die einer Seite anzusprechen. Die 4 Spulen gliedern sich in 2 brustwandnahe Spulen, mit einem Durchmesser von 20cm, sowie zwei untere Spulen, die mamillennah positioniert sind, mit einem Durchmesser von je 13cm. Durch die Möglichkeit, die einzelnen Spulen entkoppelt voneinander zu benutzen, zeigen sich Vorteile zum einen im höheren Signal-zu-Rausch-Verhältnis sowie zum anderen in einer geringeren Anfälligkeit gegenüber Flussartefakten. Mit Hilfe des Oszillators wurden mechanische Wellen in das Brustgewebe eingekoppelt. Der Vorschub des Oszillators an die jeweilige Brust wurde für jede Probandin dokumentiert, um so für jede Messung den gleichen Ausgangsstatus zu haben.

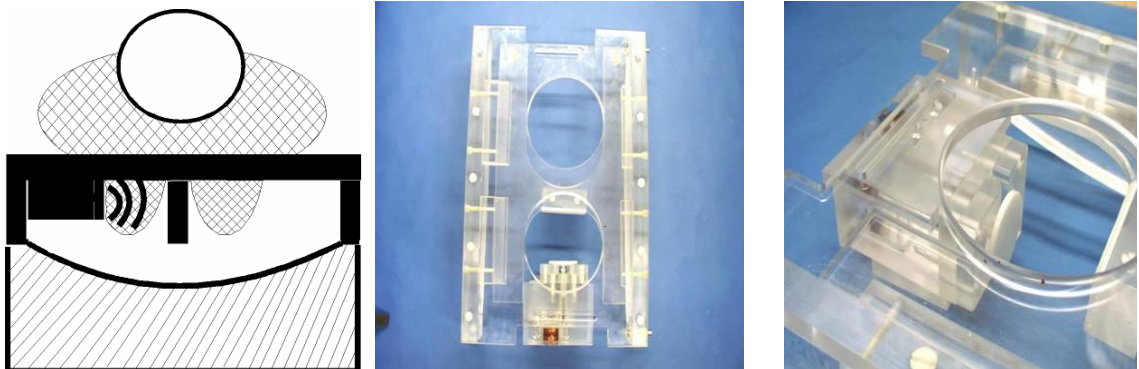


Abb. 13 zeigt schematisch den Messaufbau sowie die MRE-Brücke. Die Patientin befindet sich in Bauchlage mit den Armen seitlich am Körper, wobei beide Mammae frei nach unten hängen. Der die mechanischen Schwingungen erzeugende Oszillator wird seitlich leicht gegen die zu untersuchende Brust gedrückt und bringt niederfrequente mechanische Wellen in die Brust ein.

Der Oszillator wird mittels eines Pulsgenerators und eines Verstärkers angetrieben, die wiederum vom Spektrometer des Kernspintomographen gesteuert werden. Die Anregungsfrequenz des Oszillators liegt im niederfrequenten Bereich zwischen 50 und 100Hz, da höhere Frequenzen zu einer zunehmenden Dämpfung der mechanischen Welle im Gewebe führen. Die Konsequenz daraus wäre, dass das Gewebe nicht mehr vollständig durchdrungen und Läsionen, die weiter entfernt liegen, somit nicht mehr vollständig erfasst werden könnten. In den bisher durchgeführten Messungen wurde eine Frequenz von 65Hz gewählt. Die gewählte Frequenz von 65Hz resultiert aus dem Kompromiss zwischen gewünschter kleiner Wellenlänge (also hoher Frequenz) und tiefer Penetration. Durch Dispersionseffekte bei der Dämpfung wird gerade die Penetration bei Erhöhung der Frequenz immer geringer, da die Dämpfung wächst. Die Anregung des Gewebes mit dem Oszillator erfolgte über die longitudinale Ausrichtung, um damit ein Maximum der Amplitude der eingekoppelten Wellen von ca. 400 μ m unmittelbar am Ansatz des Oszillators an der Brust zu erreichen. Dies ist in der Abbildung 14a zu erkennen. Durch die natürliche Dämpfung des Gewebes erfolgt eine Abnahme der Amplitude im Verlauf mit zunehmender Entfernung vom Oszillator exponentiell bis auf 30 μ m, wie in Abb. 14b dargestellt.

Eine bewegungssensitive Spin-Echo-Sequenz ermöglichte die Rekonstruktion der lokalen Gewebeelastizität anhand der MR-Phasenbilder zu unterschiedlichen Zeitpunkten der mechanischen Welle.

Pro Messung waren im Schnitt 20 Minuten zu veranschlagen, davon entfielen 15 Minuten auf die Datenaquisition und 5 Minuten auf das Kontrollieren des Messaufbaus und das korrekte Positionieren der Probandin.

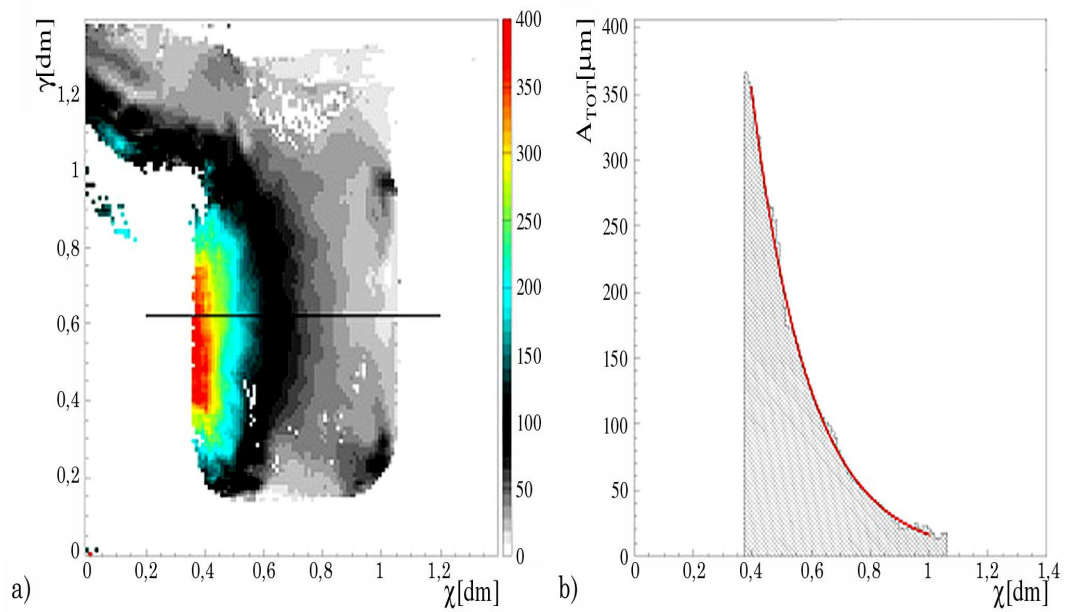


Abb.14 Darstellung der Amplitude der mechanischen Welle im Brustdrüsengewebe:
a) Im Bereich der Anregung der Brust durch den Oszillator (links im Bild) ist im Anregungszentrum eine Amplitude von ca. 400 μm abzugrenzen (siehe Farbskalierung). Die Dämpfung des Gewebes führt zu einer raschen Abnahme der Amplitude der Welle im weiter entfernten Gewebe.
b) Die Abnahme der Anregung lässt sich in einem exponentiellen Verlauf darstellen.

5.2.2 Patienten

Für diesen Teil des MRE-Projektes wurden fünf gesunde Probandinnen im Alter zwischen 26 und 36 Jahren (Durchschnittsalter: 28 Jahre) mittels der MR-Elastographie untersucht. Nach Zustimmung durch das lokale Ethikkomitee erfolgte die Auswahl dieser fünf gesunden Probandinnen, die, allesamt informiert über dieses Projekt, ihre Zustimmung bestätigten. Auschlusskriterien waren die Einnahme von hormonellen Kontrazeptiva, eine aktuelle hormonelle Behandlung, Schwangerschaft, bekannte Erkrankungen der Brust in der Eigenanamnese sowie Erkrankungen, die den Einsatz von MRT unmöglich machen würden (z.B. Herzschrittmacher, Metall-Implantate, Klaustrophobie). Die Untersuchung der Probandinnen erfolgte einmal wöchentlich über einen Zeitraum von 9 Wochen und somit insgesamt an 2 aufeinander folgenden Menstruationszyklen jeder Probandin. Von jeder Probandin wurde zu Beginn des Projektes der Beginn der Regelblutung, und damit der Anfang eines neuen Menstruationszyklus, protokolliert und dokumentiert.

5.3 Analyse der Daten

Die Messungen wurden zu jedem Zeitpunkt von den Probandinnen gut vertragen. Während und nach den Untersuchungen waren keinerlei Hautaffektionen, Rötungen oder Schmerzen aufgetreten, es wurde einzig während der Untersuchung das Vibrieren des Oszillators an der Brust bemerkt, welches aber nicht als störend empfunden wurde.

Zur Auswertung wurden anhand der T1-gewichteten-MR-Bilder der MRE-Sequenz repräsentative Regionen des Drüsenparenchyms (normales Gewebe als auch retromamilläres Gewebe) sowie fetthaltiges Brustgewebe ausgewählt. Die Elastizität des Gewebes wurde mit Hilfe einer „region-of-interest“ (ROI) der Auswertungssoftware analysiert, mit der es möglich war, aus jeder der gemessenen sieben Schichten für das jeweilige Gewebe, die mittlere Elastizität zu bestimmen. Da die Probandinnen alle einen unterschiedlich langen Menstruationszyklus hatten, wurde ein hypothetischer 28-Tage-Zyklus eingeführt und die gemessenen Elastizitätswerte auf diese Zeitlänge normiert. Dies ermöglichte es, die Daten aller Probandinnen miteinander zu vergleichen. Die Einteilung dieses hypothetischen Zyklus erfolgte in fünf gleiche Zeitspannen à 5,6 Tagen. Zusätzlich hatte jede Probandin aufgrund ihrer individuellen Brustgewebsarchitektur und der jeweilig unterschiedlichen Zusammenstellung ihres Brustgewebes eine differente physiologische Ausgangsbasiselastizität. Für den Vergleich der gemittelten Elastizitätswerte mussten die Elastizitätsdaten normiert werden. Die Elastizitätswerte jeder Probandin im ersten Teil des Zyklus (Tag 0-5,6) wurden deshalb als Basiselastizität gesetzt. Die Änderungen der Elastizität im weiteren Verlauf des Zyklus konnte dann in Relation zu diesem Normierungswert berechnet werden. Es folgte eine Mittelung der so berechneten relativen Elastizitätswerte für die verschiedenen Zyklusphasen von allen fünf Probandinnen. Zur statistischen Auswertung der Elastizität für die fünf unterschiedlichen Zeitspannen erfolgte eine Analyse mit Hilfe des Mann-Whitney-U-Tests aus der Gruppe der verteilungsunabhängigen Signifikanztests. Eine Signifikanz wurde bei einem p-Wert von $<0,05$ angenommen.

5.4 Ergebnisse

Zur Darstellung der erhobenen Daten wurde ein normierter 28-Tage Menstruationszyklus verwendet. In der Auswertung der gemessenen Werte und errechneten Ergebnisse der Gewebselastizität zeigte sich bei allen fünf Probandinnen ein ähnlicher zyklischer Verlauf über die zwei beobachteten Menstruationszyklen. Dabei konnte immer wieder ein prämenstrueller Anstieg der Elastizität beobachtet werden, der gefolgt war von einem Abfall der Elastizität nach Abschluss der Menstruation (Abb.15, 16).

Nicht nur die gemessenen Werte zeigten prämenstruell einen starken Anstieg der Elastizität des Drüsenparenchyms, auch in der Betrachtung der MRE-Bilder, die von den Probandinnen aufgenommen worden waren, ließen sich, anhand der seitlichen Farbkodierung (in kPa), eine deutliche Zunahme der Elastizität und damit der Härte des Drüsenparenchyms um den 20.Zyklustag dokumentieren. Dies wird in der hier dargestellten Abbildung 15a+b veranschaulicht.

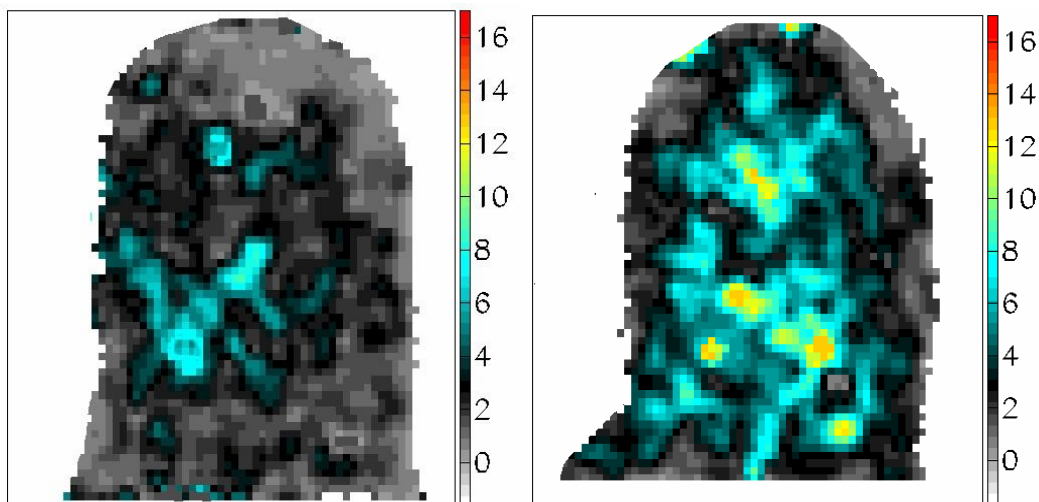


Abb.15 a) Darstellung der Elastizitätsverteilung des Drüsenparenchyms einer Probandin am 6. und **b)** am 20. Tag des Menstruationszyklus. Am 6. Tag ist eine deutlich geringere Elastizität bzw. Härte des Drüsenparenchyms im Vergleich zu dem prämenstruellen Abschnitt des Zyklus (Farbkodierung in kPa) abzugrenzen.

Fünf Tage nach dem Einsetzen der Menstruation (Tag 0-5,6; Median und Mittelwert (MW) der relativen Elastizität: 0%, Standardfehler des Mittelwertes (SE): 6%; Standardabweichung (SD): 17%) zeigte das Drüsenparenchym bei allen Probandinnen eine signifikante Abnahme ($p=0,010$) der Elastizität in der zweiten Zykluswoche (5.6-11.2 Tag) mit einer Abnahme des Medians der relativen Elastizität von -29% (MW: -31%; SE: 6%; SD: 18%) im Vergleich zu dem menstruellen Untersuchungszeitraum. Abbildung 16 stellt diesen zyklischen Verlauf dar, der im Weiteren einen signifikanten Anstieg ($p=0,028$) der Elastizitätswerte des Drüsenparenchyms in den Tagen 11-22 im Vergleich zur zweiten Zykluswoche zeigte.

In engeren Zeitintervallen betrachtet ergab sich für den Zeitraum der Tage 11,2-16,8 ein Anstieg von 35% (MW: 27%; SE: 18%; SD: 51%) sowie während der Zyklustage 16,8-22,4 ein Anstieg von 19% (MW: 29%; SE: 20%; SD: 57%) in der Elastizität bzw. der Härte des untersuchten Drüsenparenchyms. In dem Bereich der prämenstruellen Tage (Tag 22,4-28) ließ sich eine erneute Abnahme der relativen Elastizität mit einem Median von 11% (MW: 7%; SE: 9%; SD: 30%) dokumentieren. Diese gemessenen Werte unterschieden sich nicht mehr signifikant zu den Werten, die während der Menstruation gemessen worden waren.

Menstruationszyklus einer Probandin

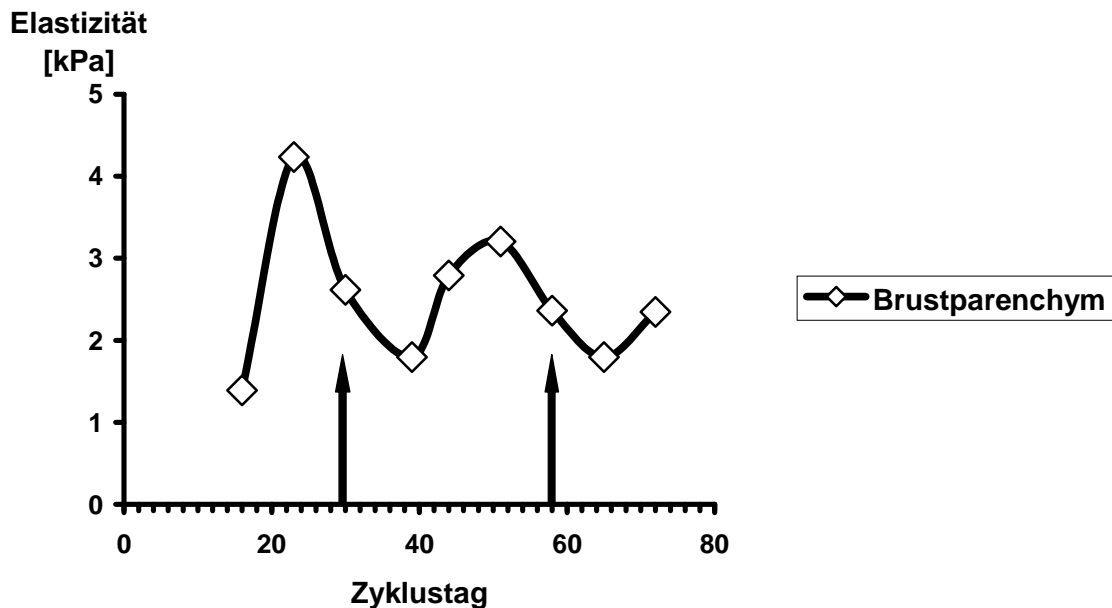


Abb.16 Diagramm des Verlaufs der absoluten Elastizitätswerte in kPa einer Probandin über zwei Menstruationszyklen. Der schwarze Pfeil markiert das jeweilige Einsetzen der Menstruation.

Während das Brustdrüsenparenchym, wie in Abbildung 17 zu sehen, einen signifikanten Verlauf der Elastizität zeigt, demonstriert die Abbildung 18, dass sich im Gegensatz dazu für den Fettanteil des Brustgewebes kein eindeutiger zyklischer Verlauf der Elastizität während des Menstruationszyklus darstellen lässt. Die Elastizitätswerte des fetthaltigen Gewebes zeigten eine weniger deutliche und nicht signifikante Abnahme von -12% (MW:-15%; SE: 4%; SD: 12%) in der zweiten Zykluswoche im Vergleich zur perimenstruellen Basiselastizität (Abb.18).

Nach der diskreten Abnahme der Elastizität in der zweiten Zykluswoche stieg der Median der relativen Elastizität auf -1% (MW: 6%; SE: 11%; SD: 32%) während der Zyklustage 16,8-22,4. Diese Werte unterschieden sich aber nicht signifikant zu den Bereichen der Zyklustage 11,2-16,8 (Median: -13%; MW: -4%; SE: 11%; SD: 32%) und der Tage 22,4–28 (Median: -1%; MW: 1%; SE: 10%; SD: 30%).

Brustdrüsenparenchym

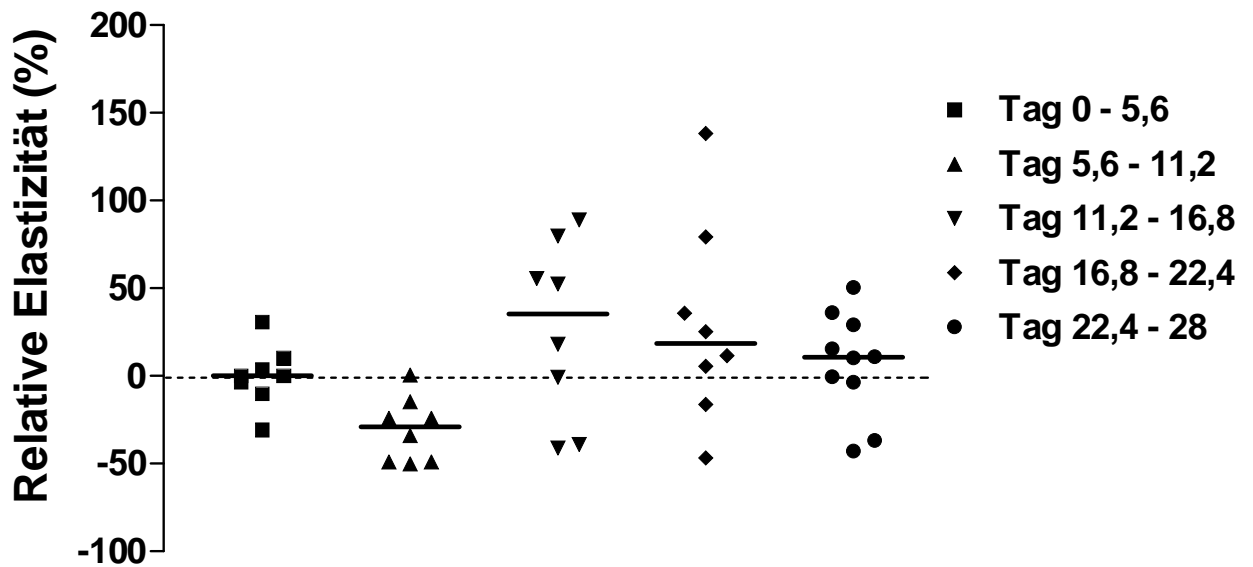


Abb. 17 Ein normierter 28-Tage-Menstruationszyklus ist auf der x-Achse gegen die relative Änderung der Elastizität des Brustparenchyms der Probandinnen auf der y-Achse aufgetragen. Der horizontale Balken repräsentiert den Median der jeweiligen Datenkolonne.

Fetthaltiges Brustdrüsengewebe

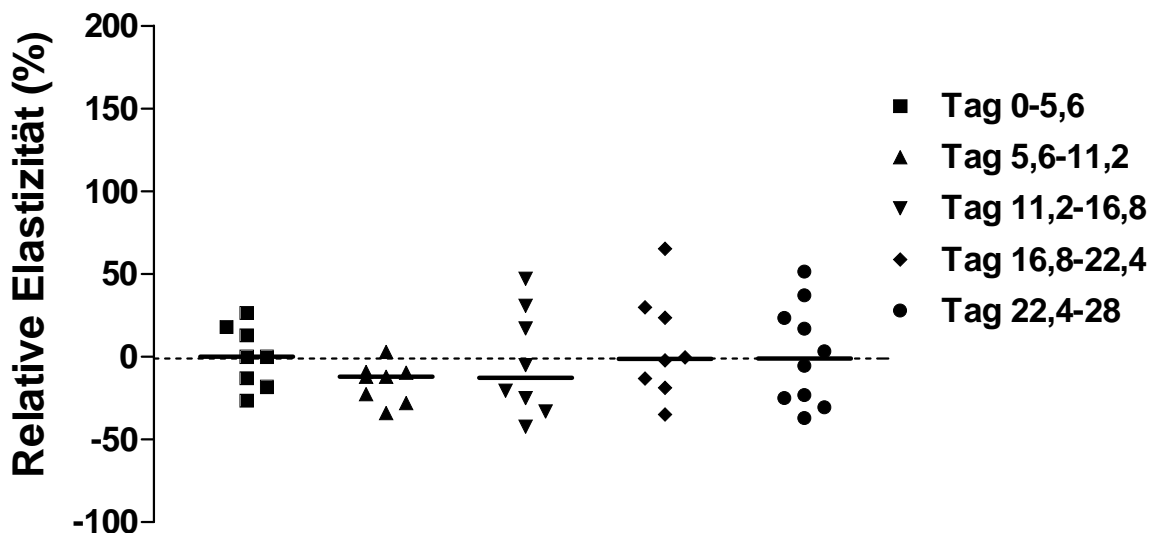


Abb. 18 Relative Änderung der Elastizität des fetthaltigen Brustgewebes der Probandinnen während eines normierten 28-Tage-Zyklus

6. Diskussion

6.1 Grundlagen

Die Untersuchungen der vorliegenden Arbeit beschäftigen sich mit dem physikalischen Parameter der Elastizität. Die Elastographie ist in der Lage, bei einer großen Bandbreite des Elastizitätsmoduls für unterschiedliche Gewebetypen, die diversen Elastizitätseigenschaften der Organe abzubilden. In Kombination mit der Ultraschalluntersuchung gibt es diese Methode bereits schon länger. Herkömmliche Ultraschalluntersuchungen der Brust wurden mit der Elastographie als ergänzende Bildgebung schon in einem Untersuchungsschritt kombiniert, diese Ergebnisse konnten durch Garra *et al.* 1997 veröffentlicht werden [26]. Diese untersuchten in ihrer Studie sechszwanzig bereits exzidierte, histologisch klassifizierte, Brustläsionen, wovon ein Viertel davon auf Karzinome, ein Viertel auf Fibroadenome, sechs zystische Veränderungen sowie der Rest auf sonstige gutartige Gewebsveränderungen entfiel. Sie kamen in ihren Auswertungen zu dem Schluss, dass gerade indifferente Bereiche von schattengebenden oder sehr hellen Prozessen im Ultraschall mit der Elastographie viel versprechend weiter differenziert werden konnten.

Ultraschallelastographie wurde neben der Brustdiagnostik in weiteren Studien in der Darstellung von Veränderungen der Prostata, Niere sowie von Gefäßveränderungen eingesetzt und konnte auch dort erste Erfolg versprechende klinische Anwendungsmöglichkeiten der Elastographie zeigen [16,27, 28, 29, 30].

Der Nutzen sowie die Möglichkeit einer durchführbaren Kombination der MR-Elastographie mit der MR-Mammographie in einem gekoppelten Durchführungsschritt konnte anhand früherer Studien schon erfolgreich demonstriert werden [6, 24, 31].

Sowohl die MRE als auch die Ultraschallelastographie haben als Methode beide Vor- und Nachteile.

So ist die Ultraschallelastographie eine sehr schnelle, kostengünstigere und universeller einsetzbare Methode, die es ermöglicht, Veränderungen des Gewebes in Echtzeit aufzunehmen, dabei aber eine geringere Auflösung aufweist und auf eine zweidimensionale Darstellung beschränkt ist. Dagegen erlaubt die MRE die Kodierung des vollen Vektorfeldes der Verzerrung, was für die Messung anisotroper und nichtlinearer Elastizitäten wichtig ist. Ebenfalls ermöglicht die MRE in exzellenter dreidimensionaler Auflösung die Bildgebung von mechanisch abgeschirmten Organen, wie z.B. dem Gehirn, die für Ultraschall (weitestgehend noch) unzugänglich sind. Ein Nachteil der MRE ist das relativ aufwendige Verfahren, welches auch kosten- und zeitintensiver ist und aufgrund der dazu notwendigen Apparaturen nicht überall zur Verfügung steht und einsetzbar ist.

Für die Untersuchungsform der MRE, wie in unserer Studie verwandt, stehen uns zwei unterschiedliche Messungsmethoden zur Verfügung:

Der eine Ansatz geht von einer statischen Kompression und Dekompression des Gewebes aus. Dabei werden die Verschiebungen der einzelnen Voxel mit der MR gemessen, um dann darüber eine Aussage über die lokale Elastizität zu treffen. Hierbei muss das zu untersuchende Gewebe ausreichend komprimiert werden, welches Nachteile für solche Gewebeareale mit sich bringt, die schlecht oder nur unzureichend komprimiert werden können, wie z.B. der axilläre Gewebsausläufer

Der andere Ansatz ist die dynamische MRE. Diese Untersuchungsmethode wurde auch in dieser Arbeit verwandt. Das Prinzip dieser Methode ist die Einkopplung von sinusförmigen mechanischen Wellen mittels eines Oszillators in das zu untersuchende Gewebe. Durch die lokalen elastischen Eigenschaften des Gewebes wird die Welle in ihrer Ausbreitung speziell für dieses Gewebe typisch verändert. Über die Messung der Ausbreitung der Welle (d.h. Amplitude und Phase) kann dann in einem nächsten Schritt die Elastizität berechnet werden [5,9]. Hierfür ist allerdings ein sehr wichtiges Kriterium die ausreichende Penetration der mechanischen Welle in das zu untersuchende Gewebe, um das Signal-zu-Rausch-Verhältnis zu optimieren und die Auflösung des Verfahrens zu verbessern.

Über das Problem einer nicht ausreichenden Penetration von menschlichem Gewebe in der dynamischen MRE berichteten Bishop *et al.* [16]. Sie stellten eine frequenzabhängige Dämpfung der mechanischen Welle nach nur wenigen Zentimetern Einkopplung fest. In der damals durchgeführten Studie wurde eine transversale Anregung zur Einkoppelung der mechanischen Wellen genutzt im Gegensatz zu unserer Arbeit, in der eine longitudinale Anregung der Wellen gewählt wurde, wie es auch schon als suffizienter für die Penetration der Welle in das Gewebe in vorherigen Arbeiten postuliert wurde [6, 24].

6.2 In-vitro-Untersuchungen

Die bisher publizierten in-vivo- und in-vitro-Daten zur MR-Elastographie beschreiben eine Abgrenzbarkeit des Tumors gegenüber dem umliegenden Gewebe aufgrund seiner erhöhten Elastizität [6, 17, 30]. Lorenzen *et al.* konnte in klinischen MRE-Untersuchungen von Frauen, die an Brustkrebs erkrankt waren, eine deutliche Verhärtung der Tumorregion gegenüber dem umliegenden Gewebe darstellen. In ihren durchgeführten Untersuchungen zeigten die malignen Tumoren im Mittel mit 17 kPa eine signifikant höhere Elastizität als das umgebende Drüsenparenchym und als das Fettgewebe mit durchschnittlich 2,6 bzw. 2,1 kPa. Eine vergleichbare publizierte Untersuchung erschien 2002. Hier hatten Mc Knight *et al.* sowohl ein Kollektiv von sechs Patientinnen mit histologisch gesichertem Karzinom als auch sechs Frauen mit gesundem Brustdrüsen- und Fettgewebe mittels dynamischer MRE untersucht und konnten eine deutliche Unterscheidung in der Elastizität zwischen malignen und benignen Tumoren feststellen [13]. Im Vergleich lag die Elastizität der malignen Tumoren im Mittel mit 33 kPa deutlich oberhalb des untersuchten gesunden Brustdrüsen- und Fettgewebes (7,5 kPa sowie 3,3 kPa). Gleichfalls wiesen die malignen Tumoren aber eine große Bandbreite der Elastizität auf (Werte zwischen 18-94 kPa). Obwohl die erreichten Härtegrad-Werte immens sind, merkte die Autorengruppe aber kritisch an, dass auch Werte für gesundes Drüsenparenchym gemessen wurden, die mit 18 kPa in den Bereich der Härte von malignen Tumoren heranreichten und es so zu Überschneidungen kommt.

Dies bestätigt die Möglichkeiten einer doch vergleichsweise erhöhten Varianz der Elastizität bzw. Härte von Tumoren, wie es auch durch Hill *et al.* schon zuvor für die Palpation von Brusttumoren beschrieben worden war [32]. Diese Beobachtung konnten wir auch anhand der ermittelten Ergebnisse in der in-vitro-Studie dieser Arbeit machen. Es zeigte sich eine hohe Varianz der Elastizität, besonders bei den Karzinomen in Bezug auf ihre verschiedenen histologischen Unterarten, vgl. hierzu auch Abb.4 und Abb.5.

Die Ursache für diese große Varianz liegt in dem strukturellen Aufbau eines malignen Tumors, seinem Ursprungsgewebe und in den durch ihn induzierten Veränderungen der Gewebsstruktur. In den zentralen malignen Tumoranteilen kommt es häufig zu einer Gewebshypoxie durch das destruierende Tumorwachstum mit Gefäßarrosionen und Nekrosen. Diese Nekrosen werden von perifokalen Fibrosierungen begleitet, wie es auch schon Rosen *et al.* in ihren Arbeiten beschrieben hatten [20]. Diese Fibrosierungen führen zu einer Zunahme der Härte bzw. Elastizität.

Aus diesem Grund imponieren solche Karzinome, die zu narbigen Fibrosierungsreaktionen und Bindegewebsverhärtung führen, palpatorisch deutlich härter als die selten auftretenden papillären, tubulären oder muzinösen Karzinome, die sich unter Umständen sogar weicher als das umgebende Gewebe darstellen können. Diese drei histologischen Sonderformen machen allerdings auch weniger als 10% der Karzinome insgesamt aus. In unserer Arbeit konnte ebenfalls die Beobachtung gemacht werden, dass invasiv-duktales Karzinome mit einem hohen Fibrosierungsgrad deutlich härter imponieren als z.B. tubuläre oder papilläre Tumore.

Auch trifft diese Varianz der Elastizität bzw. Härte für benigne Läsionen der Brust zu; zum Beispiel können mastopathische Areale in einer gesunden Brust deutlich verhärtet palpiert werden. Gekennzeichnet sind diese Areale häufig durch Fibrosierungen, Zystenbildungen sowie einer knotigen Konsistenzzunahme des Drüsenkörpers, die z.B. radiologisch auch zum Bild der radiären Narbe führen können und palpatorisch nur schwer bis gar nicht von Karzinomen zu unterscheiden sind [32]. Auch diese Beobachtungen konnte in dieser Arbeit bestätigt werden wie die Abbildung 4 veranschaulichte: Es kommt zu Überschneidungen der Elastizitätswerte von sehr „harten“ mastopathisch veränderten Brustgewebsarealen, deren Median 37kPa betrug und „weicheren“ Karzinomen.

Histologisch ist der häufigste Typ des Mammakarzinoms das invasiv-duktales Karzinom mit ca. 60-80%, gefolgt vom lobulären Typ mit bis zu 15% [20]. Die restlichen Prozente verteilen sich auf die schon zuvor genannten Sonderformen.

Das invasiv-duktales Mammakarzinom ist durch ein stark fibrosierendes, knotiges und sternförmiges Wachstum gekennzeichnet, dagegen wächst das lobuläre Karzinom eher diffus und ohne wesentliche Fibrosierungen mit seltenem knotigem Wachstum. Die unterschiedliche Härte der Karzinome ist aber nicht nur auf ihre Tumorzellen zurückzuführen, sondern im Zusammenhang mit dem Grad der fibrosierten Tumoranteile zu bewerten, wie unsere histologischen Aufarbeitungen von Karzinompräparaten erstmalig zeigen konnten. Dabei korreliert die Härte eines Karzinoms mit dem Anteil an peritumorösem Bindegewebe und fibrosiertem Tumorgewebe. Diese Korrelation bestätigte sich auch in unserer Arbeit in den gemessenen Elastizitätswerten von lobulären Karzinomen, die eine geringere Fibrosierung induzieren, mit deutlich niedrigeren Elastizitätswerten als vergleichsweise invasiv-duktales Karzinome. Auch Krouskop *et al.* kamen 1998 in ihrer experimentellen Untersuchung von Brustexzidaten zu vergleichbaren Ergebnissen [17]. Damals hatte diese Arbeitsgruppe in einem ähnlich konstruierten Messaufbau 147 Brustexzidate nach ihrer operativen Entnahme mittels eines speziellen Messaufbaus komprimiert. In ihren Versuchen konnte eine erhöhte Elastizität für Karzinome im Vergleich zu regulärem Brustdrüsen- und Fettgewebe nachgewiesen werden. Mittelwerte mit 18 kPa für Fettgewebe sowie 28 kPa für reguläres Brustdrüsengewebe bei niedrigster Kompressionsstufe sind mit unseren erhobenen Basiswerten der Elastizität in dieser Arbeit vergleichbar. Die mittleren Elastizitätswerte für invasiv-duktales Karzinome und fibrös-mastopathische Brustgewebsexzidate betragen damals 106 kPa bzw. 96 kPa und waren damit zwar unterschiedlich, zeigten jedoch in der Streuung der Werte eine deutliche Überlappung, so dass dieser Unterschied nicht signifikant war. Ein ähnliche Parallele konnte für die untersuchten Präparate mit DCIS und gesundem Drüsengewebe festgestellt werden, auch hier konnten die nahe beieinander liegenden Elastizitätswerte mit 22 kPa bzw. 28 kPa zu keiner Differenzierung beitragen. Dies bestätigt auch die erhobenen Befunde unserer Arbeit. In Abbildung 4 zeigen die untersuchten Präparate ebenfalls eng beieinander liegende Elastizitätswerte (DCIS im Median mit einer Elastizität von 23kPa, Fibroadenome als gutartige Gewebsveränderung mit einem Median von

21kPa und Fettgewebe als ein Hauptbestandteil des Brustgewebes mit einem Median von 17kPa), die eine Differenzierung lediglich anhand der Elastizität nicht ermöglichen.

Eine weitere Gruppe um Sarvazyan *et al.* untersuchten auch Brustgewebsexzidate in ihren Arbeiten und konnten bei malignen Tumoren eine bis zu 15-fache höhere Elastizität im Vergleich zu gesundem Drüsengewebe messen; dagegen wiesen Fibroadenome aber nur eine doppelt so hohe Elastizität auf, welches übereinstimmend in den klinischen Arbeiten von Lorenzen *et al.* mittels MRE bestätigt werden konnte [4, 11, 33]. Diese Differenz lässt sich in Ansätzen erklären, wenn man radiologische und sonografische Befunde von Fibroadenomen unterschiedlicher Altersstufen mit der histologischen Aufarbeitung vergleicht. Das biologische Alter der Patientinnen bestimmt den histologischen strukturellen Aufbau der Fibroadenome; bei der jungen prämenopausalen Frau besteht in dem „jungen“ Fibroadenom ein hoher Grad an lockerem, wasserhaltigem und mukopolysaccharidhaltigem Stroma, während peri- und postmenopausale Patientinnen eher verkalkte und fokal bzw. total sklerosierte Stromata aufweisen, die dann auch zu einer deutlich vermehrten und „höheren“ Härte führen [9]. Aus diesem Grund zeigen sich bei einer großen Varianz des Alters dementsprechend deutliche histopathologische Unterschiede.

Diese doch deutlich erhöhte Varianz von Elastizitätswerten konnte auch in dem hier durchgeführten in-vitro-Experiment nachgewiesen werden. In unseren Messungen lag der Median in der Gruppe der untersuchten Fibroadenome bei 21 kPa. Dieser Wert liegt nahe dem Median von DCIS mit 23 kPa und auch nur geringfügig erhöht über dem Median von Fettgewebe mit 17 kPa. Damit sind in diesem Elastizitätsbereich Überschneidungen möglich und nicht auszuschließen. Ebenso konnten ebenfalls Überschneidungen im Bereich der hohen Elastizitätswerte ausgemacht werden, hier überschneiden sich sklerosierte Fibroadenome mit bis zu 61 kPa mit malignen Tumoren, deren Median 68 kPa betrug.

In der Zusammenschau der erhobenen Befunde und Ergebnisse konnte als ein wichtiger Teil der Arbeit gezeigt werden, dass maligne Tumoren im Mittel in ihrer Elastizität von benignen Tumoren und umgebendem gesunden

Brustdrüsenparenchym signifikant unterschieden werden können, die Differenzierung zwischen weichen malignen Tumoren und sklerosierten, verhärteten benignen Gewebsveränderungen aber nicht immer sicher möglich ist.

6.3 Menstruationszyklus abhängige Elastizitätsveränderungen

Als ein möglicher physiologischer Einflussparameter auf die Elastizität von Brustdrüsenparenchym gilt der hormonelle Regelkreislauf während des Menstruationszyklus. Prämenstruelle Volumenzunahme der Brust und Mastodynie als Ausdruck eines sich verändernden zyklischen Hormonstatus sind vielen Frauen bekannt. Unter Hormoneinfluss kommt es während des monatlichen Zyklus zu vermehrten Wassereinlagerungen (Hydratation) sowie proliferativen Umbauvorgängen im weiblichen Brustdrüsengewebe.

Eine Messung dieser Beschwerden, bzw. der Härte des Brustgewebes war bisher nur subjektiv über die Palpation möglich und ließ sich mit bisherigen apparativen Techniken nur indirekt messen. In den letzten Jahren beschäftigten sich bereits mehrere Studien mit dem hormonellen Einfluss auf Brustdrüsengewebe, dabei ist es jetzt aber erstmals möglich gewesen, mit dem Verfahren der MR-Elastographie die Elastizität des Brustdrüsengewebes und ihre Veränderung während eines Menstruationszyklus direkt zu untersuchen. Mittels der MRE konnten in dieser Studie die zyklischen Veränderungen, durch die hormonelle Einwirkung bedingt, erstmals dargestellt werden. Zusammenfassend folgte einem deutlichen Anstieg der Elastizität in der zweiten Zyklushälfte ein signifikanter Abfall bis zum Ende des Zyklus und weiter bis zu seinem tiefsten Punkt in der zweiten Woche des darauf folgenden Zyklus. Diese Ergebnisse lassen sich durch weitere Untersuchungen anderer Studien mittels MRT bestätigen. In einer Arbeitsstudie um Hussain *et al.* beschäftigten sich diese ebenfalls mit in-vivo-MR-Untersuchungen der Brust um Veränderungen des Brustvolumens während des weiblichen Zyklus zu untersuchen [25]. Sie konnten in ihren MR-Untersuchungen ebenfalls eine Zunahme des Brustvolumens um bis zu 40% in der zweiten Zyklushälfte dokumentieren und stellten eine positive Korrelation zwischen der Höhe des Plasma-Progesteronspiegel und der Volumenzunahme dar. Als Erklärungsansätze dafür diskutierten sie eine erhöhte Proliferationsrate mit absoluter Zellzunahme sowie eine Zunahme der einzelnen Zellgrößen und des extrazellulären Wassergehaltes mit einer

möglichen vermehrten Gewebsdurchblutung aufgrund erhöhter Vaskularisationsvorgänge.

Diese Ergebnisse konnten auch durch weitere MRT-Untersuchungen der weiblichen Brust bestätigt werden. Fowler *et al.* konnten in ihrer Arbeit ebenfalls eine Zunahme des Brustdrüsenparenchyms und des Brustvolumens um bis zu 39% für die zweite Hälfte des Zyklus in den Tagen 16-28 dokumentieren und setzten dies in Zusammenhang mit dem hohen Progesteronplasmaspiegel [34]. Progesteron ist als dominierendes Hormon der zweiten Zyklushälfte für viele der Umbauvorgänge, die zu einer Zunahme der Brustvolumens führen, verantwortlich. So konnten schon in früheren histopathologischen Studien unter Potten *et al.* die Beobachtung gemacht werden, dass eine positive Korrelation zwischen dem Anstieg von Progesteron und dem Proliferationsindex der Zellen in der zweiten Zyklushälfte besteht [35]. Sie zeigten, dass die intralobuläre Proliferationsaktivität ihr Maximum in der zweiten Hälfte des Menstruationszyklus hat und zusätzlich altersbedingt abnimmt.

Dies konnte auch in neueren histopathologischen Arbeiten von Söderquist *et al.* bestätigt werden [36]. Neben einer erhöhten Proliferationsaktivität mit hohen epithelialen Mitoseraten konnte in der zweiten Phase des Menstruationszyklus, der so genannten Lutealphase, auch ein deutlicher Anstieg der Lobulärgröße beschrieben werden. Dies konnte ebenfalls von Longacre *et al.* dokumentiert werden, die dafür histologische Untersuchungen an Operationspräparaten von Brustgewebe durchgeführt hatten [37]. Dabei zeigte sich im zweiten Teil des Menstruationszyklus in den Tagen 21-25 ein signifikanter Anstieg der Lobärgröße wie auch der Mitoserate und eine Zunahme der intralobulären Gewebsödeme im Gegensatz zu den übrigen Tagen des Zyklus. Dies steht in engem Zusammenhang mit einem Peak des Progesteronspiegels um den 22-24 Tag, so dass sich auch hier eine weitere Bestätigung der zuvor beschriebenen Beobachtungen des Progesteronspiegels findet.

Teilweise konträr dazu wurde in einer früheren Studie an histopathologischen Gewebspräparaten um Vogel *et al.* eine verstärkte mitotische Aktivität nicht in der Lutealphase, und damit in der zweiten Zyklushälfte, sondern in der

Proliferationsphase an den Tagen 3-7 beobachtet [38]. In der zweiten Hälfte des Zyklus, Tag 21-25, wird aber ebenfalls übereinstimmend eine Größenzunahme der Brust beschrieben, resultierend aus einer beobachteten Zunahme der intralobulären Ödeme sowie einer Vergrößerung der lobulären Azini.

Neben einer Volumenzunahme in der zweiten Zyklushälfte konnte in der hier vorliegenden Arbeit auch mittels MRE erstmalig eine signifikante Abnahme der Elastizität um fast ein Drittel in der ersten Zyklushälfte, und zwar in der zweiten Zykluswoche, nachgewiesen werden. Diese Änderung der Elastizität war in unserer Studie aber nur signifikant für das Brustdrüsenparenchym nachweisbar. Der fetthaltige Anteil des Brustparenchyms wies lediglich geringe und keine signifikanten Änderungen des Volumens während des Zyklus auf. Vergleichend dazu zeigte sich auch prämenstruell keine signifikante Zunahme der Elastizität des Fettgewebes. Diese Zyklusunabhängigkeit der Elastizität von Fettgewebe konnte auch in der Auswertung der in-vitro-Untersuchungsergebnisse dieser Arbeit bestätigt werden.

Diese Feststellung machte ebenfalls schon 1995 die Arbeitsgruppe um Graham *et al.*, die mittels MRT-Untersuchungen von Brustdrüsen- und Fettgewebe die Zyklusunabhängigkeit von Fettgewebe belegen konnten [39]. Eine Abnahme der Elastizität in der zweiten Zykluswoche ist gleichfalls in mehreren Arbeiten in der Literatur bereits dokumentiert. Hierzu gibt es verschiedene Erklärungsansätze; die Arbeitsgruppe um Potten *et al.* geht als Ursache von der geringsten Zell-Proliferationsrate in diesem Zeitraum aus, Vogel *et al.* und Going *et al.* sehen ein reduziertes Zellvolumen aufgrund verminderter Hydratation sowie eine deutlich erniedrigte Vaskularisation des Gewebes als Ursache für eine Abnahme des Drüsenparenchymvolumens um bis zu ein Drittel an [35, 38, 40]. Dieses Wissen wird auch für die tägliche klinische Routine genutzt. Als Konsequenz daraus werden Palpationen der Brust sowie Mammographien, die wegen der Kompression des Gewebes äußerst schmerzhaft sein können, in den Zeitpunkt der zweiten Zykluswoche der Frau verlegt. Aufgrund der geringsten Vaskularisation des Gewebes werden auch vornehmlich MR-Mammographien in der ersten Zyklushälfte

durchgeführt. In den Auswertungen unserer Arbeit zeigte sich ein signifikanter Anstieg der Elastizität von über 50% für den Bereich nach der zweiten Zykluswoche. Allerdings sind die dokumentierten relativen Elastizitätswerte nicht mehr signifikant unterschiedlich zu den perimenstruell erhobenen Elastizitätswerten. Als Erklärungsansätze dafür dürfte zum einen der Plasma-Progesteronspiegel zu diskutieren sein, der perimenstruell physiologisch unterschiedlich schnell abfällt und daraus die große Varianz der Elastizitätswerte erklärbar ist. Zum anderen ist sicherlich auch die bisher niedrige Probandenanzahl ein limitierender Faktor, um die Elastizitätsunterschiede prä- und perimenstruell herauszuarbeiten.

In der Zusammenschau aller erhobenen Daten und Ergebnisse ist es aber gleichwohl möglich, unterschiedliche Elastizitätswerte den unterschiedlichen Zyklusphasen mittels der MRE zuzuweisen. Diese dokumentierten Veränderungen in der Elastizität des Brustdrüsenparenchyms sollten bei weiteren Analysen von Aufnahmen und Untersuchungen des Brustgewebes mit berücksichtigt werden.

7. Zusammenfassung

Im ersten Teil dieser Arbeit wurde in einer experimentellen Analyse mittels in-vitro-Untersuchungen an Tumor- und Brustgewebsexzidaten die Elastizität von verschiedenen Gewebeentitäten der weiblichen Brust untersucht. Dabei stand die Überlegung im Hintergrund, ob durch den Faktor der Gewebselastizität zwischen benignen und malignen Tumoren unterschieden werden kann. In den in-vitro-Untersuchungen zeigte sich der Median der Elastizität von malignen Tumoren signifikant höher als bei mastopathisch veränderten Gewebspräparaten oder benignen Tumoren, wie z.B. dem Fibroadenom. Gleichzeitig fand sich aber auch in der gesamten Gruppe der malignen Tumore eine große Varianz der Tumorphärte; so ist z.B. das muzinöse Karzinom, welches durch eine geringe Elastizität gekennzeichnet ist, von benignen Gewebsveränderung oder z.B. dem DCIS nicht sicher abzugrenzen. Ergänzend hierzu konnte eine histologische Aufarbeitung der malignen Tumorexzidate Erklärungsansätze liefern. Die Färbung und histologische Auswertung zeigte, dass die Elastizität bzw. die Härte von Tumoren positiv mit dem fibrosierten und sklerosierten Bindegewebsanteil und nicht mit der Menge der Tumorzellen korreliert. Demnach sind Tumoren, wie z.B. das muzinöse Karzinom mit einem geringen Grad an Bindegewebe und einem niedrigen Fibrosierungsgrad sehr „weich“ und besitzen nur eine geringe Elastizität und unterscheiden sich dadurch signifikant zum invasiv-duktalem Karzinom mit einem hohen Fibrosierungs- und Sklerosierungsgrad. Im zweiten Teil dieser Arbeit konnte in klinischen Untersuchungen an Probandinnen erstmals durch die MR-Elastographie der weiblichen Brust gezeigt werden, dass innerhalb eines Menstruationszyklus zyklusabhängige unterschiedliche Elastizitätswerte darstellbar sind. In den über zwei Zyklen durchgeführten wöchentlichen Messungen gelang der Nachweis, dass es zu einer quantifizierbaren Veränderung der Elastizität während des Menstruationszyklus bei prämenopausalen Frauen kommt. Dabei fand sich in der zweiten Zyklushälfte eine signifikant erniedrigte Elastizität des Brustdrüsengewebes mit einem nachfolgend prämenstruellen Anstieg. Für die

weitere klinische Relevanz konnte dokumentiert werden, dass die MR-Elastographie sehr gut durchführbar ist und von allen Probandinnen gut vertragen wurde.

Insgesamt konnte gezeigt werden, dass die MR-Elastographie der Brust als ein neuer experimenteller Ansatz möglich ist und, wie in klinischen Untersuchungen demonstriert, sich gut in die bildgebende Diagnostik, z.B. einen konventionellen MR-Tomographen, integrieren lässt. Damit steht als Ergänzung zu herkömmlichen Untersuchungsmethoden ein neuer unabhängiger Parameter zur zusätzlichen Gewebecharakterisierung zur Verfügung. Als ein Nachteil der dann spezialisierteren Untersuchung müsste eine erhöhte Untersuchungsdauer, die in den bisher durchgeführten Studien mit ca. 30min deutlich länger als ein konventionelles MRT war, eingerechnet werden. Im Rahmen der differenzierenden Bildgebung würde es sich aber anbieten, in Kombination mit der MR-Mammographie, nach erfolgter Kontrastmittelgabe, nur die Bereiche mittels der MRE darzustellen, die eine Kontrastmittelanreicherung zeigen, um so mehr Informationen über diese spezielle Läsion zu erhalten.

So hätte dieses Verfahren sehr gute Chancen, die Differentialdiagnose im Bereich der Brustkrebserkennung deutlich zu verbessern.

8. Abbildungsverzeichnis

- Abb.1** Messapparatur zur Elastizitätsbestimmung des in-vitro-Experimentes
- Abb.2 a)** Schematische Zeichnung des in-vitro-Experimentes
- Abb.2 b)** Schematische Zeichnung mit Tumorlokalisierung
- Abb.3** Diagramm der Längenänderung von malignem Brustgewebe zu eingesetztem Druck mit exponentiellem Kurvenverlauf
- Abb.4** Diagramm der Elastizitätswerte der verschiedenen Gewebsentitäten
- Abb.5** Mittelwertdarstellung der Elastizität von verschiedenen Tumorentitäten
- Abb.6** Prozentuale Verteilung von Tumor, Fett und Bindegewebe an histologischen Großflächenschnitten
- Abb.7** Elastizität von invasiven Tumoren im Verhältnis zum relativen Anteil von Bindegewebe, Tumorzellen und Fettgewebe in der Tumorregion
- Abb.8** Histologisch angefärbte Großflächenschnitte (Masson-Goldner und Hämatoxylin-Eosin-Färbungen)
- a)** invasiv-duktales Carcinom mit einer Elastizität von 28 kPa
- b)** invasiv-duktales Carcinom mit einer Elastizität von 89 kPa
- Abb.9 a)** MR-Phasenbild eines Polyvinylalkoholphantoms mit Verhärtung
- b)** Diagramm von Wellenlänge und Amplitude im „Phantom“
- Abb.10** Schematische Darstellung des Rekonstruktionsprinzips
- Abb.11** Ausbreitung der mechanischen Welle im Brustgewebe als Darstellung in einer bewegungssensitiven MR-Sequenz
- Abb.12** Aufbau der Patientenbrücke mit Patient
- Abb.13** Schematischer Messaufbau und Abbildung des Oszillators
- Abb.14a+b** Zu- und Abnahme der Amplitude der mechanischen Welle im Brustgewebe
- Abb.15** Elastogramm des 6. + 20. Zyklustag

- Abb.16** Darstellung des Menstruationszyklus einer Probandin über zwei Zyklen
- Abb.17** Änderung der Elastizität des Brustdrüsenparenchyms im Menstruationszyklus
- Abb.18** Änderung der Elastizität des fetthaltigen Brustdrüsengewebes im Menstruationszyklus

9. Literaturverzeichnis

1. Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland
6. überarbeitete, aktualisierte Ausgabe, 2008
2. Carter CL, Allen C, Henson DE. *Relation of tumor size, lymph node status, and survival in 24740 breast cancer cases.* Cancer 1989; 63:181-187.
3. Plewes DB, Betty I, Urchuk SN, Soutar I. *Visualizing tissue compliance with MR imaging.* J Magn Reson Imaging 1995; 5: 733-738.
4. Sarvazyan A, Goukassian D, Maevsky G. *Elasticity imaging as a new modality of medical imaging for cancer detection.* Proc. Int. Workshop on Interaction of Ultrasound with Biological Media, Valenciennes 1994; 69-81.
5. Muthupillai R, Lomas DJ, Rossman PJ, Greenleaf JF, Manduca A, Ehman RL. *Magnetic Resonance Elastography by direct Visualization of propagating acoustic Strain Waves.* Science 1995; 26: 1854-1857.
6. Sinkus R, Lorenzen J, Schrader D, Lorenzen M, Dargatz M, Holz D. *High resolution tensor MR elastography for breast tumor detection.* Phys Med Biol 2001; 45(29): 1649-64.
7. Fung Y. *Biomechanics, Mechanical Properties of Living tissues.* Berlin: Springer 1993
8. Morris EA. *Breast cancer imaging with MRI.* Radiol Clin North Am 2002; 40: 443-466.
9. Heywang-Köbrunner S, Schreer I, Dershav DD. *Diagnostic Breast imaging: Mammography, sonography, Magnetic resonance Imaging and Interventional Procedures.* Stuttgart: Thieme 2001

10. Weinreb JC, Newstead G. *MR Imaging of the breast*. Radiology 1995; 196: 593-610.
11. Lorenzen J. *Magnetresonanzelastographie: Ein neues Verfahren zur Diagnostik von Brusttumoren, Experimentelle und klinische Untersuchungen*. Habilitationsschrift, Hamburg 2003
12. Kuhl CK, Bieling HB, Gieseke J, Kreft BP, Sommer T, Lutterbey G, Schild HH. *Healthy premenopausal breast parenchyma in dynamic contrast-enhanced MR imaging of the breast: Normal contrast medium enhancement and cyclical-phase dependency*. Radiology 1997; 2003: 137-144.
13. Mc Knight AL, Kugel JL, Rossmann P, Manduca A, Hartmann LC, Ehman RL. *MR elastography of breast cancer: Preliminary results*. AJR 2002; 178: 1411-1417.
14. Xydeas T, Siegmann KC, Sinkus R, Krainick-Strobel U, Miller S, Claussen CD. *Magnetic resonance elastography of the breast: Correlation of signal intensity data with viscoelastic properties*. J Invest Radiol 2005; 40: 412-420.
15. Siegmann KC, Xydeas T, Sinkus R, Kraemer B, Vogel U, Claussen CD. *Diagnostic value of MR elastography in addition to contrast-enhanced MR imaging of the breast- initial clinical results*. Eur Radiol 2010; 20: 318-25.
16. Bishop J, Poole G, Leitch M, Plewes D. *Magnetic resonance imaging of shear wave propagation in excised tissue*. J Magn Reson Imaging 1998; 8: 1257-1265.

17. Krouskop TA, Wheeler TM, Kallel F, Garra BS, Hall T. *Elastic moduli of breast and prostate tissue under compression*. Ultrason Imaging 1998; 20: 260-274.
18. Daly CH. *Biomechanical properties of dermis*. J Invest Dermatol 1982; 79: 17-20.
19. Duck F. *Physical Properties of Tissue*. Academic Press. San Diego, 1990
20. Rosen PR, Obermann HA. *Tumors of the mammary gland*. In: Rosai J, Sobin LH, ed. Atlas of tumor pathology. Washington, D.C: Armed Forces Institut of Pathology; 1993: 1-390.
21. Lin CY, Wang JK, Torri J, Dou L, Sang QXA, Dickson RB *Characterization of a novel, membrane-bound, 80-kDa matrix-degrading protease from human breast cancer cells*. J Biol Chem 1997; 272: 9147-9152.
22. Chu K.C., Rutt, B.K. *Polyvinyl Alcohol Cryogel: An Ideal Phantom Material for MR Studies of Arterial Flow and Elasticity* MRM 1997; 37: 314-319.
23. Emilianov S, Erkamp M, Lubinski M, Svovoroda A, O`Donnell M. *Non-linear tissue elasticity: Adaptive elasticity imaging for large deformations*. Proc. of the 1998 IEEE Ultrasonics Symposium in Sendai, Japan. Oct.5-8,1998.
24. Lorenzen J, Sinkus R, Schrader D, Lorenzen M, Leussler C, Dargatz M, Röschmann P. *Darstellung von Tumoren der weiblichen Brust mit MR-Elastographie*. RöFo 2001; 173: 12-17.

25. Hussain Z, Roberts N, Whitehouse GH, Garcia-Finana M, Percy D. *Estimation of breast volume and its variation during the menstrual cycle using MRI and stereology.* Brit J Radiol 1999; 72: 236-245.
26. Garra BS, Cespedes EI, Ophir J, Spratt SR, Zuurbier RA, Magnant CM, Pennannen MF. *Elastography of breast lesions: Initial clinical results.* Radiology 1997; 202: 79-86.
27. Riley WA, Barnes RW, Evans GW. *Ultrasonic measurement of the elastic modulus of common carotid artery.* Stroke 1992; 23: 952-956.
28. Ophir J, Céspedes I, Ponnekanti H, Yasdi Y, Li X. *Elastography: A quantitative method for imaging elasticity of biological tissues.* Ultrason. Imaging 1991; 13: 111-134.
29. De Korte CL, Pasterkamp G, van der Steen AFW, Woutman HA, Bom N. *Characterization of plaque components with intravascular ultrasound elastography in human femoral and coronary arteries in vitro.* Circulation 2000; 102: 617-623.
30. Lorenz A, Ermert H, Sommerfeld HJ, Garcia-Schürmann M, Senge T, Philippou S. *Ultraschallelastographie der Prostata.* Ultraschall in Med 2000; 21: 8-15.
31. Lorenzen J, Sinkus R, Lorenzen M, Dargatz M, Leussler C, Röschmann P, Adam G. *MR elastography of the breast: Preliminary clinical results.* RöFo 2002; 174: 830-834.
32. Hill D, White V, Jolley D, Mapperson K. *Self examination of the breast: is it beneficial? Meta-analysis of studies investigating breast self examination and the extent of the breast disease in patient with breast cancer.* Br. Med. J. 1989; 297: 271-275.

33. Sarvazyan AP, Skovoroda AR, Emelianov SY, Fowlkes JB, Pipe JG, Adler RS, Buxton RB, Carson PL. In: Jones EP (ed). *Acoustical Imaging*. New York: Plenum Press, 1995: 223-240.
34. Fowler PA, Casey CE, Cameron GG, Foster MA, Knight CH. *Cyclic changes in composition of the breast during the menstrual cycle, measured by magnetic resonance imaging*. Br J Obstet Gynaecol 1990; 97: 595-602.
35. Potten CS, Watson RJ, Williams GT, Tickle S, Roberts SA, Harris M, Howell A. *The effect of age and menstrual cycle upon proliferative activity of the normal human breast*. Br J Cancer, 1988; 58: 163-70.
36. Söderquist G, Isaksson E, von Schoultz B, Carlström K, Tani E, Skoog L. *Proliferation of breast epithelial cells in healthy women during the menstrual cycle*. Am J Obstet Gynecol 1997; 176: 123-128.
37. Longacre TA, Bartow SA. *A correlative morphologic study of human breast and endometrium in the menstrual cycle*. Am J Surg Pathol 1986; 10: 382-393.
38. Vogel PM, Georgiadae NG, Fetter BF, Vogel FS, Mc Carty KS. *The correlation of histologic changes in the human breast with the menstrual cycle*. Am J Pathol 1981; 104: 23-24.
39. Graham SJ, Stanchev PL, Loyd-Smith JOA, Bronskill MJ, Piewes DB. *Changes in fibroglandular volume and water content of breast tissue during the menstrual cycle observed by MR-imaging at 1.5 T*. J Magn Reson Imaging 1995; 5: 696-701.
40. Going JJ, Anderson TJ, Battersby, Macintyre CCA. *Proliferative and secretory activity in human breast during natural and artificial menstrual cycles*. Am J Pathol 1988; 130: 193-202.

10. Danksagung

Großer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Gerhard Adam für die Bereitstellung des Themas und die guten Anregungen im Verlaufe der Arbeit.

Mein besonderer Dank gilt Herrn PD Dr. Jörn Lorenzen für seine stets motivierende, unermüdliche und unterstützende Betreuung, die maßgeblich zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen hat.

Dem Philipps Forschungslabor in Hamburg, allen voran Herrn Dr. Ralph Sinkus, gebührt ein entscheidender Anteil an Dank für die freundliche, interdisziplinäre Zusammenarbeit sowie die engagierte Unterstützung vor allen Dingen in Hinblick auf die statistische Auswertung.

Herrn Prof. Dr. Thomas Löning, den Mitarbeitern der Abteilung für Gynäkopathologie des UKE sowie im Speziellen Herrn PD Dr. Lutz Riethdorf gilt mein besonderer Dank für die freundliche und schnelle Einarbeitung und die gute Zusammenarbeit bei der Aufarbeitung und Auswertung der histologischen Präparate.

Auch möchte ich meinen Dank an alle Patientinnen und Probandinnen richten, die an dieser Studie mit Engagement und Geduld teilgenommen haben.

Abschließend gilt mein ganz besonderer Dank meiner Familie sowie besonders meinem Mann, die mich mit ihrer vollen Unterstützung motiviert haben und ganz entschieden zur Fertigstellung dieser Arbeit beigetragen haben.

11. Lebenslauf

Entfällt aus datenschutzrechtlichen Gründen.

12. Eidesstattliche Erklärung

Ich versichere ausdrücklich, dass ich die Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe verfasst, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen einzeln nach Ausgabe (Auflage und Jahr des Erscheinens), Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe.

Ferner versichere ich, dass ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe.

Hamburg 2011 Maike Halim-Biesterfeldt