

**Aus dem**  
**Institut für Veterinär-Anatomie**  
**des Fachbereichs Veterinärmedizin**  
**der Freien Universität Berlin**  
**und der**  
**Abteilung für Radiologische Diagnostik**  
**des Universitätsklinikums Charité Campus Mitte**  
**der Humboldt-Universität zu Berlin**

**Magnetresonanztomographische und histologische Untersuchungen**  
**an Ratten mit Zitrat- stabilisierten, kleinen Eisenoxidpartikeln**  
**als Kontrastmittel für die intravenöse MR-Lymphographie**

**Inaugural- Dissertation**  
zur Erlangung des Grades eines  
Doktors der Veterinärmedizin  
an der  
Freien Universität Berlin

vorgelegt von  
**Gerlind Claaßen**  
Tierärztin aus Frankfurt/ Main  
Berlin, 2002

Journal- Nr. 2668

Gedruckt mit Genehmigung  
des Fachbereichs Veterinärmedizin  
der Freien Universität Berlin

Dekan:	Univ.-Prof. Dr. habil M. Schmidt
Erster Gutachter:	Univ.-Prof. Dr. habil. R. Berg
Zweiter Gutachter:	Univ.-Prof. Dr. habil. B. Hamm
Dritter Prüfer:	Univ.-Prof. Dr. habil. K. Hartung

Deskriptoren (nach CAB-Thesaurus):  
MRI, Lymph Node, Rats, Iron Oxides, Contrast Media, Histology

Tag der Promotion: 31. Januar 2003

**Meinen Großvätern  
Kurt Claafen und  
Günther Robert Salje**

## Inhaltsverzeichnis

<b>0</b>	<b>Verwendete Abkürzungen</b>	<b>V</b>
<b>1</b>	<b>Einleitung und Problemstellung</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>Grundlagen und Literaturübersicht</b>	<b>3</b>
<b>2.1.</b>	<b>Lymphsystem</b>	<b>3</b>
2.1.1.	Lymphgefäße, Zirkulation und Kreislauf	3
2.1.2.	Lymphknoten	4
2.1.3.	Funktion	5
<b>2.2.</b>	<b>Lymphknoten der Ratte</b>	<b>7</b>
2.2.1.	Lymphsystem und Nomenklatur, Lage der Lymphknoten	7
2.2.2.	Besonderheiten der Ratte	8
<b>2.3.</b>	<b>Magnetresonanztomographie (MRT)</b>	<b>11</b>
2.3.1.	Grundlagen	11
2.3.2.	Relaxationszeiten	12
2.3.3.	Gerät und Bildentstehung	13
2.3.4.	Signalintensität und Kontrastoptimierung	14
2.3.5.	Pulssequenzen	14
2.3.5.1.	Protonengewichtete Spinecho- Sequenz ( $d_w$ SE, PDSE)	14
2.3.5.2.	T2- gewichtete Gradientenecho- Sequenz ( $T2_w$ GRE)	15
<b>2.4.</b>	<b>Kontrastmittel</b>	<b>16</b>
2.4.1.	Paramagnetische Substanzen	16
2.4.2.	Superparamagnetische Substanzen	18
2.4.2.1.	Einsatzbereich für superparamagnetische Kontrastmittel	18
2.4.2.2.	Erfahrungen im Einsatz von superparamagnetischen Kontrastmitteln	19
<b>2.5.</b>	<b>Aufnahme, Verbleib und Toxizität</b>	<b>20</b>
2.5.1.	Aufnahme des Kontrastmittels in den Lymphknoten	20

2.5.2.	Verbleib des Eisens im Stoffwechsel	22
2.5.3.	Toxizität von Eisenverbindungen	24
2.5.4.	Hüllmaterial	25
<b>2.6.</b>	<b>Lymphographie</b>	<b>26</b>
2.6.1.	Klassische Lymphographie	28
2.6.2.	Ultraschall (US)	28
2.6.3.	Scintigraphie und Positronenemissionstomographie (PET)	29
2.6.4.	Darstellung der Sentinel Lymphknoten	29
2.6.5.	Darstellung im Schnittbildverfahren	30
2.6.5.1.	Computertomographie (CT)	30
2.6.5.2.	MR- Lymphographie	31
<b>3</b>	<b>Material und Methoden</b>	<b>34</b>
<b>3.1.</b>	<b>Untersuchte Tiere</b>	<b>34</b>
3.1.1.	Haltung der Modelltiere	35
<b>3.2.</b>	<b>Kontrastmittel</b>	<b>35</b>
<b>3.3.</b>	<b>Versuchsablauf</b>	<b>36</b>
3.3.1.	Narkose	36
3.3.2.	Kontrastmittelverabreichung	36
3.3.3.	Sektion und Organentnahme	36
<b>3.4.</b>	<b>Magnetresonanztomographische Untersuchung</b>	<b>37</b>
3.4.1.	Herstellung eines Agarphantoms	37
3.4.2.	Untersuchungstechnik im Magnetresonanztomographen	37
3.4.3.	Auswertung der MR- tomographischen Untersuchung	38
<b>3.5.</b>	<b>Histologische Untersuchung</b>	<b>39</b>
3.5.1.	Histologische Aufarbeitung	39
3.5.2.	Auswertung der Eisenfärbung (Turnbull- Blau- Färbung)	39

3.5.3.	Auswertung der Hämatoxylin- Eosin- Färbung (HE- Färbung)	41
<b>3.6.</b>	<b>Statistische Auswertung</b>	<b>43</b>
<b>4</b>	<b>Ergebnisse</b>	<b>44</b>
<b>4.1.</b>	<b>MR-Tomographische Untersuchung der Kontrolltiere</b>	<b>44</b>
<b>4.2.</b>	<b>Histologische Untersuchung der Kontrolltiere</b>	<b>45</b>
4.2.1.	Beurteilung der Turnbull-Blau- Färbung	45
4.2.2.	Beurteilung der HE- Färbung	46
4.2.2.1.	Beurteilung des Aktivitätszustandes	47
4.2.2.2.	Vorkommen und Anzahl bestimmter Zellen	49
<b>4.3.</b>	<b>MR-tomographische Untersuchung zur Dosisfindung</b>	<b>50</b>
<b>4.4.</b>	<b>MR-tomographische Untersuchung über 2 Monate (Langzeitstudie)</b>	<b>52</b>
<b>4.5.</b>	<b>Histologische Untersuchung der Kontrastmitteltiere</b>	<b>57</b>
4.5.1.	Morphometrische und semiquantitative Auswertung der Turnbull-Blau- Färbung	58
4.5.1.1.	Semiquantitative Auswertung der Turnbull-Blau- Färbung	58
4.5.1.2.	Morphometrische Auswertung der Turnbull- Blau- Färbung	63
4.5.2.	Beurteilung der HE- Färbung	66
4.5.2.1.	Beurteilung des Aktivitätszustandes	66
4.5.2.2.	Vorkommen und Anzahl bestimmter Zellen	69
4.5.3.	Vergleich ausgewählter histologischer Parameter	72
<b>4.6.</b>	<b>MR-tomographische Untersuchung an Leber, Milz und Knochenmark</b>	<b>74</b>
<b>4.7.</b>	<b>Histologische Untersuchung von Leber und Milz</b>	<b>77</b>
4.7.1.	Semiquantitative Untersuchung	77
4.7.2.	Morphometrische Untersuchung	80
<b>5</b>	<b>Diskussion</b>	<b>82</b>

<b>5.1.</b>	<b>Zusammenhang zwischen Eisengehalt und MR- Signalgebung</b>	<b>83</b>
5.1.1.	Kontrollgruppen	83
5.1.2.	Dosisfindung	87
5.1.3.	Langzeitstudie	90
5.1.3.1.	Lymphknoten	90
5.1.3.2.	Leber, Milz und Knochenmark	97
5.1.3.3.	Vergleich der relativen Signalintensitäten mit den Ergebnissen anderer Kontrastmittel	103
<b>5.2.</b>	<b>Beurteilung der histologischen Untersuchung</b>	<b>105</b>
<b>6</b>	<b>Zusammenfassung</b>	<b>111</b>
<b>7</b>	<b>Summary</b>	<b>113</b>
<b>8</b>	<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>115</b>
<b>9</b>	<b>Anhang</b>	<b>126</b>
<b>10</b>	<b>Danksagung</b>	<b>i</b>
<b>11</b>	<b>Lebenslauf</b>	<b>ii</b>

## 0 Verwendete Abkürzungen

A.	Arteria
Ax	Ln. axillaris
Ax Ac	Ln. axillaris accessorius
$\alpha$	Anregungswinkel
Beckenglm.	Beckengliedmaße
B- Lymphozyten	Bursa- äquivalente Lymphozyten
BM	Body mass (Körpermasse)
caud.	caudalis
Cerv prof	Ln. cervicalis profundus
Cl	Chlorid
cran.	cranialis
CT	Computertomographie
Cu	Kupfer
d	day (Tag)
DTPA	Diethylenetriamine pentoacetic acid- Komplexbildner
d <sub>w</sub>	density- weighed, Protonengewichtet
ext.	extern
Fe	Ferrum, Eisen
Gd	Gadolinium
Gl.	Glandula
GRE	Gradientenecho
h	Hour (Stunde)
H	Wasserstoff/ Protonen
HE	Hämatoxylin-Eosin
HEV	Hochendotheliale Venulen
Histo	Histologie
HWZ	Halbwertszeit
IgE	Immunglobulin E
Ili	Ln. iliacus
int.	intern
IS	Intermediärsinus
iv.	intravenös



Jejun	Lnn. jejunales
JT	Jonckheere-Terpstra Test
K	Kortex
KM	Körpermasse
Kon.	Kontrollgruppe
kW	Kilowatt
KW	Kruskal-Wallis Test
Lc.	Lymphocentrum
li.	links
LLS	Laser Light Scattering
Ln.	Lymphonodus
Lnn.	Lymphonodi
M.	Musculus
Mand	Ln. mandibularis
MH	Mantel-Haenszel-Chi <sup>2</sup> - Test
MHz	Megahertz
µm	Mikrometer
µmol	Mikromolar
µW	Mikrowatt
MION	Monocrystalline Iron Oxide Particles
Mo	Monat
MPS	Mononukleäres Phagozytensystem
MR	Magnetresonanz
MRT	Magnetresonanztomographie (Kernspintomographie)
MS	Marksinus
MWU	Mann-Whitney-U- Test
Na	Natrium
nm	Nanometer
O	Oxygen, Sauerstoff
p	Irrtumswahrscheinlichkeit
Part	Partikel, Teilchen
PET	Positronenemissionstomographie
PDSE	Protonendichte gewichtete Spin- Echo Sequenz
p. i.	post injectionem

PK	Parakortex
Pop.	Ln. popliteus
r	Rangkorrelationskoeffizient
R 1	T1- Relaxivität
R 2	T2- Relaxivität
re.	Rechts
RES	Retikuloendotheliales System (veraltet für MPS)
resp.	respectively, respective
rsp.	respektive
sc.	subkutan
Schulterglm.	Schultergliedmaße
SE	Spinecho
SI	(relative) Signalintensität
SN	Sentinel Node
SPF	Specific pathogen free
SPIO	Superparamagnetic iron oxide
Sub	Ln. subiliacus
T	Tesla
T- Lymphozyten	Thymus Lymphozyten
T1	Spin- Gitter- Relaxationszeit, longitudinale Relaxationszeit
T2	Spin- Spin- Relaxationszeit, transversale Relaxationszeit
T2*	effektive T2- Relaxationszeit
T1 <sub>w</sub>	T1- gewichtet
T2 <sub>w</sub>	T2- gewichtet
TB	Turnbull-Blau
TE	Echozeit
TR	Repetitionszeit
US	Ultraschall
USPIO	Ultrasmall SPIO
V.	Vena
VSOP	Very small iron oxide particles
Wo	Woche

## 10 Danksagung

Für die Überlassung des Themas für diese Dissertation sowie die Betreuung und wissenschaftliche Unterstützung möchte ich Herrn Professor Dr. med. vet. R. Berg und Professor Dr. med. B. Hamm herzlich danken.

Ebenso möchte ich den beiden beteiligten Abteilungen, der histologischen Abteilung des Instituts für Veterinär-Anatomie und der Experimentellen Radiologie der Abteilung für Radiologische Diagnostik, meinen Dank für die gewährte fachliche und sachliche Begleitung meines Dissertationsvorhabens danken.

Mein besonderer Dank gebührt dabei Frau Dr. med. vet. H. Hünigen, die jederzeit ein Zeit fand, mich in histologischen und methodischen Fragen zu unterstützen. Auch Frau Krämer und Frau Schütz möchte ich für Ihre Geduld in technisch- histologischen Fragen danken.

Herrn Dr. med. vet. J. Schnorr, Frau Dr. med. vet. S. Wagner und Herrn OA Dr. med M. Taupitz haben mich während der gesamten Zeit vorbehaltlos unterstützt und mir das nötige Wissen für wissenschaftliches Arbeiten vermittelt, dafür möchte ich mich herzlich bedanken.

Herrn Dr. rer. nat. H. Pilgrimm danke ich für die Bereitstellung der Testsubstanz und die wissenschaftliche Unterstützung.

Frau Schink vom Institut für medizinische Biometrie der Humboldt- Universität zu Berlin danke ich für die statistische Beratung.

Frau Dr. med. vet. C. Abramjuk, sowie den unzähligen anderen Kollegen der Arbeitsgruppe Taupitz danke ich für die wundervolle Zusammenarbeit während den vergangenen Jahren.

Meiner Familie und meinen Freunden danke ich für die Geduld sowie die moralische Aufbauarbeit.

## 11 Lebenslauf

Name	Gerlind Claaßen
Geburtsdatum/-ort:	13.01.1974 in Frankfurt am Main
Eltern	Dr. ing. Claus-Dieter Claaßen Ursula Claaßen, geb. Salje, Volkswirtin
Ausbildung:	
1980-1984	Grundschule der Stadt Kronberg im Taunus
1984-1993	Altkönigschule Kronberg im Taunus, gymnasialer Zweig
Juni 1993	Abitur
1993- 1999	Studium der Veterinärmedizin an der Freien Universität Berlin
März 1999	Approbation
Seit Juli 1999	Doktorand des Instituts für Veterinär-Anatomie der Freien Universität Berlin
April 2000-März 2001	Stipendiant des Landes Berlin (NaFöG)
Seit April 2002	Produktmanagerin bei der Rösch AG Medizintechnik

## **Selbständigkeitserklärung**

Hiermit versichere ich, daß die vorliegende Arbeit selbständig und nur unter Zuhilfenahme der angegebenen Literatur, Hilfsmittel und Methoden angefertigt wurde.

Berlin, den 20.09.2002

A handwritten signature in black ink, reading "Gerlind Claßen". The signature is written in a cursive style with a large initial 'G' and 'C'.

Gerlind Claßen