

## 4 Ergebnisse

Alle eingesetzten Tiere befanden sich bei guter Gesundheit, es konnten keine Verhaltensabnormalitäten beobachtet werden.

Bei der Präparation der Organe gab es keine Hinweise auf pathologische Veränderungen. Die Lymphknoten entsprachen in Größe und Form den Beschreibungen in der Literatur. Die Farbe der Lymphknoten wies bei den Kontrastmitteltieren einen leichten Braunstich auf, was auf die Verabreichung des Kontrastmittels zurückzuführen ist.

### 4.1. MR-tomographische Untersuchung der Kontrolltiere

Für die MR- Tomographie wurden für jede der beiden Kontrollgruppen ‚Kon. Mittel‘ und ‚Kon. Alt‘ je 5 Tiere à 15 Lymphknoten präpariert und gemessen. Die Kontrollgruppen korrespondieren mit den Altersstufen der Kontrastmitteltiere zu Beginn und am Ende der Versuche. Wie aus Abb.2 deutlich hervorgeht, verändern sich die Signalintensitäten mit dem Alter der Tiere und machen zwei Kontrollgruppen nötig. Für die Darstellung wurden die Lymphknoten jeweils nach Körperregionen zusammengefaßt. Die Region ‚Kopf/Hals‘ umfaßt alle mandibulären und zervikalen, die Region ‚Schultergliedmaße‘ die axillären und akzessorischen axillären Lymphknoten. Die Region ‚Beckengliedmaße‘ summiert subiliakale und popliteale Lymphknoten, die Region ‚Bauch/Becken‘ beinhaltet die Eingeweidelymphknoten (jejunale und iliakale Lymphknoten).

- Vergleich der Signalintensitäten der Lymphknoten in Abhängigkeit der Körperregionen

Die Mediane der relativen Signalintensitäten (SI) der einzelnen Körperregionen sind bei der Kontrollgruppe ‚Kon. Alt‘ signifikant (MWU) kleiner als bei der Kontrollgruppe ‚Kon. Mittel‘. Außerdem weisen die älteren Tiere eine größere Streuung auf. Die Differenz zwischen den Medianen der Gruppen ‚Kon. Alt‘ zu ‚Kon. Mittel‘ bei der ‚Bauch/Becken‘ Region ist geringer als bei den übrigen Regionen (Abb. 2).

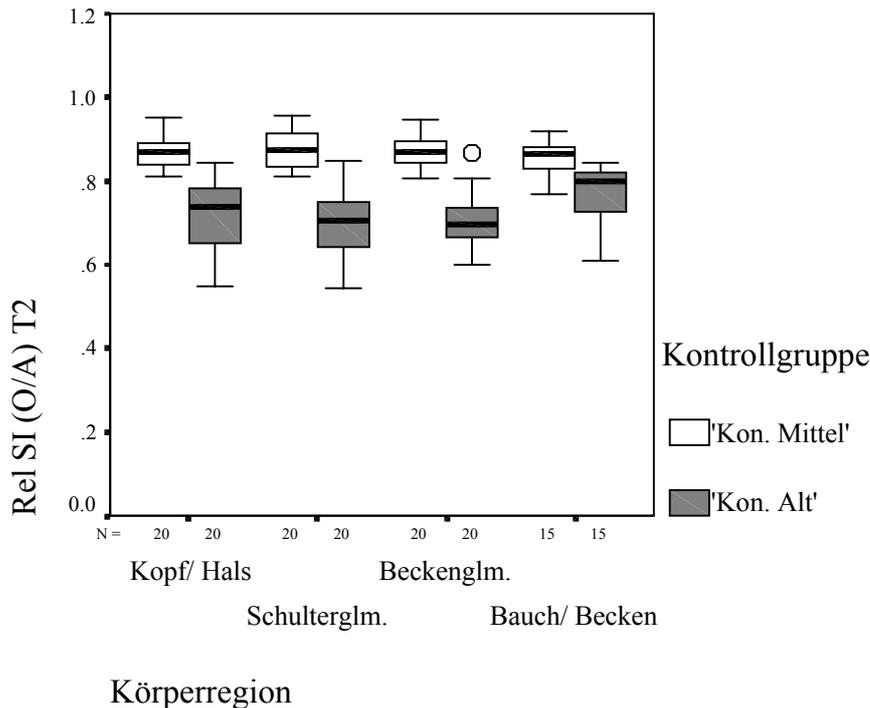


Abb. 2: Relative Signalintensitäten (SI) als Verhältnis von Organ/Agar (O/A) in der T2<sub>w</sub>GRE-Sequenz

## 4.2. Histologische Untersuchung der Kontrolltiere

### 4.2.1. Beurteilung der Turnbull- Blau- Färbung

Es wurden 3 Altersgruppen à 5 Tiere mit jeweils 11 Lymphknoten in der Turnbull- Blau-Färbung (TB-Färbung) ausgewertet. Nicht ausgewertet wurden die zervikalen und die subiliakalen Lymphknoten.

Bei der semiquantitativen Beurteilung des Eisengehaltes der Kontrolltiere wurde die Eisenmenge prozentual dargestellt, um einen Vergleich zu schaffen (Abb. 3 und 4).

- Eisenmenge im Sinussystem und in der Rinde der Kontrolltiere

Die älteren Kontrolltiere zeigen deutlich mehr Lymphknoten mit verstärktem Eisenvorkommen im *Sinussystem* als die jungen, die Merkmalsausprägung nimmt signifikant (MH) von Gruppe zu Gruppe zu (Abb. 3). Auch im Bereich der *Rinde* zeigt sich ein signifikanter (Chi<sup>2</sup>) Anstieg der Lymphknoten mit mehr Eisen zwischen mittelalten und alten Kontrolltieren (Abb. 4).

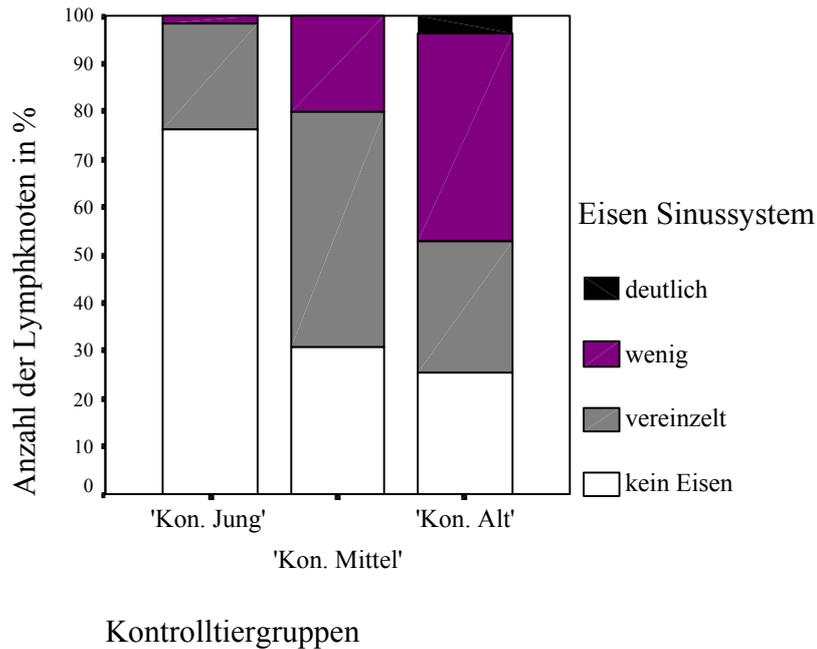


Abb. 3: Semiquantitative Beurteilung der Eisenmenge im Sinussystem (TB-Färbung)

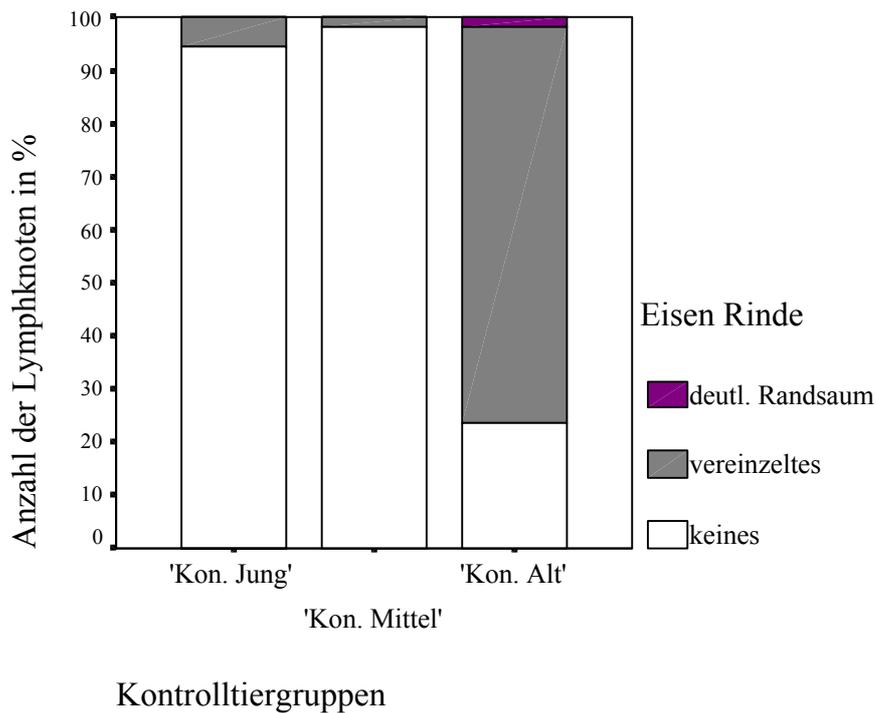


Abb. 4: Semiquantitative Beurteilung der Eisenmenge in der Rinde (TB-Färbung)

#### 4.2.2. Beurteilung der HE-Färbung

In der HE-Färbung wurden jeweils 11 Lymphknoten von je 3 Tieren in allen Altersgruppen ausgewertet. Nicht ausgewertet wurden die zervikalen und die subiliakalen Lymphknoten.

Die Anzahl bestimmter Zellen oder der Aktivitätszustand wurden semiquantitativ beurteilt und prozentual in Balkendiagrammen dargestellt.

#### 4.2.2.1. Beurteilung des Aktivitätszustandes

Es wurden vier verschiedene Kriterien beurteilt, die Aktivität des *Kortex*, des *Parakortex*, des *Sinussystems* und das Vorkommen einer *Plasmozytose*.

- Kortexaktivität bei den Kontrolltieren

Die Anzahl von Lymphknoten mit verstärkter Aktivität des *Kortex* nimmt signifikant ( $\text{Chi}^2$ ) von der jungen zur mittleren Tiergruppe zu, um bei der alten Kontrollgruppe wieder leicht abzufallen (nicht signifikant,  $\text{Chi}^2$ ), die Gruppe ‚Kon. Jung‘ zeigt die meisten Primärknötchen (Abb. 5).

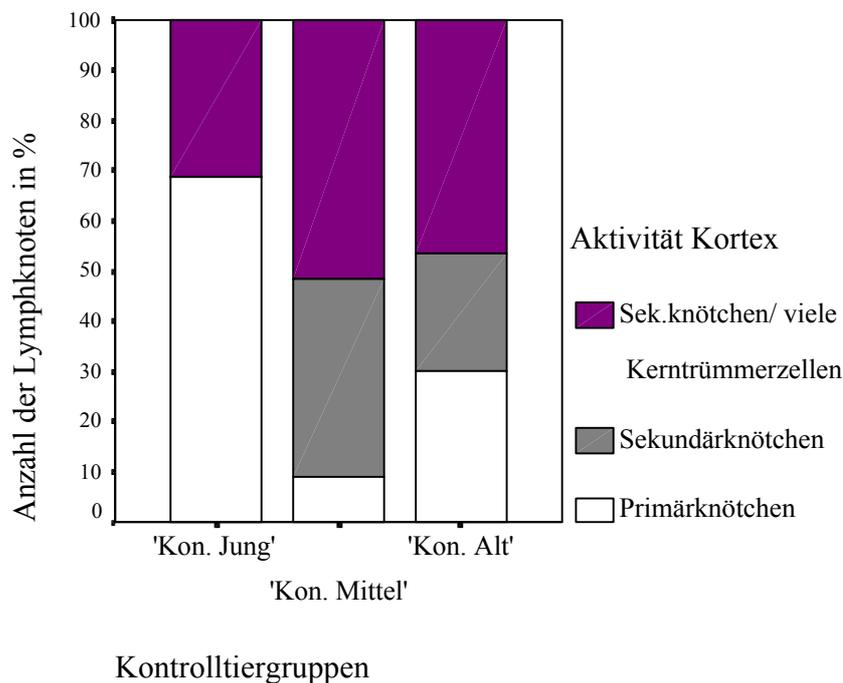


Abb. 5: Semiquantitative Beurteilung der Kortexaktivität (HE-Färbung)

Die überwiegende Anzahl der Lymphknoten zeigt eine hohe Aktivität des *Parakortex*. Die Breite des *Parakortex* ist nur bei 15,2 bis 37,5% der Lymphknoten gering (‚Kon. Jung‘ 37,5%, ‚Kon. Mittel‘ 15,2%, ‚Kon. Alt‘ 25,0%), die Unterschiede sind nicht signifikant ( $\text{Chi}^2$ ).

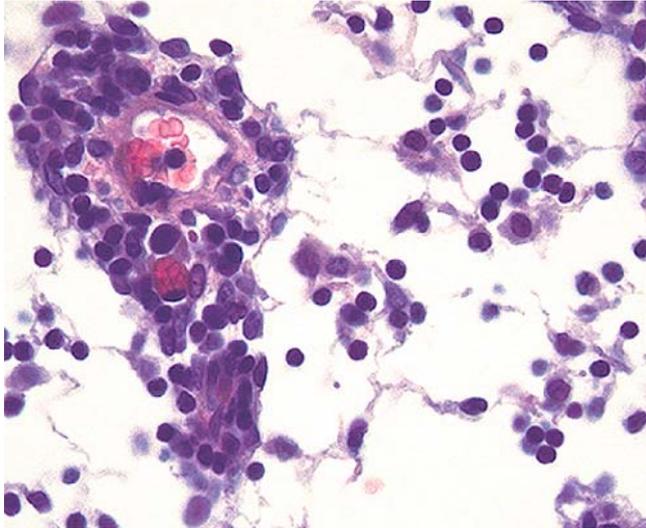


Abb. 6: Inaktives Mark mit Sinus und Markstrang beim Kontrolltier- HE-Färbung, 1000fache Vergrößerung

Die Abbildung 6 zeigt relativ inaktives Lymphknotenmark bei einem Kontrolltier. Deutlich setzt sich der Markstrang mit dem darin verlaufenden Blutgefäß ab. Der Sinus enthält locker verstreute Zellen, auch die Ausläufer der Retikulumzellen sind sichtbar. Die wenigen vorhandenen Makrophagen sind klein, zeigen wenig Zytoplasma und wenige Zellausläufer.

Die Mehrzahl der Lymphknoten zeigt eine Sinushistiozytose (homogen bzw. inhomogen verteilt). Eine Inaktivität im *Sinussystem* ist nur bei 9,1 bis 12,5% der Lymphknoten vorhanden, die Unterschiede zwischen den Gruppen sind nicht signifikant ( $\chi^2$ ).

- Vorkommen einer Plasmozytose bei den Kontrolltieren

Tab. 7: Kreuztabelle über das Vorkommen einer Plasmozytose bei den verschiedenen Kontrollgruppen

Gruppe			Kon. Jung	Kon. Mittel	Kon. Alt	Gesamt
Plasmozytose	Nein	Anzahl	26	24	27	77
		%	92.9	72.7	84.4	82.8
	Ja	Anzahl	2	9	5	16
		%	7.1	27.3	15.6	17.2
Gesamt		Anzahl	28	33	32	93
		%	100.0	100.0	100.0	100.0

Zwischen den Gruppen ‚Kon. Jung‘ und ‚Kon. Mittel‘ nimmt die Anzahl an Lymphknoten mit *Plasmozytose* zu. Bei der Gruppe ‚Kon. Alt‘ geht die Menge an Lymphknoten mit Plasmozytose wieder zurück (Tab. 7). Die Veränderungen sind nicht signifikant (Chi<sup>2</sup> Test).

#### 4.2.2.2. Vorkommen und Anzahl bestimmter Zellen

Die Lymphknoten wurden auf das Vorkommen und die Anzahl von *Mastzellen* und *eosinophilen Granulozyten* beurteilt.

- Vorkommen von Mastzellen bei den Kontrolltieren

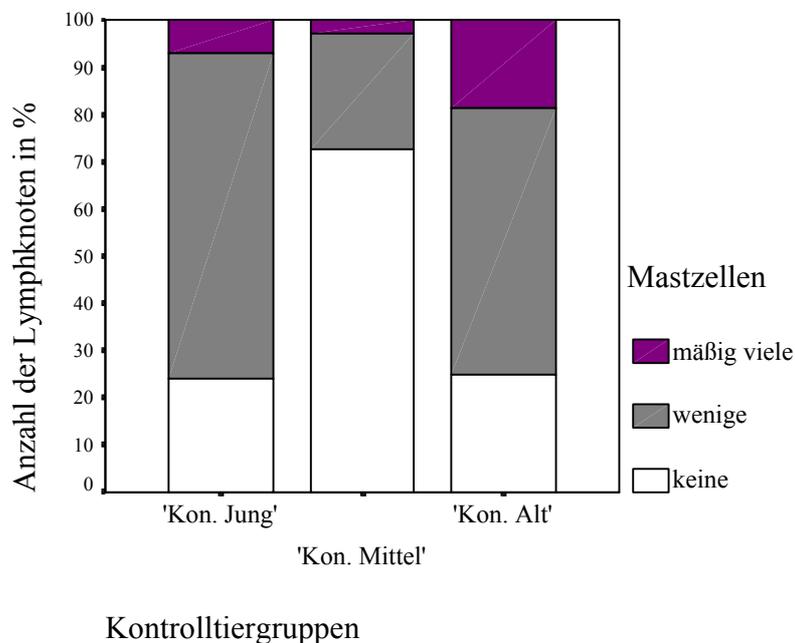
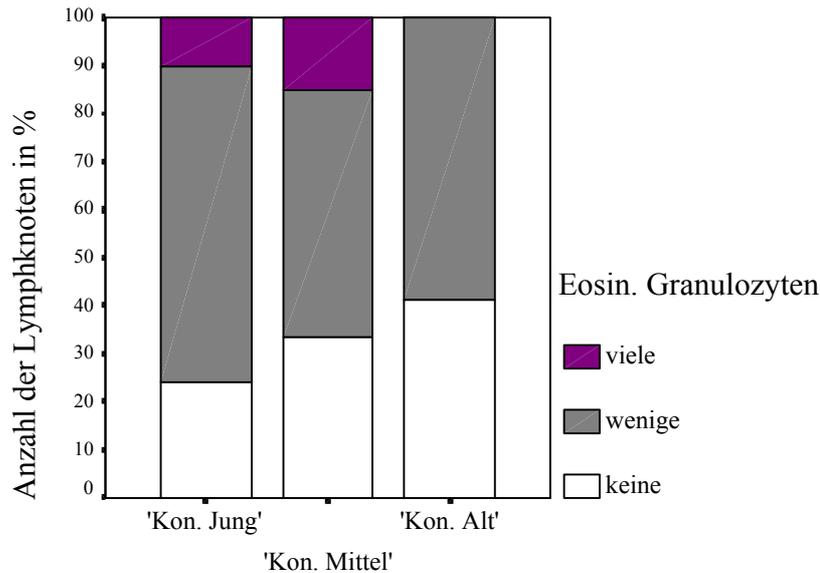


Abb. 7: Semiquantitative Beurteilung der Mastzellen (HE-Färbung)

Während die Anzahl an Lymphknoten mit verstärktem Vorkommen von *Mastzellen* zu der Gruppe ‚Kon. Mittel‘ signifikant (Chi<sup>2</sup>) absinkt, steigt die Anzahl bei der Gruppe ‚Kon. Alt‘ wieder signifikant (Chi<sup>2</sup>) auf das Niveau der Kontrollgruppe ‚Kon. Jung‘ (Abb. 7).

- Vorkommen von eosinophilen Granulozyten bei den Kontrolltieren

Die Anzahl der Lymphknoten mit vielen *eosinophilen Granulozyten* sinkt im Alter (nicht signifikant, Chi<sup>2</sup>) (Abb. 8).



Kontrolltiergruppen

Abb. 8: Semiquantitative Beurteilung der eosinophilen Granulozyten im Mark (HE-Färbung)

### 4.3. MR-tomographische Untersuchung zur Dosisfindung

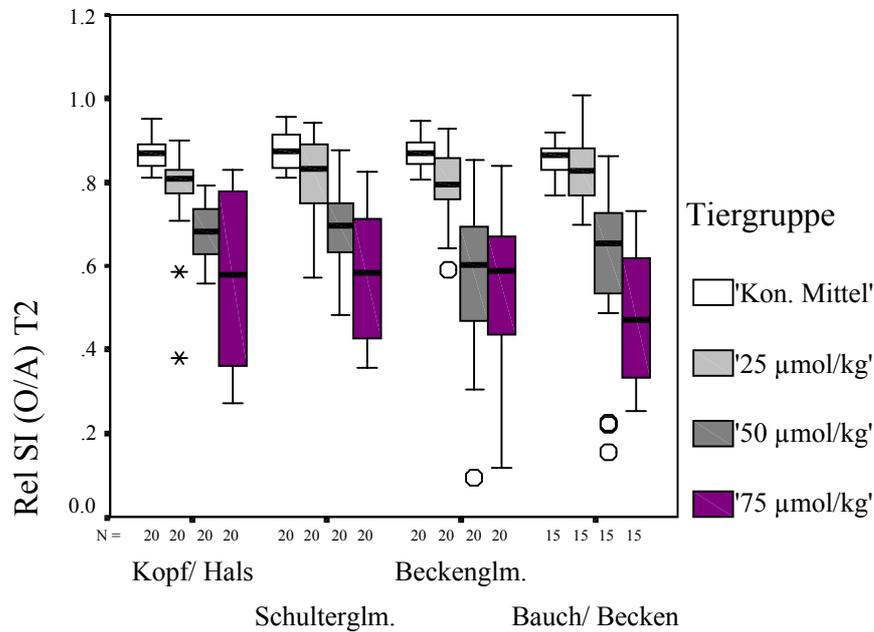
Zur Dosisfindung wurden drei verschiedene Dosierungen (25, 50 und 75  $\mu\text{mol/kg}$ ) intravenös appliziert. Zum gleichen Zeitpunkt (24 h p.i.) nach Applikation wurden die Organe entnommen. Die Ergebnisse wurden miteinander und mit der korrespondierenden Kontrolltiergruppe ‚Kon. Mittel‘ verglichen.

Die 3 Kontrastmittelgruppen bestanden aus je 5 Tieren à 15 Lymphknoten der mittleren Altersgruppe. Die Lymphknoten wurden zum einen wie in Kapitel 4.1. (Abb. 9) gruppiert, für die zweite Darstellung (Abb. 10) wurden die jeweiligen rechten und linken Lymphknoten zusammengefaßt.

- Vergleich der Signalintensitäten der Lymphknoten der verschiedenen Körperregionen bei unterschiedlichen Dosierungen

Aufgeschlüsselt nach Körperregionen zeigt die Signalreduktion für alle Regionen eine deutliche, signifikante Dosisabhängigkeit (JT). Bei der Dosis ‚25  $\mu\text{mol/kg}$ ‘ lagen die Mediane der SI der Lymphknoten nahe denen der entsprechenden Kontrollgruppe ‚Kon. Mittel‘. Die Gruppe ‚50  $\mu\text{mol/kg}$ ‘ zeigt eine weitere Signalreduktion. Die Mediane liegen deutlich unter

denen der Kontrollgruppen. Erst bei der Dosis ‚75  $\mu\text{mol/kg}$ ‘ liegen alle Mediane und Boxen (mittleren 50% der Werte) deutlich unter denen der Kontrolltiere (Abb. 9).



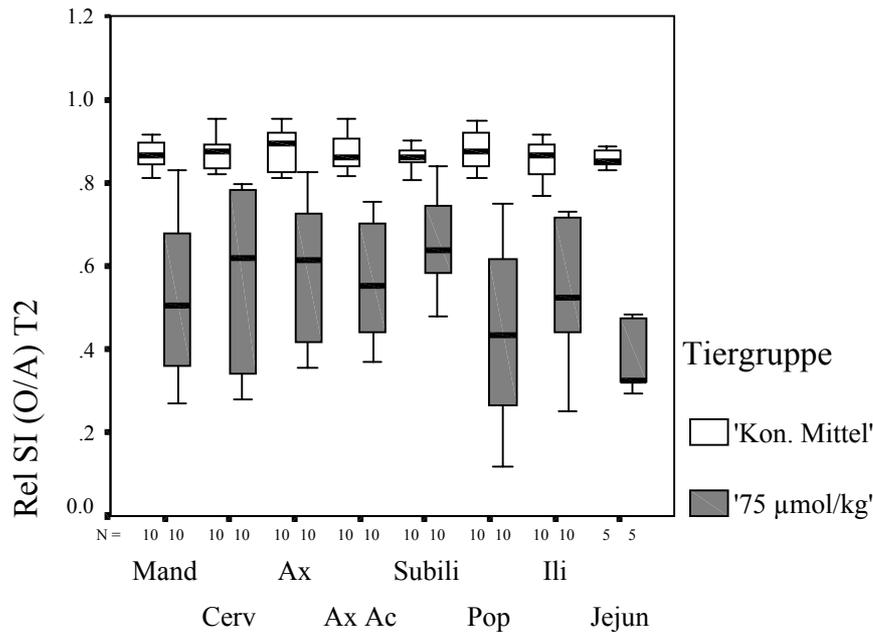
### Körperregion

Abb. 9: Relative Signalintensitäten (SI) als Verhältnis Organ zu Agar (O/A) der verschiedenen Körperregionen 24 h nach iv. Gabe des Kontrastmittels in der T2<sub>w</sub>GRE-Sequenz

- Vergleich der Signalintensitäten zwischen den Gruppen ‚75  $\mu\text{mol/kg}$ ‘ und ‚Kon. Mittel‘

Bei der Darstellung in Abb. 10 wird die gleichmäßige Signalreduktion bei einer Dosis von 75  $\mu\text{mol/kg}$  24 h p.i. deutlich, die zur Wahl dieser Dosis für die Beobachtung im Zeitverlauf geführt hat. Bei 3 von 8 der Lymphknotengruppen kommt es zu Überschneidungen der Wertebereiche beider Kontrolltiergruppen. Die Streuung der Meßwerte bei den Kontrastmitteltieren ist deutlich größer.

Die Unterschiede zwischen Kontrolltieren und Kontrastmitteltieren sind bei allen Lymphknotengruppen signifikant (MWU).



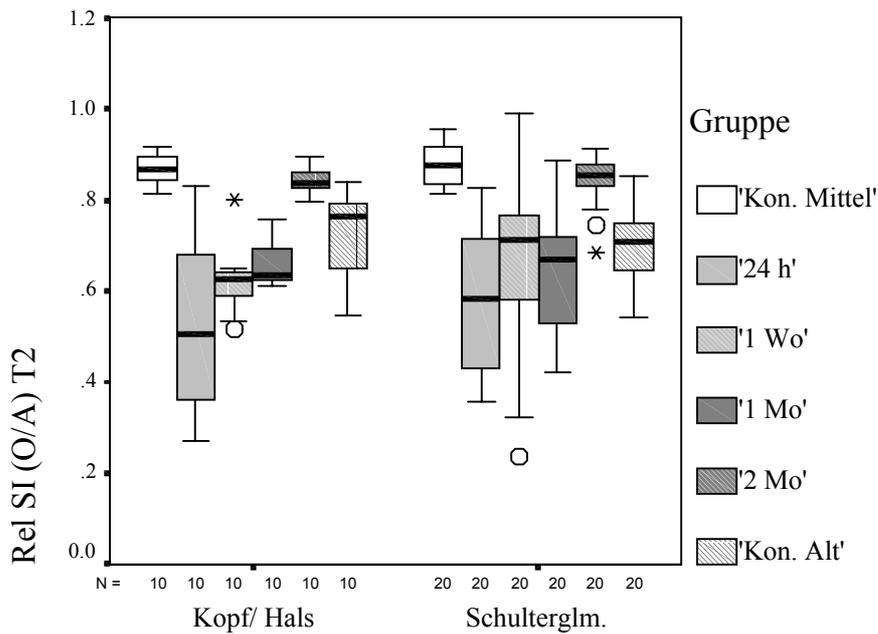
#### Lymphknotengruppen

Abb. 10: Relative Signalintensitäten (SI) als Verhältnis Organ zu Agar (O/A) der verschiedenen Tiergruppen in der T2<sub>w</sub>GRE Sequenz

#### 4.4. MR-tomographische Untersuchung über 2 Monate (Langzeitstudie)

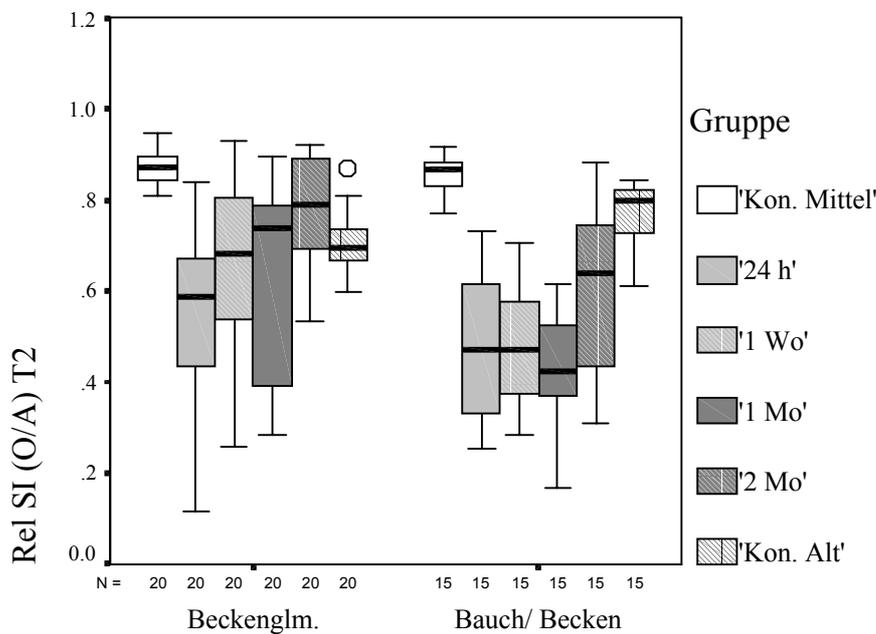
Ein Vergleich zu verschiedenen Zeitpunkten nach Kontrastmittelgabe soll Aufschluß darüber geben, wie sich die Signalintensitäten verändern. Allen Tieren wurde zum Zeitpunkt 0 Kontrastmittel mit einer Dosis von 75 µmol/kg intravenös appliziert, die Tiere wurden in Gruppen zu je 5 Tieren eingeteilt und nach 24 Stunden (,24h'), 1 Woche (,1 Wo'), 1 Monat (,1 Mo') bzw. 2 Monaten (,2 Mo') untersucht. Dabei befanden sich die beiden ersten Gruppen (,24h', ,1 Wo') noch in der mittleren Altersstufe. Für diese Tiere werden die Kontrolltiere der mittleren Altersstufe (,Kon. Mittel') zum Vergleich herangezogen. Das Alter der beiden letzten Gruppen (,1 Mo', ,2 Mo') ist mit dem der Kontrollgruppe ,Kon. Alt' vergleichbar. Diese dient hier als Referenzgruppe. Die Gruppierungen der Lymphknoten wurden wie in Abschnitt 4.1. durchgeführt. Zusätzlich wurden die Lymphknoten für Abb. 13 in eine oberflächliche Gruppe und die Gruppe der Eingeweidelymphknoten zusammengefaßt. Unter Eingeweidelymphknoten wurden die iliakalen und jejunalen Lymphknoten gruppiert, die oberflächliche Gruppe beinhaltet alle anderen Lymphknoten.

- Vergleich der verschiedenen Körperregionen zu unterschiedlichen Zeitpunkten



nach Körperregion

Abb.11: Relative Signalintensitäten (SI) als Verhältnis Organ zu Agar (O/A) verschiedener Körperregionen bei einer Dosis von 75  $\mu\text{mol/kg}$  in der T2<sub>w</sub>GRE- Sequenz



Körperregion

Abb.12: Relative Signalintensitäten (SI) als Verhältnis Organ zu Agar (O/A) verschiedener Körperregionen bei einer Dosis von 75  $\mu\text{mol/kg}$  in der T2<sub>w</sub>GRE- Sequenz

Nach initialer Signalreduktion (,24 h‘) wird der Anstieg der Signalintensitäten über die folgenden 2 Monate deutlich. Dieser Anstieg ist außer bei der Region ‚Bauch/Becken‘ jeweils signifikant (JT).

Die Mediane der SI der Gruppen ‚1 Wo‘ und ‚1 Mo‘ steigen bei den Lymphknoten der kranialen Regionen (,Kopf/Hals‘, ‚Schulterglm.‘) im Vergleich zu den Medianen der SI der Gruppe ‚24 h‘ wieder an. Die gemessenen SI der Gruppe ‚2 Mo‘ überschneiden sich kaum noch mit denen der früheren Meßzeitpunkte. Der Median der Gruppe ‚2 Mo‘ liegt deutlich über denen zu früheren Meßzeitpunkten und geringfügig über dem Median der Kontrollgruppe ‚Kon. Alt‘.

Bei der kaudalen Region ‚Beckenglm.‘ verhalten sich die Mediane der SI der Gruppen ‚1 Wo‘ und ‚1 Mo‘ wie bei den kranialen Regionen. Nur zum Zeitpunkt 2 Monate p.i. liegt der Median der SI nicht deutlich über der Gruppe ‚1 Mo‘. Obwohl der Median der SI der Gruppe ‚2 Mo‘ größer ist als der Median der Kontrollgruppe ‚Kon. Alt‘, sind die Differenzen zwischen den Meßwerten nicht so stark ausgeprägt wie bei den kranialen Regionen.

Bei der kaudalen Region ‚Bauch/Becken‘ unterscheiden sich die Mediane der SI der Gruppen ‚24 h‘ bis ‚1 Mo‘ kaum, der Median ‚1 Mo‘ ist sogar geringfügig kleiner als der Median der Gruppe ‚24 h‘. Erst 2 Monate p.i. steigen die SI der Lymphknoten wieder an, der Median liegt deutlich über denen der anderen Gruppen und unter dem der alten Kontrolltiere (Abb. 11/ 12). Der Unterschied zwischen den Gruppen ‚2 Mo‘ und ‚Kon. Alt‘ ist bei allen Regionen signifikant (MWU).

- Vergleich von oberflächlichen und Eingeweidelymphknoten zu verschiedenen Zeitpunkten

Diese Darstellung (Abb. 13) verdeutlicht die unterschiedlichen Veränderungen der rel. Signalintensitäten der oberflächlichen und Eingeweidelymphknoten.

Der Unterschied zwischen den rel. Signalintensitäten zwischen den oberflächlichen und Eingeweidelymphknoten ist bei den Gruppen ‚1 Wo‘, ‚1 Mo‘ und ‚2 Mo‘ nach Applikation sowie bei alten Kontrolltieren signifikant (MWU).

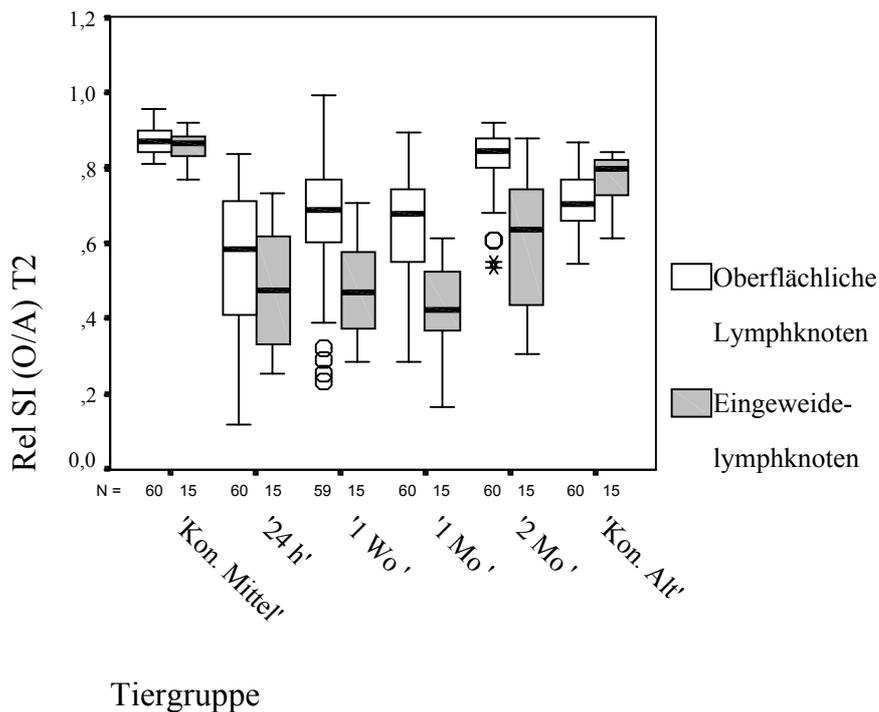


Abb.13: Relative Signalintensitäten (SI) als Verhältnis Organ zu Agar (O/A) der oberflächlichen und Eingeweidelymphknoten bei einer Dosis von  $75\mu\text{mol/kg}$  in der  $T2_w\text{GRE}$ -Sequenz

- Ausschnitt aus den Phantomen

Ausschnitte aus den Phantomen sollen einen Überblick über die bis jetzt gezeigten Magnetresonanztomographischen Ergebnisse zeigen.

In den oberen zwei Reihen befinden sich die verschiedenen oberflächlichen Lymphknoten. In der dritten Reihe von oben sind das Knochenmark (links) und die Eingeweidelymphknoten zu sehen. Zu unterst befinden sich Leber (links) und Milz (rechts) (Abb. 14 und 15).

Bei den Abbildungen ist zu beachten, daß eventuelle Unterschiede in Kontrast und Dunkelheit durch die Darstellungsweise entstanden sind und auf die im Auswertungsprogramm entstandenen Meßwerte keinen Einfluß haben.

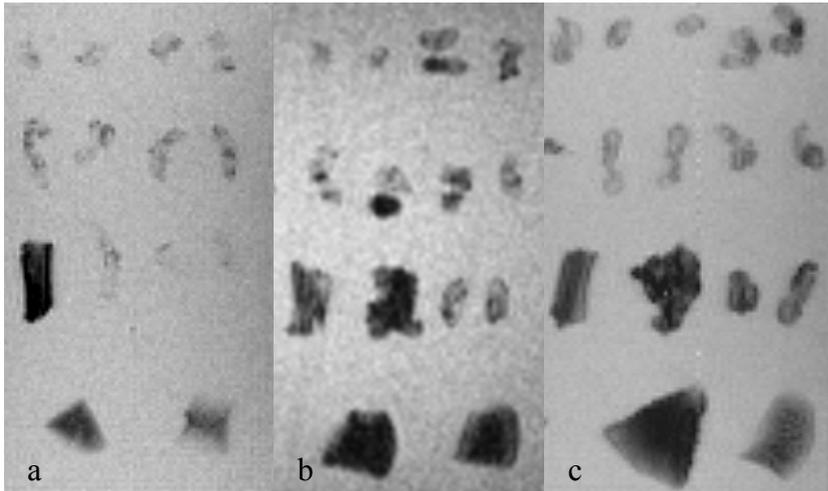


Abb. 14: Vergleich der mittelalten Tiere: 'Kon. Mittel' (a), '24 h' (b), '1 Wo' (c) in der T2<sub>w</sub>GRE- Sequenz

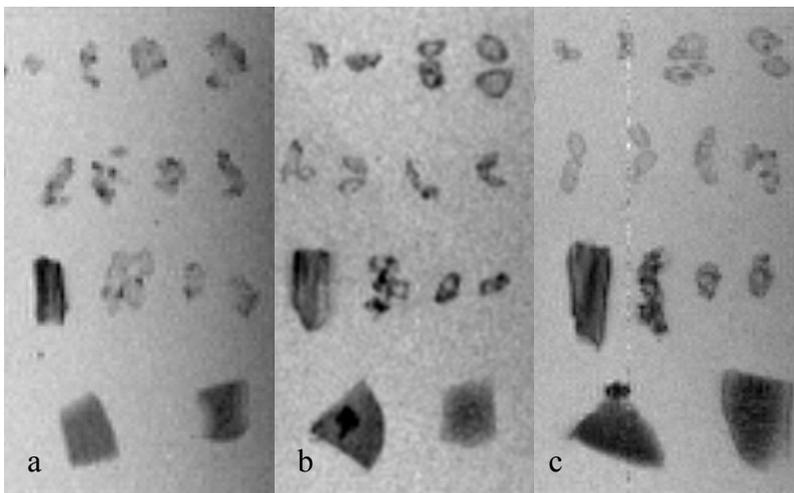


Abb. 15: Vergleich der alten Tiere: 'Kon. Alt' (a), '1 Mo' (b), '2 Mo' (c) in der T2<sub>w</sub>GRE- Sequenz

An den Phantombildern läßt sich gut die signalreduzierende Wirkung (Schwärzung) des Kontrastmittels demonstrieren, der Unterschied von Kontrolltieren zu Kontrastmitteltieren (Abb. 14 a+b) zeigt die Schwärzung der Organe. Diese Schwärzung wird geringer, je länger die Kontrastmittelgabe vergangen ist (Abb.14 b+c, Abb. 15 b+c, 24 h bis 2 Monate p.i.).

Auch der Unterschied zwischen den Kontrolltieren verschiedenen Alters zeigt sich deutlich, erkennbar sind die Signalreduktion in Milz und Lymphknoten, sowie die Signalsteigerung in der Leber (Abb. 14 und 15, jeweils a).

Deutlich wird auch das unregelmäßige Signalverhalten innerhalb der Lymphknoten, welches sowohl bei Kontrolltieren als auch Kontrastmitteltieren zu beobachten ist.

- Homogenität der MR- Bilder

Auf eine Agarkorrektur wurde für diese Tabelle verzichtet, um Werte gleicher Größenordnung vergleichen zu können. Die Homogenität der MR- Bilder kann anhand der Abweichung der ermittelten Signalintensitäten beurteilt werden. Dabei ist die Abweichung die innerhalb eines einzelnen Lymphknotens vorkommende Standardabweichung der Meßwerte. Die Signalintensität eines Lymphknotens ist die Summe der einzelnen Pixelwerte, geteilt durch die Anzahl der Pixel. Bei der Gruppe '24 h' ist die Abweichung deutlich geringer als bei 'Kon. Mittel', zusätzlich ist der Mittelwert deutlich kleiner. Ähnliches zeigt sich bei allen Kontrastmittelgruppen außer '1 Mo' und '2 Mo', bei denen die Werte ähnlich denen der Gruppe 'Kon. Alt' sind. Bei den Kontrollgruppen selbst nimmt die Abweichung im Alter zu, während der Mittelwert der Signalintensitäten abnimmt.

Tab. 9: Mittelwerte der Signalintensitäten sowie mittlere Abweichungen (ohne Agarkorrektur) in der T2<sub>w</sub>GRE Sequenz bei Kontrollgruppen bzw. Kontrastmittelgruppen (75 µmol/kg, n=75, Anzahl der Lymphknoten pro Gruppe)

<b>Mittelalte Gruppen</b>	<b>SI der T2<sub>w</sub>GRE Mittelwert</b>	<b>Mittlere Abweichung</b>	<b>Alte Gruppen</b>	<b>SI der T2<sub>w</sub>GRE Mittelwert</b>	<b>Mittlere Abweichung</b>
<i>Kon. Mittel</i>	410	35	<i>Kon. Alt</i>	351	59
<i>24 h p.i.</i>	247	59	<i>1 Mo p.i.</i>	261	56
<i>1 Wo p.i.</i>	277	50	<i>2 Mo p.i.</i>	359	39

#### 4.5. Histologische Untersuchung der Kontrastmitteltiere

Es wurden 4 Gruppen mit je 5 Tieren und jeweils 11 Lymphknoten beurteilt. Es fehlen zervikale und subiliakale Lymphknoten. Es handelte sich dabei um die Tiere der Gruppen '24 h', '1 Wo', '1 Mo' und '2 Mo' nach intravenöser Applikation des Kontrastmittels mit einer Dosierung von 75 µmol/kg. Als Vergleich dienen die Kontrolltiergruppen 'Kon. Mittel' und 'Kon. Alt'.