

5 Diskussion

Bei Tumorkrankheiten ist die Diagnose von Metastasen in Lymphknoten von eminenter Bedeutung für Prognose und Wahl der Therapie. Auch die Langzeitüberlebenschancen sind stark vom Staging der Lymphknoten beeinflusst.

Trotz Entwicklung neuer Techniken zur Lymphographie ist bis heute der Nachweis von Metastasen nicht bei allen Lymphknoten möglich. Meistens sind es nur die oberflächlichen Lymphknoten, die bei Methoden wie der Ultraschalluntersuchung beurteilt werden können. Auch mit den Schnittbildverfahren wie CT und MRT können bis jetzt nicht alle Lymphknoten zweifelsfrei eingestuft werden. Dabei ist die Größe des Lymphknotens gängiges Beurteilungskriterium. Falsch negative (z. B. Mikrometastasen) und falsch positive (z. B. reaktive Hyperplasie) Diagnosen lassen sich nicht vermeiden, da die Binnenstrukturen der Lymphknoten nicht mit diesen Verfahren differenziert werden können.

Ultima ratio ist daher immer noch die histologische Untersuchung möglicherweise betroffener Lymphknoten. Die Risiken des chirurgischen Vorgehens und die Folgen der Exzision der wichtigen Filtereinheit Lymphknoten sind negative Aspekte dieser üblichen Vorgehensweise. Auch bei Verlaufskontrollen ist diese Herangehensweise ungünstig.

Die Möglichkeit, alle Lymphknoten inklusive der Binnenstrukturen mit Hilfe der Kontrastmittel gestützten Magnetresonanztomographie darzustellen, wäre ein wichtiger Fortschritt auf dem Gebiet der Lymphographie.

Superparamagnetische MR- Kontrastmittel bestehen aus einem Eisenoxidkern umgeben von einer biokompatiblen Hüllschicht. Als negative Kontrastmittel führen die Partikel zu einer Signalreduktion, sichtbar als Schwärzung bei T_{2w} MR- Untersuchungen. Unterschiedliche Substanzen befinden sich momentan in der Erforschung, verschiedene Indikationen, wie z. B. Leber-, Milz- und Gefäßdiagnostik, wurden erfolgreich untersucht. Lange Zirkulationszeiten und selektive Aufnahme in die Phagozytose- aktiven Zellen des MPS prädisponieren diese Partikel für die MR- Lymphographie.

Im gesunden Lymphknoten werden die Partikel von Makrophagen aufgenommen. Metastatisch veränderten Kompartimenten fehlen Makrophagen. Die Metastasen zeigen weiterhin ein unverändertes Signalverhalten (hyperintense Areale), während funktionell intakte Kompartimente aufgrund der Kontrastmittelanreicherung eine Signalreduktion im MR-Bild zeigen (hypointense Strukturen). Dadurch können die Binnenstrukturen auf Metastasen beurteilt werden.

Es gibt verschiedene Applikationsformen für Kontrastmittel. Im Gegensatz zu endolymphatischer und interstitieller Gabe verspricht die intravenöse Applikation, alle Lymphknoten zu erreichen. Aufgrund der geringen Partikelgröße haben die Kontrastmittel die Möglichkeit, aus dem Kapillarbett in das Interstitium überzutreten (Extravasation). Von dort gelangen die Partikel über Lymphgefäße in die Lymphknoten. Unterschiede in der Kontrastmittelanreicherung zwischen den verschiedenen Lymphknoten sind nicht zu vermeiden, trotzdem kann nach intravenöser Applikation in allen Lymphknoten Kontrastmittel erwartet werden.

In dieser Arbeit wurden sehr kleine, superparamagnetische Eisenoxidpartikel (very small iron oxide particles, VSOP) auf ihre Signaleigenschaften und Verstoffwechslung untersucht. Die Signalgebung soll Aufschluß über die Verteilung der Partikel zwischen den einzelnen Organen, sowie die Homogenität des MR- Signals bzw. der Distribution geben. Über einen längeren Zeitraum wurde der Verbleib der Partikel und das Verhalten des MR- Signals beurteilt, um Erkenntnisse über deren Abbau zu gewinnen. Histologische Untersuchungen sollten die MR- Untersuchung komplettieren und Einblicke in eventuelle Reaktionen des Lymphknotens auf das Kontrastmittel geben.

5.1. Zusammenhang zwischen Eisengehalt und MR- Signalgebung

Das Eisen wurde als Maß für die Anreicherung und Verteilung des Kontrastmittels in den Organen histologisch untersucht, um die Ergebnisse aus der MR- Untersuchung besser beurteilen zu können. Dabei wurde nicht selektiv das Kontrastmitteleisen nachgewiesen, sondern Eisen exogenen und endogenen Ursprungs. Dies macht die Verwendung von Kontrollgruppen notwendig.

5.1.1. Kontrollgruppen

Zum Vergleich der Wirkungen des Kontrastmittels auf das Verhalten des MR- Signals, bzw. des Eisenvorkommens in den Organen wurden die Kontrolltiere herangezogen. Der Verbleib des Kontrastmittels wurde über einen Zeitraum von zwei Monaten untersucht. Da die Kontrastmitteltiere in dieser Zeit alterten, wurden Kontrolltiere aus zwei verschiedenen Altersstufen im MRT untersucht. Die Kontrolltiere der Gruppe ‚Kon. Mittel‘ entsprechen in Alter und Körpermasse den Kontrastmittelgruppen 24 Stunden bzw. 1 Woche nach Injektion. Die Kontrollgruppe ‚Kon. Alt‘ entspricht den Kontrastmittelgruppen 1 bis 2 Monate p.i..

- Lymphknoten

Die Lymphknoten der beiden untersuchten Kontrollgruppen zeigen ein unterschiedliches MR-Signalverhalten. Die Lymphknoten der alten Kontrolltiere haben einen kleineren Median der Signalintensität (SI) als die der mittelalten Kontrolltiere, dabei ist bei der Region ‚Bauch/Becken‘ die Differenz zwischen den Kontrollgruppen geringer als bei den anderen Regionen. Auch in der histologischen Untersuchung zeigen beide Kompartimente (Rinde und Sinussystem) größere Mengen an Eisen im Alter (signifikant), wobei im Sinussystem grundsätzlich mehr Eisen vorkommt als in der Rinde.

Die unterschiedliche Verteilung des Eisens im Lymphknoten erklärt sich durch die funktionelle Unterteilung des Organs. Der Hauptanteil an Phagozytose-aktiven Zellen sitzt im Sinussystem des Lymphknotens. In diesem Kompartiment kommen endo- und exogene Partikel mit der Lymphe an. Phagozytose-aktive Zellen kommen auch in der Rinde vor, aber in geringerem Ausmaß (WEISS, 1983).

Quelle des endogenen Eisens

Bei diesem Eisen handelt es sich um körpereigenes Eisen, das zum Beispiel beim Abbau von Erythrozyten bzw. Hämoglobin frei wird. Das Eisen wird üblicherweise an Ferritin gebunden, bzw. als dessen Abbauprodukt Hämosiderin im Zytoplasma der Makrophagen gespeichert.

Aus dem Kapillarbett austretende Erythrozyten und deren Phagozytose sind ein Phänomen, welches bei verschiedenen Tierarten bekannt ist, dessen Ursachen aber unbekannt sind. Beim Menschen ist das Phänomen der Erythrozytenphagozytose ohne vorherige Traumata ebenso bekannt (LISTINSKY, 1988). Auch Hasen und Ratten zeigen spontane Phagozytose autologer Erythrozyten ohne vorherige Aktivierung durch andere immunkompetente Zellen (MIOTTI, 1965; OEMICHEN et al., 1982). Das Hämoglobineisen wird vorwiegend in Hämosiderin gespeichert. Die Erythrozyten können z. B. im Bereich der Muskulatur oder der Haut übertreten und von dort in die Lymphknoten gelangen.

Auch Ferritin konnte in Makrophagen der Lymphknoten nachgewiesen werden. Vor allem nach entzündlicher Stimulation kommt diese Form der Eisenspeicherung vermehrt vor (AGUAS et al., 1991).

Eine andere Quelle für das beobachtete Eisen könnte Transferrin sein, das über die Lymphe zu den Lymphknoten gelangt. Dieses eisenbindende Protein transportiert z. B. oral

resorbiertes Eisen durch den Körper. Nach Bindung und Abgabe an Makrophagen wird das Eisen dort an Ferritin bzw. Hämosiderin gebunden. Die Speicherung dieses Eisens in Lymphknoten konnte jedoch bei Ratten mit haltungsbedingter Eisenanreicherung in der Milz nicht beobachtet werden (SCHNORR, 2002) und scheint daher eher von untergeordneter Bedeutung zu sein.

MR- Wirkung des endogenen Eisens

Endogenes Eisen hat eine kaum magnetische Wirkung. Lediglich die Abbauprodukte von Oxyhämoglobin, z. B. Hämosiderin und Ferritin haben einen geringen T2-verkürzenden Effekt, der allerdings wesentlich schwächer ist als der des Kontrastmitteleisens. Trotzdem können endogene Eisenspeicher, wie in dieser Untersuchung beobachtet wurde, das Verhalten der Organe im MRT beeinflussen (YOUNG, 1999).

Die Unterschiede zwischen oberflächlichen- und Eingeweidelymphknoten der alten Kontrolltiere zeigen den Einfluß des körpereigenen Eisens. Die Eingeweidelymphknoten weisen eine geringere Eisenmenge und eine geringere Signalreduktion auf als die oberflächlichen; diese enthalten mehr endogenes Eisen und haben eine stärkere Signalreduktion.

Bei Messungen der Signalintensitäten im Lymphknoten muß daher das Alter der Ratten berücksichtigt werden.

- Leber, Milz und Knochenmark

In der *Leber* findet sich in keiner Kontrollgruppe Eisen. Im MRT kommt es allerdings zu einer geringen Signalintensitätssteigerung im Zuge der Alterung.

Ein Einflußfaktor kann der Wasser- bzw. Fettgehalt sein, der im Alter ab- bzw. zunimmt. So wurde für die Leber eine erhöhte Fetteinlagerung im Alter beschrieben, dieses führt in der PDSE Sequenz zu der beobachteten Signalsteigerung (KÖCHLI und MARINCEK, 1998). Dies scheint besonders bei akuten Fetteinlagerungen der Fall zu sein (CHAI et al., 2001).

In der *Milz* geht die altersbedingte Signalreduktion mit einem geringfügig verstärkten Eisenvorkommen in beiden Kompartimenten (rote und weiße Pulpa) einher. In der roten Pulpa ist grundsätzlich mehr Eisen zu beobachten als in der weißen Pulpa.

Der unterschiedlichen Verteilung des Eisens und dem verstärkten Vorkommen in den beiden Kompartimenten der Milz liegen die gleichen Ursachen wie in den Lymphknoten zugrunde. Die rote Milzpulpa hat als Hauptaufgabe die Reinigung des Blutes, z. B. von gealterten Erythrozyten und deren Abbau. Das beim Hämoglobinabbau frei werdende Eisen wird in den Makrophagen eingespeichert und vornehmlich bei der Hämoglobinsynthese in den blutbildenden Organen, z. B. Knochenmark reutilisiert (SCHEUNERT und TRAUTMANN, 1987). Im Gegensatz dazu hat die weiße Milzpulpa vorwiegend immunologische Aufgaben, eine geringe Steigerung an Eisenpartikeln liegt ebenso wie in der Rindenzone der Lymphknoten vor.

Die Veränderungen von Milz und Leber mit zunehmendem Alter bei Kontrolltieren wurden auch in anderen Untersuchungen bestätigt (SCHNORR et al., 2000; ABRAMJUK, 2001).

Das *Knochenmark* zeigt eine altersbedingte Signalreduktion, histologische Daten liegen nicht vor.

Das Knochenmark ist ebenso wie die Milz am Eisenstoffwechsel beteiligt. Dort findet während der Erythropoese der Einbau des reutilisierten Eisens in Hämoglobin statt. Makrophagen des Knochenmarks speichern zu diesem Zweck Eisen als Ferritin.

Altersbedingte Veränderungen im Eisengehalt von Milz und Lymphknoten

Ein verstärktes Vorkommen von Eisen in Milz und Lymphknoten im Alter wurde auch in anderen Arbeiten beobachtet (ABRAMJUK, 2001; SCHNORR 2002). Dabei darf aber nicht außer Acht gelassen werden, daß die untersuchten Tiere weder ‚Alt‘ bzw. ‚Mittelalt‘ im geriatrischen Sinne waren. Bei Lebenserwartungen von 30-42 Monaten sind die hier untersuchten Tiere (Alter bis zu 3 Monaten) gerade erst in der Endphase der Pubertät bzw. am Anfang der Erwachsenenphase und befinden sich immer noch im Wachstum. Untersuchungen zu Eisengehalten in Leber und Milz bei Ratten im Alter von 8-12 bzw. 20-22 Monaten haben eine Verringerung des Körpereisens sowie Depoteisens im Alter postuliert (AHLUWALIA et al., 2000). Ein weiterer Faktor für dieses Geschehen im Alter könnte die im Alter abnehmende Futtermittelaufnahme bzw. der Rückgang der Körpermasse sein, wonach eine Mobilisation und damit Reduktion der Eisenvorräte denkbar wären (PENZES, 1977).

Trotzdem scheint es in dem hier untersuchten Zeitintervall der Wachstumsphase, zu einer vermehrten Aufnahme von Eisen in Lymphknoten und Milz zu kommen.

Als Ursachen für den beobachteten Eisenanstieg kommen z. B. die physiologische Erythrozytenphagozytose, sowie Speicherung von oral resorbiertem Eisen in Betracht. Oral resorbiertes Eisen findet sich vor allem in der Milz wieder (siehe Kap 5.1.3.).

Welche Ursachen in diesem Fall ausschlaggebend sind, kann mit den hier durchgeführten Untersuchungen nicht festgestellt werden. Ebenso liegen keine Erkenntnisse in dieser Arbeit über den weiteren Verlauf im eigentlichen, geriatrischen Prozess vor.

Für die durchgeführte Langzeitstudie wurden zwei verschieden alte Kontrollgruppen benötigt. Diese erlauben es, eine Aussage über die Effekte des Kontrastmittels zu treffen und die gewonnenen Daten interpretieren zu können.

5.1.2. Dosisfindung

Das Kontrastmittel VSOP-C144T wurde in drei verschiedenen Dosierungen (25, 50 und 75 $\mu\text{mol Fe/kg KM iv.}$) verabreicht, um die optimale Dosis zu ermitteln. Die Organe wurden 24 h p.i. entnommen und auf eine gleichmäßige und deutliche Kontrastierung aller Lymphknoten beurteilt. Die Dosisfindung wurde nur anhand des Verhaltens des MR- Signals untersucht, es wurde keine histologische Untersuchung der Gruppen 25 bzw. 50 $\mu\text{mol/kg}$ durchgeführt, da nur das MR- Signalverhalten entscheidend für die Wahl der Dosis war.

- Lymphknoten

Bei den Lymphknoten zeigt sich in allen Körperregionen eine deutlich dosisabhängige Signalreduktion. Die Verstärkung der Signalreduktion läßt bei höheren Dosierungen nach, so daß der Unterschied zwischen den Medianen der SI der Dosierungen 50 und 75 $\mu\text{mol/kg}$ geringer ist als die Differenz zwischen den Gruppen ‚25 $\mu\text{mol/kg}$ ‘ und ‚50 $\mu\text{mol/kg}$ ‘ bzw. mittelalten Kontrolltieren und ‚50 $\mu\text{mol/kg}$ ‘.

Die Signalreduktion zu der Gruppe ‚75 $\mu\text{mol/kg}$ ‘ ist deutlich ausgeprägt (signifikant), es kommt nur zur geringen Überschneidungen mit den gemessenen Signalintensitäten der Kontrolltiere.

Aus dem Vergleich der Lymphknoten und Lymphknotengruppen zeigen sich die Vorteile der intravenösen Injektion. Durch diese Applikationsweise können alle Lymphknoten mit dem

verwendeten Kontrastmittel unabhängig von der Dosis und Lokalisation der Lymphknoten erreicht werden.

- Leber, Milz und Knochenmark

Auch in Leber, Milz und Knochenmark ist die Signalreduktion bei höherer Dosis stärker.

In der *Leber* ist die Signalreduktion im Vergleich zu den anderen Organen am ausgeprägtesten, auch zwischen den einzelnen Gruppen.

In der *Milz* überschneiden sich die Meßwerte von Kontrollgruppe und der Dosis 25 µmol/kg. Erst bei der Dosierung 50 bzw. 75 µmol/kg wird die Differenz der Mediane der SI zwischen den Kontrastmittelgruppen und der mittelalten Kontrollgruppe größer. Der Unterschied zwischen den beiden Dosierungen 50 bzw. 75 µmol/kg ist kleiner als die Differenz zwischen ‚Kon. Mittel‘ und der Dosierung 50 µmol/kg.

Das *Knochenmark* zeigt ein ähnliches Verhalten wie die Milz, auch wenn die Unterschiede in der Signalreduktion zwischen den verschiedenen Dosierungen geringer sind als bei der Milz.

Die Ergebnisse sprechen für eine Phagozytose des Kontrastmittels in Leber, Milz und Knochenmark als vaskuläre Filterstationen des Mononukleären Phagozyten Systems (MPS), die jedoch die Anreicherung im Lymphknoten und die dortige Signalreduktion nicht verhindert. Selbst bei der geringsten Dosis von 25 µmol/kg kommt es zu einer Signalreduktion in den Lymphknoten sowie den anderen untersuchten Organen.

Das Signalverhalten der Milz ist typisch für superparamagnetische Kontrastmittel, die ein nicht-lineares Verhältnis zwischen Konzentration und Signalreduktion haben. Die Signalreduktion nähert sich einem Maximum, das auch bei Erhöhung der Dosis bzw. Konzentration nicht weiter ansteigt. Dies erklärt auch in den anderen Organen und in den Lymphknoten die relativ gesehen schwächer werdende Signalreduktion bei stärkerer Dosierung.

Vorkommen von Suszeptibilitätsartefakten

Obwohl eine höhere Dosierung nicht untersucht wurde, kann anhand der Ergebnisse davon ausgegangen werden, daß auch bei höherer Dosierung die Steigerung der Signalreduktion nicht stärker ausgeprägt wäre.

Bei höheren Dosierungen von MR-Kontrastmitteln können zudem Suszeptibilitätsartefakte auftreten, besonders bei hohen Konzentrationen im Organ. Die Kontrastmittel sind nicht selbst signalgebend, sie beeinflussen die Relaxivität der Protonen in ihrer Umgebung und verkürzen dadurch die Relaxationszeiten im Gewebe. Bei zu hohen Konzentrationen beeinflussen die Kontrastmittelpartikel die Protonen so stark, daß das entstehende MR- Bild die eigentlichen Organgrenzen verwischt und überlagert. Es entsteht ein überproportional großes, verzerrtes Bild, das keine Beurteilung des Organs und benachbarter Strukturen mehr zuläßt (WANG et al., 2001).

Durch die geringfügig unterschiedliche Verteilung zwischen den Organen und den Lymphknoten wäre eine Artefaktbildung bei höherer Dosierung als 75 µmol/kg nicht sicher auszuschließen, auch wenn nur einige Organe betroffen wären.

Die höchste Dosierung in dieser Untersuchung zeigte zu keinem Meßzeitpunkt die genannten Artefakte. Diese Dosis wird auch in anderen Untersuchungen mit Eisenoxidkontrastmitteln für die verwendeten Sequenzen empfohlen (WEISSLEDER et al., 1994).

Bedeutung der Halbwertszeit (HWZ)

Für die Bestimmung der maximalen Signalreduktion des Kontrastmittels in den Lymphknoten ist die Halbwertszeit der Partikel im Blut von Bedeutung. Von anderen Kontrastmitteln ist schon bekannt, daß eine maximale Signalreduktion in Lymphknoten zwischen 12- 24 h p.i. beobachtet wird (RÉTY et al., 2000). In Vorversuchen an Ratten zu den neu entwickelten VSOP Kontrastmitteln wurden HWZ im Blut von ca. 97 min bzw. 122 min ermittelt (T2- bzw. T1-HWZ von VSOP-C184, 9 nm, 50 µmol/kg). Bei der hier untersuchten Substanz VSOP-C144T konnten eine T2- HWZ von 43- 45 min bzw. eine T1- HWZ von 40- 62 min im Blut bei 50 µmol/kg gemessen werden. Andere Vorversuche deuten eine um ca. 1/3 verlängerte Halbwertszeit bei der höheren Dosis von 75 µmol/kg an (SCHNORR, 2002, WAGNER et al., 2002a). Im Blut ist 24 h nach Gabe kein Kontrastmittel mehr nachweisbar. Erstaunlicherweise wird für superparamagnetische Kontrastmittel eine frühe Anreicherung (maximal nachweisbar ca. 1,5 h p.i. im Milchbrustgang) in der Lymphe beschrieben, der erst eine wesentlich spätere maximale Signalreduktion in den Lymphknoten zu folgen scheint. Zwei Mechanismen werden dafür verantwortlich gemacht. Ein früher Übertritt ins Interstitium mit darauf folgenden Durchfluß durch die Lymphknoten ohne Phagozytose der Partikel wird vermutet. Dies deutet auch der Nachweis der Partikel in der Milz nach subkutaner Applikation an (BENGELE et al., 1994; WEISSLEDER et al., 1994). Zudem könnte eine

Verbindung von Leberlymphgefäßen zum Milchbrustgang existieren. Dies deutet der synchrone Verlauf der HWZ in Blut und Lymphe an (RÉTY et al., 2000). Durch einen vorhandenen Shunt zwischen Leber und Milchbrustgang zirkulieren die Partikel wieder zurück ins Blut und gelangen somit nicht in den Lymphknoten. Beide Komponenten würden die Diskrepanz zwischen Lymphkonzentrationen und Maxima der Signalreduktion in den Lymphknoten erklären.

Der Zeitpunkt 24 Stunden nach Injektion erwies sich daher als zuverlässiger und praktikabler Untersuchungszeitpunkt. Die Dosis von 75 µmol/kg wurde aufgrund der guten Kontrastierung der untersuchten Organe für die weitere Langzeitstudie ausgewählt.

5.1.3. Langzeitstudie

Die Lymphknoten wurden über einen Zeitraum von zwei Monaten nach iv. Kontrastmittelapplikation untersucht. Besonders interessierten hierbei Veränderungen im Signalverhalten und im Eisengehalt. Zusätzlich ist bei den frühen, diagnostisch relevanten Untersuchungszeitpunkten (24 h, 1 Woche p.i.) auch die Homogenität der Signalreduktion und der Anreicherung des Kontrastmittels in den Lymphknoten bedeutend.

Nach erfolgter Diagnostik interessiert bei den späteren Zeitpunkten (1-2 Monate p.i.) besonders der Rückgang der Signalreduktion, sowie Verbleib und Zirkulation des Kontrastmittels im Körper.

Dazu wurden vier Gruppen untersucht, 24 Stunden („24 h“), eine Woche („1 Wo“), einen Monat („1 Mo“) bzw. zwei Monate („2 Mo“) nach iv. Kontrastmittelgabe bei einer Dosis von 75 µmol Fe/kg KM. Es wurden jeweils die Lymphknoten und die großen Organe beurteilt, wobei das Knochenmark nicht histologisch untersucht wurde. Zum Vergleich dienten die beiden Kontrollgruppen „Kon. Mittel“ und „Kon. Alt“.

5.1.3.1. Lymphknoten

Die Lymphknoten wurden nach Körperregionen gruppiert, die Körperregionen „Kopf/ Hals“, „Schultergliedmaße“, sowie „Beckengliedmaße“ beinhalten oberflächliche Lymphknoten. Diesen Gruppen ist gemein, daß sie die großen Muskelgruppen und die Haut drainieren. Die Lymphknoten der Region „Bauch/Becken“ (Eingeweidelymphknoten) drainieren vor allem die

inneren Organe der Bauch- und Beckenregion, z. B. die Verdauungs- und Fortpflanzungsorgane.

Wenige Stunden nach Kontrastmittelapplikation ist erfahrungsgemäß bei der Präparation der kleinen Lymphknoten der Ratten ein leichter, bräunlicher Schleier makroskopisch auf den blaß beigen Lymphknoten erkennbar. Dies entspricht der Eigenfarbe der Kontrastmittel und konnte auch in dieser Untersuchung beobachtet werden.

MR- Signalgebung und Eisenvorkommen

Das Kontrastmittel bewirkt eine Senkung der relativen Signalintensität und Steigerung des Eisenvorkommens in den Lymphknoten, wobei die beiden Parameter grundsätzlich in einem antiproportionalen Zusammenhang stehen. Viel Kontrastmittel bewirkt eine niedrige Signalintensität, resp. eine starke Signalreduktion.

Nicht nur die Kontrastmittelmenge an sich hat einen Einfluß auf die Signalwirkung, auch die Größe der Teilchen verändert das Signalverhalten. Große Partikelagglomerate zeigen dabei eine stärkere T2- Signalreduktion als kleinere Partikel. Die Partikeldichte spielt auch eine Rolle, viele Partikel bewirken ebenso eine stärkere T2- Signalreduktion. Viele, kleine Partikel können also eine ebensolche Signalreduktion hervorrufen, wie wenige, große Agglomerate (RÉTY et al., 2000; TANIMOTO et al., 2001).

In den beiden Kompartimenten des Lymphknotens liegen unterschiedliche Mengen an Eisen vor. Dominierend für die Signalgebung ist das stärker Eisen anreichernde Kompartiment ‚Sinussystem‘, das daher zum Vergleich zwischen MR- Signalwirkung und Eisenvorkommen herangezogen wird.

Zum ersten Untersuchungszeitpunkt **24 h p.i.** zeigt sich im MRT die stärkste Signalreduktion in allen vier Körperregionen. Das Eisenvorkommen ist zwar erhöht, aber nicht maximal, ebenso die Teilchengröße.

Erst zum Zeitpunkt **1 Woche p.i.** steigen die Teilchengröße und die Eisenmenge auf ein Maximum. Die Signalreduktion ist im Verhältnis zum Zeitpunkt 24 h p.i. ähnlich, bzw. in manchen Regionen geringer.

Die winzigen Eisenoxidpartikel mit einem Durchmesser von durchschnittlich 8 nm (ca. 50 nm²) sind im Lichtmikroskop (Auflösung mit Immersionsöl bei 1000facher Vergrößerung, Ø

~200 nm/ 0,2 µm, ca. 0,0314 µm²) selbst nicht sichtbar, erst nach Agglomeration und Phagozytose nehmen die Partikel an Größe zu und können nach Färbung bzw. auch nativ gesehen werden. In der Leber konnte dieses Verhalten von Eisenoxidpartikeln nachgewiesen werden. Vor und nach Nachweis im Lichtmikroskop konnte das Kontrastmittel im Elektronenmikroskop beobachtet werden (VAN BEERS et al., 2001).

Zum Zeitpunkt 24 h p.i. sind die Partikel ca. 0,5 µm² (Median der Teilchengröße) groß, danach steigt der Median der Teilchengröße um mehr als den Faktor 2 auf ca. 1,25 µm² (,1 Wo‘). Diese Verdoppelung der Teilchengröße kann als Indiz für eine verstärkte Agglomeration angesehen werden. Trotzdem sind die Partikel im Vergleich zu Erythrozyten (Ø 7 µm, ca. 60 µm²) sehr klein. Die Teilchengröße zum Zeitpunkt 24 h p.i. zeigt aber auch, wie viele Partikel schon zu diesem Zeitpunkt agglomeriert sind. Ausgehend von einer kreisförmigen Agglomeration müssen ca. 600 Partikel agglomerieren, damit diese lichtmikroskopisch sichtbar werden, eine Teilchengröße von 0,5 µm² entspricht etwa 10.000 agglomerierten Partikeln (kreisförmige Fläche= $\pi \cdot r^2$ mit r= Radius, Größenveränderungen durch Färbegens nicht mit einbezogen).

In den Eisenkernen der Kontrastmittelpartikel liegen die zwei- und dreiwertigen Eisenatome sowie die Sauerstoffatome in einer bestimmten oktaedrisch-kristallinen Anordnung (kristalline Spinellstruktur) vor, die für die die Relaxationszeit verkürzende Wirkung (superparamagnetische Eigenschaft) verantwortlich ist (WANG et al., 2001). Nach der Phagozytose geht die Spinellstruktur durch den Abbau der Partikel langsam verloren, und diese beeinflussen wie körpereigenes Eisen die Signaleigenschaften eines Organs im MRT nur noch gering. Nach Verlust der Spinellstruktur zeigen sich auch nicht mehr die vorher genannten Zusammenhänge von Signalintensitäten zu Partikelgröße und -dichte. Dies zeigen die Ergebnisse der späteren Untersuchungszeitpunkte.

Einen Monat p.i. sinken die Eisenmenge und Teilchengröße, die Signalintensitäten sind ähnlich bzw. größer als zum vorherigen Untersuchungszeitpunkt.

Die Mediane der relativen Signalintensitäten zum Zeitpunkt eine Woche und einen Monat p.i. liegen zwar bei allen Regionen auf ähnlichem Niveau, diese beiden Gruppen liegen aber in unterschiedlichen Altersgruppen. Beim Vergleich der Gruppen ,1 Mo‘ mit ,Kon. Alt‘ zeigt sich eine geringere Differenz zwischen den Medianen als beim Vergleich der Gruppen ,1 Wo‘ und ,Kon. Mittel‘. Die Signalreduktion hat relativ gesehen wieder abgenommen, bei den Regionen ,Schultergliedmaße‘ und ,Beckengliedmaße‘ sogar fast auf das Niveau der

Kontrollgruppe („Kon. Alt“). Lediglich bei der Region „Bauch/Becken“ ist die Differenz der Mediane zu den Kontrolltieren größer.

Auch zum Zeitpunkt **2 Monate p.i.** ist eine Signalreduktion im Vergleich zu den alten Kontrolltieren nur bei der Region „Bauch/Becken“ zu beobachten. Trotzdem ist das Eisenvorkommen im Vergleich zu den alten Kontrolltieren sehr groß.

Zwei unterschiedliche Mechanismen können aus diesen Ergebnissen abgelesen werden.

Zu Beginn der Untersuchung sind die Partikel noch nicht agglomeriert bzw. abgebaut und haben noch ihre maximale MR- Signalwirkung. Besonders die Ergebnisse der Gruppe „24h“ zeigen dies. Die Partikel sind zwar vorhanden und bewirken eine Signalreduktion, aber wegen geringer Agglomeration sind sie im histologischen Bild noch nicht vollständig sichtbar. Zudem bewirken die kleineren Agglomerate eine stärkere Signalreduktion.

Erst eine Woche nach Gabe des Kontrastmittels ist die maximale Anzahl an Partikeln mit maximaler Teilchengröße im Lichtmikroskop zu sehen. Die Partikel sind schon agglomeriert, der Abbau hat aber erst begonnen, sonst würde die MR- Signalreduktion geringer ausfallen.

Dies ist erst zu den späteren Untersuchungszeitpunkten der Fall. Zu den Zeitpunkten einen bzw. zwei Monate p.i. ist zwar deutlich mehr Eisen im Sinussystem als in den Lymphknoten der alten Kontrolltiere vorhanden, die MR- Signalintensitäten der drei Gruppen unterscheiden sich nicht im gleichen Maße. Die für die Signalgebung wichtige Spinellstruktur der Eisenkerne ist durch Phagozytose schon zum größten Teil abgebaut bzw. verändert worden. Der Abbau erklärt auch die Verringerung der Eisenmenge zu diesen Zeitpunkten.

Das Kontrastmitteleisen wird in den körpereigenen Pool eingebaut und wie dieser zur Synthese verschiedener Enzyme und Stoffwechselprodukte herangezogen (WANG et al., 2001). Das zwei Monate p.i. verbleibende Eisen wird wahrscheinlich im Laufe der folgenden Wochen langsam genutzt oder z. B. als Hämosiderin gespeichert werden. Wann und ob die Eisenmenge nach Kontrastmittelapplikation die Mengen an Eisen in den Lymphknoten von unbehandelten Tieren erreichen wird, ist mit den erfolgten Untersuchungen nicht zu beurteilen.

MR- Signalgebung und Lymphknotenlokalisation

Im Gegensatz zu den Kontrolltieren (Kap 5.1.1.) weisen die Kontrastmitteltiere immer in den Eingeweidelymphknoten mehr Eisen (24 h bis 1 Woche deutliche, 1-2 Monate p.i. geringe

Unterschiede) mit einer zudem geringeren Teilchengröße (24 h p.i. keine, 1 Woche bis 2 Monate p.i. deutliche Unterschiede) auf.

Das spiegelt sich auch im MR- Signalverhalten wieder. Die MR- Wirkung des verstärkten Eisenvorkommens mit kleiner Partikelgröße führt zu einer stärkeren Signalreduktion als bei den oberflächlichen Lymphknoten, vor allem zu den Zeitpunkten eine Woche und einen Monat p.i.. Zum Zeitpunkt zwei Monate p.i. steigt der Median der SI der Region ‚Bauch/Becken‘, erreicht aber nicht den Wert der anderen Regionen. Ebenso bleibt eine Signalreduktion im Vergleich zu den alten Kontrolltieren bestehen.

Die ungleiche Verteilung des Kontrastmitteleisens im Körper kommt durch die unterschiedlichen großen Drainagegebiete der Lymphknoten zustande. Die oberflächlichen Lymphknoten drainieren vornehmlich die Muskulatur und die Haut, die Eingeweidelymphknoten die Verdauungs- und Fortpflanzungsorgane. Beim Menschen ist die Durchblutung des Verdauungstraktes größer als von Muskulatur und Haut (durchschnittliche Organdurchblutung/ Organgewicht) (KLINKE und SILBERNAGL, 2001). Bezogen auf die Ratte kann man sicherlich von ähnlichen Verhältnissen ausgehen. In Anbetracht der Größe und Durchblutung der Fortpflanzungsorgane bei der Ratte, vergrößert dieses Organ noch zusätzlich die Perfusion der Region ‚Bauch/Becken‘. Zusätzlich fließen in der Bauchregion die abführenden Lymphgefäße der Beckengliedmaße durch mehrere der untersuchten Lymphknoten, was zu einer zusätzlichen Anreicherungsmöglichkeit in diesen Lymphknoten führt (MIOTTI, 1965). Auch scheint es in den Muskeln eine geringere Permeabilität der Kapillaren und somit einen geringeren Durchtritt von Kontrastmittelpartikeln zu geben als in anderen Kapillargebieten (RÉTY et al., 2000).

Der Grad der Kapillarisation, die Durchblutungsrate und die Permeabilität im Drainagegebiet sind ausschlaggebend für den Partikelübertritt in die Lymphbahnen. Dies erklärt zusammen mit der Kollektorfunktion der Eingeweidelymphknoten den vermehrten Übertritt von Kontrastmittelpartikeln in dem Gebiet der Eingeweidelymphknoten. Die Kapillarpermeabilität ist abhängig von der Temperatur (ELSTE, 1996a; ELSTE et al., 1996b); die geringere Körperschalen- im Vergleich zur Körperkerntemperatur kann ein zusätzlicher Faktor für die unterschiedliche Anreicherung sein.

Die unterschiedliche Anreicherung in den verschiedenen Lokalisationen mit Dominanz der Eingeweidelymphknoten konnten auch bei anderen Eisenoxidkontrastmitteln beobachtet werden (WEISSLEDER et al., 1994, RÉTY et al., 2000).

Korrelationen von Eisenbestimmung und MR- Signalgebung

Die Ergebnisse der Eisenbestimmung (Eisen in %) und der Signalintensitäten der T2_wGRE-Sequenz korrelieren bei den Gruppen ‚24 h‘ und ‚1 Wo‘ mittelstark, während die weiteren Kontrastmittelgruppen schwach korrelieren. Diese Ergebnisse spiegeln den Verlust der Spinellstruktur wieder. Ein bis zwei Monate nach Gabe ist das Kontrastmitteleisen noch nachzuweisen, aber nicht mehr so stark MR- aktiv.

Homogenität des MR- Signals und Verteilung des Eisens im Lymphknoten

Die gemessenen Signalintensitäten stellen Mittelwerte der Volumenelemente eines ganzen Lymphknotens dar. Aus der ausreichenden Signalreduktion des ganzen Lymphknotens nach Kontrastmittelgabe lassen sich daher keine Rückschlüsse über eine gleichmäßige Kontrastierung der Binnenstrukturen ziehen. Dazu benötigt man die Standardabweichung der gemessenen MR- Signalintensitäten, die bei Kontrastmitteltieren größer (absolut, sowie relativ zur Größe der SI) ist als bei den Kontrolltieren. Bemerkenswert ist die auch bei den Kontrolltieren vorhandene Standardabweichung, die im Alter größer wird. Dies deutet Inhomogenitäten der Signalgebung an, die sich zum einen durch das verstärkte Eisenvorkommen im Alter erklären, zum anderen aber auch durch ungleichmäßige Signalgebung des nativen Lymphknotengewebes, wobei die Rinde grundsätzlich in einer hochauflösenden T2_w Aufnahmetechnik signalstärker ist als der Marksinus (LEE et al., 1991). Trotzdem soll eine homogene Signalgebung über den gesamten Lymphknoten erreicht werden, obwohl die Aufnahme von Kontrastmittel in die Follikel wesentlich geringer ist. Dazu ist nicht unbedingt eine homogene Verteilung zwischen Rinde und Sinus nötig, wie die nativen Aufnahmen bestätigen. Eine unterschiedliche Anreicherung, die homogene Signalintensitäten generiert, würde ausreichen. Die Homogenität der Signalintensitäten dieser Untersuchung ist vergleichbar mit anderen Untersuchungen (WAGNER, 2002b), eine wirklich homogene Signalreduktion stellt die größte Herausforderung auf dem Gebiet der MR-Lymphographie dar. Diesem Ziel versucht man sich durch neue Partikeloberflächen, wie in diesem Fall Tannin als Hüllmaterial, oder durch Immunstimulation (FUCHS, 1998) zu nähern. Auch neue Aufnahmetechniken sollen eine befriedigende Lösung auf diesem Gebiet ermöglichen. Bis jetzt ist dies aber noch nicht gelungen.

Das zeigt auch die Homogenität der Verteilung der Eisenpartikel zwischen und besonders innerhalb der Kompartimente. Die relative Homogenität ist dabei ausschlaggebend, da die Kontrastmittelpartikel nicht nur die Protonen in der unmittelbaren Nachbarschaft beeinflussen. Die Partikel generieren Störfelder, die über eine gewisse, natürlich nicht besonders große Distanz wirksam sind. Die Größe dieser Störfelder korreliert mit den magnetischen Eigenschaften der Partikel und wird durch die Partikelgröße beeinflusst.

Das Eisen weist zwischen den verschiedenen **Sinusabteilungen (Marksinus und Intermediärsinus)** eine unterschiedliche Verteilung auf. Auch in den einzelnen Abteilungen selbst ist bei mehr als 40% der Lymphknoten keine homogene Verteilung gegeben. Im Gegensatz zu anderen Untersuchungen konnten zu keiner Zeit Partikel im Randsinus beobachtet werden. Aus anderen Arbeiten ist bekannt, daß im Randsinus bis zu 24 h p.i. nach subkutaner Gabe von Kontrastmittel Eisen nachgewiesen werden kann (SCHNORR, 1999).

Die unregelmäßige Verteilung des Kontrastmittels könnte durch die verschiedenen Strukturtypen des Lymphknotens entstehen. Die einzelnen Segmente des Lymphknotens umfassen zwar immer auch die verschiedenen Sinusabteilungen. Über Unterschiede im Lympheinfluß kommt es zu Lücken in der Anreicherung des Kontrastmittels. Diese führen zu den beobachteten Inhomogenitäten, die auch in anderen Arbeiten beobachtet wurden (SCHNORR, 1999).

In der **Rinde** ist aufgrund der geringeren Phagozytoseaktivität immer weniger Eisen vorhanden als im Sinussystem, und die Veränderungen zwischen den Gruppen sind nicht so stark ausgeprägt. Das maximale Eisenvorkommen ist ebenso wie im Sinus eine Woche p.i. zu beobachten. Nach zwei Monaten findet sich auch in der Rinde noch mehr Eisen als bei den alten Kontrolltieren. Eine Mobilisation des Eisens in der Rinde ist trotz der geringeren Eisenmengen nicht im gleichen Maße wie im Sinussystem zu beobachten.

Auch scheinen zur Phagozytose befähigte Zellen der Rinde eine andere Abbau- oder Speicherfunktion zu haben, denn die Teilchengröße wird im Gegensatz zum Sinussystem, vor allem zum letzten Untersuchungszeitpunkt, größer.

Die Auswirkungen des Eisens in der Rinde auf die Signalgebung sind wegen der kleinen Menge eher gering. Zusätzlich zu den geringen Eisenmengen ist das Eisen auch noch inhomogen verteilt.

Fehlende Kontrastierung führt bei der Rinde, ebenso wie beim Sinussystem, zu Aussparungen, die mit Metastasen verwechselt werden können.

Mit dem verwendeten Kontrastmittel in den entsprechenden MR-Sequenzen ist es nicht gelungen, im gesamten Lymphknoten eine gleichmäßige Signalgebung zu erreichen und den Lymphknoten als ganzes gleichmäßig darzustellen. Dies ist teilweise auf die inhomogene Verteilung des Kontrastmittels zurückzuführen.

Weiterführende Untersuchungen zur Verteilung des Kontrastmittels, z. B. im Elektronenmikroskop bzw. an speziellen, hochauflösenden MR-Geräten, würde ein genaueres Abbild der vorliegenden Verhältnisse erlauben, auch um die notwendigen Homogenitäten und Anreicherungen beurteilen zu können.

Eine Untersuchung mit verschiedenen Dosierungen am Metastasenmodell wäre zudem notwendig, um eine endgültige Aussage über die Präzision als Diagnostikum treffen zu können. Am stimulierten Lymphknoten kann zusätzlich die Anreicherung in der Rinde verstärkt werden (FUCHS, 1998). Vergleiche mit unstimulierten Lymphknoten könnten Rückschlüsse über die Realisierbarkeit und Notwendigkeit einer homogenen Anreicherung ermöglichen.

Zu beachten ist ferner die geringe Größe der Rattenlymphknoten im Vergleich zu den wesentlich größeren Lymphknoten von Mensch und anderen großen Säugern. Dosis und optimales Untersuchungsfenster müssten entsprechend angepasst werden, auch für Untersuchungen am Metastasenmodell.

5.1.3.2. Leber, Milz und Knochenmark

Diese Organe sind ebenfalls Bestandteil des Mononukleären Phagozytensystems (MPS) und spielen vor allem bei der vaskulären Filtration der Kontrastmittelpartikel eine große Rolle. Mit ihren unterschiedlichen physiologischen Aufgaben können diese Organe den Einblick in den Abbau und die Mobilisation des Kontrastmitteleisens erweitern.

Die Leber zeigt im Vergleich zur Milz die stärkere Signalreduktion zum Zeitpunkt 24 h p.i., obwohl die Milz mehr Eisen (Eisen in %) enthält. Obwohl die Milz aufgrund der höheren Makrophagenzahl 24 h p.i. mehr Eisen aufgenommen hat, sind die Teilchengrößen in beiden Milzkompartimenten geringer als in der Leber. Diese Unterschiede in der Partikelagglomeration erklären die SI-Unterschiede der beiden Organe. Große Partikel bewirken eine stärkere Signalreduktion als kleinere Agglomerate (TANIMOTO et al., 2001). Dementsprechend ist durch die wenigen, großen Teilchen in der Leber die Signalreduktion

wesentlich ausgeprägter Diese Ergebnisse zeigen allerdings nur die Situation vor Abbau der Partikel und somit der signalgebenden Spinellstruktur.

- Leber

Das MR-Verhalten und die Eisenmenge in der Leber zeigen einen synchronen Verlauf. Die MR- Signalreduktion geht in gleichem Maße wie die Eisenmenge zurück. Das Maximum ist in beiden Fällen 24 h p.i. und sinkt danach wieder ab, ohne das Niveau der alten Kontrolltiere zu erreichen. Ebenso wird der Median der Teilchengröße im Laufe der zwei Monate immer kleiner. Bei den Kontrolltieren befindet sich zu keiner Zeit histologisch nachweisbares Eisen in der Leber.

Der Rückgang der Eisenmenge wurde auch bei Untersuchungen an der Substanz VSOP-C184 beobachtet (WAGNER et al., 2002a).

Eine Speicherung von Eisen in Phagozytose-aktiven Zellen ist in mehreren Formen möglich, z. B. in Ferritin oder Hämosiderin. Das Depoteisen in der Leber wird häufig als Ferritin gespeichert. Die Reutilisationsrate des Ferritin-Eisens der Leber beträgt normalerweise um die 60% (SCHEUNERT und TRAUTMANN, 1987). Kontrastmitteleisen wird in der Leber als Ferritin gespeichert, dies läßt sich mittels Immunhistochemie nachweisen (OKON et al., 1994), anschließend geht es in den körpereigenen Stoffwechsel, z. B. in die Hämoglobinsynthese, über (WEISSLEDER et al., 1989a).

Der Abbau der Spinellstruktur und die Reutilisation scheint bei diesem Kontrastmittel in der Leber rasch aufeinander zu folgen. Dies deutet der synchrone Verlauf von Eisenmenge und Signalintensitäten an, darin unterscheidet sich das Verhalten der Partikel in der Leber und den Lymphknoten.

Auch ergeben die Meßwerte der Leber keine Diskrepanz von sichtbaren Eisenpartikeln und MR- Signalverhalten. Die maximale Teilchengröße und prozentuale Eisenmenge wird zum Zeitpunkt 24 h p.i. beobachtet (Median ca. 2 μm^2), eine weitere Agglomeration mit Vergrößerung der Partikel wird nicht beobachtet.

Zeitverlauf der Maxima in Leber und Lymphknoten

Eine Erklärung für Unterschiede zwischen Leber und Lymphknoten gibt die Filterfunktion der Leber als das Organ des MPS mit der höchsten Durchblutungsrate. Im Gegensatz zu den

Lymphknoten filtert die *Leber* Kontrastmittel aus dem Blut. Bei der hohen Durchblutung der Leber können Partikel, die nicht sofort phagozytiert und agglomeriert werden, nicht in der Leber verbleiben, sie werden im Blutfluß mitgerissen. Die Zeitspanne, in der die Leber mit den Partikeln in Kontakt kommt, ist ferner je nach Halbwertszeit auf die ersten Stunden nach Gabe des Kontrastmittels beschränkt.

Bei einer geschätzten Halbwertszeit von zwei Stunden im Blut (SCHNORR, 2002) ist anzunehmen, daß die vaskuläre Phagozytose und die Extravasation 24 h p.i. abgeschlossen sind, und sich nahezu kein Kontrastmittel mehr im Blut befindet (OKON et al., 1994; RÉTY et al., 2000; SCHNORR, 2002).

Für die Zellen des MPS der Leber ergibt sich daher ein anderer Zeitverlauf als für die Makrophagen der Lymphknoten. Die Zeit zum Erstkontakt, zur Phagozytose und Agglomeration der Partikel ist relativ kurz. Ein großer Anteil der Dosis akkumuliert in der Leber schon in den ersten 2 Stunden (OKON et al., 1994).

Im *Lymphknoten* kommen die Partikel erst nach der Extravasation an und fließen mit dem im Vergleich langsameren Lymphfluß durch den Lymphknoten. Die Agglomeration der Kontrastmittelpartikel in den Lymphknoten erreicht ihr Maximum zu einem späteren Zeitpunkt als die Leber (max. Teilchengröße: Lymphknoten im Sinussystem eine Woche p.i., Leber 24 h p.i.).

Dies zeigt auch der Vergleich von Maxima der Eisenoxidanreicherung in anderen Arbeiten, in denen die frühe Aufnahme in die Kupfferzellen der Leber auch für andere Kontrastmittel (AMI 227, MION, VSOP-C184) nachgewiesen wurde.

Während in der Leber bei der Ratte ein dosisabhängiges Maximum der Eisenoxidmenge zwischen 4 und 8 h p.i. zu beobachten ist, zeigt sich in den Lymphknoten der Ratte ein Maximum bei 12- 24 h p.i. (VAN BEERS et al., 2001, RÉTY et al., 2000). Bei der Ratte zeigt sich die maximale Signalreduktion für Leber und Milz bei 4 h p.i., bei Lymphknoten allerdings erst zwischen 12-24 h p.i. (ELSTE, 1996a, ELSTE et al., 1996b). Diese Untersuchungen zeigen den synchronen Verlauf von Eisennachweis und MR-Signalverhalten vor Abbau der Spinellstruktur.

Abbau der Spinellstruktur und Speicherform

Obwohl der Abbau der Spinellstruktur der Teilchen in den Kupfferzellen der Leber nicht schnell erfolgt, scheinen auf den Abbau Speicherung und nachfolgend Mobilisation und Reutilisation rasch aufeinander zu folgen. Dies erklärt den synchronen Verlauf der

beobachteten Parameter. Die Leber als ein stoffwechselaktives Organ hat eine große Turnover- Rate. Daher wird das entstandene Ferritin schnell wieder abgebaut und das Eisen in den Körpereisenpool eingeschleust.

Im Gegensatz dazu wird im Lymphknoten zwar recht schnell die Spinellstruktur zerstört, der weitere Abbau des Kontrastmittels geschieht aber langsamer. Eingebaut in Ferritin (AGUAS et al., 1981) bzw. Hämosiderin (OEHMICHEN et al., 1982; LISTINSKY, 1988) bleibt das Eisen in den Makrophagen des Lymphknotens liegen und wird nur langsam reutilisiert.

Dies legt zusätzlich die Vermutung nahe, die dominierende Speicherform könnte in den Lymphknoten Hämosiderin sein, dies würde die Unterschiede im Rückgang der Eisenmenge zwischen Leber und Lymphknoten erklären. Weitere immunhistochemische Untersuchungen wären nötig, um die jeweilige Speicherform des Eisens für die Makrophagen der Organe zu definieren.

- Milz

In der Milz ist zum Zeitpunkt 24 h p.i. eine maximale Signalreduktion zu beobachten. Zu allen späteren Zeitpunkten befindet sich der Median der SI wieder auf dem Niveau der korrespondierenden Kontrollgruppen.

Während in der weißen Milzpulpa immer relativ geringe Mengen an Eisen zu beobachten sind, nimmt die Eisenmenge in der roten Pulpa im Verlauf der zwei Monate stetig zu. In beiden Kompartimenten befindet sich auch zwei Monate nach Kontrastmittelapplikation mehr Eisen als in vergleichbaren Kontrolltieren. Auch der Median der Teilchengröße wird im Laufe der zwei Monate größer, besonders in der roten Pulpa ist dies deutlich zu sehen.

In der Milz ergibt sich auf den ersten Blick ein Widerspruch zwischen MR-Verhalten und Eisengehalt, der aber auch in anderen Untersuchungen beobachtet wurde. Das MR-Verhalten zeigt den für vergleichbare Kontrastmittel typischen Rückgang der Mediane der SI auf das Referenzniveau, während die Eisenmenge im Alter ansteigt (ABRAMJUK, 2001). Auch andere Autoren berichten von einem raschen Abfall der MR-Signalintensität in den ersten Tagen, während das Maximum der Eisenkonzentration zwei Tage p.i. erreicht ist und danach langsam absinkt (OKON et al., 1994).

Der schnelle Verlust der Spinellstruktur und der langsame Abbau des gespeicherten Eisens konnten auch in dieser Arbeit gezeigt werden. Das Kontrastmitteleisen zeigt zum zweiten

Meßzeitpunkt (1 Woche p.i.) keine MR- aktive Spinellstruktur mehr. Allerdings steigt das Eisenvorkommen im Gegensatz zu der Leber nach Kontrastmittelapplikation immer weiter an. Die Mobilisation erscheint in der Milz im Gegensatz zur Leber gering, da die Eisenmenge nicht zurückgeht, sondern sogar ansteigt. Dabei handelt es sich wahrscheinlich um körpereigenes bzw. natürlich aufgenommenes Eisen und nur zu geringem Anteil um das Kontrastmitteleisen.

Speicherform

Die Speicherform ist bedeutend für die Reutilisation. Bekannt ist, daß Hämosiderin schwerer zu mobilisieren ist (SCHEUNERT und TRAUTMANN, 1987). Zwar wurde für die Milz Ferritin als Speicherform für Kontrastmitteleisen nachgewiesen, der Einbau in den Eisenspeicher und der Abbau des Ferritins läuft aber vergleichbar langsamer als in der Leber (OKON et al., 1994). Andere Untersuchungen haben dagegen gezeigt, daß nach massiver Eisengabe sowohl Ferritin als auch Hämosiderin in der roten Milzpulpa zunehmen (MATSUNO et al., 1985), während altersbedingt vorkommendes Eisen in der Milz eher als Hämosiderin abgespeichert wird (PERCY und BARTHOLD, 1993).

Die dominierende Speicherform ist also für die Milz ungeklärt. Auch kann aus verschiedenen Ressourcen stammendes Eisen, z. B. aus Hämoglobin bzw. Kontrastmittel, auf unterschiedliche Art und Weise gespeichert werden. Mischungen der Speicherformen sind denkbar.

In welcher Form das hier beobachtete Eisen vorliegt, bleibt ohne immunhistochemische Untersuchung ungeklärt.

Ursprungs des Eisens in der Milz

Ein Grund für den beobachteten Eisenanstieg könnten verschiedene Quellen sein, die sich in ihrer Anreicherung zu dem beobachteten Anstieg ergänzen. Aus welchen der folgenden Quellen das beobachtete Eisen letztendlich kommt, kann nur vermutet werden. Zum einen zeigen diese Gruppen den alterstypischen Anstieg der Eisenmenge (Vgl. Kap. 5.1.1.), zum anderen haben sie zusätzlich das Kontrastmitteleisen aufgenommen. Als dritte Ursache könnten haltungsbedingte Einflüsse den Anstieg der Eisenmenge im Alter erklären. Auch Umverteilungsprozesse können beteiligt sein, da die Milz als Ort des Erythrozytenabbaus eine große Rolle im Abtransport und in der Reutilisation von Eisen spielt.

Eisen kann auch aus den Lymphknoten in die Milz gelangen. Dies konnte nach sc. Gabe nachgewiesen werden und deutet den Durchfluß der Partikel selbst durch mehrere Filterstationen an (BENGELE et al., 1994; WEISSLEDER et al., 1994). In der Umverteilung spielt aber sicher auch die Leber eine große Rolle. Das dort aufgenommene Kontrastmitteleisen wird über Transferrin in den Blutkreislauf eingespeist und kann bei einer Sättigung der anderen Eisenspeicher, z. B. dem Knochenmark, in die Milz gelangen.

Ein Grund für den hohen Eisengehalt bei den alten Kontrastmitteltieren könnte in den langen Einstellungszeiten liegen. Die Tiere mußten studienbedingt über einen Zeitraum von bis zu zwei Monaten in den Tierställen der Charité gehalten werden. Die alten Kontrolltiere, die zwar der gleichen Aufzucht entstammen, wurden in dem entsprechenden Alter angeliefert und sofort zur Organentnahme euthanisiert. In anderen Untersuchungen aus der Abteilung Experimentelle Radiologie wurde festgestellt, daß es bei hier eingestellten Ratten bei längerer Exposition mit dem Trinkwasser zu erhöhten Eisengehalten vor allem in der Milz, aber auch der Leber, kommt. Dies kann z. B. durch den, durch alte Leitungen verursachten, erhöhten Wassereisengehalt im Trinkwasser entstehen. Ein starker Anstieg an Eisen in der Milz findet sich dann auch bei Ratten, die niemals Kontrastmittel erhalten haben (SCHNORR, 2002).

Oral aufgenommenes Eisen gelangt nach intestinaler Resorption in die Leber und das Depotorgan Milz und hat aufgrund fehlender Spinellstruktur kaum Signal- reduzierende Wirkung. Dieses Eisen findet sich nur in der Milz und der Leber, aber nicht in den Lymphknoten (SCHNORR, 2002; WAGNER, 2002b). Die Leber zeigt in dieser Untersuchung bei den Kontrastmitteltieren insgesamt keinen ansteigenden Eisengehalt, daher kann der Einfluß der haltungsbedingt verstärkten Eisenexposition als gering eingeschätzt werden.

Die Quelle sowie die Speicherform des Eisens können mit den angewandten Untersuchungsmethoden nicht unterschieden werden, radioaktive Markierung bzw. Immunhistochemie sind dazu notwendig. Eine Mischform aus den genannten Möglichkeiten ist sicherlich vorhanden.

- Knochenmark

Das Knochenmark wurde nur im Magnetresonanztomographen untersucht. Der Median der SI zeigt nach initialer Signalreduktion zum Zeitpunkt 24 h p.i. nur noch geringe Veränderungen

im Verlauf der folgenden zwei Monate und bleibt deutlich unter dem Niveau der beiden Kontrollgruppen ‚Kon. Mittel‘ und später ‚Kon. Alt‘. Es scheint, als würde der Abbau der Spinellstruktur deutlich langsamer vorangehen als in den anderen Organen des MPS. Dies stützt die Vermutung, daß die unterschiedlichen Organe des MPS, obwohl ihnen das Vorhandensein von Phagozytose aktiven Zellen gemein ist, sich doch durch unterschiedliche Abbaufähigkeiten auszeichnen. Untersuchungen mit anderen superparamagnetischen Kontrastmitteln ergeben ähnliche Resultate. Bei verschiedenen Dosierungen bleibt die MR-Signalreduktion unterschiedlich lange erhalten. Der Abbau der Partikel ist sicherlich auch abhängig von der Oberflächenstruktur. Ergebnisse, wonach drei Wochen nach iv. Gabe kein Eisen mehr im Knochenmark nachzuweisen war, können sicherlich aufgrund des beobachteten MR-Verhaltens nicht einfach auf diese Untersuchung übertragen werden (CIHAL et al., 1999). Weitere Untersuchungen zu diesen Vermutungen wurden nicht durchgeführt.

5.1.3.3. Vergleich der relativen Signalintensitäten mit den Ergebnissen anderer Kontrastmittel

ELSTE (1996a; sowie ELSTE et al., 1996b) hat in seinen Untersuchungen mit gleicher Methodik ein Dextran ummanteltes Eisenoxidkontrastmittel (SPIO) untersucht. Ebenfalls nach intravenöser Gabe dieser Substanzen wurde mittels des Ex- Vivo- Modells die Signalreduktion in den Lymphknoten zu bestimmten Zeitpunkten ermittelt (Tab. 12). Bei der niedrigsten untersuchten Dosis von SPIO (50µmol Fe/kg KM) konnten ELSTE (1996a; sowie ELSTE et al., 1996b) 24 h p.i. nur eine vergleichsweise geringe Signalreduktion erzielen. In dieser Arbeit wurde mit der untersuchten Substanz VSOP-C144T bei gleicher Dosierung eine deutlich ausgeprägtere Signalreduktion erreicht. Bei den Dosierungen 75 (VSOP-C144T) bzw. 100 (SPIO) µmol Fe/kg KM wird eine identische Signalreduktion 24 h p.i. erreicht, obwohl bei den Monomer ummantelten Kontrastmittelpartikeln (VSOP) nur Dreiviertel der Dosis der Polymer ummantelten Partikel (SPIO) injiziert wurde.

Mit den VSOP-Eisenoxidpartikeln wird eine stärkere Signalreduktion erreicht, die zudem zwischen den Lymphknoten gleichmäßiger verteilt ist. Die Signalreduktion ist bei beiden Substanzen im Vergleich mit dem Mittelwert bei den axillären am schwächsten bzw. bei den poplitealen Lymphknoten am stärksten ausgeprägt. Die interlymphnodalen Differenzen zum Mittelwert sind bei dem VSOP-Kontrastmittel wesentlich geringer, dies ist auch an den konstanten Standardabweichungen (0,19 ‚24 h‘ und 0,13 ‚1 Wo‘) erkennbar.

Der Abbau der signalgebenden Spinellstruktur erfolgt bei beiden Substanzen nur in geringem Maße. Während bei VSOP-C144T nach einer Woche ein geringer Rückgang der Signalreduktion zu beobachten ist, ändert sich eine Woche nach Injektion von 200µmol/kg SPIO die mittlere relativen Signalintensität nicht.

Tab. 12: Vergleich zweier Kontrastmittel anhand der relativen Signalintensitäten in der T2_wGRE von ausgewählten Lymphknoten (Mand, Ax, Pop, Ili)

MR-Messung	VSOP- C144T	SPIO	VSOP- C144T	SPIO	SPIO	VSOP- C144T	SPIO	
	50 µmol/kg	50 µmol/kg	75 µmol/kg	100 µmol/kg	200 µmol/kg	75 µmol/kg	200 µmol/kg	
rel. Signalintensität	24 h p.i.	24 h p.i.	24 h p.i.	24 h p.i.	24 h p.i.	1 Wo p.i.	1 Wo p.i.	
Mittelwert		0,61	0,73	0,53	0,54	0,28	0,59	0,27
Standardabweichung		0,18	0,18	0,19	0,24	0,18	0,13	0,21

Beide Substanzen bewirken eine deutliche, dosisabhängige Signalreduktion, allerdings sind für die gleiche Signalreduktion bei den Monomer stabilisierten Eisenoxidpartikeln (VSOP) geringere Eisenmengen nötig. Trotz der allgemein geringen Toxizität der Eisenoxidverbindungen stellt dies einen Vorteil der VSOP Substanzen gegenüber den herkömmlichen Dextran stabilisierten Partikeln dar. Zudem enthält der Hüllstoff der VSOP-Substanzen kein allergen wirkendes Dextran, dies stellt einen weiteren Vorteil dieser Substanzklasse gegenüber den herkömmlichen Eisenoxidpartikeln dar.

Die ungleichmäßige Verteilung des Kontrastmittels zwischen den Lymphknoten stellt ein großes Problem in der Lymphographie dar. Bei den herkömmlichen Substanzen konnte eine gleichmäßige interlymphnodale Verteilung und somit gleichmäßige Signalreduktion bisher noch nicht erreicht werden. Auch die in dieser Arbeit untersuchte Substanz zeigt noch keine optimalen Resultate. Allerdings konnte gegenüber den SPIO-Partikeln eine wesentliche Verbesserung erreicht werden. Die interlymphnodalen Unterschiede in der Signalreduktion sind gering. Im Gegensatz zu den herkömmlichen SPIO-Partikeln haben VSOP-Kontrastmittel eine veränderte Hüllstruktur, die zudem einen kleineren Partikeldurchmesser bedingt. Beide Faktoren tragen zu einer verbesserten Extravasierung und anschließender Aufnahme in die Makrophagen des Lymphknotens bei. Die interlymphnodalen Differenzen in der Signalreduktion konnten durch diese Partikelmodifikationen reduziert werden. Dies lässt auf einen zukunftsweisenden Weg hoffen. Allerdings sind weitere Modifikation in Größe und Oberfläche nötig, um die Verteilung der Partikel zu optimieren.

Für eine vergleichende Beurteilung des Abbaus der beiden Substanzen und dem damit einhergehenden Rückgang der Signalreduktion fehlen die entsprechenden Daten über einen

längeren Zeitraum als eine Woche. Allerdings zeigen die VSOP-Partikel einen tendenziell stärkeren Abbau der Signalgebung innerhalb der ersten Woche. Ob dies mit dem histologischen Geschehen übereinstimmt, kann anhand der vorhandenen Daten nicht beurteilt werden. Ebenso fehlen die Vergleichsdaten zum Abbau der signalgebenden Spinellstruktur bei der Dosierung von 75µmol Fe/kg KM mit SPIO. Weiterführende Untersuchungen wären zur Beurteilung der jeweiligen Vorteile der Substanzklassen nötig.

5.2. Beurteilung der histologischen Untersuchung

Bei Leber und Milz konnten keine von den Kontrolltieren abweichenden, pathologischen Zellbilder beobachtet werden. Durch Untersuchung der Kontrolltiere sowie der Kontrastmittelgruppen ‚24 h‘, ‚1 Wo‘, ‚1 Mo‘, ‚2 Mo‘ sollen eventuelle Effekte des Kontrastmittels auf den Aktivitätszustand und das Zellbild der Lymphknoten untersucht werden. Auch kann die zelluläre Zusammensetzung einen Einfluß auf das MR-Signalverhalten haben.

Die schon im vorherigen Kapitel beschriebenen, unterschiedlich langen Einstellungszeiten haben auch eine verlängerte Kontaktzeit der Tiere mit dem Milieu des Stalls, das nicht den SPF-Bedingungen (spezifisch pathogen frei) entspricht, zur Folge. Als weitere Ursache für eventuell veränderte Aktivitäten kommt zusätzlich zu den Haltungsbedingungen auch die generell im Alter nachlassende Abwehr- und Phagozytoseaktivität in Frage (MIOTTI, 1965; SCHNORR et al., 2000). Anhand der Kontrolltiere sollen Veränderungen in den Lymphknoten beurteilt werden, zu beachten sind dabei haltungsbedingte, altersbedingte und kontrastmittelbedingte Unterschiede.

- Aktivitätszustand

Bei Betrachtung der unterschiedlichen **Kontrollgruppen** fällt eine bei den alten Kontrastmittelgruppen geringere Anzahl von Lymphknoten mit aktiver Rinde auf. Mehr Lymphknoten zeigen im *Kortex* hauptsächlich Primärfollikel, sowie einen *Parakortex* mit geringer Breite. Als Folge davon ist bei den untersuchten Lymphknoten der alten Kontrolltieren zusätzlich ein geringfügig verringertes Vorkommen von Lymphknoten mit *Plasmozytose* zu beobachten. Bei diesen Merkmalen handelt es sich um Kriterien für die zellulär-spezifische Abwehr.

Innerhalb der **Kontrastmittelgruppen** sowie im Vergleich mit der mittelalten Kontrollgruppe zeigen Kortex- und Parakortexaktivität keine Unterschiede.

Es scheint wahrscheinlich, daß die Haltung der Tiere die Hauptursache für diese Unterschiede ist. Die aus der SPF-Haltung stammenden Tiere haben relativ unstimulierte Lymphknoten. Dies ist besonders bei den älteren Kontrolltieren der Fall, bei denen der altersbedingte Rückgang der Aktivität schon eingesetzt hat. Bei Kontakt mit einem neuen Erregerspektrum im neuen Stall kommt es zu einer Stimulation des Immunsystems, die einen altersbedingten Rückgang bei den Kontrastmittelgruppen verzögert.

Ob zusätzlich das Kontrastmittel einen stimulativen Einfluß auf die zellulär-spezifische Abwehr hat, ist aus diesen Ergebnissen nicht ersichtlich. In Anbetracht anderer Untersuchungen ist eine Reaktion auf das Kontrastmittel eher unwahrscheinlich (SCHNORR, 1999; SCHNORR, 2002). Ob zusätzlich das Tannin seinen Lymphozyten-stimulierenden Einfluß entfaltet hat, kann aus den entsprechenden Untersuchungen nicht beurteilt werden.

Lediglich bei einer Kontrastmittelgruppe (,1 Mo‘) ist ein verstärktes Vorkommen von Lymphknoten mit vielen Antikörper- produzierenden Zellen zu beobachten (Plasmozytose). Einerseits findet man dieses Merkmal normalerweise ca. zwei Wochen nach Antigenstimulation (WEISS, 1983), nicht einen Monat danach. Andererseits läßt sich durch die begrenzte Anzahl von Untersuchungszeitpunkten keine Aussage über ein eventuell schon früher liegendes Maximum an Antikörper- produzierenden Zellen treffen. Ob diese Immunstimulation auf das Vorhandensein des Kontrastmittels oder die haltungsbedingten Faktoren zurückzuführen ist, läßt sich nach dem Stand der Untersuchung nicht beurteilen.

- Mastzellen

Die Zahl der Lymphknoten mit vielen *Mastzellen* ist bei den alten Kontrolltieren deutlich erhöht. Die alten Kontrastmitteltiere (,1 Mo‘, ,2 Mo‘) zeigen das gleiche Vorkommen an Mastzellen. Es zeigen sich keine Unterschiede betreffend der Zahl der Lymphknoten ohne Mastzellen und dem verschieden starken Vorkommen an Mastzellen. Bei den mittelalten Tiergruppen kommen generell weniger Mastzellen vor als bei den alten Gruppen, zusätzlich zeigen die Gruppen nach Kontrastmittelgabe (,24 h‘, ,1 Wo‘) geringfügig mehr Mastzellen als die mittelalte Kontrollgruppe.

Eine große Anzahl von Mastzellen stellt nichts Ungewöhnliches im Zellbild der Lymphknoten der Wistar- Ratte dar. Allerdings sind die hier beobachteten altersspezifischen Veränderungen bisher so nicht in der Literatur beschrieben. Die Funktion der Mastzellen in der Stimulation von Lymphozyten und Makrophagen (MIYATA und TAKAYA, 1985; GUSHCHIN et al., 1991) jedoch könnten bei den mittelalten Tieren auf eine eventuelle Reaktion auf das Kontrastmittel hinweisen. Aber auch ein Einfluß der Haltung darf nicht außer Acht gelassen werden (s.o.).

Die physiologische Funktion von Mastzellen als Regulatoren der Durchlässigkeit von Kapillaren und der Grundsubstanz muß auch in Betracht gezogen werden. Das Vorhandensein von Mastzellen ist primär kein Beweis für überschießende Reaktionen. Die Anzahl der Mastzellen und ihr Granulationsstatus können durchaus noch im physiologischen Rahmen sein. Bei welcher Anzahl oder welchen Parametern eine allergische Reaktion vorliegt, ist nicht bekannt und wurde nicht untersucht. Auch konnten anhand der Untersuchungen von Leber und Milz, sowie des Zellbildes der Lymphknoten keine weiteren Anzeichen für das Vorliegen einer allergischen Reaktion beobachtet werden.

Insgesamt scheint es sich um ein altersbedingtes vermehrtes Vorkommen von Mastzellen zu handeln. Eine leichte Stimulation nach Kontrastmittelgabe im Rahmen der physiologischen Feinabstimmung spielt wahrscheinlich als zusätzliche Komponente bis eine Woche p.i. eine Rolle.

- Unterschiede hinsichtlich bestimmter Parameter nach Lokalisation der Lymphknoten

Die unterschiedlichen Drainagegebiete von Eingeweide- und oberflächlichen Lymphknoten bewirken eine veränderte Ausprägung bestimmter histologischer Merkmale in den Lymphknoten. Unterschiedliche Aufgabenteilung zwischen den Lymphknotengruppen könnte die Ursache dafür sein. Bei einer Aktivierung der den Bewegungsapparat drainierenden Lymphknoten wären weitere pathologisch- anatomische bzw. -histologische Veränderungen an den Tieren und ihren Organen zu erwarten. Demhingegen spiegelt sich die besondere Abwehrsituation der Eingeweidelymphknoten, die Lymphe aus dem keimreichen Verdauungstrakt entsorgen, in diesen Ergebnissen wider.

Es fällt eine stärkere Aktivierung des Kortex bei den Eingeweidelymphknoten auf. Es kommen deutlich mehr Lymphknoten mit Sekundärfollikeln vor. Die Hauptaufgabe scheint aufgrund des höheren Infektionsdrucks in der zellulär-spezifischen Abwehr zu liegen. Die

ausgeprägte Aktivierung des Kortex bei den Eingeweidelymphknoten, besonders bei den Darmlymphknoten, kann sowohl bei Kontroll- als auch Kontrastmitteltieren beobachtet werden, ein Einfluß des Kontrastmittels scheint hier keine Rolle zu spielen.

In den Eingeweidelymphknoten der ‚Bauch/Becken‘ Region kommt durch das große Drainagegebiet viel Kontrastmittel an. Dieses bewirkt eine starke Signalreduktion (Vgl. Kap. 5.3.). Die dort ansässigen Makrophagen reagieren jedoch nicht mit einer Aktivierung ihrer Phagozytose- und Abbauaktivität. Dies spiegelt sich zum einen in der geringeren Sinusaktivierung, zum anderen in den geringeren Teilchengrößen mit länger meßbarer Signalgebung wider.

Bei der Verteilung der Mastzellen zwischen den Lymphknotengruppen zeigt sich eine Diskrepanz zu Untersuchungen anderer Autoren, wonach vor allem in den Darmlymphknoten die Mastzellen in größerer Anzahl vorkommen sollen, dies konnte hier nicht bestätigt werden. Die vorliegende Arbeit zeigt, daß sogar eher das Gegenteil der Fall zu sein scheint.

Ebenso konnten bei der Ausprägung und Lymphknotenlokalisierung von Mastzellen keine Unterschiede hinsichtlich einer Stimulation durch das Kontrastmittel festgestellt werden. Die größte Anzahl von Mastzellen zeigen vor allem popliteale und axilläre Lymphknoten ohne und mit Kontrastmittelgabe.

- Reaktion auf das Kontrastmittel

Die *Sinusaktivität* gleicht sich in beiden Kontrollgruppen. Bei den Kontrastmittelgruppen fällt eine starke Aktivierung der Sinus 24 Stunden p.i. auf, die über einen Zeitraum von einem Monat langsam nachläßt. Die Steigerung der Makrophagenaktivität wird regelmäßig nach Kontrastmittelapplikation beobachtet (SCHNORR, 1999).

Eine Sinusaktivierung findet nach Kontrastmittelgabe hauptsächlich in den oberflächlichen Lymphknoten statt, obwohl diese weniger Eisen als die Eingeweidelymphknoten enthalten. Auch bei den Kontrolltieren ist die Sinusaktivität in den oberflächlichen Lymphknoten stärker ausgeprägt als in den Eingeweidelymphknoten.

Die *eosinophilen Granulozyten* sind bei den alten Kontrolltieren nur geringfügig weniger vorhanden als bei den mittelalten Kontrolltieren. Dieser Abfall ist bei älteren Tieren regelmäßig zu finden (YAGI et al., 1997). Nach Kontrastmittelgabe steigt die Anzahl von

Lymphknoten mit vielen eosinophilen Granulozyten an und verläuft dabei generell synchron mit der Sinusaktivität und der Eisenmenge im Sinus.

Zur Differenzierung der Ursache für den Anstieg an eosinophilen Granulozyten kann man die Lokalisation der Lymphknoten heranziehen. Die Anzahl von Lymphknoten mit vielen eosinophilen Granulozyten, ebenso wie mit vielen Mastzellen, sind, unabhängig von einer Kontrastmittelgabe, in der Gruppe der oberflächlichen Lymphknoten wesentlich größer. Hingegen steigt nach Kontrastmittelgabe die Anzahl der Lymphknoten mit einem hohen Eisengehalt vor allem bei den Eingeweidelymphknoten, während die Sinusaktivierung besonders bei den oberflächlichen Lymphknoten ausgeprägt ist. Die Anzahl der eosinophilen Granulozyten scheint also eher vom Vorhandensein einer Sinushistiozytose beeinflusst zu werden.

Die Filtration und Phagozytose von exogenen Partikeln wie z. B. Kontrastmittel scheinen in den oberflächlichen Lymphknoten Vorrang zu haben. Die Makrophagen haben ihre Hauptaufgabe in der unspezifischen Abwehr. Eosinophile Granulozyten haben neben der spezifischen Entsorgung von Antigen-Antikörper-Komplexen auch Phagozytose zur Aufgabe. Mastzellen aktivieren und locken die eosinophilen Granulozyten zusätzlich an. Die Stimulation dieser physiologischen Mechanismen durch Kontrastmittel scheint bei den oberflächlichen Lymphknoten deutlicher ausgeprägt zu sein als bei Eingeweidelymphknoten, obwohl das Agens in geringerem Maße vorkommt.

Durch die Eingeweidelymphknoten fließen zudem täglich große Mengen an Chylomikronen, die nach intestinaler Fettresorption von den Mukosazellen gebildet werden. Über die Lymphe gelangen diese zu den Lymphknoten, die sie passieren und über den Milchbrustgang dem Blutkreislauf zugeführt werden (KLINKE und SILBERNAGL, 2001). Dadurch sind die Makrophagen der Eingeweidelymphknoten ständig großen Mengen an endogenen Partikeln ausgesetzt, auf die sie nicht reagieren und die sie nicht aufnehmen sollen. Dies könnte die vergleichsweise geringere Reaktion des Sinussystems in den Eingeweidelymphknoten erklären. Weitere Untersuchungen dazu wurden nicht gemacht.

Es scheint auch bei den verschiedenen Lymphknotenlokalisationen Unterschiede in der Reaktion der Makrophagen auf die Kontrastmittelpartikel zu geben. Die Parameter Phagozytose, Abbau und Verstoffwechslung des Kontrastmitteleisens sind je nach Lokalisation unterschiedlich stark ausgeprägt. Dies zeigen auch die Ergebnisse in Milz und Leber (Kap. 5.1.3).

Allergische Reaktion auf das Kontrastmittel

Die gering erhöhte Anzahl an Mastzellen und eosinophilen Granulozyten kurze Zeit nach Gabe des Kontrastmittels könnte auch ein Anzeichen für eine milde allergische Reaktion sein. Dem widerspricht die neuartige Zusammensetzung des untersuchten VSOP- Kontrastmittels. Dieses enthält das körpereigene Ziträt als Hüllsubstanz. Im Gegensatz dazu scheinen bei SPIO die beobachteten allergischen Reaktionen hauptsächlich gegen das allergene Dextran gerichtet zu sein. Dies ist besonders bei der Ratte der Fall (WAGNER, 2002b).

In ersten präklinischen, toxikologischen und klinischen Untersuchungen zu VSOP- Kontrastmitteln scheinen allergische Reaktionen keine Rolle zu spielen (SCHNORR, 2002). Wahrscheinlicher ist, daß die hier beobachteten Veränderungen der physiologischen Situation nach einem Phagozytosereiz entsprechen, ohne daß eine allergische Komponente im Sinne einer unkontrollierten, überschießenden Reaktion vorliegt. Auch konnte keine sonstigen Veränderungen nach der Injektion an den lebenden Tieren beobachtet werden, ebenso wie makroskopisch- anatomisch keine Abnormitäten entdeckt wurden.

Die Details der physiologischen Feinabstimmung zwischen Makrophagen, Mastzellen und eosinophilen Granulozyten sind noch nicht bekannt und konnten auch in dieser Arbeit nicht lückenlos aufgeklärt werden.

Eine Aktivierung der Phagozytose durch das Kontrastmittel scheint von der Lokalisation abhängig zu sein und nicht in allen Organen bzw. bei allen Makrophagen, gleichermaßen vorstatten zu gehen.

Die hier beobachteten Veränderungen der zellulär-spezifischen Abwehr sind eher auf haltungsbedingte Einflüsse zurückzuführen, das Kontrastmittel scheint nur eine geringe Aktivierung zur Folge zu haben.