

4. Diskussion

4.1. Eisenstudie

Da das zu untersuchende Kontrastmittel USPIO (DDM 43/34) bereits mit positiven Ergebnissen in anderen Publikationen (Schmitz et al. 2000; Ruehm et al. 2001) untersucht wurde, lag der Schwerpunkt in dieser Arbeit auf der Detektion einer minimalen effektiven Dosis im Tiermodell bei 3 Tesla. Ziel war es, eine Dosierung zu finden, die evtl. auf den Menschen übertragen werden kann. Daher wurden in einem Vorversuch vier verschiedene Kontrastmitteldosen untersucht, von denen die höchste der Dosierung in einer anderen Arbeit entsprach (Ruehm et al. 2001), während die niedrigste Dosierung im Hinblick auf einen Einsatz beim Menschen gewählt wurde und den Dosierungen nahe kam, welche eine weitere Forschergruppe am 1,5T-MRT eingesetzt hatte (Schmitz et al. 2000).

Bei der anschließenden Auswertung der MR-Tomogramme stellte sich überraschenderweise heraus, dass keine der Dosierungen die gewünschte Wirkung in Form von signalarmen Arealen (Signalauslöschungen) in der Aortenwand hervorrief, welche normalerweise mit den entsprechenden Sequenzen dargestellt werden können. Signalauslöschungen durch Eisenoxidpartikel wurden von anderen Forschergruppen am 1,5T-MRT bereits dargestellt (Schmitz et al. 2000; Ruehm et al. 2001; Schmitz et al. 2001). Für die vorliegende Arbeit wurde daher großer Wert auf die Verwendung eines 3Tesla-MRT gelegt, da dieses wesentlich empfindlicher auf superparamagnetische Substanzen reagiert, als die herkömmlichen 1,5Tesla-Geräte, welche bisher von anderen Forschern verwendet wurden (Schmitz et al. 2000; Ruehm et al. 2001; Schmitz et al. 2001).

Mögliche Einflussquellen, die zum Ausbleiben der erwarteten Signalauslöschungen führen konnten, wurden daraufhin untersucht. Allem voran ergab die physikalische und chemische Untersuchung des Kontrastmittels durch das herstellende Unternehmen, dass die Substanz noch intakt war.

Es stellte sich heraus, dass die Tiere, welche von anderen Forschern genutzt wurden, teilweise jünger waren (zwischen 6 und 10 Monaten), als die für diese Arbeit zur Verfügung stehenden Tiere (Ruehm et al. 2001).

Allerdings bedingt ein höheres Alter der Tiere ein fortgeschrittenes Plaquestadium, welches bei der Untersuchung eben dieser Plaques von besonderem Vorteil sein müsste. Da das Kontrastmittel mit Hilfe von Makrophagen in die Plaques gelangt, wurde bei der histologischen Untersuchung der Aorten besonderer Wert auf eine spezielle Makrophagen-Antikörper-Färbung gelegt, um die Existenz von Makrophagen im Plaque und somit den entzündlichen Charakter der Plaques nachweisen zu können. Tatsächlich ergab die Auswertung der Histologien eine hohe Präsenz von Makrophagen, was einen aktiven entzündlichen Prozess im Plaque bewies. Somit erschien es eher als unwahrscheinlich, dass das Fehlen der signalarmen Areale mit dem Alter der Tiere zusammenhing.

Zusätzlich wurden wie in anderen Studien (Schmitz et al. 2000; Ruehm et al. 2001) die histologischen Präparate der Aorten im Anschluß an die kernspintomographischen Untersuchungen auf Eiseneinlagerungen untersucht. Hierzu wurde die Berliner-Blau-Färbung verwendet, welche zu einer Anfärbung der Eisengranula in den Zellen führte. Die Auswertung der Histologien auf Eiseneinlagerungen ergab, dass sowohl die Makrophagen als auch die Endothelzellen in den Plaques der Watanabe-Kaninchen Eisenpartikel eingelagert hatten. Allerdings variierte die Eisenmenge mit der jeweiligen Kontrastmitteldosis. Während die WHHL mit der höchsten Dosis eine deutliche Eisenanreicherung in den pathologisch veränderten Arealen der Aortenwand zeigten, konnten nur sehr schwache Eisenansammlungen bei den zwei niedrigeren Dosierungen ermittelt werden. Eine solche Abhängigkeit der Eisenakkumulation in den Plaques von der entsprechenden Kontrastmitteldosis war auch schon in der Studie der Forschergruppe von Schmitz et al. aufgefallen (Schmitz et al. 2000).

Die Eisenmenge in den Histologien der Tiere mit der höchsten Dosierung lag im Vergleich zur niedrigsten Dosis deutlich höher. Allerdings ist es dennoch fraglich, ob diese Eisenmenge tatsächlich ausreicht, um im MRT trotz sensibler Sequenzen nachgewiesen zu werden.

Ungeachtet der Variation der Zahl der positiv befundenen Bilder bei den verschiedenen Tieren zeigten die Kaninchen in den histologischen Präparaten keine Unterschiede zueinander. Bei allen Tieren, die im MRT eine Signalauslöschung zeigten, war die Anzahl an eisenhaltigen Zellen gleich hoch. Das Verteilungsmuster dieser Zellen in den Aortensegmenten war zwar insgesamt inhomogen, jedoch bei allen Tieren ähnlich ausgeprägt. Sogar ein Tier, welches trotz hoher Kontrastmitteldosis keine Signalauslöschung zeigte, unterschied sich bei der histologischen Auswertung nicht von den anderen Tieren derselben Gruppe, welche Signalauslösungen aufwiesen. Warum dieses Tier trotz gleicher

Bedingungen keine signalarmen Areale auf den Schichtbildern zeigte, konnte nicht geklärt werden.

In diesem Zusammenhang fiel ebenfalls auf, dass das verwendete USPIO im Vergleich zu dem USPIO anderer Publikationen schneller aus dem Blut verschwunden war. Es war zu beobachten, dass sich bei der höchsten Dosis (1,0 mmol USPIO (DDM43/34)/kg) das Blut in den kernspintomographischen Untersuchungen 48 h nach Kontrastmittelgabe wieder weiß darstellte. Zu diesem Zeitpunkt war die Kontrastmitteldosis somit wieder auf den bluterhellenden Effekt eines Bloodpoolkontrastmittels gesunken. In anderen Publikationen (Ruehm et al. 2001) trat dieser Effekt erst 120 h nach Gabe der gleichen Dosis Kontrastmittel auf. Ein hoher Kontrastmittelspiegel war somit in der Studie von Rühm et al. wesentlich länger im Blut der Tiere vorhanden als bei den Untersuchungen der vorliegenden Studie.

Niedrigere Kontrastmittelspiegel durch eine zu kurze Verweildauer des Kontrastmittels im Blut könnten dazu führen, dass nicht genug Eisen in die Plaques gelangen kann und somit ein Nachweis im MRT nur schwer möglich ist. Dies könnte durchaus ein Problem des hier verwendeten USPIO gewesen sein.

Des Weiteren wurden die verwendeten MR-Sequenzen auf ihre Eisensensibilität hin untersucht. Da aber sogar nach der Gabe der geringsten Dosierung in praktisch allen Organen (z.B. Knochenmark, Leber) starke Suszeptibilitätsartefakte durch die Eisenoxidpartikel hervorgerufen wurden, die mit den verwendeten Sequenzen gut dargestellt werden konnten, konnte das Problem nicht allein von den Sequenzen herrühren. Um diese potentielle Fehlerquelle trotzdem noch zu minimieren, wurden die weiteren Gruppen von Tieren (Gruppe II-IV) zusätzlich mit zwei etwas modifizierten T2*w GR-Sequenzen mit transversaler Schichtführung untersucht.

Bei der anschließenden Auswertung dieser MR-Tomogramme stellte sich heraus, dass bei 80% der untersuchten Watanabe-Kaninchen mit der höchsten Dosis der Befund Signalauslöschung gestellt werden konnte. Dies lässt den Schluss zu, dass die Optimierung der Sequenzen notwendig war, um das Kontrastmittel im 3Tesla-MRT als signalarmes Areal sichtbar zu machen.

Allerdings stellte sich auch heraus, dass nicht bei allen Tieren, welche die höchste Dosierung erhalten hatten, dieser gewünschte Effekt auftrat. Bei der Verwendung der beiden anderen Kontrastmitteldosen (0,25 bzw. 0,1 mmol USPIO (DDM43/34)/kg) zeigte sich jeweils bei den fünf mit den modifizierten Sequenzen in transversaler Schichtführung untersuchten Watanabe keine Signalauslöschung.

Dies führte erstmalig zu dem Schluss, dass das untersuchte USPIO selbst bei Verwendung von sehr hohen Dosierungen nicht ausreichend sicher im 3Tesla-MRT nachgewiesen werden kann. Eine Reduzierung der Dosierung führt somit ebenfalls nicht zur Detektion des Kontrastmittels und lässt es dadurch zum momentanen Zeitpunkt für den klinischen Gebrauch ungeeignet erscheinen. Zudem muss bedacht werden, dass selbst die als niedrigste Dosierung gewählte Dosis für den Menschen noch toxisch ist, sodass eine Modifikation des Kontrastmittels nötig ist, um es für die Detektion der Atherosklerose nutzbar zu machen.

4.2. Gadofluorinestudie

Die Untersuchung mit Gadofluorine M verfolgte zwei Ziele. Zum einen sollten die positiven Ergebnisse mit diesem Kontrastmittel aus anderen Publikationen (Barkhausen et al. 2003; Sirol et al. 2004) im Hinblick auf seine Eignung zur Detektion von atherosklerotischen Plaques für das 3 Tesla-MRT bestätigt werden. Zum anderen lag das weitaus größere Interesse in der Untersuchung verschiedener Kontrastmitteldosierungen, um erstmalig die kleinstmögliche effektive Dosierung zu bestimmen, mit der es noch möglich ist, sicher die vorhandenen Plaques in der Aortenwand aufzeigen zu können.

Mit Dosierungen von 100, 50 und 25 μmol Gadofluorine M/kg Körpergewicht war erstmals eine Darstellung der Plaques durch das Kontrastmittel im 3Tesla-MRT sicher möglich. Die Aortenwand zeigte bei diesen Dosierungen eine signifikant erhöhte Signalintensität im Vergleich zu den korrelierenden Nativaufnahmen. Diese Erhöhung der SI war jeweils mit bloßem Auge deutlich sichtbar. Es zeigte sich auch, dass die unterschiedlichen Dosierungen zu unterschiedlich stark erhöhten Werten der Signalintensität führten, wobei die höchste Kontrastmitteldosis die stärkste Differenz der gemessenen Werte nach der Kontrastmittelgabe erbrachte. Diese Unterschiede in der Signalintensität durch die verschiedenen Dosierungen ließen sich auch mit bloßem Auge erkennen.

Die Erhöhung der Signalintensität betraf in den verwendeten Sequenzen jeweils einheitlich die gesamte Aortenwand. Es konnten nur minimale Unterschiede in der Signalintensität verschiedener Areale der Aortenwand ausgemacht werden. Es erwies sich daher als schwierig, sichere Rückschlüsse auf die Dicke der Plaques, die sich über die gesamte Aortenwand erstreckten, zu ziehen. Da die Kaninchen aber aufgrund ihres fortgeschrittenen Alters über eine ausgeprägte Atherosklerose verfügten und in praktisch allen Abschnitten der

Aortenwand Plaques aufwiesen, stimmte das tomographische Bild mit den histologischen Präparaten überein.

Je höher die Dosierung des Kontrastmittels gewählt wurde, desto deutlicher und signifikanter war auch die Signalintensität der Aortenwand nach Kontrastmittelgabe erhöht. Dementsprechend nahm die Signalintensität mit sinkender Kontrastmitteldosis ab. Dies lässt den Schluss zu, dass für die Darstellung von frühen Stadien der Atherosklerose die Sicherheit der Methode mit steigender Dosierung zunehmen wird. Da jedoch die Signalintensität nach der Kontrastmittelgabe erstmalig auch bei der Dosierung mit nur 25 μmol Gadofluorine M/kg im Vergleich zur Nativaufnahme deutlich und signifikant erhöht war, wird die Anwendung solch geringer Dosierungen den Plaquenachweis erbringen können und eine sichere Diagnose auch bei niedriger Dosis möglich sein.

Bei der Dosis von 12,5 μmol Gadofluorine M/kg Körpergewicht war eine Veränderung der Signalintensität mit bloßem Auge nicht sichtbar. Erst die Messung der Signalintensität erbrachte objektiv leicht erhöhte Werte im Vergleich zu den Nativaufnahmen, die jedoch nicht signifikant waren. Die Differenz zwischen den Werten fiel sehr gering aus und ließ eine Detektion der Plaques nur indirekt durch die Messung der Signalintensität zu. Die direkte visuelle Erfassung der Plaques war mit dieser geringen Dosis nicht mehr möglich.

Das Vorhandensein der Plaques auch bei den Watanabe-Kaninchen dieser Gruppe konnte jedoch durch die Untersuchung der histologischen Schnitte eindeutig nachgewiesen werden, sodass davon ausgegangen werden muss, dass diese Dosis zu gering ist, um in der klinischen Anwendung zu sicheren Diagnosen zu führen.

Die untersuchten Kontrolltiere zeigten nach Kontrastmittelgabe in keinem Fall Areale in der Aortenwand mit einer erhöhten Signalintensität. Da diese Tiere in Korrelation mit den histologischen Präparaten nicht über pathologische Veränderungen in der Aortenwand verfügten, lässt sich zusammenfassend ableiten, dass das verwendete Kontrastmittel eine Unterscheidung von pathologischem Gewebe und Gewebe in physiologischem Zustand zulässt. Das Kontrastmittel reichert sich erwartungsgemäß ausschließlich in den atherosklerotischen Plaques und nicht in gesundem Gewebe an.

Eine sichere Diagnose der Atherosklerose mit Hilfe dieses Kontrastmittels sollte somit auch in anderen Spezies möglich sein.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass Gadofluorine M ein geeignetes Kontrastmittel zur Darstellung der atherosklerotischen Plaques im 3 Tesla-MRT ist und sich auch in einer Dosierung von nur 25 μmol Gadofluorine/kg mit sicheren Ergebnissen anwenden lässt.

Bisherige Studien (Barkhausen et al. 2003) zeigten hauptsächlich die Möglichkeiten des Kontrastmittels bei einer Dosierung von 100 μmol Gadofluorine/kg, die allerdings am Menschen wegen der Gefahr der Toxizität bisher nicht eingesetzt werden kann. Eine andere Studie zeigte kürzlich, dass eine Signalverstärkung der plaquehaltigen Aortenwand nach Injektion von 50 μmol Gadofluorine/kg auch im 1,5T-MRT nachweisbar ist (Sirol et al. 2004). Die vorliegende Studie zeigt erstmals, dass der Einsatz des Kontrastmittels auch mit einem Viertel (Barkhausen) bzw. der Hälfte (Sirol) der bisher eingesetzten Menge durchaus noch sichere Ergebnisse bringt, wenn ein 3Tesla-MRT verwendet wird.

Hier sind weiterführende Untersuchungen und Modifikationen des Kontrastmittels hinsichtlich seiner Toxizität notwendig, um den Einsatz in einer klinischen Studie am Menschen möglich zu machen.

4.3. *Magneviststudie*

Die Untersuchungen dieses schon für andere Indikationen etablierten Kontrastmittels sollte erstmals seine Eignung bei 3 Tesla für die Erkennung atherosklerotischer Plaques darstellen. Es bestätigten sich die Ergebnisse einer anderen Studie (Barkhausen et al. 2003), dass das Kontrastmittel für die Detektion atherosklerotischer Plaques grundsätzlich geeignet erscheint. Durch die besseren Messbedingungen bei 3 Tesla bestand in der vorliegenden Studie jedoch die Möglichkeit, den Plaquenachweis im Gegensatz zum 1,5T-Modell (Barkhausen et al. 2003) eindeutig zu erbringen. Leider erwies sich der definitive Plaquenachweis mit der hier verwendeten Dosis auch bei 3 Tesla eher als schwierig. Der Grund hierfür lag in der vielmehr unspezifischen Anreicherung des Kontrastmittels im Aortenbereich, wodurch eine sichere Abgrenzung von Bereichen mit und ohne Plaques schwer erreicht werden konnte. Das lag zum einen daran, dass die Erhöhung der Signalintensität zwar bei allen Watanabe signifikant, aber dennoch relativ gering ausfiel und daher die Auswertung erschwert wurde. Zum anderen lag es an den eher undeutlichen Konturen der signalreichen Bezirke im Bereich der Aortenwand.

Nach dem vollständigen Verschwinden des Kontrastmittels aus dem Blut waren zudem keine signalreichen Areale mehr sichtbar. Der Abfall der Signalintensität erfolgte außerdem sehr schnell, so dass dem Untersucher nur wenige Schichtbilder mit signalreichen Bereichen zur Auswertung zur Verfügung standen. Schon 40 Minuten nach Kontrastmittelgabe war das Signal-zu-Rausch-Verhältnis der Aortenwand nicht mehr signifikant erhöht.

Da eine Visualisierung der pathologisch veränderten Aortenwand jedoch grundsätzlich möglich und das SNR hier signifikant erhöht war, ist eine Verwendung dieses Kontrastmittels für die Detektion von atherosklerotischen Plaques durchaus möglich. Ein großer Vorteil von Magnevist® liegt darin, dass dieses Kontrastmittel bereits für die Verwendung beim Menschen zugelassen ist und seine pharmakologische Unbedenklichkeit schon bewiesen wurde.

Daher wären weiterführende Untersuchungen mit Magnevist® mit evtl. höheren Dosierungen im 3Tesla-MRT nötig, um die Eignung für die Plaquedetektion weiter zu erforschen.

4.4. Vergleichende Diskussion

Hauptziel dieser Arbeit war ein Vergleich der drei Kontrastmittel Gadofluorine M, Magnevist® und eines USPIO (DDM 43/34) hinsichtlich ihrer Eignung als MR-Kontrastmittel für die atherosklerotische Plaquedetektion und das Auffinden des Kontrastmittels, welches für die Früherkennung der Atherosklerose am besten geeignet ist. In dieser Arbeit wurden die verwendeten Kontrastmittel erstmalig unter den gleichen Bedingungen in einem 3Tesla-MRT untersucht und verglichen. Jedes der Kontrastmittel wurde zwar schon einzeln in anderen Publikationen untersucht, allerdings wurde dabei jeweils nur ein 1,5Tesla-MRT verwendet (Schmitz et al. 2000; Ruehm et al. 2001; Barkhausen et al. 2003; Sirol et al. 2004). Zudem wurden teilweise andere Dosierungen untersucht, die meist so gewählt wurden, dass das jeweilige Kontrastmittel noch gut darstellbar war. In der vorliegenden Studie sollten möglichst geringe Dosierungen verwendet werden, um toxische Effekte der Mittel zu minimieren.

Ein realistischer Vergleich der unterschiedlichen Kontrastmittel untereinander ist trotz der bisher vorgelegten Untersuchungen nur schwer möglich, da in unterschiedlichen Studien nie exakt die gleichen Bedingungen vorherrschen können. Ein direkter Vergleich zum Auffinden des potentiell wertvollsten Mittels für diese Indikation konnte daher noch nicht vorgenommen werden. Die erstmalige Gegenüberstellung der Kontrastmittel sollte in dieser Studie unter zusätzlich verbesserten Messbedingungen durch das 3Tesla-MRT vorgenommen werden.

Die Aussagekraft der Experimente wurde hierbei durch verschiedene Faktoren beeinflusst. Als mögliche Einflussquelle mussten in erster Linie die untersuchten Kaninchen gesehen werden. Die Vergleichbarkeit der Versuche wurde prinzipiell dadurch begrenzt, dass für jede Untersuchung ein anderes Kaninchen verwendet wurde. Die einzelnen Tiere zeigen aufgrund ihrer natürlichen genetischen Variation und ihres unterschiedlichen Alters

individuelle Verschiedenheiten. Der Einfluss durch diese Faktoren ist im Allgemeinen schwer abschätzbar, begrenzt sich jedoch hauptsächlich auf unterschiedlich ausgeprägte Plaquestadien (mit oder ohne Stenose), ungleiche Gewichtsklassen und unterschiedliches Geschlecht. Bei den verschiedenen Plaquestadien ist es jedoch grundsätzlich wichtig, den Nachweis ihres entzündlichen Charakters zu erbringen, da dieser als Voraussetzung für die Anreicherung der Mittel im Plaque angesehen wird. Durch die Anfertigung einer speziellen Makrophagen-Antikörper-Färbung von Aortensegmenten von allen Kaninchen konnte für jedes WHHL-Kaninchen der entzündliche Charakter der Plaques eindeutig erwiesen werden.

Um die Bedingungen für alle Mittel möglichst vergleichbar zu halten, wurde bei der Zuordnung der Tiere zu den Kontrastmitteln auf ein Kriterium geachtet. So wurden bei der Gruppeneinteilung bewusst Tiere verschiedenen Alters und somit auch unterschiedlicher Plaquestadien zugeteilt. Deshalb war diese Variation auch innerhalb der einzelnen Kontrastmittelgruppen vorhanden. Da trotzdem Unterschiede zwischen den Kontrastmitteln nachweisbar waren, stuft die Autorin den Einfluss dieses Fehlers auf das Ergebnis der Studie als gering ein.

Bei der speziellen Züchtung der WHHL-Kaninchen wird die Ausbildung einer Artherosklerose unabhängig vom Geschlecht des Tieres schon vier Monate nach der Geburt erwartet (Hansen et al. 1994). Die Plaquemorphologie wurde in vielen Publikationen untersucht und gilt als ideales Modell für die Plaquearchitektur beim Menschen. Trotz der großen Gemeinsamkeiten muss dennoch immer bedacht werden, dass es sich hierbei um Tiere handelt. Ein Vergleich mit dem Organismus des Menschen ist zwar durchaus gerechtfertigt, trotz allem können aber klinische Studien am Menschen selbst hierdurch nicht ersetzt werden. Auch stellte die geringe Fallzahl der Tiere einen Kompromiss zwischen Auswertbarkeit der Ergebnisse und der praktischen Anwendung des Tierschutzes dar, der eine Minimierung der Versuchstierzahlen vorschreibt. So muss laut Tierschutzgesetz bei der Planung von Tierexperimenten auf eine möglichst geringe Tierzahl geachtet werden. Andererseits werden hohe Fallzahlen oft als Grundlage für aussagekräftige Ergebnisse angesehen. Die Tierzahl muss daher natürlich ausreichend sein, um auswertbare Ergebnisse erzielen zu können.

Diese Vorgaben zwingen die Forschergruppen zu einem regelrechten Balanceakt. Der Sinn eines jeden Tierversuches muss daher gründlich geprüft werden. Nur wenn die Aussicht auf einen Fortschritt in der Medizin vorhanden ist, sollten Tiere für diese Zwecke verwendet werden dürfen. Solch strenge Vorgaben sind ohne Frage wichtig, um unnötige sowie besonders schmerzhafteste Versuche am Tier zu vermeiden. Ein Versuch, wie das in dieser

Arbeit durchgeführte Experiment stellt somit einen fairen Kompromiss dar in dem Bestreben nach der Durchführung von Tierexperimenten zum Wohle des Menschen und der Reduzierung von Schmerzen am Tier. In diesem Versuch stellte die Narkose samt Einleitung und Aufwachphase den schmerzhaftesten Teil des Tierversuches dar. In den Augen der Autorin ist dies ein vertretbarer Schmerz, den auch normale Haustiere von Zeit zu Zeit durchleben.

Es handelte sich bei dieser Arbeit um eine experimentelle Studie, in der grundlegend die Nutzung der Kontrastmittel zur Plaquedetektion erstmals im 3Tesla-MRT geklärt werden sollten, um ihrer Anwendung in klinischen Studien am Menschen den Weg zu ebnen. Gleichzeitig sollten die Mittel zum ersten Mal in mehreren verschiedenen möglichst niedrigen Dosierungen im 3Tesla-MRT getestet werden, um den Einfluss des jeweiligen Kontrastmittels auf den Organismus gering zu halten. Da sich das 3 Tesla-MRT durch verbesserte Messbedingungen gegenüber den herkömmlichen 1,5Tesla-Geräten auszeichnet, sollten die Kontrastmittel erstmalig mit Hilfe eines solchen Hochfeldtomographen getestet werden. Durch die Verwendung einer Feldstärke von 3 Tesla waren die Voraussetzungen zur erfolgreichen Reduktion der bisher in 1,5Tesla-Geräten verwendeten Dosierungen der Kontrastmittel vorhanden. Durch das verbesserte Signal-zu-Rausch-Verhältnis bei sehr hoher Ortsauflösung sollte der Tomograph auch bei niedrigen Dosierungen der Kontrastmittel zuverlässige Ergebnisse liefern können.

Die drei verwendeten Kontrastmittel machten eine Darstellung ausschließlich von pathologischem Gewebe der Aorta und nicht von gesundem Aortengewebe der Kontrolltiere möglich. Daraus konnte wie erwartet gefolgert werden, dass sich alle Mittel ausschließlich in den Plaques anreicherten. Alle Kontrastmittel können somit als spezifisch geeignet für die Detektion atherosklerotischer Plaques eingestuft werden. Dies konnte erstmalig auch für das 3Tesla-MRT bestätigt werden, da bisherige Studien ausschließlich unter Verwendung von 1,5Tesla-Geräten durchgeführt wurden (Schmitz et al. 2000; Ruehm et al. 2001; Barkhausen et al. 2003; Sirol et al. 2004). Dennoch ließen sich große Unterschiede zwischen den drei Mitteln feststellen.

Während Gadofluorine M sich sicher und deutlich über mindestens 24 h in den Plaques der Aorten nachweisen ließ, war Magnevist® zwar auch durch eine signifikant erhöhte Signalintensität in den Plaques auszumachen, jedoch war der Nachweis des Kontrastmitteleffektes hier schon nach ca. 40 Minuten nicht mehr möglich. Auch konnte die Plaquediagnose mit Gadofluorine M aufgrund des starken Kontrastmittelinduzierten Anstieges der Signalintensität in den Plaques eindeutiger gestellt werden als es mit

Magnevist® möglich war. Ein Grund hierfür könnte durchaus in der Dosierung von Magnevist® gelegen haben. Während für diese Arbeit nur eine am Menschen übliche Dosis gewählt wurde, wurde Gadofluorine M in verschiedenen Dosierungen getestet. Dabei stellte sich erstmals heraus, dass die niedrigste gewählte Dosis (12,5 µmol Gadofluorine M/kg) kein signifikantes Signal zu geben vermochte und daher für die Fragestellung ungeeignet erscheint.

Verschiedene Dosierungen dieses Mittels wurden gewählt, da viel versprechende kontrastmittelbedingte Signalverstärkungen der Plaques mit einer Dosis von 100 bzw. 50 µmol Gadofluorine M/kg schon demonstriert wurden (Barkhausen et al. 2003; Sirol et al. 2004), die Toxizität dieses Kontrastmittels jedoch mit zunehmender Dosis ansteigt. Ein sicherer Nachweis der Plaques war in der vorliegenden Studie bei 3 Tesla erstmalig schon mit einer Dosis von nur 25 µmol/Gadofluorine M/kg möglich. Eine solch geringe Dosierung reduziert durchaus die toxischen Effekte des Kontrastmittels. Somit sinkt das Risiko bei einer klinischen Studie am Menschen; diese sollte nach weiterer pharmakologischer Verbesserung des Kontrastmittels bald durchführbar sein. Nach den positiven Ergebnissen am Tiermodell erscheint eine rechtzeitige Diagnose von frühen artherosklerotischen Läsionen beim Menschen in nahe Zukunft gerückt.

Die schon erwiesene pharmakologische Unbedenklichkeit des bereits für den deutschen Markt zugelassenen Magnevist®, ließ dieses ebenfalls gadoliniumhaltige Mittel als Vergleich zum noch in der Versuchsphase befindlichen Gadofluorine M in unserer Studie interessant werden. Da eine signifikante Signalverstärkung der Plaques auch mit Magnevist® in geringem aber durchaus überzeugenden Maße möglich war, sollten weiterführende Untersuchungen mit höheren Dosierungen durchgeführt werden. Da die hier verwendete Dosis von 200 µmol Gd-DTPA/kg noch Spielraum im für den Menschen zugelassenen Dosisspektrum lässt, erscheint eine auf diesen Versuchen aufbauende Studie nötig und sinnvoll, um die Eignung von Magnevist® für die Plaquedetektion weiter zu präzisieren. Eine in diesem Sinne weiterführende Studie konnte aus unterschiedlichen Gründen in dieser Arbeit leider nicht zusätzlich bearbeitet werden. Zum einen muss für eine Modifikation des Tierversuchsablaufes ein neuer Tierversuchsantrag gestellt werden, was zeitlich zu einer Verzögerung der gesamten Studie geführt hätte. Zum anderen standen für eine Ausweitung der Versuche nicht ausreichend Tiere zur Verfügung, sodass auch aus wirtschaftlichen Gründen verschiedene Dosierungen von Magnevist® nicht untersucht werden konnten.

Auch das dritte hier verwendete Kontrastmittel, das so genannte USPIO (DDM 43/34) erwies sich als potentiell wertvoll für die untersuchte Indikation. Allerdings traten zu Beginn der

Versuche deutliche Probleme mit diesem Kontrastmittel auf. So konnten bei den im so genannten Vorversuch (Gruppe I) verwendeten vier Dosierungen bei keinem der vier Tiere Signalauslösungen festgestellt werden, was nur zum Teil auf die verwendeten Sequenzen zurückzuführen war. Auch nach Verwendung zusätzlicher weiterführender Sequenzen war der Plaquenachweis mittels Signalauslöschung in den folgenden Untersuchungen nur eingeschränkt möglich.

Um zu überprüfen, ob bei den Kaninchen generell eine Einlagerung der Eisenoxidpartikel stattfand, wurden zusätzlich Präparate der Milzen dieser Tiere auf Eisenanreicherungen untersucht. Hierbei konnte festgestellt werden, dass alle Kaninchen einschließlich der Kontrollgruppe, die das USPIO (DDM 43/34) erhalten hatten, deutliche Eisenanreicherungen in der Milz aufwiesen. Es ließ sich auch hier ein Zusammenhang zwischen Dosis und Eisenmenge feststellen, wobei die Tiere mit der höchsten Dosis auch am meisten Eisen in der Milz angereichert hatten. Doch stellt eine Einlagerung der Eisenoxidpartikel in die Milz sowie in andere Organe wie Knochenmark und Leber eine potentielle Gefährdung für den Organismus dar und ist daher als pharmakologische Eigenschaft nicht wünschenswert.

Allerdings lagerten die WHHL aller Dosisgruppen deutlich mehr Eisen in die Milz ein, als in die Plaques der Aorta. Dies lässt sich durch die generell starke Makrophagenaktivität in der Milz erklären. Ein Vergleich aller Gruppen mit den jeweiligen Kontrolltieren zeigte, dass sich die Milzpräparate nicht im Hinblick auf die verwendete Kaninchenart unterschieden. Die Kontrollgruppe lagerte somit gleiche Mengen an Eisen in ihre Milzen ein wie die WHHL; eine Unterscheidung war hier nur bei der Betrachtung der Aortenpräparate beider Gruppen möglich. Die Kontrolltiere lagerten unabhängig von der applizierten Kontrastmitteldosis kein Eisen in die Aortenwand ein. Dies kann als Beweis dafür gesehen werden, dass die Aorten der Kontrolltiere keine entzündlichen Prozesse aufwiesen.

Es bestätigte sich somit der vermutete Zusammenhang zwischen Eisenanreicherung und der Präsenz von Makrophagen, welcher auch schon in einer anderen Studie mit den gleichen Ergebnissen untersucht wurde (Schmitz et al. 2000). Während alle eisenhaltigen Areale der WHHL auch große Mengen an Makrophagen aufwiesen, konnten in den Aorten der Kontrolltiere keine Makrophagen nachgewiesen werden. Eine Einlagerung von Eisen in die Aortenwand erfolgt somit offensichtlich nur bei Anwesenheit von entzündlichen Prozessen, welche durch die Makrophagentätigkeit repräsentiert wird.

In allen Fällen einer Signalauslöschung in der Aortenwand im MRT lag an den entsprechenden Lokalisationen der Aorta immer eine durch die Histologie nachgewiesene Eisenanreicherung vor. Dies wurde auch schon in anderen Studien dargestellt (Schmitz et al.

2000; Ruehm et al. 2001). Allerdings ließ sich bei allen Tieren des Vorversuches sowie bei einem Tier der Gruppe mit der höchsten Dosis (Gruppe IV) zwar eine Eisenanreicherung in den histologischen Präparaten, aber keine Signalauslöschung in den MR-Bildern erkennen. Daraus folgt zwar die zwingende Anwesenheit von Eisen, um eine fokale Signalauslöschung zu bewirken; die Anwesenheit von Eisen bedingt jedoch nicht unbedingt einen Nachweis im MRT.

Diese Erkenntnisse schränken somit die Sicherheit des verwendeten USPIO für den Nachweis atherosklerotischer Plaques ein. Die in den Vorversuchen aufgetretenen Schwierigkeiten mit den Sequenzen führten zu der Feststellung, dass die Erstellung der richtigen Sequenzen ebenfalls einen limitierenden Faktor für den Erfolg der Untersuchungen darstellt und daher die Unsicherheit der Methode erhöhen. Daraus folgt die Feststellung, dass ein Plaquenachweis mit Hilfe des verwendeten USPIO nicht in allen Fällen sicher möglich ist. Hier liegt ein bedeutender Unterschied zu den beiden gadoliniumhaltigen Mitteln vor.

Die Gründe hierfür könnten in der zu geringen Anreicherung der Eisenoxidpartikel in die Aortenwand und daher in den pharmakologischen Eigenschaften des vorliegenden USPIO liegen. Es liegt die Vermutung nahe, dass das Mittel nicht lange genug in ausreichender Konzentration im Organismus verbleibt, um in genügender Menge in die Plaques eingelagert zu werden. Hier erscheint eine Modifikation der pharmakologischen Eigenschaften als sinnvoll, um die Möglichkeiten dieses USPIO in Nachfolgesubstanzen zu verbessern.

Auch im Fall des hier genannten USPIO sollte eine minimale effektive Dosis aufgefunden werden, da seine Toxizität mit steigender Kontrastmitteldosis zunimmt. Ein Nachteil des Kontrastmittels liegt eindeutig in der starken Eisenpartikelanreicherung in Organe wie der Milz, der Leber und des Knochenmarkes. Eine toxische Belastung für den Organismus über die Kontrastmitteluntersuchung hinaus, liegt hier durch die unerwünschte massive Einlagerung in praktisch alle Organe nahe.

Eine Minderung der schon in anderen Publikationen verwendeten hohen Dosierungen (Ruehm et al. 2001) gelang in unseren Experimenten jedoch nicht. Durch das USPIO ausgelöste Signalauslöschungen waren nur bei einer Dosis von 1000 μmol USPIO/kg sichtbar. Warum in dieser Studie trotz der Verwendung eines 3Tesla-MRT Signalauslöschungen nur nach einer derart hohen Dosis sichtbar waren und nicht wie in einer anderen Studie auch bei einer Dosis von nur 200 μmol USPIO/kg (Schmitz et al. 2000), konnte leider nicht geklärt werden.

Bei Applikation von 250 bzw. 100 μmol USPIO/kg blieb der erhoffte Effekt der fokalen Signalauslöschungen in der Aortenwand aus. Da jedoch in klinischen Studien mit anderen Eisenoxidpartikeln maximal 45 μmol USPIO/kg eingesetzt werden können, um toxische Nebenwirkungen zu mindern, gelang hieran eine Annäherung der Dosierung mit positiven Ergebnissen in dieser Studie leider nicht. Allerdings muss hier auf andere Publikationen mit Eisenoxidpartikeln am Menschen hingewiesen werden, die mit max. 45 $\mu\text{mol}/\text{kg}$ Erfolge erzielen konnten (Schmitz et al. 2001; Kooi et al. 2003). Hier scheint der Unterschied zwischen dem verwendeten Tiermodell und dem Organismus des Menschen doch größer als erwartet. Diese Tatsache rechtfertigt jedoch in Gewisserweise weiterführende Untersuchungen mit USPIO auch am Menschen nach entsprechender Modifikation der Mittel im Hinblick auf eine verbesserte Verträglichkeit.

Basierend auf den vorliegenden Ergebnissen lässt sich zusammenfassend sagen, dass von den drei verwendeten Kontrastmitteln Gadofluorine M für die Detektion von atherosklerotischen Plaques am besten geeignet erscheint.