

Aus dem Institut für Radiologie
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

**Gelenkentzündung in der Magnetresonanztomographie
nach i.v. Gabe eines Gd-haltigen Kontrastmittels:
Experimentelle Untersuchungen zum Einfluss von
Matrixkomponenten auf das Signalenhancement**

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Peter Manuel Moscovici

aus Köln

Datum der Promotion: 25.10.2013

Inhaltsverzeichnis

Zusammenfassung	5
Abstract	7
1. Einleitung	9
2. Grundlagen	11
2.1 Magnetresonanztomographie	11
2.1.1 Grundlagen der MRT-Messung	11
2.1.2 MRT-Kontrastmittel	12
2.1.3 Arthritische Veränderungen in der MRT	13
2.2 Tiermodelle zur Arthritis	13
2.2.1 Tiermodelle zur Arthritis	13
2.2.2 Kollagen-induzierte Arthritis	14
2.3 Glykosaminoglykane	14
2.4 Die Movat-Färbung	15
3. Herleitung einer Aufgabenstellung	16
4. Material und Methodik	18
4.1 Versuchstiere	18
4.1.1 Genehmigung	18
4.1.2 Auswahl der Tiere	18
4.2 Kollagen-induzierte Arthritis	18
4.2.1 Aufbereitung des Kollagens	18
4.2.2 Injektion des Kollagens	19
4.2.3 Klinische Kontrolle	20
4.3 Versuchsablauf	21
4.3.1 Narkose	21
4.3.2 MRT-Messung und Kontrastmittelgabe	21
4.4 Histologie	23
4.5 Auswertung	24
4.5.1 Auswertung der MRT-Daten	24

4.5.2 Histologische Auswertung	25
4.5.3 Statistische Auswertung	27
5. Ergebnisse	29
5.1 Ergebnisübersicht.....	29
5.1.1 Allgemeine Bemerkungen.....	29
5.1.2 Tabellarische Übersicht der Messwerte.....	29
5.2 Beschreibung der Ergebnisse	34
5.2.1 Verlauf der SNR der einzelnen klinischen Gruppen	34
5.2.2 Verlauf der SNR der einzelnen Gruppen bei Einteilung nach dem Alcian-Score	40
5.2.3 Vergleich der SNR der einzelnen klinischen Gruppen.....	45
5.2.4 Vergleich der SNR Gruppeneinteilung nach Alcian-Score	49
6. Diskussion	53
6.1 Allgemeine Bemerkungen	53
6.2 Technischer Ablauf der Experimente.....	53
6.2.1 Auswahl der Versuchstiere	53
6.2.2 Arthritisinduktion	54
6.2.3 Narkose	55
6.2.4 Histologische Auswertung	55
6.2.5 MRT-Messung und -Auswertung	56
6.2.6 Statistische Auswertung	58
6.3 Lösungsansätze für die Limitationen.....	59
6.3.1 Auswahl der Versuchstiere	59
6.3.2 Arthritisinduktion	59
6.3.3 Narkose	60
6.3.4 Histologische Auswertung	61
6.3.5 MRT-Messung und -Auswertung	62
6.3.6 Statistische Auswertung	63
6.4 Interpretation der Ergebnisse	63
6.4.1 Korrelation von Klinik und MRT	63
6.4.2 Korrelation von Alciananfärbung und MRT	64

6.4.3 Zusammenschau der Korrelation von klinischen Scores und Alcian-Scores mit der MRT	64
6.5 Resümee und Ausblick.....	65
7. Abkürzungsverzeichnis	67
8. Abbildungsverzeichnis	70
9. Tabellenverzeichnis	71
10. Literatur	72
Eidesstattliche Versicherung	79
Lebenslauf.....	80
Danksagung	81

Zusammenfassung

Entzündliche Gelenkerkrankungen stellen eine bedeutende medizinische, gesundheitsökonomische und damit auch diagnostische Herausforderung dar. Eine akurate Diagnose wird in der heutigen Zeit auch anhand von empfindlicher MRT-Bildgebung gestellt. Ziel dieser Arbeit war es, anhand eines Tiermodells die Grundlage für das Spätenhancement von Entzündungen in der Magnetresonanztomographie näher zu beleuchten. Dabei haben wir uns auf die Glykosaminoglykane (GAG) als Komponente der Extrazellulärmatrix fokussiert. Von den GAG ist bekannt, dass sie (1.) im entzündlichen Gewebe stark vermehrt sind und (2.) starke Komplexbildner, insbesondere gegenüber 3-wertigen Metallionen sind. Da es Evidenz für eine Transchelierung von Gd^{3+} -Ionen aus linearen Kontrastmittelkomplexen zu GAG gibt, wurde die Hypothese aufgestellt, dass das Vorhandensein von GAG im entzündeten Gewebe mit einem verstärkten späten Signalanstieg nach i.v.-Gabe eines linearen Kontrastmittels korreliert.

Es wurde bei insgesamt 11 weiblichen Ratten des Wistar-Lewis-Stammes eine CIA (Collagen-induced arthritis) induziert, 2 weitere Ratten wurden nicht exponiert und dienten als Kontrollgruppe. Nach gelungener Arthritisinduktion wurde für jede Ratte ein klinischer Score von 1 bis 4 für die Hinterpfoten vergeben und im Anschluss direkt eine MRT durchgeführt. Es wurden dünn-schichtige T1-Sequenzen (FLASH-3D) nativ und im Zeitverlauf nach intravenöser Gabe von Gadopentetat Dimeglumin (Magnevist®) in einer Dosierung von 0,3 mmol Gd / kg Körpergewicht über 120 min in einer Extremitätenspule in einem 1,5 T-Ganzkörperscanner akquiriert. Anschließend wurden die Tiere euthanasiert und die Hinterpfoten fixiert, geschnitten und nach Movat gefärbt, um durch den Alcian-Blauanteil die GAG nachzuweisen und semiquantitativ einzuschätzen. Die Auswertung erfolgte in 3 Regionen der Hinterpfote: Der Plantarfaszie, der vorderen Gelenkkapsel des OSG und im präachillären Fettkörper. Hier wurden einerseits der Grad der Blaufärbung durch die Alcian-Blaukomponente in der Histologie mittels eines Scores von 1 bis 4 bestimmt und andererseits in der MRT-Auswertung das Enhancement durch Messungen des SNR quantifiziert. Hierauf wurden die einzelnen Gelenke einerseits anhand ihres klinischen und andererseits anhand ihres

Alcian-Scores in Gruppen eingeteilt; zum Schluss wurden diese beiden Einteilungsvarianten statistisch miteinander verglichen.

Es zeigte sich, dass sich bei klinischer Einteilung v. a. befallene von gesunden Gelenken in der MRT anhand des SI-Enhancements nach i.v. Kontrastmittelgabe unterscheiden ließen und insgesamt Differenzierungen der klinischen Gruppen vorrangig in den frühen Kontrastmittelphasen gelangen. Bei histologischer Einteilung der Gruppen gemäß des GAG-Gehaltes, wie er im Alcian-Score mithilfe der Blaufärbung ermittelt wurde, gelang die Unterscheidung in der MRT hingegen in erster Linie in den späten Kontrastmittelphasen. Einschränkend muss jedoch erwähnt werden, dass es zu Überlappungen zwischen den beiden Einteilungsvarianten kam.

Insgesamt stützen die Ergebnisse dieser Arbeit die Ausgangshypothese, dass GAG im Gewebe mit einem Signalanstieg in der Spätphase nach Kontrastmittelgabe korrelieren. Dies könnte durch eine partielle Transchelierung von Gd aus dem Kontrastmittelkomplex unter Bildung von Gd-GAG-Komplexen in entzündlichem Gewebe erklärbar sein. In weiteren Arbeiten gilt es nun ein genaueres Korrelat für die GAG und ggf. deren Komplexbildung mit Gadolinium zu finden. Zudem steht der analytische Nachweis der Bildung von Gd-GAG-Komplexen noch aus.

Abstract

Inflammatory joint diseases pose an important medical, economic and therefore diagnostic challenge. An accurate diagnosis is increasingly based on contrast enhanced MR-imaging. The aim of this thesis was to obtain information on one possible mechanism which finally leads to late Gadolinium enhancement in MRI in arthritides in an animal model. The focus was on glycosaminoglycans (GAG), a component of the extracellular matrix. It is known, that GAG are elevated in inflamed tissue and that they are strongly complexing substances, particularly for trivalent metal ions. Since there is evidence from in vitro experiments for transchelation of Gd^{3+} -ions from linear contrast media complexes to GAG, we hypothesized, that the presence of GAG in inflamed tissue correlates with a late signal enhancement after injection of a Gd-containing linear contrast medium.

Eleven female Wistar-Lewis rats with Collagen-induced arthritis (CIA) were used; 2 non-exposed rats served as a control group. After arthritis-induction a clinical score from 1 to 4 was assigned and an MRI-scan performed. High resolution T1-sequences (FLASH-3D) were acquired before and after i.v. injection of Gadopentetate dimeglumine (Magnevist®) at a dose of 0.3 mmol Gd / kg of body weight over a period of 120 minutes, using an extremity coil in a 1.5 T-whole body scanner. Thereafter the animals were euthanized and the hind legs were fixated, cut and dyed with Movat's stain. The alcian-blue component of the stain was used to assess the tissue semi-quantitatively for the presence of GAG. The three anatomical regions that were analyzed were the plantar fascia, the anterior joint capsule and the pre-Achilles fat pad. In these three regions, the amount of blue coloring on the specimens - based on a score (alcian-score from 1 to 4) - was evaluated, as well as the enhancement in the MRI-studies quantified, using the SNR. The analyzed joints were divided into groups in two ways, once based on their clinical score and the other time based on the alcian score. Finally both modes of grouping were compared.

The degree of signal enhancement, particularly in the late phases, correlated significantly with the alcian score. This correlation of signal enhancement was less pronounced with the clinical scores. There was, however an overlap between both grouping modes.

In summary the results support our initial hypothesis, that GAG in the tissue correlate with the degree of signal enhancement in the late post contrast phases. A partial transchelation of Gadolinium (Gd) from the contrast agent's complexes to GAG in the inflamed tissue might be the explanation for the results. In further studies a more precise correlate for the GAG and their complexes with Gd should be looked for.

1. Einleitung

Die Rheumatoide Arthritis (RA) ist eine chronisch-entzündliche Systemerkrankung welche vorwiegend die Gelenke befällt. Sie ist mit einer weltweit etwa gleichen Prävalenz von ca. 1 % relativ häufig, wobei Frauen ca. 3 - 5 mal so oft wie Männer betroffen sind. Der Krankheitsbeginn liegt meist in der zweiten bis vierten Dekade. Über eine Synovialitis führt sie zu Arthritis, Bursitis und Tendovaginitis; der schubweise Verlauf der Krankheit kann bis zur vollständigen Gelenkdestruktion führen. (Mitchell und Kumar 2003; Herold et al. 2010)

Neben den Gelenken können auch weitere Organe betroffen sein: An Augen und Speicheldrüsen kann ein Sjögren-Syndrom auftreten. Kutane sind die Bildung von Rheumaknoten zu nennen. Ein Teil der Patienten entwickelt eine Anämie. Kardial kann sich neben einer Endo- auch eine Pericarditis entwickeln. Vaskulär sind ein erhöhtes Risiko für atherosklerotische Veränderungen sowie eine Vaskulitis beschrieben; letztere scheint auch ursächlich für weitere systemische Manifestationen wie eine renale oder pulmonale Beteiligung zu sein. (Cojocar et al. 2010; Turesson et al. 2004; Young und Koduri 2007)

Die durch die Erkrankung verursachten Kosten sind beträchtlich, so verursachen etwa in den USA beispielsweise Patienten mit Rheumatoider Arthritis dreifach höhere Kosten der Gesundheitsversorgung als Nicht-Betroffene (ACR 2002). Die indirekten Kosten, wie z. B. eine Einschränkung der Arbeitsfähigkeit, können insbesondere bei Patienten im arbeitsfähigen Alter noch weit höher liegen als die direkten. (Pugner et al. 2000) In Deutschland wurden in einer Studie für 2000/2001 direkte, der RA zuzuordnende Kosten von ca. 2300 € pro Patient im Jahr ermittelt. (Ruof et al. 2003)

Klinisch äußert sich die RA neben unspezifischen Allgemeinsymptomen wie Schwächegefühlen und Müdigkeit mit einem in der Regel symmetrischen arthritischen Befall; die Diagnose wird insbesondere in frühen Stadien nach den ACR-Kriterien von 2010 gestellt; hierbei wird neben dem Befall (d. h. Synovitis) von mindestens einem Gelenk ein Score von 6 auf einer definierten Skala benötigt (Aletaha et al. 2010):

- Gelenkbefall 0 bis 5 Punkte in Abhängigkeit von Anzahl und Art der betroffenen Gelenke.

- Serologie 0 bis 3 Punkte in Abhängigkeit vom Ausmaß des Rheumafaktors oder des ACPA.
- Akute-Phase Zeichen: bis zu 1 Punkt für ein positives CRP oder eine erhöhte BSG.
- Symptombdauer: bis zu 1 Punkt für über 6 Wochen andauernde Symptome.

Mit dieser neuen Klassifikation wurde der Fokus auf ein für die Therapie entscheidendes frühes Erkennen der Erkrankung gelegt, insbesondere sollten beispielsweise erst deutlich später erfassbare röntgenologische Veränderungen nicht abgewartet werden. (Arnett et al. 1988; Aletaha et al. 2010)

Ein frühes Erkennen der RA ist wichtig, um mit einem frühen Therapiebeginn den Krankheitsverlauf möglichst stark zu verlangsamen und abzumildern (Gossec und Dougados 2003; Wilke et al. 1993). Hierbei wird zum Erzielen einer Remission auch schon früh eine aggressive Therapie empfohlen (Matteson et al. 2004).

Kontrastmittel-gestützte MRT-Untersuchungen sind in der Diagnose der Synovitis - als frühes Zeichen einer Rheumatoiden Arthritis - akkurater als Untersuchungen ohne Kontrastmittel (Tamai et al. 2011). Insbesondere in klinisch unklaren Fällen kann eine kontrastmittel-gestützte MRT das klinische Management positiv beeinflussen (Fox et al. 2012).

Untersuchungen in späteren Phasen nach der i.v.-Kontrastmittelgabe werden bislang vor allem als Möglichkeit zur Unterscheidung verschiedener entzündlicher Gelenkerkrankungen wie beispielsweise zwischen Rheumatoider Arthritis und Psoriasisarthritis oder Arthrose gesehen (Schraml et al. 2011; Schwenger et al. 2010). In weiteren Studien zeigte sich im entzündeten Gewebe nach der Kontrastmittelapplikation auch deutlich nach der Anflutungsphase ein protrahiert ansteigendes Signalenhancement, welches eher die Eigenschaften einer Akkumulation aufweist und mit Anflutungs- und Eliminationskinetik nicht gut erklärbar ist (Huang et al. 2000; Workie et al. 2004; Yamato et al. 1993).

In dieser Arbeit soll, wie in Kapitel 3 weiter ausgeführt, ein Teilaspekt des Späthenancements beleuchtet werden, nämlich inwiefern das Vorhandensein bestimmter Makromoleküle, der Glykosaminoglykane, mit dem Späthenancement korrelieren kann.

2. Grundlagen

2.1 Magnetresonanztomographie

2.1.1 Grundlagen der MRT-Messung

Die Magnetresonanztomographie (MRT) beruht auf der Messung der Signale von in einem starken Magnetfeld ausgerichteten und mit elektromagnetischen Wellen angeregten Protonen: Wasserstoff ist im Körper als Teil des Wassers praktisch ubiquitär vorhanden; das Proton, welches seinen Kern bildet, besitzt als Elementarteilchen einen Spin, d. h. es rotiert im Modell ähnlich einem Drehkreis in einem Winkel um die eigene Achse. Die elektrische Ladung des Protons bewirkt, dass es zusätzlich zu seinem Drehimpuls noch ein magnetisches Moment besitzt und sich somit wie ein kleiner Magnet verhält. Werden die Protonen in ein starkes Magnetfeld gebracht (z. B. ein menschlicher Körper in einen MR-Tomographen), richten sie sich entlang des Magnetfeldes aus, entweder in Richtung des Magnetfeldes (parallel) oder entgegengesetzt zu diesem (antiparallel) und reagieren mit einer Präzessionsbewegung, die mit der Larmorfrequenz auftritt. Die Larmorfrequenz ω_0 kann nach der Larmorformel $\omega_0 = \gamma_0 \cdot B_0$ berechnet werden, wobei B_0 die Stärke des Magnetfeldes in Tesla angibt, während γ_0 eine Konstante für das jeweilige Elementarteilchen darstellt und für Protonen bei 42,58 MHz/T liegt. Für einen 1,5-MRT ergibt sich somit für Protonen eine Larmorfrequenz von 63,87 MHz, einer Frequenz im Bereich der Radiowellen; dies ermöglicht einen Einsatz am lebenden Organismus. Im Durchschnitt liegen geringfügig mehr Teilchen in der energetisch günstigeren parallelen Orientierung. Die geringe Überzahl an parallel ausgerichteten Teilchen ergibt die (messbare) Längsmagnetisierung M_z und bestimmt somit die Stärke des zur Bildgebung nutzbaren Signals, wobei die Überzahl der parallel ausgerichteten Teilchen mit der Stärke des Magnetfeldes steigt. (Weishaupt et al. 2006)

Die Frequenz der Präzessionsbewegung der Teilchen ist für die MR-Bildgebung von herausragender Bedeutung: Lässt man auf die im Magnetfeld ausgerichteten Teilchen eine elektromagnetische Welle mit der Larmorfrequenz einwirken, so richten sich die magnetischen Achsen nach lateral aus. Nach einer kurzen Zeit (T_1) kippen die Teilchen

wieder zurück entlang des äußeren Magnetfeldes und geben ein Signal ab, das mit einer Antenne bzw. Spule gemessen werden kann. Außerdem geht die Phasenkohärenz (d. h., dass die Achsen der Protonen im gleichen Winkel rotieren), die durch die eingestrahlte elektromagnetische Welle ausgelöst wurde, mit der Zeit verloren (T2), was ebenfalls über die Spule gemessen werden kann. (Weishaupt et al. 2006)

2.1.2 MRT-Kontrastmittel

Als Kontrastmittel im MRT werden hauptsächlich Chelate des Gadoliniums verwendet: Bei diesem handelt es sich um ein paramagnetisches Element aus der Gruppe der Lanthanoide, welches mit seinen sieben unpaaren Elektronen die Relaxationszeit der Protonen im umgebenden Wasser beeinflusst. Es resultiert zwar eine Verminderung sowohl der T1-Relaxationszeit als auch T2-Relaxationszeit, doch bei den klinisch verwendeten Dosen überwiegt der Effekt auf die T1-Relaxationszeit. Die normalerweise beim Menschen verwendete Dosis für die MRT liegt bei 0,1 mmol Gd / kg KG. Die aus Gd und Chelator gebildeten Komplexe lassen sich in lineare und makrozyklische, sowie ionische und nichtionische Komplexe einteilen. Der Chelator wird verwendet, da das Gadolinium allein sehr toxisch wäre, ferner beschleunigt er die Elimination der Substanz über die Nieren. Die insgesamt sehr niedrige Toxizität dieser Chelate ist dabei umso geringer, je größer ihre Stabilität ist. Ausdrücken kann man dies anhand der thermodynamischen Stabilitätskonstante $\log K_{\text{therm}}$, die bei makrozyklischen Chelaten am größten ist. (Bellin et al. 2003; Mathur-De Vre und Lemort 1995; Reimer und Vosschenrich 2004).

In der Leberbildgebung fanden gelegentlich neben Gadolinium-basierten Kontrastmitteln noch solche auf Basis von Eisenoxid-Nanopartikeln oder Mangan Verwendung. (Rief et al. 2010; Harisinghani et al. 2001; Nakamura et al. 2000)

Als Ausblick für die Zukunft muss noch die zunehmende Entwicklung der MRT in Richtung molekulare Bildgebung Erwähnung finden, d. h. die zielgerichtete Markierung von pathologischem Gewebe, beispielsweise anhand von markierten Antikörpern, wodurch eine Vielzahl möglicher neuer Kontrastmittel und auch Kontrastmittelkonzepte ermöglicht werden könnte. (Schellenberger et al. 2008)

2.1.3 Arthritische Veränderungen in der MRT

Die Magnetresonanztomographie spielt wegen ihres Vermögens, neben Knochen- auch Weichteilveränderungen darzustellen, eine wichtige Rolle in der Gelenkdiagnostik. T1-gewichtete Sequenzen erlauben eine gute morphologische Differenzierung, um Arthritiszeichen zu diagnostizieren, wie z. B. Knorpelerosionen. Zudem erlaubt der Vergleich von nativen und nach Kontrastmittelapplikation akquirierten Sequenzen das Signalenhancement zu beurteilen: In entzündetem Gewebe reichert mehr Kontrastmittel an als in nicht betroffenem, wobei dieses Phänomen nicht spezifisch für bestimmte Entzündungsarten oder Gewebe ist. Nach klassischem Verständnis ist dieser Vorgang durch die Erhöhung von Kapillardichte, Perfusion und Extravasation zu erklären. (Ostergaard et al. 1998)

T2-gewichtete Sequenzen stellen die anatomischen Gegebenheiten in der Regel schlechter als solche in T1-Wichtung dar; dem gegenüber steht jedoch die hohe Sensitivität für Wasser, wodurch sich eine gute Darstellung von pathologischen Gelenkergüssen und Ödemen im Gewebe ergibt.

Zur besseren Darstellung werden verschiedene Techniken zur Signalunterdrückung des Fettgewebes verwendet, beispielsweise unter Verwendung eines Sättigungsimpulses oder einer Inversion-Recovery-Sequenz. (Nakahara et al. 1996; Borrero et al. 2011)

2.2 Tiermodelle zur Arthritis

2.2.1 Tiermodelle zur Arthritis

Untersuchungen zu Diagnostik und Therapie von Arthritiden werden tierexperimentell meist anhand künstlich induzierter Arthritiden untersucht. Ausschlaggebend sind hierfür praktische Erwägungen wie z. B. das für die Vergleichbarkeit notwendige einheitliche Tieralter zum Erkrankungsbeginn oder eine niedrige spontane Krankheitsinzidenz für spontan einsetzende Arthritiden. Zudem ist eine Ähnlichkeit zwischen der beim Menschen zu modellierenden Erkrankung zu ihrer Tier-Variante, hier also der Rheumatoiden Arthritis ohnehin nicht in allen Aspekten zwingend vorauszusetzen, so dass eine künstlich induzierte, jedoch gut untersuchte, Arthritis keinen Nachteil darstellen muss. (Weinreich et al. 1993)

2.2.2 Kollagen-induzierte Arthritis

Die CIA (*Collagen-induced arthritis*, deutsch: Kollagen-induzierte Arthritis) ist eine erstmals 1977 von Trentham et al. beschriebene, durch die Injektion von Kollagen Typ II induzierte Arthritis der Ratte. Hierbei wird eine Emulsion von Kollagen Typ II von Mensch, Ratte, Rind oder Huhn in Emulsion in einem inkompletten Freund's Adjuvans Ratten eines empfänglichen Stammes intradermal injiziert. Kollagene anderen Typs haben keinen entsprechenden Effekt. Die genetische Disposition eines Tieres ergibt sich aus dem Vorhandensein von bestimmten *Major Histocompatibility Complexes* MHC. Ca. 10-16 Tage nach der Immunisierung kommt es zu einer sich explosiv entwickelnden, teils symmetrischen Polysynovitis. (Trentham et al. 1977; Trentham et al. 1982; Durie et al. 1994)

Die Arthritis kann durch Lymphozyten- oder Anti-Kollagen-Typ-II-Antikörpertransfer von einem erkrankten auf ein gesundes Tier übertragen werden, wodurch nachgewiesen ist, dass der Pathomechanismus in einer durch T-Lymphozyten vermittelten Anti-Kollagen-Antikörperreaktion begründet liegt. Zudem kann die Induktion einer CIA verhindert werden, indem die T-Zellen durch monoklonale Antikörper aufgebraucht werden. Die verantwortlichen Antikörper richten sich gegen bestimmte Epitope des körpereigenen Typ II Kollagens. (Trentham et al. 1978; Trentham und Dynesius-Trentham 1995)

Weibliche Tiere sind anfälliger für die Erkrankung als männliche. (Gulko et al. 1998; Remmers et al. 2002)

2.3 Glykosaminoglykane

Bei den Glykosaminoglykanen (GAG) handelt es sich um langkettige unverzweigte Polysaccharide, die aus sich wiederholenden Disacchariden aufgebaut sind; charakteristisch ist, dass mindestens in einer der beiden Zuckeruntereinheiten eine negativ geladene Carboxyl- oder Sulphatgruppe gebunden ist. Die GAG sind im menschlichen Körper häufig Teil großer Makromoleküle, z. B. an Proteine gebunden als Proteoglykane. Die hohe Dichte der Zuckermoleküle sowie die negativen Ladungen der Sulphat- und Carboxylgruppen ziehen Wasser an und bedingen die hohe Elastizität der Verbindung; zudem sind komplexierende Eigenschaften, insbesondere für 3-wertige Metallionen bekannt. Im Körper kommen GAG vor allem in Bindegeweben vor; das

häufigste GAG ist dabei das Chondroitinsulfat welches zur Zugfestigkeit von Knorpel, Sehnen, Bändern und Aortenwand beiträgt. (Hayes et al. 2011; Berg et al. 2002; Nelson und Cox 2001)

2.4 Die Movat-Färbung

Die Movat-Pentachrom-Färbung ist eine mit Augenmerk auf die Erforschung von Krankheiten aus dem atherosklerotischen Formenkreis sowie solchen des Bindegewebes entwickelte Färbemethode; Ziel war es, sämtliche Anteile des Bindegewebes, einschließlich der GAG, in einem Schnittpräparat darzustellen. Schon Movat selbst beschrieb die Eignung der Färbung zur Detektion von GAG und zur Forschung an Kollagen-Erkrankungen. Die Färbekomponenten sind (Movat 1955):

- Eisenhämatoxylin für die Zellkerne.
- Saures Fuchsin für das Zytoplasma.
- Resorcin-Fuchsin für die elastischen Fasern.
- Safran du Gatinais für das Kollagen.
- Alcian-Blau für die Grundsubstanz bzw. die GAG.

Es ergibt sich an Farben im Gewebe:

- Zellkerne stellen sich schwarz dar.
- Muskeln und elastische Fasern werden rot gefärbt
- Kollagen und retikuläre Fasern werden gelb, Knorpelgewebe rötlich bis gelblich.
- Fibrinfasern färben rötlich.
- Die hauptsächlich aus GAG bestehende Grundsubstanz stellt sich durch die Alcian-Blau-Komponente bläulich dar.

3. Herleitung einer Aufgabenstellung

Arthritiden, wie die Rheumatoide Arthritis, spielen eine große gesundheitsökonomische Rolle und stellen häufig ein diagnostisches Problem dar, da eine einfache, schnelle und akurate Diagnose nötig ist, um einerseits Betroffenen zu helfen und andererseits Patienten keine unnötige Therapie zukommen zu lassen. In Anbetracht der Rolle, die die radiologische Bildgebung in der modernen Medizin hat, ist eine genaue Differenzierung der sich abspielenden Vorgänge, die zur diagnostischen Aufnahme führen, erforderlich.

Wie in der Einleitung und dem Grundlagenteil erwähnt, sind Kontrastmittelgestützte Aufnahmen eine Grundlage in der MRT-Arthritisdiagnostik. Es wird angenommen, dass Hyperperfusion und Gefäßneubildungen - neben der im entzündlichen Gewebe auftretenden Extravasation - für das zu beobachtende Enhancement verantwortlich sind. Im Rahmen dieser Arbeit soll untersucht werden, ob es Anhalt dafür gibt, dass neben diesen als weiterer Faktor die Zusammensetzung der Extrazellulärmatrix im entzündeten Gewebe das Signalverhalten beeinflusst. Grund für diese Annahme ist, dass es zahlreiche Indizien für die Komplexierung von Glykosaminoglykanen (GAG), vorzugsweise mit Lanthanoiden gibt.

Mit Lanthan, einem chemischen Element aus der selben Gruppe wie dem Gadolinium, lassen sich beispielsweise Protein-Polysaccharide gut extrahieren (Mason und Mayes 1973). Im Umkehrschluss liegt die Vermutung nahe, dass sich eben solche Komplexe auch im Körper bilden und das aus dem Chelator befreite Gadolinium in die Extrazellulärmatrix einbinden (Ando et al. 1982).

Die komplexe Problematik konnte nicht in ihrer Gänze Thema dieser Arbeit sein, stattdessen lag der Fokus auf einem Teilaspekt:

1. GAG sind starke Chelatoren (Ando et al. 1982).
2. GAG komplexieren insbesondere Lanthanide (Dogagnes und Maxwell 1963; Mason und Mayes 1972).

3. In Mischungen aus linearen MRT-Kontrastmitteln und Heparin wurde eine Erhöhung der T1-Relaxivität gefunden, was sich durch die Bildung von hochmolekularen Gd-Heparin-Komplexen erklären lässt. (Taupitz et al. CMMI in press)
4. Es ist bekannt, dass bei Entzündungen GAG im entzündeten Bereich erhöht sind (Handel et al. 2005; Taylor und Gallo 2006).
5. Ein „late enhancement“, d. h. ein Kontrastmittel-Enhancement in späten Untersuchungsphasen ist für die Rheumatoide Arthritis beschrieben und diagnostisch nützlich (Schwenzer et al. 2010).
6. Aufbauend auf diesen Fakten, dass in Entzündungen eine GAG-Vermehrung vorliegt und dass Gd in Anwesenheit von GAG aus den Komplexen Gd-haltiger MRT-Kontrastmittel gelöst und durch die GAG komplexiert werden kann, ergibt sich die Hypothese, dass das MR-tomographisch festgestellte, späte Enhancement mit pathologischen GAG-Vermehrungen, die anhand der Blaufärbung in der Movat-Färbung nachweisbar sind, korreliert.

Für diese Arbeit wurde als Tiermodell eine Arthritis (CIA) verwendet. Nach Manifestation der Arthritis wurden bei den Tieren die Hinterpfoten klinisch eingeschätzt, im MRT untersucht und im Anschluss nach Euthanasieren der Tiere histologisch aufgearbeitet und mit einer Movat-Färbung auf Hinweise von GAG untersucht.

Besonderes Augenmerk galt dabei dem zeitlichen Verlauf des Signalenhancements nach KM-Gabe, d. h. nach welchen Kriterien sich entschied, ob ein Gelenk ein frühes oder ein spätes Enhancement aufwies, einer ausgeprägten Klinik oder einer Alcian-Färbung in der Histologie. Hierzu wurde jedem Rattengelenk vor der MRT-Messung ein klinischer und in der histologischen Auswertung im Anschluss ein „Alcian-Score“ zugeordnet (s. 4.2.3 und 4.5.2). Aus diesen Scores bestimmte sich die Gruppeneinteilung.

4. Material und Methodik

4.1 Versuchstiere

4.1.1 Genehmigung

Die Experimente der vorliegenden Arbeit wurden vom Landesamt für Gesundheit und Soziales unter der Genehmigungsnummer G0255/06 genehmigt.

4.1.2 Auswahl der Tiere

Die Experimente der vorliegenden Arbeit wurden an ursprünglich 15 weiblichen Ratten des Wistar-Lewis-Stammes durchgeführt (bezogen von Charles River Laboratories aus Sulzfeld, Deutschland). Die Tiere wurden in Gruppen zu je drei Tieren in Makrolonkäfigen mit entstaubtem Holzgranulat (Fa. Altromin aus Lippe, Deutschland) gehalten und erhielten Standard-Ratten-Erfahrungsfutter sowie Wasser ad libitum. Die Käfige standen in auf 20-22°C klimatisierten Räumen mit einer Luftfeuchtigkeit von 30-40%; die Raumbeleuchtung war in einem 12-Stunden Hell-Dunkel-Zyklus geschaltet.

Bei zwei der Ratten wurde zum Zweck der Sicherstellung einer vorhandenen Kontrollgruppe kein Versuch der Arthritisinduktion unternommen. Zwei weitere Ratten, von denen eine ebenfalls unbehandelt und für die Kontrollgruppe vorgesehen war, starben während der Narkoseeinleitung und wurden nicht für die histologische oder MR-tomographische Auswertung herangezogen.

Den Tieren wurden die Nummern E1 bis E12 für die exponierten Tiere und K1 bis K3 für die Kontrolltiere zugeordnet (K2 und E12 verstarben).

4.2 Kollagen-induzierte Arthritis

4.2.1 Aufbereitung des Kollagens

Bovines lösliches Kollagen Typ II (*collagen acid soluble from bovine nasal septum*, Sigma, Deutschland) wurde nach Lösung in 0.01 M Essigsäure im Verhältnis 2 mg pro ml in Eiswasser im Ultraschallbad für 30 Minuten gelöst und anschließend in einem gleichen Volumenanteil inkompletten Freund's Adjuvans (Sigma, Deutschland)

emulgiert. Zur Emulsion wurde ein 35 kHz Ultraschallbad (Sonorex RK 31, Bandelin, Berlin, Deutschland) verwendet, in welchem die präparierte Lösung unter Kühlung über 30 Minuten behandelt wurde. Die fertige Emulsion wurde bis zur Injektion weiter gekühlt gelagert.

4.2.2 Injektion des Kollagens

Vor der Kollageninjektion wurden die Ratten narkotisiert; hierzu wurden die Tiere in einem Isofluran-Inhalationssystem für Labornager (Völker GmbH, Kaltenkirchen, Deutschland) für einige Minuten einem 3%-igen Isofluran-Sauerstoffgemisch ausgesetzt. Anschließend wurden die Rücken der Tiere cranial der Schwanzbasis geschoren; 0,5 ml der Kollagenemulsion wurden nun hier intradermal unter aseptischen Kautelen injiziert. Nach 8 Tagen erfolgte eine Booster-Injektion mittels gleicher Technik, wobei auf ein nochmaliges Scheren jedoch verzichtet wurde.



Abbildung 1: Arbeitsplatz

4.2.3 Klinische Kontrolle

Nach Abschluss der beiden Kollageninjektionen wurden die Tiere täglich klinisch auf das Auftreten von Arthritiszeichen hin untersucht, d. h. ihr Laufverhalten, sowie Rötung und Schwellung an den Gelenken wurden beurteilt. Besonderes Augenmerk wurde auf die Tibiotarsalgelenke gerichtet, da diese trotz der geringen Körpergröße der Ratten gut beurteilbar sind und eine Entzündung in ihnen mit entzündlichen Veränderungen der Metatarsalgelenke und Phalangealgelenke korreliert. Für jede Pfote wurde ein semiquantitativer Score von 0 bis 3 vergeben, wobei 0 als keine entzündliche Aktivität und 3 als hochgradige arthritische Veränderungen festgelegt waren. Die einzelnen, im Verlauf histologisch und MR-tomographisch ausgewerteten, Regionen (s.u.) waren klinisch nicht zu differenzieren. Um den klinischen Score zu objektivieren, wurden die einzelnen entzündlichen Komponenten gewertet und jeweils der höchste Punktwert für das gesamte Gelenk angenommen; die ebenfalls zu den klinischen Entzündungszeichen zählende Überwärmung wurde auf Grund ihrer praktisch nicht so einfachen Messbarkeit nicht zur Auswertung herangezogen:

Grad	Schwellung	Schmerz bzw. Gangbild	Rötung	Funktions-einschränkung
0	Nicht vorhanden	Keine Beeinträchtigung	Keine Rötung	180° Streckung im OSG möglich
1	Nur im Sprunggelenk	Leichtes Hinken	Leichte Rötung	Leichte Einschränkung
2	Mittelgradig bis in den Mittelfuß reichend	Schweres Hinken bzw. Schonen	Mittlere Rötung	Mittlere Einschränkung
3	Ballonartig	Keine Belastbarkeit	Schwere Rötung	Keine bzw. kaum Streckung möglich

Tabelle 1: Bestimmung des klinischen Schweregrades der CIA

4.3 Versuchsablauf

4.3.1 Narkose

Für die MRT-Messung wurden die Tiere einem 1,2 - 2%-igen Isofluran-Sauerstoffgemisch ausgesetzt. Bei der im Vergleich zur Kollageninjektion wesentlich längeren Untersuchungsdauer (insgesamt > 2 h) wurde das Narkosegasgemisch über ein Verlängerungssystem über die gesamte Messdauer weiter appliziert.



Abbildung 2: Positionierung der Ratten im MRT

4.3.2 MRT-Messung und Kontrastmittelgabe

4.3.2 a) Verwendete Materialien

Die MRT-Messungen erfolgten an einem klinischen 1,5 Tesla Ganzkörperscanner (Magnetom Sonata, Siemens AG, Erlangen, Deutschland) unter Verwendung einer Kniespule. Als Kontrastmittel wurde Gadopentetat Dimeglumin (Magnevist®, Bayer Schering Pharma AG, Berlin, Deutschland) appliziert. Zur genaueren Körpergewichts-adaptierten Kontrastmittelgabe wurde das KM vor Applikation im Verhältnis 1:2 mit 0,9% Kochsalz verdünnt.

4.3.2 b) Verwendete Sequenzen und Messung

Für die MR-Bildgebung wurden T1-gewichtete Gradienten-Echo-Sequenzen in FLASH-3D-Technik mit einer Schichtdicke von 0,5 mm und einer Bildmatrix von 512 x 512 bei einem FoV von 180 x 180 mm akquiriert (TE = 2 ms, TR = 6 ms, Anregungswinkel = 25°, Mittelungen: 2). Die gute Ortsauflösung war notwendig, um den anatomisch kleinen Strukturen gerecht zu werden; die geringe Schichtdicke ermöglichte ein „Verfolgen“ von Muskeln, Sehnen und Gefäßen für die genaue Korrelation mit den histologischen Schnitten. Zusätzlich wurden weitere, teils fettgesättigte Sequenzen zu Übersichtszwecken akquiriert.

Bei der Positionierung wurde auf eine mittige Lage der Hinterpfoten entlang der z-Achse in Spule bzw. Magnetfeld geachtet. Es wurden jeweils zwei Ratten gleichzeitig in Rückenlage nebeneinander gelegt (Siehe Abbildung 2 und Abbildung 3).

Die MRT-Messung erfolgte zunächst nativ, d. h. vor der Injektion des Kontrastmittels; die weiteren zur Auswertung vorgesehenen Messungen erfolgten jeweils 5, 30, 60 und 120 Minuten nach der Kontrastmittelapplikation über die Schwanzvene.

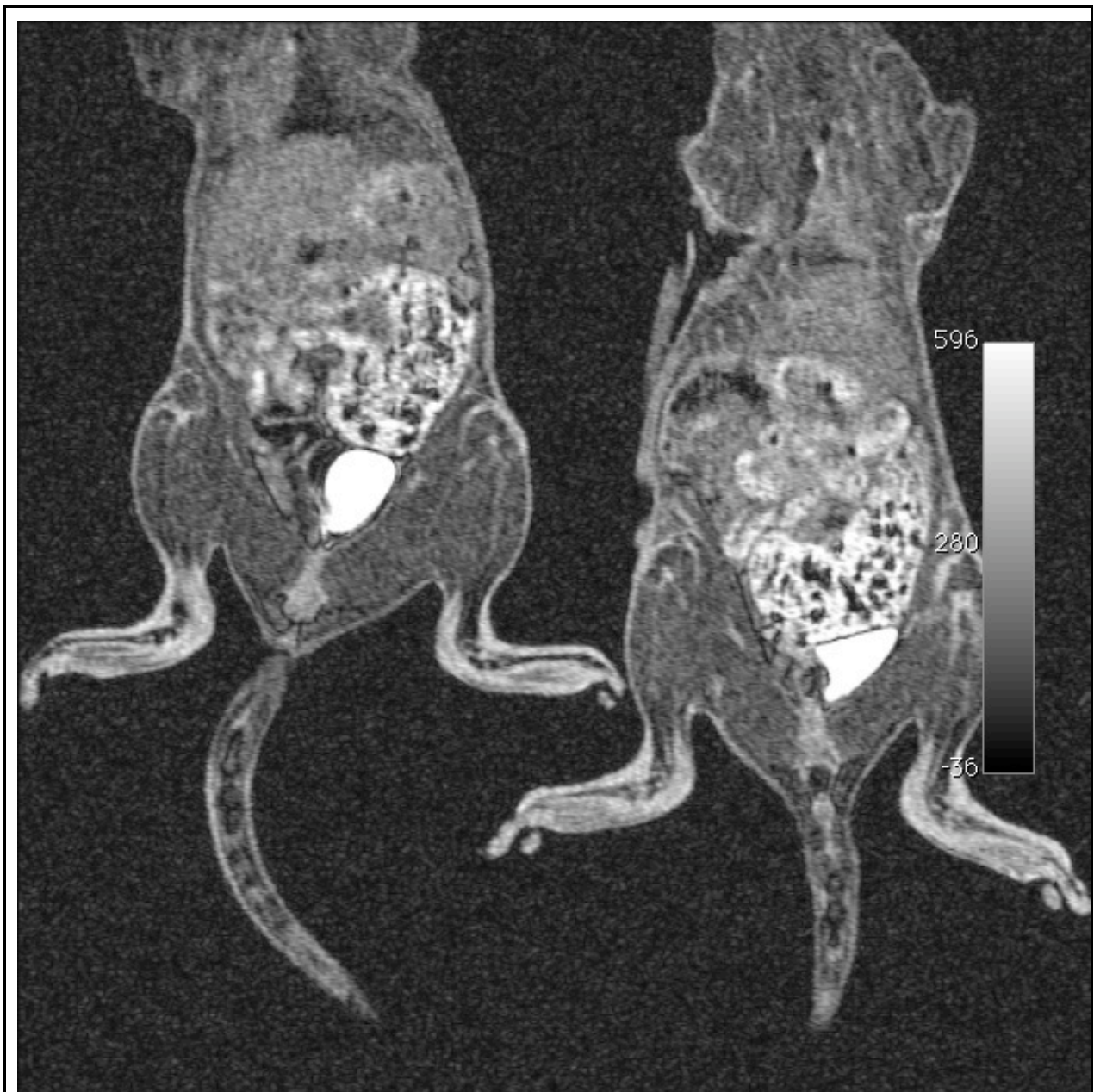


Abbildung 3: Durchführung der MRT-Sequenzen

4.4 Histologie

Nach Abschluss der MRT-Messungen wurden die noch narkotisierten Tiere durch Injektion von T61 (Intervet Deutschland GmbH, Unterschleißheim, Deutschland) getötet. Anschließend wurden die Hinterläufe abgetrennt und über sieben Tage in 4%-igem Formaldehyd fixiert. Die Entkalkung der Knochen erfolgte über 5 Wochen bei 60°C in einer EDTA-Entkalkerlösung (Herbeta Arzneimittel, Berlin, Deutschland) unter wöchentlichem Wechsel der Lösung. Im Anschluss wurden die Proben in einer

Histokinette (Processor 2 LE, Shandon Southern Products Ltd., Astmoore, England) entwässert und danach in Paraffinblöckchen eingebettet.

Schließlich wurden mit einem Rotationsmikrotom (RM 2125 RT, Leica Microsystems Nussloch GmbH, Deutschland) 4µm-Schnitte angefertigt und mit einer MOVAT-Färbung gefärbt. Die Färbung wurde bei der Firma „Habedank - Labor für immunhistochemische Dienstleistungen“ (Deutschland) als Dienstleistung in Auftrag gegeben.

4.5 Auswertung

4.5.1 Auswertung der MRT-Daten

Die Auswertung der Bilder erfolgte mit der 32-bit Version von OsiriX® 3.7.1 (OsiriX Foundation, Genf, Schweiz). In den Bildern wurden Signalintensitäten und das Rauschen bestimmt. Unter Berücksichtigung der anatomischen Auswertbarkeit wurden nach Korrelation mit den histologischen Schnitten drei Bereiche für die Auswertung ausgewählt: Die vordere Gelenkkapsel des OSG (1), der präachilläre Fettkörper (2) und die Plantarfaszie (3) (In Abbildung 4 mit den entsprechenden Ziffern markiert). Die Signalintensität in jeder der drei Regionen wurde mit der „Point“-Funktion bestimmt; hierbei wurde hoher Wert auf eine präzise Zuordnung der abgebildeten Strukturen gelegt, um beispielsweise Messfehler durch in diesem Bereich verlaufende Arterien zu vermeiden. Das Rauschen wurde mit der „Oval“-Funktion für jede Pfote einzeln bestimmt, um etwaigen Feldinhomogenitäten zu begegnen; die ROI für das Rauschen wurde jeweils im Hintergrund etwas kaudal der entsprechenden Pfote platziert. Die Werte wurden in einem Tabellenkalkulationsprogramm (Microsoft® Excel® 2008 für Mac, Microsoft Corporation, Redmond, USA) tabelliert und die SNR-Werte hiermit berechnet.

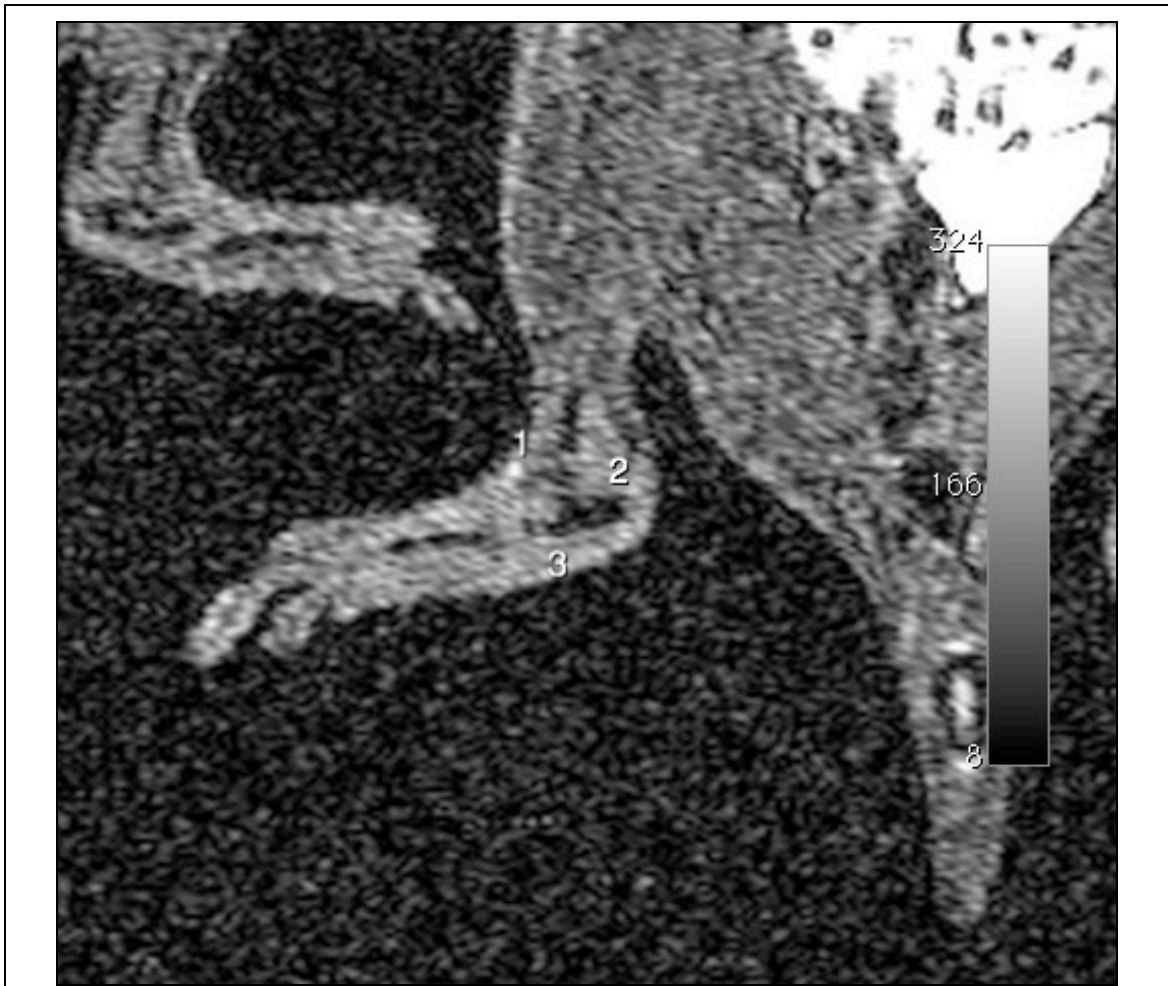


Abbildung 4: Ausgewertete Regionen in der MRT

Die Abbildung zeigt eine Ausschnittsvergrößerung einer rechten Hinterpfote in einer Schicht der verwendeten FLASH-3D-Sequenzen. Die Zahlen markieren die drei ausgewerteten Regionen: Die vordere Gelenkkapsel des OSG (1), den präachillären Fettkörper (2) und die Plantarfaszie (3).

4.5.2 Histologische Auswertung

Die histologischen Schnitte wurden lichtmikroskopisch untersucht. Den drei auch in der MRT ausgewerteten Regionen wurde ein semiquantitativer Score von 0 bis 3 in Bezug auf ihre Blaufärbung gegeben, wobei 0 keiner Blaufärbung und 3 einer hochgradigen Blaufärbungen entsprach. Siehe Abbildung 5 bis 8 für Beispiele sämtlicher Ausprägungsgrade. Im Folgenden wird hierfür der Begriff „Alcian-Score“ verwendet.

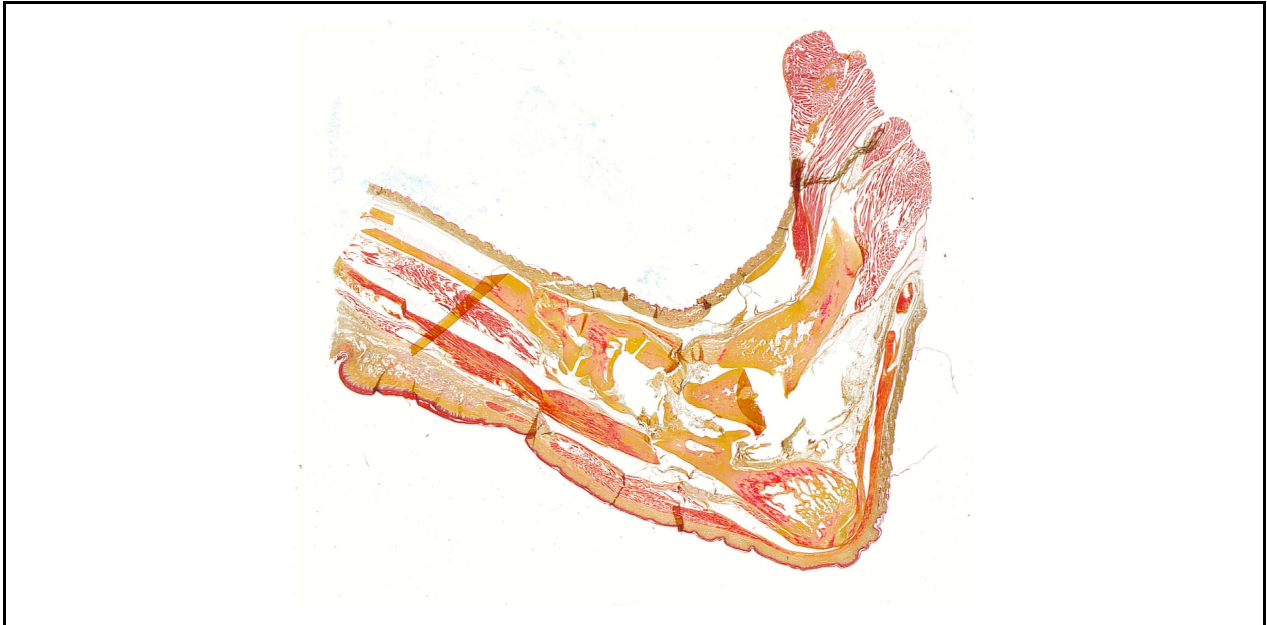


Abbildung 5: Beispiel eines Gelenkes ohne wesentliche Blaufärbung

Abgebildet ist das histologische Präparat K3 links, d.h. eines nicht exponierten Tieres aus der Kontrollgruppe. Es findet sich in keiner der drei Regionen eine wesentliche Blaufärbung.



Abbildung 6: Beispiel eines Gelenkes mit gering- bis mittelgradiger Blaufärbung

Abgebildet ist das histologische Präparat E4 rechts. In der Plantarfaszie und an der vorderen Gelenkkapsel des OSG findet sich eine geringgradige Anfärbung mit Alcian-Blau, im präachillären Fettkörper eine mittelgradige Blaufärbung.



Abbildung 7: Beispiel eines Gelenkes mit gering- bis mittelgradiger Blaufärbung

Abgebildet ist das histologische Präparat E11 rechts. In der Plantarfaszie und an der vorderen Gelenkkapsel des OSG findet sich eine mittelgradige Anfärbung mit Alcian-Blau, im präachillären Fettkörper eine geringgradige. Zu Beachten ist, dass wie erwähnt, die Blaufärbung und nicht der Schweregrad der Arthritis ausgewertet wurde.

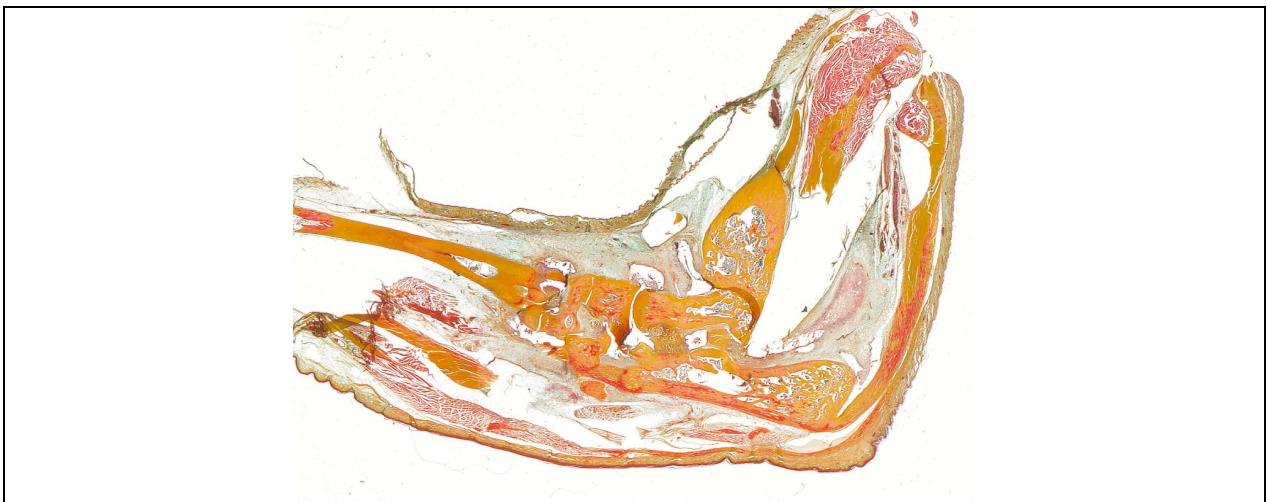


Abbildung 8: Beispiel eines Gelenkes mit hochgradiger Blaufärbung

Abgebildet ist das histologische Präparat E6 links. In allen drei ausgewerteten Regionen findet sich eine hochgradige Anfärbung mit Alcian-Blau, entsprechend einem Alcian-Score von 3.

4.5.3 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung erfolgte mit SPSS 17 für Windows (SPSS Inc., Chicago, USA). Korrelationskoeffizienten (Spearman's rho) wurden zwischen klinischen Scores und SNR sowie zwischen Alcian-Scores und SNR berechnet. Zusätzlich wurden entsprechende Boxplots angefertigt um neben dem rechnerischen Ergebnis auch visuell die Plausibilität des Errechneten einzuschätzen.

Die nach Alcian-Scores und klinischen Scores eingeteilten Untergruppen wurden jeweils für sämtliche Permutationen anhand des Mann-Whitney-U-Test untereinander

verglichen. Es wurden hierbei exakte Signifikanzen (2-seitig) berechnet. Hierbei wurden zum einen anhand des Signifikanzniveaus Unterschiede herausgearbeitet, zum anderen anhand der mittleren Ränge für jeden der Vergleiche ermittelt, welche der beiden Gruppen mit den höheren SNR assoziiert sind. Die höheren SNR bestehen – sofern das Ergebnis signifikant ist – in der Gruppe mit dem höheren mittleren Rang.

Als signifikant wurden p-Werte $<0,05$ oder sogar $<0,01$ angesehen; sie sind in den Tabellen mit Sternchen gekennzeichnet (* entspricht dem 0,05-Niveau, ** entspricht dem 0,01-Niveau).

5. Ergebnisse

5.1 Ergebnisübersicht

5.1.1 Allgemeine Bemerkungen

Arthritische Veränderungen zeigten sich klinisch in sämtlichen Gelenken, ausgenommen jener der beiden Kontrolltiere K1 und K3. Abweichungen in der Einschätzung der Klinik der beiden Pfoten eines Tieres ergaben sich nur bei den Tieren E3 und E10 wobei jeweils die rechte Pfote ein hochgradiges, die linke hingegen nur ein geringgradiges klinisches Bild zeigte (Siehe Tabelle 2: Klinischer Score der einzelnen Rattenpfoten).

Der Alcian-Score für die einzelnen Messregionen jedes Gelenkes zeigt sich variabler: Er reicht beispielsweise bei E2 links von 0 in der Plantarfaszie bis 3 vor dem OSG. Die Kontrolltiere zeigen wie erwartet einen Score von 0 in allen drei Regionen (Siehe Tabelle 4).

5.1.2 Tabellarische Übersicht der Messwerte

Der Vollständigkeit halber sind auch die Einzelwerte der Messungen sowie die zugeordneten Scores in tabellarischer Form angegeben. Zur besseren Übersicht sind die SNR auf zwei Nachkommastellen gerundet. Zu den Tabellen mit den Übersichten der Alcian-Scores und der klinischen Scores ist jeweils noch eine Übersicht der Anzahl der entsprechenden Messwerte (n) angehängt; im Sinne der Übersichtlichkeit werden diese bei der statistischen Auswertung nicht erneut angegeben. Für die Ergebnisbeschreibung siehe 5.2.

5.1.2 a) Klinischer Score

In diesem Abschnitt sind die Einzelwerte, sowie ihre Anzahl, nach klinischer Einschätzung des Entzündungsgrades angegeben (Siehe 4.2.3).

Tier	Pfote	Klinischer Score	Tier	Pfote	Klinischer Score
K1	links	0	E5	rechts	3
K1	rechts	0	E6	links	3
K3	links	0	E6	rechts	3
K3	rechts	0	E7	links	2
E1	links	1	E7	rechts	2
E1	rechts	1	E8	links	2
E2	links	2	E8	rechts	2
E2	rechts	2	E9	links	2
E3	links	1	E9	rechts	1
E3	rechts	3	E10	links	1
E4	links	1	E10	rechts	3
E4	rechts	1	E11	links	2
E5	links	3	E11	rechts	2

Tabelle 2: Klinischer Score der einzelnen Rattenpfoten
Die angegebenen klinischen Scores beruhen auf der klinischen Untersuchung der Hinterpfoten (Siehe 4.2.3). „Tier“ bezeichnet das Versuchstier (Siehe 4.1.2). „Pfote“ kennzeichnet ob es sich um die linke oder die rechte Hinterpfote handelt.

Klinischer Schweregrad	Anzahl (n)
Klinisch unauffällig (Score 0)	4
Geringgradige Arthritis (Score 1)	7
Mittelgradige Arthritis (Score 2)	9
Hochgradige Arthritis (Score 3)	6

Tabelle 3: Anzahl (n) der Gelenke mit den jeweiligen klinischen Schweregraden
Hier ist die jeweilige Anzahl (n) von Pfoten mit dem entsprechenden klinischen Schweregrad angegeben (Siehe 4.2.3).

5.1.2 b) Histologie (Alcian-Scores)

In diesen Tabellen sind die Alcian-Scores, d.h. der Grad der Blaufärbung im histologischen Präparat nach Alcian-Färbung, für alle drei ausgewerteten Regionen sämtlicher Versuchstiere sowie beider Pfotenseiten angegeben (Siehe 4.5.2). Zudem ist die Anzahl der Pfoten mit den jeweiligen Scores für alle drei anatomisch untersuchten Regionen tabelliert.

Tier	Pfote	Plantarfaszie	Vor OSG	Präachillär
K1	links	0	0	0
K1	rechts	0	0	0
K3	links	0	0	0
K3	rechts	0	0	0
E1	links	0	2	0
E1	rechts	1	2	2
E2	links	0	3	1
E2	rechts	1	3	1
E3	links	2	3	3
E3	rechts	2	3	3
E4	links	1	3	1
E4	rechts	1	1	2
E5	links	1	2	2
E5	rechts	2	3	3
E6	links	3	3	3
E6	rechts	3	3	3
E7	links	2	2	2
E7	rechts	2	2	2
E8	links	2	1	1
E8	rechts	1	3	3
E9	links	2	3	3
E9	rechts	1	3	1
E10	links	0	2	1
E10	rechts	0	2	3
E11	links	1	3	3
E11	rechts	2	2	1

Tabelle 4: Alcian-Score (Movat-Färbung) der einzelnen Regionen

Dargestellt sind die Alcian-Scores, d.h. der Grad der Blaufärbung in der Movatfärbung sämtlicher ausgewerteter Regionen (Siehe 4.5.2). „Tier“ bezeichnet das Versuchstier (Siehe 4.1.2). „Pfote“ kennzeichnet ob es sich um die linke oder die rechte Hinterpfote handelt. „Plantar“ bezeichnet die Scores in der Plantarfaszie. „Vor OSG“ bezeichnet die Scores der vorderen Gelenkkapsel des OSG. „Präachillär“ bezeichnet die Scores des präachillären Fettkörpers.

Alcian-Score	Plantar (n)	Vor OSG (n)	Präachillär (n)
0	8	4	5
1	8	2	7
2	8	8	5
3	2	12	9

Tabelle 5: Anzahl (n) der einzelnen Alcian-Scores jeder Region

Tabelliert ist die Anzahl (n) der jeweiligen Alcian-Scores, also dem Grad der Blaufärbung in der histologischen Auswertung. „Plantar“ bezeichnet die Scores in der Plantarfaszie. „Vor OSG“ bezeichnet die Scores der vorderen Gelenkkapsel des OSG. „Präachillär“ bezeichnet die Scores des präachillären Fettkörpers.

5.1.2 c) MRT-Signal im zeitlichen Verlauf

In den drei folgenden Tabellen sind die einzelnen SNR der MRT-Messungen für sämtliche Versuchstiere und Pfoten über die Messdauer angegeben.

Tier	Pfote	nativ	5 min	30 min	60 min	120 min
K1	links	2,10	4,87	3,08	2,54	2,19
K1	rechts	2,00	4,83	4,92	3,10	2,45
K3	links	2,02	5,44	4,21	2,56	1,84
K3	rechts	1,56	4,17	4,49	2,07	2,21
E1	links	1,49	10,54	9,78	3,97	2,18
E1	rechts	1,55	7,24	6,72	3,41	2,15
E2	links	1,72	6,18	3,57	1,98	1,44
E2	rechts	1,07	7,34	5,29	2,55	2,38
E3	links	0,94	11,87	5,75	3,46	3,26
E3	rechts	2,11	10,23	5,88	4,08	3,02
E4	links	1,07	11,29	5,04	2,50	1,30
E4	rechts	2,40	7,77	4,63	2,38	1,92
E5	links	1,22	11,19	5,58	2,71	1,82
E5	rechts	1,22	9,91	3,69	2,80	2,36
E6	links	1,59	9,50	5,77	2,87	3,30
E6	rechts	1,90	8,48	6,05	5,81	3,16
E7	links	2,11	11,17	6,40	3,69	3,16
E7	rechts	1,00	9,36	5,25	3,40	3,24
E8	links	2,20	9,37	4,87	5,28	4,35
E8	rechts	1,75	4,96	4,82	2,66	2,80
E9	links	1,52	11,40	6,24	3,44	2,55
E9	rechts	1,68	10,05	7,62	3,13	1,41
E10	links	1,67	7,69	3,48	2,98	2,07
E10	rechts	1,60	8,89	6,23	2,03	1,16
E11	links	2,11	11,31	6,98	4,94	2,14
E11	rechts	1,23	13,90	5,11	3,92	2,65

Tabelle 6: SNR in der Plantarregion im zeitlichen Verlauf

Dargestellt sind die in der Plantarfaszie bestimmten SNR für sämtliche Versuchstiere und Pfotenseiten. „Tier“ bezeichnet das Versuchstier (Siehe 4.1.2). „Pfote“ kennzeichnet ob es sich um die linke oder die rechte Hinterpfote handelt. „nativ“ ist die Messung vor Kontrastmittelapplikation. Die Zeitangaben beziehen sich auf den Messzeitpunkt nach Kontrastmittelapplikation.

Tier	Pfote	nativ	5 min	30 min	60 min	120 min
K1	links	1,69	3,24	3,29	1,63	2,06
K1	rechts	1,85	4,12	3,75	2,56	1,82
K3	links	1,31	4,33	3,50	2,37	1,35
K3	rechts	1,26	3,40	3,12	2,26	1,33
E1	links	2,38	5,24	8,03	4,89	2,61
E1	rechts	1,38	8,67	7,10	4,59	3,15
E2	links	1,44	10,05	6,14	4,95	3,93
E2	rechts	1,50	7,43	4,53	3,00	4,07
E3	links	1,94	10,97	4,75	5,57	4,05
E3	rechts	1,61	10,67	5,51	4,67	3,42
E4	links	1,73	12,14	5,60	4,96	3,47
E4	rechts	1,61	8,62	4,11	2,32	1,06
E5	links	1,89	7,81	3,49	2,88	2,33
E5	rechts	1,14	11,36	4,00	3,11	2,93
E6	links	1,64	8,87	5,56	3,38	3,52
E6	rechts	1,39	13,07	5,03	2,93	3,05
E7	links	1,82	8,39	4,34	4,10	3,14
E7	rechts	1,72	9,52	4,84	2,85	2,47
E8	links	1,98	8,98	4,16	3,15	2,90
E8	rechts	1,68	11,40	7,09	3,70	3,53
E9	links	1,81	9,69	5,70	5,04	4,60
E9	rechts	0,96	9,63	7,00	3,38	3,41
E10	links	2,20	10,37	5,65	4,02	2,65
E10	rechts	1,50	11,07	6,48	2,48	2,40
E11	links	1,21	9,16	4,34	3,20	3,27
E11	rechts	1,46	20,13	8,09	4,15	3,00

Tabelle 7: SNR in der vorderen Gelenkkapsel des OSG im zeitlichen Verlauf

Dargestellt sind die in der vorderen Gelenkkapsel des OSG bestimmten SNR für sämtliche Versuchstiere und Pfotenseiten. „Tier“ bezeichnet das Versuchstier (Siehe 4.1.2). „Pfote“ kennzeichnet ob es sich um die linke oder die rechte Hinterpfote handelt. „nativ“ ist die Messung vor Kontrastmittelapplikation. Die Zeitangaben beziehen sich auf den Messzeitpunkt nach Kontrastmittelapplikation.

Tier	Pfote	nativ	5 min	30 min	60 min	120 min
K1	links	1,45	1,35	1,58	1,18	1,33
K1	rechts	2,10	4,12	1,81	1,21	1,45
K3	links	1,53	4,54	1,33	0,44	1,05
K3	rechts	1,74	1,57	2,33	1,16	1,31
E1	links	1,43	2,68	1,64	1,81	1,50
E1	rechts	1,55	7,16	7,67	4,49	1,80
E2	links	1,28	6,26	4,88	3,15	2,19
E2	rechts	1,29	7,70	4,49	2,84	2,00
E3	links	2,69	9,49	9,87	5,09	3,08
E3	rechts	3,24	11,02	5,93	6,06	3,23
E4	links	0,93	12,45	4,58	3,17	1,37
E4	rechts	1,88	8,49	4,90	3,86	1,94
E5	links	1,67	7,14	4,74	3,45	1,57
E5	rechts	1,20	11,10	3,98	3,02	2,66
E6	links	2,27	10,67	4,92	4,94	3,14
E6	rechts	1,64	12,45	6,82	3,95	1,96
E7	links	1,77	11,30	4,15	3,79	2,63
E7	rechts	2,00	12,75	6,14	3,47	2,89
E8	links	2,15	9,61	6,60	3,48	2,50
E8	rechts	0,89	10,62	6,10	4,06	2,93
E9	links	2,50	12,88	8,28	5,70	3,83
E9	rechts	1,04	12,16	6,74	3,60	1,71
E10	links	1,29	5,33	3,15	2,02	1,49
E10	rechts	1,91	12,44	5,34	5,08	3,07
E11	links	2,21	14,49	9,02	3,72	4,14
E11	rechts	1,87	10,63	4,65	2,00	2,20

Tabelle 8: SNR im präachillären Fettkörper im zeitlichen Verlauf

Dargestellt sind die im präachillären Fettkörper bestimmten SNR für sämtliche Versuchstiere und Pfortenseiten. „Tier“ bezeichnet das Versuchstier (Siehe 4.1.2). „Pfote“ kennzeichnet ob es sich um die linke oder die rechte Hinterpfote handelt. „nativ“ ist die Messung vor Kontrastmittelapplikation. Die Zeitangaben beziehen sich auf den Messzeitpunkt nach Kontrastmittelapplikation.

5.2 Beschreibung der Ergebnisse

5.2.1 Verlauf der SNR der einzelnen klinischen Gruppen

In 5.2.1 a) bis c) werden die Ergebnisse zu den SNR-Verläufen in der Plantarfaszie, der vorderen Gelenkkapsel des OSG und dem präachillären Fettkörper, bei Einteilung nach dem klinisch ermittelten Schweregrad der Arthritis, anhand von Boxplots graphisch dargestellt. Zudem sind in den Tabellen die zugehörigen Korrelationskoeffizienten (Spearman's rho) angegeben.

5.2.1 a) Verlauf SNR in der Plantarfaszie (klinische Einteilung)

In den Boxplots sind die in der Plantarfaszie bestimmten SNR zu den verschiedenen Messzeitpunkten, bei Einteilung nach dem klinischen Schweregrad aufgetragen. Die Gruppeneinteilung entspricht dem klinisch ermittelten Schweregrad, d.h. den klinischen Scores von 0 bis 3. Die Korrelationskoeffizienten (Spearman's rho) für sämtliche Messzeitpunkte sind tabellarisch angegeben.

Die SNR der Plantarfaszie zeigen vor allem in der frühen post-KM Messung ein deutliches Enhancement in allen drei klinisch betroffenen Gruppen (also Score 1 bis 3), welches das der Kontrollgruppe übersteigt. Es lässt sich eine Tendenz zu stärkerem Enhancement in den klinisch stärker betroffenen Gruppen erahnen. Ferner imponieren die Werte deutlich gestreut, wodurch sich die Mittelwerte der einzelnen Gruppen schlecht differenzieren lassen. Die Auftragungen der einzelnen Gruppen überschneiden sich; in der Spätphase übersteigt der Mittelwert der klinisch unauffälligen Pfoten sogar den der klinisch gering betroffenen (s. Abbildung 9). Der klinische Schweregrad korreliert nur in der Frühphase signifikant mit der MRT-Messung ($p < 0,05$; s. Tabelle 9).

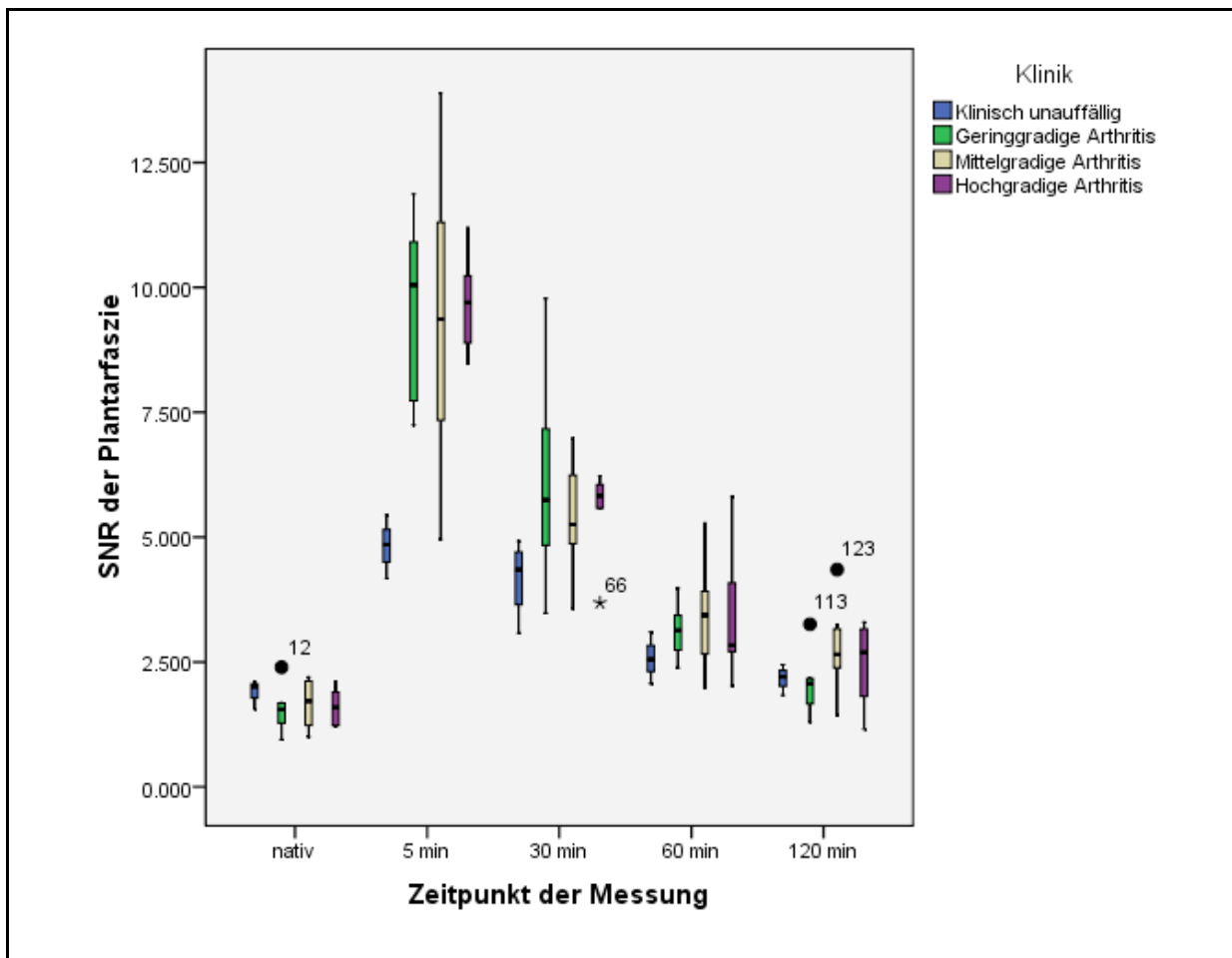


Abbildung 9: Verlauf des SNR in der Plantarfaszie für die einzelnen klinischen Gruppen

Für sämtliche Messzeitpunkte werden die in der Plantarfaszie bestimmten SNR aufgetragen. Für jeden Messzeitpunkt steht ein Balken jeweils für eine der vier nach klinischem Score eingeteilten Gruppen von klinisch unauffällig (Score = 0) bis zu hochgradiger Arthritis (Score = 3). Siehe 4.2.3

	Korrelationskoeffizient	Signifikanz (zweiseitig)
Nativ	-0,096	0,641
5 min	0,394*	0,046
30 min	0,283	0,161
60 min	0,234	0,250
120 min	0,262	0,197

Tabelle 9: Korrelation des klinischen Scores mit dem SNR der Plantarfaszie im Zeitverlauf

Für sämtliche Messzeitpunkte sind der Korrelationskoeffizient (Spearman's rho) und die zweiseitige Signifikanz für die Untersuchung in der Plantarfaszie angegeben. Mit * sind signifikante Werte markiert ($p < 0,05$).

5.2.1 b) Verlauf des SNR im OSG (klinische Einteilung)

In Abbildung 10: Verlauf des SNR an der vorderen Gelenkkapsel des OSG für die einzelnen klinischen Gruppen werden die in der vorderen Gelenkkapsel des OSG

bestimmten SNR zu den verschiedenen Messzeitpunkten, bei Einteilung nach dem klinischen Schweregrad, als Boxplots aufgetragen. Die einzelnen Gruppen entsprechen dem klinisch ermittelten Schweregrad, entsprechend den klinischen Scores von 0 bis 3. Zudem werden die Korrelationskoeffizienten (Spearman's rho) für sämtliche Messzeitpunkte tabellarisch dargestellt.

An der vorderen Gelenkkapsel des OSG gelingt die visuelle Differenzierung der Kontrollgruppe von den CIA-betroffenen Rattengelenken vor allem in den späten Messungen deutlicher. Allerdings bleibt die Unterscheidung der einzelnen klinisch betroffenen Gruppen untereinander schwierig (Siehe Abbildung 10). Wiederum korreliert nur die Frühphase signifikant mit dem klinischen Schweregrad ($p < 0,01$; siehe Tabelle 10).

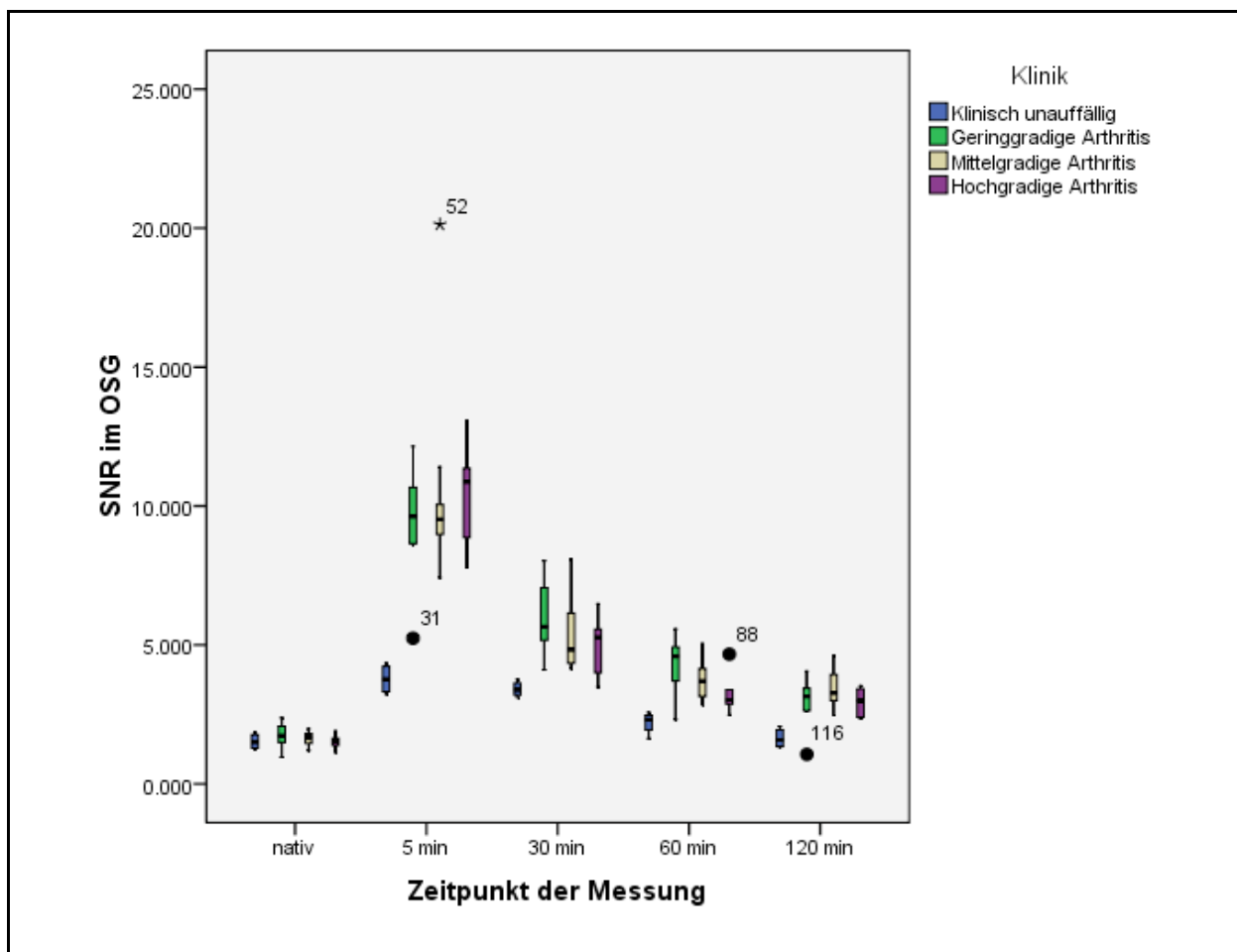


Abbildung 10: Verlauf des SNR an der vorderen Gelenkkapsel des OSG für die einzelnen klinischen Gruppen

Für sämtliche Messzeitpunkte werden die an der vorderen Gelenkkapsel des OSG bestimmten SNR aufgetragen. Für jeden Messzeitpunkt steht ein Balken jeweils für eine der vier nach klinischem Score eingeteilten Gruppen von klinisch unauffällig (Score = 0) bis zu hochgradiger Arthritis (Score = 3). Siehe 4.2.3

	Korrelationskoeffizient	Signifikanz (zweiseitig)
Nativ	-0,089	0,664
5 min	0,513**	0,007
30 min	0,198	0,333
60 min	0,150	0,463
120 min	0,353	0,077

Tabelle 10: Korrelation des klinischen Scores mit dem SNR im vorderen OSG im Zeitverlauf

Für sämtliche Messzeitpunkte sind der Korrelationskoeffizient (Spearman's rho) und die zweiseitige Signifikanz für die Untersuchung an der vorderen Gelenkkapsel des OSG angegeben. Mit ** sind hoch signifikante Werte markiert ($p < 0,01$).

5.2.1 c) Verlauf des SNR präachillär (klinische Einteilung)

Die Boxplots dieses Abschnittes veranschaulichen den zeitlichen Verlauf der für den präachillären Fettkörper berechneten SNR bei Gruppeneinteilung anhand des klinisch ermittelten Schweregrades (Score 0 bis 3). Tabellarisch sind zusätzlich die Korrelationskoeffizienten (Spearman's rho) für sämtliche Messzeitpunkte dargestellt.

Die SNR des präachillären Fettkörpers streuen vor allem für die klinisch weniger stark betroffenen Tiere in den frühen Kontrastmittelphasen. In der Spätphase (120 min) zeigt sich visuell ein Unterschied zwischen den Gruppen der höheren Scores 2 und 3 von den klinisch unauffälligen bzw. geringgradig betroffenen Gelenken; die Boxplots der klinisch befallenen Gruppen überschneiden sich jedoch (Siehe Abbildung 11). Im Gegensatz zu den beiden anderen Regionen korrelieren auch die späteren Kontrastmittelphasen signifikant mit dem klinischen Schweregrad.

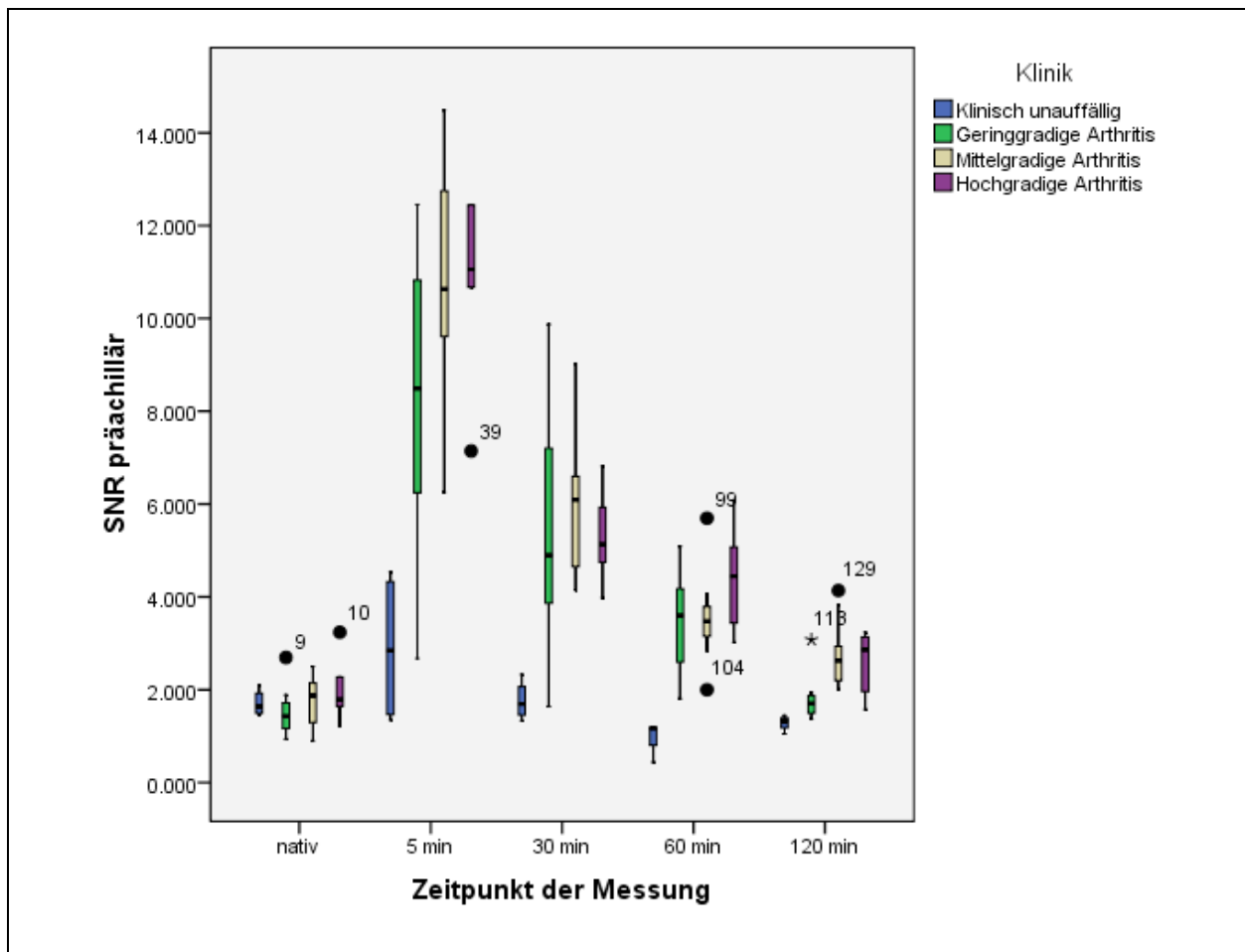


Abbildung 11: Verlauf des SNR im präachillären Fettkörper für die einzelnen klinischen Gruppen

Für sämtliche Messzeitpunkte werden die im präachillären Fettkörper bestimmten SNR aufgetragen. Für jeden Messzeitpunkt steht ein Balken jeweils für eine der vier nach klinischem Score eingeteilten Gruppen von klinisch unauffällig (Score = 0) bis zu hochgradiger Arthritis (Score = 3). Siehe 4.2.3

	Korrelationskoeffizient	Signifikanz (zweiseitig)
Nativ	0,218	0,286
5 min	0,581**	0,002
30 min	0,398*	0,044
60 min	0,545**	0,004
120 min	0,691**	0,000

Tabelle 11: Korrelation des klinischen Scores mit dem SNR im präachillären Fettkörper im Zeitverlauf

Für sämtliche Messzeitpunkte sind der Korrelationskoeffizient (Spearman's rho) und die zweiseitige Signifikanz für die Untersuchung im präachillären Fettkörper angegeben. Mit * sind signifikante Werte markiert ($p < 0,05$). Mit ** sind hoch signifikante Werte markiert ($p < 0,01$).

5.2.2 Verlauf der SNR der einzelnen Gruppen bei Einteilung nach dem Alcian-Score

In 5.2.2 a) bis c) sind die SNR-Verläufe in der Plantarfaszie, der vorderen Gelenkkapsel des OSG und dem präachillären Fettkörper bei Einteilung nach dem Alcian-Score, also dem Maß der Blaufärbung in den histologischen Präparaten, in Boxplots visualisiert. Die zugehörigen Korrelationskoeffizienten (Spearman's rho) sind tabellarisch angegeben.

5.2.2 a) Verlauf des SNR in der Plantarfaszie (Einteilung nach Alcian-Score)

Der Verlauf des SNR in der Plantarfaszie zu den verschiedenen Messzeitpunkten bei Gruppeneinteilung nach der Blaufärbung in den histologischen Präparaten ist in Form von Boxplots dargestellt. Die einzelnen Gruppen entsprechen dem Alcian-Score in der Movat-Färbung (d. h. von 0=keine Blaufärbung bis 3=hochgradige Ausprägung der Blaufärbung). Zudem werden die Korrelationskoeffizienten (Spearman's rho) für sämtliche Messzeitpunkte tabellarisch dargestellt.

Die Unterscheidung der einzelnen Gruppen ist visuell eindrücklicher als bei der Einteilung nach der Klinik, insbesondere was die Abgrenzbarkeit der hochgradigen Blaufärbung in der Movat-Färbung angeht. Eine signifikante Korrelation findet sich entsprechend neben der Frühphase auch in den Messungen nach 1 bzw. 2 Stunden wobei die Korrelation mit zunehmender Dauer nach Kontrastmittelapplikation steigt (Siehe Abbildung 12 und Tabelle 12).

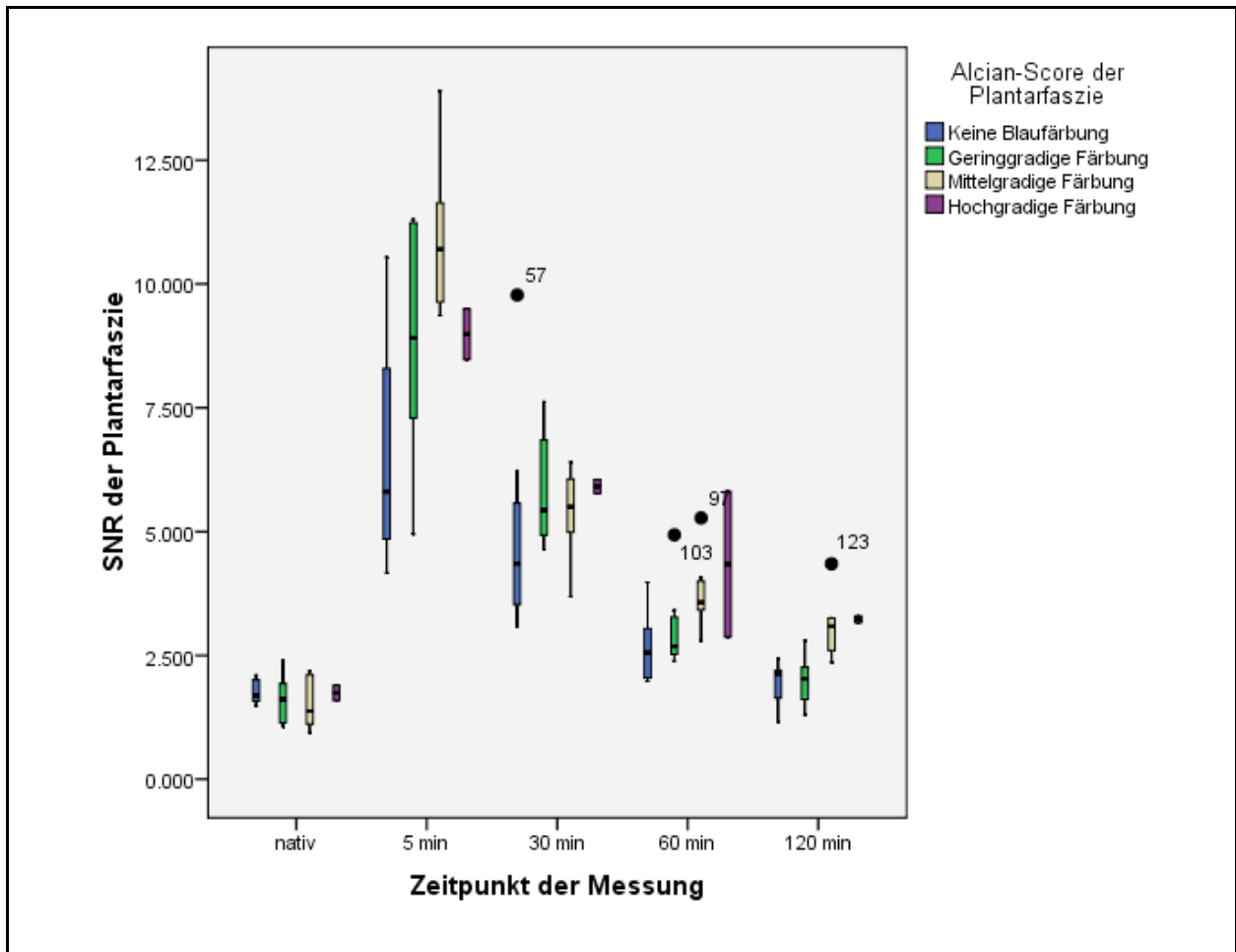


Abbildung 12: Verlauf des SNR in der Plantarfaszie bei Gruppeneinteilung nach Alcian-Score

Für sämtliche Messzeitpunkte werden die in der Plantarfaszie bestimmten SNR aufgetragen. Für jeden Messzeitpunkt steht ein Balken jeweils für eine der vier nach Alcian-Score eingeteilten Gruppen von keine Blaufärbung (Score = 0) bis zu hochgradiger Blaufärbung (Score = 3). Siehe 4.5.2

	Korrelationskoeffizient	Signifikanz (zweiseitig)
Nativ	-0,124	0,547
5 min	0,557**	0,003
30 min	0,324	0,106
60 min	0,583**	0,002
120 min	0,709**	0,000

Tabelle 12: Korrelation des Alcian-Scores in der Plantarfaszie mit den entsprechenden SNR

Für sämtliche Messzeitpunkte sind der Korrelationskoeffizient (Spearman's rho) und die zweiseitige Signifikanz für die Untersuchung in der Plantarfaszie angegeben. Mit ** sind hoch signifikante Werte markiert ($p < 0,01$).

5.2.2 b) Verlauf des SNR im OSG (Einteilung nach Alcian-Score)

In diesen Boxplots wird der Zeitverlauf der in der vorderen Gelenkkapsel des OSG bestimmten SNR aufgetragen. Die Einteilung der Gruppen erfolgt nach der Blaufärbung in den histologischen Präparaten, d. h. von 0=keine Blaufärbung bis 3=hochgradige Ausprägung der Blaufärbung. In der Tabelle sind die Korrelationskoeffizienten (Spearman's rho) für sämtliche Messzeitpunkte angegeben.

An der vorderen Gelenkkapsel des OSG korreliert ein höherer Alcian-Score in sämtlichen Kontrastmittelphasen mit einem höheren SNR. Am deutlichsten ist dieses Phänomen wiederum in der Spätphase nach 120 Minuten feststellbar (Siehe Abbildung 13 und Tabelle 13).

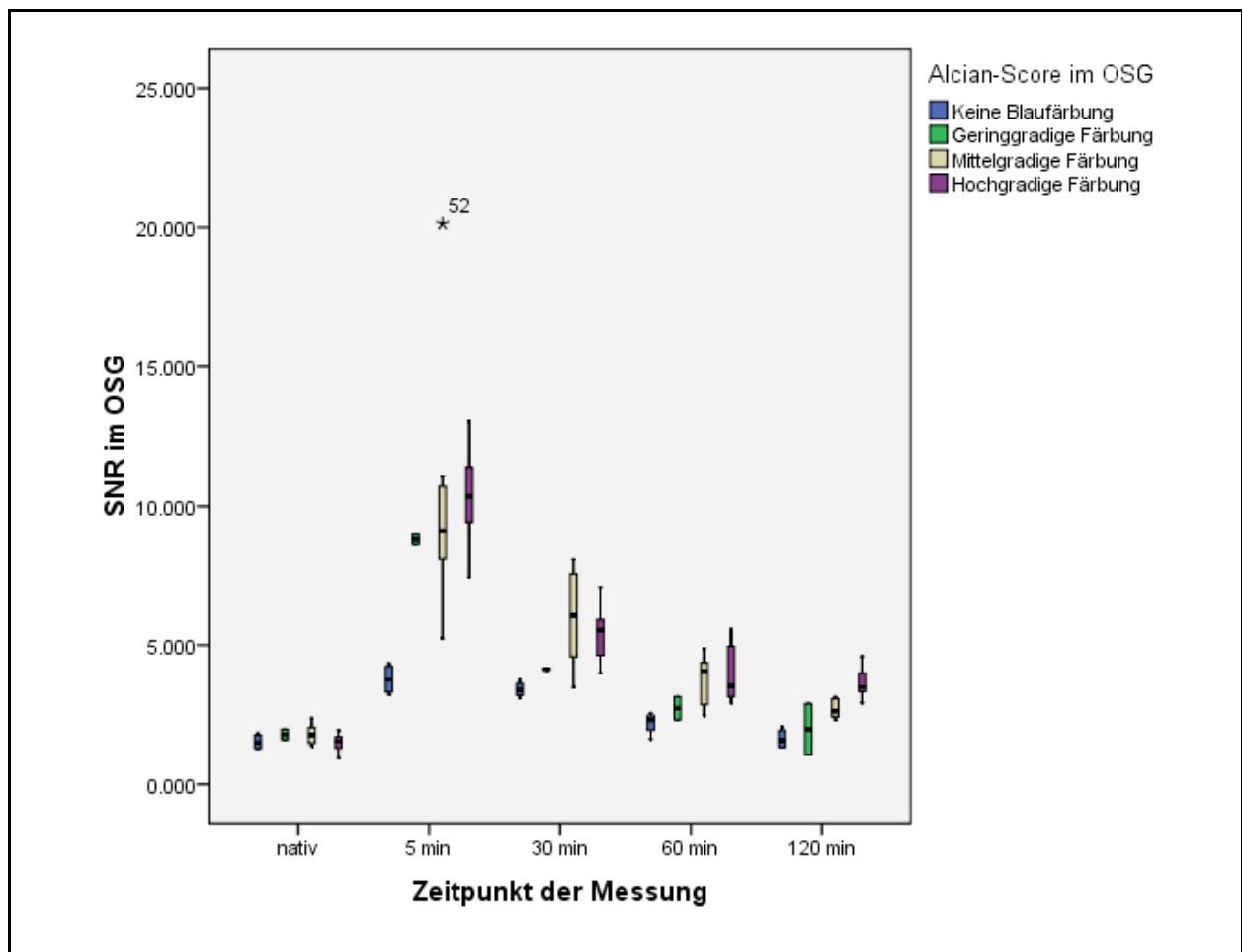


Abbildung 13: Verlauf des SNR im OSG bei Gruppeneinteilung nach Alcian-Score

Für sämtliche Messzeitpunkte werden die in der vorderen Gelenkkapsel des OSG bestimmten SNR aufgetragen. Für jeden Messzeitpunkt steht ein Balken jeweils für eine der vier nach Alcian-Score eingeteilten Gruppen von keine Blaufärbung (Score = 0) bis zu hochgradiger Blaufärbung (Score = 3). Siehe 4.5.2

	Korrelationskoeffizient	Signifikanz (zweiseitig)
Nativ	-0,201	0,326
5 min	0,639**	0,000
30 min	0,459*	0,018
60 min	0,614**	0,001
120 min	0,869**	0,000

Tabelle 13: Korrelation des Alcian-Scores des OSG mit den entsprechenden SNR

Für sämtliche Messzeitpunkte sind der Korrelationskoeffizient (Spearman's rho) und die zweiseitige Signifikanz für die Untersuchung in der vorderen Gelenkkapsel des OSG angegeben. Mit * sind signifikante Werte markiert ($p < 0,01$). Mit ** sind hoch signifikante Werte markiert ($p < 0,01$).

5.2.2 c) Verlauf des SNR präachillär (Einteilung nach Alcian-Score)

Nachfolgend sind die im präachillären Fettkörper bestimmten SNR im zeitlichen Verlauf, bei Einteilung der Gruppen anhand des Alcian-Scores, also nach der Blaufärbung in den histologischen Präparaten, als Boxplots aufgetragen. Die Korrelationskoeffizienten (Spearman's rho) werden tabellarisch dargestellt.

Die SNR im präachillären Fettkörper zeigen in sämtlichen Kontrastmittelphasen eine hoch signifikante Korrelation mit dem Alcian-Score. Diese ist wiederum in den späten Phasen nach 60 und 120 Minuten ausgeprägter (Siehe Abbildung 14 und Tabelle 14). Auffallend ist, dass die Korrelationskoeffizienten des präachillären Fettkörpers und des OSG höher ausfallen und deutlicher signifikant sind, als jene der Plantarfaszie (Siehe Tabelle 12, Tabelle 13 und Tabelle 14).

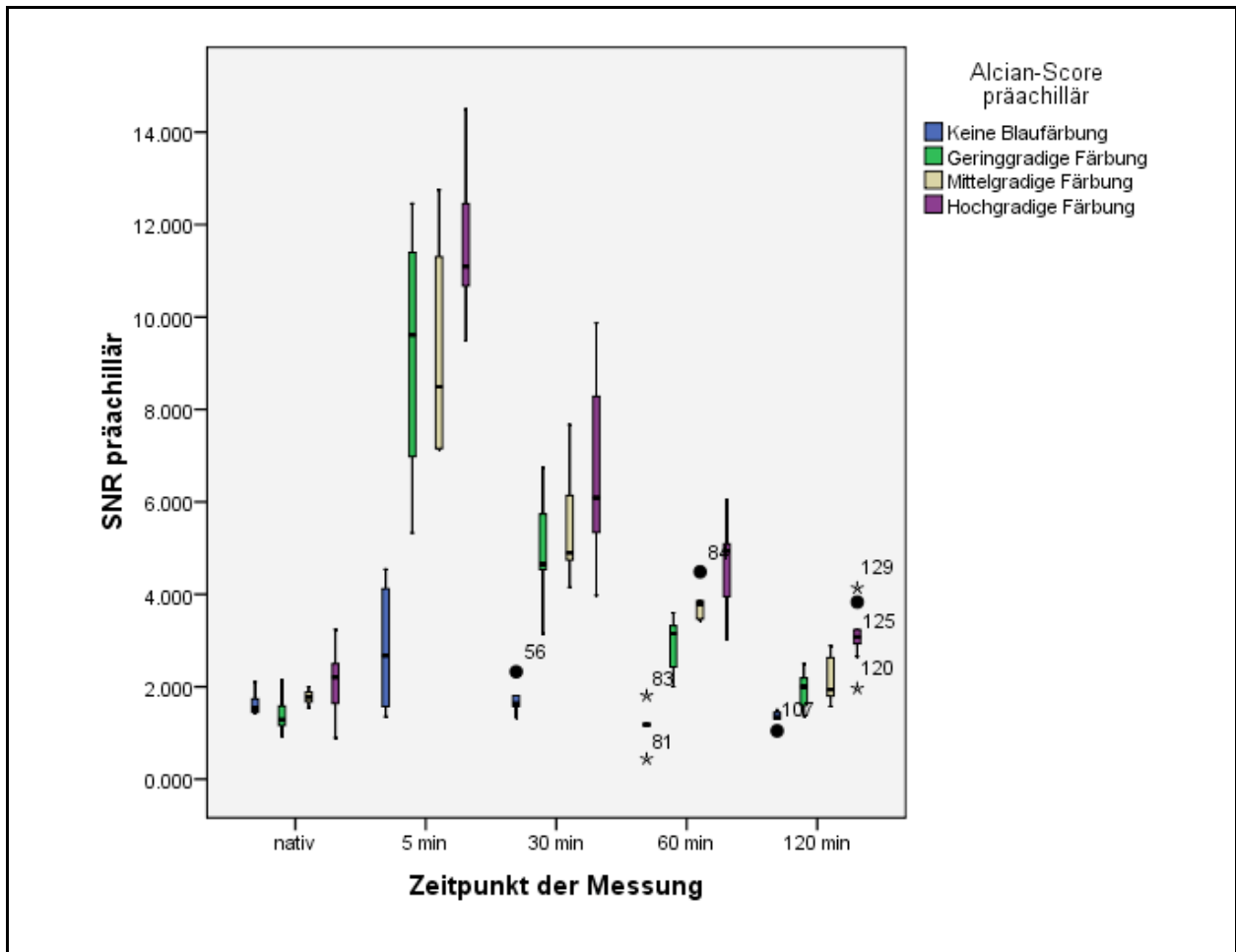


Abbildung 14: Verlauf des SNR präachillär bei Gruppeneinteilung nach Alcian-Score

Für sämtliche Messzeitpunkte werden die im präachillären Fettkörper bestimmten SNR aufgetragen. Für jeden Messzeitpunkt steht ein Balken jeweils für eine der vier nach Alcian-Score eingeteilten Gruppen von keine Blaufärbung (Score = 0) bis zu hochgradiger Blaufärbung (Score = 3). Siehe 4.5.2

	Korrelationskoeffizient	Signifikanz (zweiseitig)
Nativ	0,369	0,064
5 min	0,701**	0,000
30 min	0,708**	0,000
60 min	0,859**	0,000
120 min	0,842**	0,000

Tabelle 14: Korrelation des Alcian-Scores im präachillären Fettkörper mit den entsprechenden SNR

Für sämtliche Messzeitpunkte sind der Korrelationskoeffizient (Spearman's rho) und die zweiseitige Signifikanz für die Untersuchung im präachillären Fettkörper angegeben. Mit ** sind hoch signifikante Werte markiert ($p < 0,01$).

5.2.3 Vergleich der SNR der einzelnen klinischen Gruppen

In den Tabellen 15 bis 17 werden die einzelnen klinischen Gruppen mit einander verglichen. Die Einteilung erfolgt auf Basis des vergebenen klinischen Scores. Für sämtliche Permutationen wurde der Mann-Whitney-U-Test verwendet.

In der Plantarfaszie unterscheiden sich lediglich in der Frühphase nach 5 Minuten klinisch befallene von unauffälligen Gelenken bezüglich der SNR signifikant, wobei höhere mittlere Ränge in diesen Messungen mit einer ausgeprägteren Klinik korrespondieren; eine Differenzierung der Schweregrade gelingt hier jedoch nicht (Vgl. Tabelle 15).

An der vorderen Gelenkkapsel des OSG, sowie im präachillären Fettkörper gelingt wiederum die Unterscheidung von befallenen und nicht befallenen Gelenken anhand des SNR, wobei hier diese Unterscheidung in sämtlichen Kontrastmittelphasen möglich ist (mit Ausnahme der 120 min Phase im OSG beim Vergleich klinischer Score 0 vs. 1); auch in diesen Regionen entsprechen höhere mittlere Ränge einem klinisch ausgeprägterem Bild (Vgl. Tabelle 16 und Tabelle 17).

Ein signifikanter Unterschied bezüglich des SNR zwischen klinisch verschieden ausgeprägt befallenen Gelenken zeigt sich lediglich im präachillären Fettkörper in der Spätphase nach 120 min bei dem Vergleich zwischen geringgradiger und mittelgradiger Klinik, mit einem höheren mittleren Rang der mittelgradigen Klinik (Siehe Tabelle 17).

Die mittleren Ränge klinisch stärker befallener Gelenke sind durchaus nicht immer höher, als die der im Vergleich geringer betroffenen Gelenke: beim Vergleich von mittelgradiger und hochgradiger Klinik haben in allen drei Gelenkregionen beispielsweise die mittelgradig betroffenen Gelenke einen höheren mittleren Rang. Keiner dieser Vergleiche zeigt jedoch eine Signifikanz (Siehe Tabelle 15, Tabelle 16 und Tabelle 17).

In den nativen Phasen zeigen sich in keiner der untersuchten Regionen signifikante Unterschiede.

	Nativ	5 min	30 min	60 min	120 min
Klinischer Score 0 vs. 1					
Mittlerer Rang (0)	8,000	2,500	3,500	4,250	7,500
Mittlerer Rang (1)	4,857	8,000	7,429	7,000	5,143
Signifikanz	0,164	0,006**	0,073	0,230	0,315
Klinischer Score 0 vs. 2					
Mittlerer Rang (0)	8,000	2,750	3,750	4,250	4,500
Mittlerer Rang (2)	6,556	8,889	8,444	8,222	8,111
Signifikanz	0,604	0,006**	0,050	0,106	0,148
Klinischer Score 0 vs. 3					
Mittlerer Rang (0)	6,750	2,500	3,250	4,250	4,750
Mittlerer Rang (3)	4,667	7,500	7,000	6,333	6,000
Signifikanz	0,352	0,010*	0,067	0,352	0,610
Klinischer Score 1 vs. 2					
Mittlerer Rang (1)	7,714	8,57	9,143	7,429	6,000
Mittlerer Rang (2)	9,11	8,444	8,000	9,333	10,444
Signifikanz	0,606	1,000	0,681	0,470	0,071
Klinischer Score 1 vs. 3					
Mittlerer Rang (1)	6,571	7,000	7,143	7,143	6,143
Mittlerer Rang (3)	7,500	7,000	6,833	6,833	8,000
Signifikanz	0,731	1,000	0,945	0,945	0,445
Klinischer Score 2 vs. 3					
Mittlerer Rang (2)	8,333	8,000	7,556	8,111	8,444
Mittlerer Rang (3)	7,500	8,000	8,667	7,833	7,333
Signifikanz	0,776	1,000	0,689	0,955	0,689
Tabelle 15: Vergleich der SNR der Plantarfaszie für die verschiedenen klinischen Gruppen					
Die in der Plantarfaszie gemessenen SNR der verschiedenen klinischen Gruppen, d. h. die nach dem vergebenen klinischen Score eingeteilten Pfoten, wurden anhand des Mann-Whitney-U-Test in sämtlichen Permutationen miteinander verglichen. Die Spalte „Nativ“ beschreibt die Messungen vor Kontrastmittelgabe, die Spalten für die jeweiligen Zeiten beziehen sich auf den Zeitpunkt der Messung nach Kontrastmittelapplikation. Die angegebenen mittleren Ränge zeigen welcher der beiden Scores mit höheren SNR assoziiert ist. Mit * bzw. ** sind signifikante Werte markiert (* entspricht $p < 0,05$, ** entspricht $p < 0,01$).					

	Nativ	5 min	30 min	60 min	120 min
Klinischer Score 0 vs. 1					
Mittlerer Rang (0)	4,750	2,500	2,500	3,000	3,500
Mittlerer Rang (1)	6,714	8,000	8,000	7,714	7,429
Signifikanz	0,412	0,006**	0,006**	0,024*	0,073
Klinischer Score 0 vs. 2					
Mittlerer Rang (0)	6,250	2,500	2,500	2,500	2,500
Mittlerer Rang (2)	7,333	9,000	9,000	9,000	9,000
Signifikanz	0,710	0,003**	0,003**	0,003**	0,003**
Klinischer Score 0 vs. 3					
Mittlerer Rang (0)	5,500	2,500	3,000	2,750	2,500
Mittlerer Rang (3)	5,500	7,500	7,167	7,333	7,500
Signifikanz	1,000	0,010*	0,038*	0,019*	0,010*
Klinischer Score 1 vs. 2					
Mittlerer Rang (1)	9,286	8,429	9,286	9,714	7,286
Mittlerer Rang (2)	7,889	8,556	7,889	7,556	9,444
Signifikanz	0,606	1,000	0,606	0,408	0,408
Klinischer Score 1 vs. 3					
Mittlerer Rang (1)	7,929	6,000	8,571	8,571	7,286
Mittlerer Rang (3)	5,917	8,167	5,167	5,167	6,667
Signifikanz	0,366	0,366	0,138	0,138	0,836
Klinischer Score 2 vs. 3					
Mittlerer Rang (2)	8,722	7,444	8,556	9,333	9,333
Mittlerer Rang (3)	6,917	8,833	7,167	6,000	6,000
Signifikanz	0,456	0,607	0,607	0,181	0,181
Tabelle 16: Vergleich der SNR im OSG für die verschiedenen klinischen Gruppen					
<p>Die in der vorderen Gelenkkapsel des OSG gemessenen SNR der verschiedenen klinischen Gruppen, d. h. die nach dem vergebenen klinischen Score eingeteilten Pfoten, wurden anhand des Mann-Whitney-U-Test in sämtlichen Permutationen miteinander verglichen. Die Spalte „Nativ“ beschreibt die Messungen vor Kontrastmittelgabe, die Spalten für die jeweiligen Zeiten beziehen sich auf den Zeitpunkt der Messung nach Kontrastmittelapplikation. Die angegebenen mittleren Ränge zeigen welcher der beiden Scores mit höheren SNR assoziiert ist. Mit * bzw. ** sind signifikante Werte markiert (* entspricht $p < 0,05$, ** entspricht $p < 0,01$).</p>					

	Nativ	5 min	30 min	60 min	120 min
Klinischer Score 0 vs. 1					
Mittlerer Rang (0)	7,250	3,000	3,000	2,500	2,750
Mittlerer Rang (1)	5,286	7,714	7,714	8,000	7,857
Signifikanz	0,412	0,024*	0,024*	0,006**	0,012*
Klinischer Score 0 vs. 2					
Mittlerer Rang (0)	6,250	2,500	2,500	2,500	2,500
Mittlerer Rang (2)	7,333	9,000	9,000	9,000	9,000
Signifikanz	0,710	0,003**	0,003**	0,003**	0,003**
Klinischer Score 0 vs. 3					
Mittlerer Rang (0)	4,750	2,500	2,500	2,500	2,500
Mittlerer Rang (3)	6,000	7,500	7,500	7,500	7,500
Signifikanz	0,610	0,010*	0,010*	0,010*	0,010*
Klinischer Score 1 vs. 2					
Mittlerer Rang (1)	7,429	6,429	8,143	8,571	5,000
Mittlerer Rang (2)	9,333	10,111	8,778	8,444	11,222
Signifikanz	0,470	0,142	0,837	1,000	0,012*
Klinischer Score 1 vs. 3					
Mittlerer Rang (1)	5,571	5,786	6,857	5,857	5,000
Mittlerer Rang (3)	8,667	8,417	7,167	8,333	9,333
Signifikanz	0,181	0,234	0,945	0,295	0,051
Klinischer Score 2 vs. 3					
Mittlerer Rang (2)	7,778	7,889	8,556	6,889	8,111
Mittlerer Rang (3)	8,333	8,167	7,167	9,667	7,833
Signifikanz	0,864	0,955	0,607	0,272	0,955
Tabelle 17: Vergleich der SNR im präachillären Fettkörper für die verschiedenen klinischen Gruppen					
Die im präachillären Fettkörper gemessenen SNR der verschiedenen klinischen Gruppen, d. h. die nach dem vergebenen klinischen Score eingeteilten Pfoten, wurden anhand des Mann-Whitney-U-Test in sämtlichen Permutationen miteinander verglichen. Die Spalte „Nativ“ beschreibt die Messungen vor Kontrastmittelgabe, die Spalten für die jeweiligen Zeiten beziehen sich auf den Zeitpunkt der Messung nach Kontrastmittelapplikation. Die angegebenen mittleren Ränge zeigen welcher der beiden Scores mit höheren SNR assoziiert ist. Mit * bzw. ** sind signifikante Werte markiert (* entspricht $p < 0,05$, ** entspricht $p < 0,01$).					

5.2.4 Vergleich der SNR Gruppeneinteilung nach Alcian-Score

Im Folgenden werden die einzelnen Gruppen bei Einteilung nach dem Alcian-Score miteinander verglichen (s. 4.5.2). Die Einteilung erfolgt auf Basis des vergebenen klinischen Scores. Für sämtliche Permutationen wurde der Mann-Whitney-U-Test verwendet.

Bei Einteilung der Gelenke nach dem Alcian-Score ergibt sich ein anderes Bild der Differenzierbarkeit als bei der Einteilung nach klinischen Gruppen:

In der Plantarfaszie unterscheiden sich die Gruppen - mit Ausnahme unauffällig vs. geringgradig, sowie mittel- vs. hochgradig - in der 120 min Phase signifikant, mit höheren mittleren Rängen für die höheren Alcian-Scores. Selbiges gilt für die Unterscheidung unauffällige vs. mittelgradige Alcian-Scores und geringgradige vs. mittelgradige Alcian-Scores in der 60 min Phase. In der Frühphase nach 5 min zeigt sich hingegen lediglich in der Gruppe unauffällig vs. mittelgradig ein signifikanter Unterschied. (Siehe Tabelle 18).

Die signifikante Differenzierbarkeit sowie die Assoziation höherer mittlerer Ränge mit höheren Alcian-Scores in der 120 min Phase zeigen sich auch in der vorderen Gelenkkapsel des OSG, hier mit Ausnahme der Vergleiche unauffällig vs. geringgradig sowie gering- vs. mittelgradig. Zusätzlich zeigen die Tests auch in den übrigen Kontrastmittelphasen beim Vergleich der unauffälligen Gelenke mit mittel- bzw. hochgradig anfärbenden Gelenken signifikant höhere Ränge für die Gelenke mit den höheren Scores. (Siehe Tabelle 19)

Im präachillären Fettkörper lassen sich gleichsam in der 120 min Spätphase die verschiedenen Alcian-Score-Gruppen unterscheiden, hier lediglich mit Ausnahme des Vergleichs gering- vs. mittelgradig. Zusätzlich unterscheiden sich die Gelenke ohne Blaufärbung durchgängig von solchen mit Blaufärbung in sämtlichen Messungen nach Kontrastmittelgabe. Nach 60 min unterscheiden sich zudem die gering- und mittelgradigen sowie die gering- und hochgradigen Scores signifikant, so dass insgesamt nach 60 min in allen Gruppen außer dem Vergleich mittel- vs. hochgradig eine Unterscheidung gelingt. (Siehe Tabelle 20)

Eine Unterscheidung in den nativen Phasen gelingt auch bei der Einteilung nach Alcian-Scores nicht.

	Nativ	5 min	30 min	60 min	120 min
Unauffällig vs. geringgradig					
Mittlerer Rang (0)	9,250	6,250	6,380	7,250	8,750
Mittlerer Rang (1)	7,750	10,750	10,630	9,750	8,250
Signifikanz	0,574	0,065	0,083	0,328	0,878
Unauffällig vs. mittelgradig					
Mittlerer Rang (0)	9,375	5,000	6,750	5,500	4,625
Mittlerer Rang (2)	7,625	12,000	10,250	11,500	12,375
Signifikanz	0,505	0,002**	0,161	0,01**	0**
Unauffällig vs. hochgradig					
Mittlerer Rang (0)	5,625	4,875	5,000	4,875	4,500
Mittlerer Rang (3)	5,000	8,000	7,500	8,000	9,500
Signifikanz	0,889	0,267	0,400	0,267	0,044*
Geringgradig vs. mittelgradig					
Mittlerer Rang (1)	8,938	6,750	9,000	5,750	5,000
Mittlerer Rang (2)	8,063	10,250	8,000	11,250	12,000
Signifikanz	0,721	0,161	0,721	0,021*	0,002**
Geringgradig vs. hochgradig					
Mittlerer Rang (1)	5,250	5,500	5,250	4,875	4,500
Mittlerer Rang (3)	6,500	5,500	6,500	8,000	9,500
Signifikanz	0,711	1,000	0,711	0,267	0,044*
Mittelgradig vs. hochgradig					
Mittlerer Rang (2)	5,250	6,250	5,125	5,375	5,125
Mittlerer Rang (3)	6,500	2,500	7,000	6,000	7,000
Signifikanz	0,711	0,178	0,533	0,889	0,533
Tabelle 18: Vergleich der SNR der Plantarfaszie bei Gruppeneinteilung nach Alcian-Score					
Die in der Plantarfaszie gemessenen SNR der verschiedenen Gruppen, d. h. nach dem vergebenen Alcian-Score eingeteilten Pfoten, wurden anhand des Mann-Whitney-U-Test in sämtlichen Permutationen miteinander verglichen. Die Spalte „Nativ“ beschreibt die Messungen vor Kontrastmittelgabe, die Spalten für die jeweiligen Zeiten beziehen sich auf den Zeitpunkt der Messung nach Kontrastmittelapplikation. Die angegebenen mittleren Ränge zeigen welcher der beiden Scores mit höheren SNR assoziiert ist. Mit * bzw. ** sind signifikante Werte markiert (* entspricht $p < 0,05$, ** entspricht $p < 0,01$).					

	Nativ	5 min	30 min	60 min	120 min
Unauffällig vs. geringgradig					
Mittlerer Rang (0)	3,000	2,500	2,500	3,000	3,500
Mittlerer Rang (1)	4,500	5,500	5,500	4,500	3,500
Signifikanz	0,533	0,133	0,133	0,533	1,000
Unauffällig vs. mittelgradig					
Mittlerer Rang (0)	4,500	2,500	3,000	2,750	2,500
Mittlerer Rang (2)	7,500	8,500	8,250	8,375	8,500
Signifikanz	0,214	0,004**	0,016*	0,008**	0,004**
Unauffällig vs. hochgradig					
Mittlerer Rang (0)	9,000	2,500	2,500	2,500	2,500
Mittlerer Rang (3)	8,333	10,500	10,500	10,500	10,500
Signifikanz	0,862	0,001**	0,001**	0,001**	0,001**
Geringgradig vs. mittelgradig					
Mittlerer Rang (1)	6,000	5,000	2,500	3,000	4,000
Mittlerer Rang (2)	5,375	5,625	6,250	6,125	5,875
Signifikanz	0,889	0,889	0,178	0,267	0,533
Geringgradig vs. hochgradig					
Mittlerer Rang (1)	10,750	3,000	2,500	3,000	1,500
Mittlerer Rang (3)	6,958	8,250	8,333	8,250	8,500
Signifikanz	0,264	0,132	0,088	0,132	0,022*
Mittelgradig vs. hochgradig					
Mittlerer Rang (2)	13,063	8,500	11,875	9,000	5,125
Mittlerer Rang (3)	8,792	11,833	9,583	11,500	14,083
Signifikanz	0,115	0,238	0,427	0,384	0**
Tabelle 19: Vergleich der SNR im OSG bei Gruppeneinteilung nach Alcian-Score					
Die in der vorderen Gelenkkapsel des OSG gemessenen SNR der verschiedenen Gruppen, d. h. nach dem vergebenen Alcian-Score eingeteilten Pfoten, wurden anhand des Mann-Whitney-U-Test in sämtlichen Permutationen miteinander verglichen. Die Spalte „Nativ“ beschreibt die Messungen vor Kontrastmittelgabe, die Spalten für die jeweiligen Zeiten beziehen sich auf den Zeitpunkt der Messung nach Kontrastmittelapplikation. Die angegebenen mittleren Ränge zeigen welcher der beiden Scores mit höheren SNR assoziiert ist. Mit * bzw. ** sind signifikante Werte markiert (* entspricht $p < 0,05$, ** entspricht $p < 0,01$).					

	Nativ	5 min	30 min	60 min	120 min
Unauffällig vs. geringgradig					
Mittlerer Rang (0)	8,200	3,000	3,000	3,000	3,600
Mittlerer Rang (1)	5,286	9,000	9,000	9,000	8,571
Signifikanz	0,202	0,003**	0,003**	0,003**	0,018*
Unauffällig vs. mittelgradig					
Mittlerer Rang (0)	4,400	3,000	3,000	3,000	15,000
Mittlerer Rang (2)	6,600	8,000	8,000	8,000	40,000
Signifikanz	0,310	0,008**	0,008**	0,008**	0,008**
Unauffällig vs. hochgradig					
Mittlerer Rang (0)	5,600	3,000	3,000	3,000	3,000
Mittlerer Rang (3)	8,556	10,000	10,000	10,000	10,000
Signifikanz	0,240	0,001**	0,001**	0,001**	0,001**
Geringgradig vs. mittelgradig					
Mittlerer Rang (1)	5,143	6,286	5,857	4,571	5,857
Mittlerer Rang (2)	8,400	6,800	7,400	9,200	7,400
Signifikanz	0,149	0,876	0,530	0,03*	0,530
Geringgradig vs. hochgradig					
Mittlerer Rang (1)	6,143	6,071	6,000	4,571	4,571
Mittlerer Rang (3)	10,333	10,389	10,444	11,556	11,556
Signifikanz	0,091	0,071	0,071	0,002**	0,002**
Mittelgradig vs. hochgradig					
Mittlerer Rang (2)	6,000	5,400	5,800	5,000	3,600
Mittlerer Rang (3)	8,333	8,667	8,444	8,889	9,667
Signifikanz	0,364	0,190	0,298	0,112	0,007**

Tabelle 20: Vergleich der SNR im präachillären Fettkörper bei Gruppeneinteilung nach Alcian-Score

Die im präachillären Fettkörper gemessenen SNR der verschiedenen Gruppen, d. h. nach dem vergebenen Alcian-Score eingeteilten Pfoten, wurden anhand des Mann-Whitney-U-Test in sämtlichen Permutationen miteinander verglichen. Die Spalte „Nativ“ beschreibt die Messungen vor Kontrastmittelgabe, die Spalten für die jeweiligen Zeiten beziehen sich auf den Zeitpunkt der Messung nach Kontrastmittelapplikation. Die angegebenen mittleren Ränge zeigen welcher der beiden Scores mit höheren SNR assoziiert ist. Mit * bzw. ** sind signifikante Werte markiert (* entspricht $p < 0,05$, ** entspricht $p < 0,01$).

6. Diskussion

6.1 Allgemeine Bemerkungen

Arthritiden im Allgemeinen und die rheumatoide Arthritis im Speziellen stellen große Herausforderungen an die behandelnden Ärzte und die frühe Diagnostik nimmt einen immer größeren Stellenwert ein. Bei einer herausragenden Rolle der diagnostischen Bildgebung in der modernen Medizin ist es wichtig, die Grundlagen der Darstellung verschiedener Pathologien zu ergründen. In dieser Arbeit wurde untersucht, ob ein Zusammenhang zwischen den Glykosaminoglykanen (GAG) der Extrazellulärmatrix und dem Signalenhancement, besteht.

Die grundsätzliche Hypothese, dass ein vermehrter histologischer GAG-Nachweis im entzündeten Gewebe mit einem vermehrten Signalanstieg nach Kontrastmittelgabe korrelierte, bestätigte sich.

Im Folgenden wird zunächst der Ablauf der Experimente bzw. die Auswertung diskutiert bevor dann die Ergebnisse einer weiteren Interpretation unterzogen werden.

6.2 Technischer Ablauf der Experimente

6.2.1 Auswahl der Versuchstiere

Für die Experimente wurde bei weiblichen Ratten des Wistar-Lewis-Stammes eine *Collagen-induced arthritis* verursacht, wobei eine willkürlich ausgewählte Kontrollgruppe bestand. Dieses Tiermodell ist für Arthritis-Fragestellungen in der Arbeitsgruppe bereits etabliert (z. B. Vollmer et al. 2009).

Es ergab sich bei sämtlichen, dem Kollagen exponierten Tieren, eine Arthritis. Dies stellt eine hohe Quote dar, im Vergleich dazu erzielten Trentham et al. bei der Etablierung der Methode 1977 für Wistar-Lewis-Ratten noch eine Induktionswahrscheinlichkeit von 40%; dabei wurde nicht zwischen den Pfoten differenziert (Trentham et al. 1977). Diese in dieser Arbeit beobachtete hohe Ausbeute ist wohl zu großen Teilen der mittlerweile natürlich erfahrungsbedingt ausgereifteren Protokolle geschuldet. Zudem wurden im Versuch nur weibliche Tiere verwendet, bei denen die Induktion einer CIA häufiger als bei männlichen gelingt (Remmers et al.

2002). Diese Geschlechterdisposition zeigt sich auch bei der klinischen rheumatoiden Arthritis, für die die CIA ein Modell darstellt (Scott et al. 2010). Als Grund für die auch für viele andere Autoimmunerkrankungen typische Prädisposition weiblicher Tiere werden hormonelle und genetische Unterschiede zwischen den Geschlechtern diskutiert (Kivity und Ehrenfeld 2010). Ein als verursachendes oder begünstigendes Moment für Autoimmunerkrankungen diskutierter Mikrochimerismus kann für die CIA als Grundlage für die Geschlechterunterschiede jedoch ausgeschlossen werden, da im Falle eines maternalen Mikrochimerismus ja auch männliche Tiere befallen wären, während der fetale Mikrochimerismus nur bei zuvor trächtigen Tieren aufträte (Adams-Waldorf und Nelson).

Die CIA lässt sich durchaus nicht nur in Ratten, sondern auch in Mäusen induzieren (z. B. Wang et al. 2011). In dem verwendeten MRT mit Kniespule wären Mäusegelenke auf Grund der geringen Körpergröße jedoch nicht suffizient abbildbar gewesen, so dass zwingend ein dedizierter Kleintierscanner benötigt worden wäre.

Die Wahl eines anderen Rattenstammes wäre ebenfalls nicht sinnvoll, da die Arthritisinduktion bei den verwendeten Wistar-Lewis-Ratten gut gelang (Vgl. 6.2.2).

6.2.2 Arthritisinduktion

Eine CIA konnte in sämtlichen Tieren der exponierten Gruppe verursacht werden; die Verteilung über die verschiedenen Schweregrade war relativ gleichmäßig (Siehe 5.1.1 und Tabelle 3). Somit war die Unvorhersagbarkeit des Schweregrades der CIA in dieser Arbeit nicht relevant.

Letztendlich sollte geprüft werden, ob der klinische Schweregrad mit den Ergebnissen der MRT korreliert und wie sich diese Korrelation in Vergleich zu jener zwischen histologischer Auswertung bezüglich der Alcianfärbung und der MRT darstellt. Ein parametrisches, statistisch höherwertiges Pendant für den klinischen Schweregrad hätte die Verwendung anderer statistischer Tests erlaubt (Vgl. 6.2.6). Wie in der Einleitung ausgeführt, beruht aber selbst beim Menschen die Diagnostik der Rheumatoiden Arthritis (für die die CIA ja ein Modell ist) auf Scores. Ein einzelner Messwert (beispielsweise Zunahme des Pfotenumfanges in mm oder Abnahme der Streckfähigkeit im OSG in Grad) würde dem komplexen, im Zeitverlauf sehr dynamischen klinischen Bild nicht gerecht werden. Zudem hätte man Probleme bei der

Gruppenbildung und der Vergleichbarkeit mit der Auswertung der Alcian-Scores, mit denen der Gehalt an GAG im histologischen Präparat semiquantitativ ermittelt wurde: Es wurden sowohl bei der Alcian- als auch bei der klinischen Gruppenbildung die gleiche Anzahl von Subgruppen und eine analoge Einteilung gewählt, zudem die gleichen statistischen Tests durchgeführt, so dass ein Vergleich gut, einfach und akkurat möglich war. Ein differenzierterer Score (z. B. die Addition der einzelnen Komponenten unseres Arthritis-Scores statt der Verwendung der ausgeprägtesten Komponente, Vgl. 4.2.3) hätte diese Vergleichbarkeit eingeschränkt und zu sehr kleinen, statistisch wohl nicht aussagekräftigen Gruppen geführt.

6.2.3 Narkose

Bei der Narkoseeinleitung verstarben insgesamt 2 der ursprünglich 15 Ratten, hiervon eine aus der Kontroll- und eine aus der exponierten Gruppe. Insbesondere die Kontrollgruppe war hierdurch stark betroffen, da sie nun nur aus zwei Tieren bestand. Insgesamt war die Unterscheidung der Kontrolltiere von den exponierten Tieren jedoch gut möglich.

Wie weiter unten noch ausgeführt, verhinderte auch die Narkose nicht komplett die Bewegung der Ratten, dies wäre auch nicht wünschenswert gewesen, da die Tiere noch selbstständig atmen mussten.

6.2.4 Histologische Auswertung

Die histologische Auswertung bezüglich der GAG anhand der Alciankomponente in der Movat-Färbung erfolgte semiquantitativ durch die Vergabe eines Scores für die drei ausgewählten anatomischen Regionen. Die Verteilung dieses Scores war ähnlich wie die Verteilung des klinischen Scores relativ gleichmäßig, wobei als Ausreißer an der vorderen Gelenkkapsel des OSG nur zwei Pfoten einen Alcian-Score von 1 und in der Plantarfaszie nur zwei Pfoten einen Alcian-Score von 3 aufwiesen. (Siehe Tabelle 5).

Die semiquantitative Auswertung hatte gewisse Nachteile: Es muss die im Vergleich zu einer quantitativen Auswertung niedrigere Objektivität genannt werden. Zudem hätte eine quantitative Auswertung mit einem Messwert Vorteile bei der statistischen Auswertung gehabt (Vgl. 6.2.6).

Andererseits muss auch die Praktikabilität der Durchführbarkeit bedacht werden: Es wurde in Vorversuchen auch eine histomorphometrische Auswertung versucht, was den Vorteil der Möglichkeit eines quantitativen Scores gehabt hätte, beispielsweise hätte der prozentuale Anteil der blaugefärbten Fläche oder die Intensität der Blaufärbung per Software untersucherunabhängig bestimmt werden können. Die Areale wären von einem Mikroskop mit automatischem Tischvorschub und einer Kamera eingelesen worden und die einzelnen Kacheln digital zu einem Gesamtbild zusammengesetzt worden. Ähnliche Auswertungen finden durchaus statt (Vgl. z. B. Cotrell et al. 2010 oder Voieta et al. 2010).

In den Vorversuchen zu dieser Arbeit gelang eine derartige Auswertung nicht, die automatische Erkennung der verschieden gefärbten Areale schloss offensichtlich nicht angefärbte Areale mit ein. Zudem erkannte der Computer teils blaugefärbte Areale nicht als solche, möglicherweise auf Grund eines durch das Einlesen und das Angleichen der einzelnen Kacheln bedingten Farbversatzes. Zudem hatten die zitierten Vergleichsarbeiten andere anatomische Gegebenheiten: Bei Cotrell et al. wurden Knochen untersucht, die sich mit einem höheren Grad an Standardisierung schneiden lassen, bei Voieta et al. wurden Leberbiopsien untersucht, bei denen es gar nicht erst zu größeren, nicht mit Gewebe gefüllten Anteilen innerhalb des untersuchten Areals kam. Vgl. hierzu die Abbildungen typischer Schnitte in der aktuellen Arbeit; es fällt ein nach distal zunehmendes „Zerfasern“ der Präparate auf und auch in den proximaleren Anteilen, z. B. ventral und dorsal der Tibia, imponieren rissbedingte leere Areale.

Es muss auch bedacht werden, dass die entzündlich veränderten Gewebsanteile natürlich weniger stabil sind, und sich durch kleine Schäden im histologischen Präparat weniger homogen mit Rissen darstellen, was auch ein alternativ mögliches manuelles Umfahren der entsprechenden Areale weniger vergleichbar und letztlich auch weniger objektiv gestaltet hätte.

Schließlich muss noch die bereits in 6.2.2 diskutierte Vergleichbarkeit zwischen klinischer und histologischer Auswertung beachtet werden.

6.2.5 MRT-Messung und -Auswertung

Bei der MRT-Messung wurde auf eine genaue mittige Positionierung der Tiere entlang der z-Achse in Spule und Magnetfeld Wert gelegt. Die Messungen erfolgten in einem

regulären 1,5 T-Ganzkörperscanner in einer Kniespule, wobei immer zwei Ratten gleichzeitig untersucht wurden. Es wurden hochaufgelöste dünn-schichtige T1-Sequenzen akquiriert. (Vgl. 4.3.2)

In der MRT-Auswertung wurden drei auch der histologischen Auswertung zugängliche Areale ausgewählt (die vordere Gelenkkapsel des OSG, der präachilläre Fettkörper und die Plantarfaszie) und ROI („Point“-Funktion) in diesen platziert. Zur Bestimmung des SNR wurde für jede Pfote einzeln in der Nähe des Hintergrundrauschen bestimmt („Oval-Funktion“).

Insgesamt ist zu bemerken, dass die zu untersuchenden Regionen natürlich sehr klein waren. Subjektiv am einfachsten gelang dem Verfasser dieser Arbeit das Auffinden der in der Histologie angefärbten Region im präachillären Fettkörper, am schwierigsten war selbiges in der Plantarfaszie. Ein Grund war das insgesamt größere zu untersuchende Areal, welches sich auch im Untersuchungsverlauf wenig bewegte. Ähnliches gilt für die Messungen an der vorderen Gelenkkapsel. Die angeschnittenen Teile der Plantarfaszie waren im Vergleich deutlich kleiner als die beiden proximaleren Regionen. Weitere, die Messung in der Plantarfaszie erschwerende Faktoren, waren einerseits eine deutlichere Überlagerung durch mit angeschnittene Gefäße, andererseits ein deutlicheres Bewegen im Vergleich zu den „ruhigeren“ Messungen im präachillären Fettkörper und an der vorderen Gelenkkapsel.

Diese Einschränkungen in der Messung spiegeln sich durchaus in den Ergebnissen wider: Die gefundenen Korrelationen zeigen sich sowohl bei der Einteilung nach dem klinischen Schweregrad als auch nach dem Alcian-Score deutlicher in den anatomisch proximalen Messungen.

Zu den verwendeten Messsequenzen ist zu bemerken, dass mit fettgesättigten Sequenzen die bestimmten Signalintensitäten etwas unabhängiger von einem Teil der Überlagerungen gewesen wären. Andererseits war es den kleinen anatomischen Verhältnissen geschuldet, dass hinreichend hochaufgelöste Sequenzen und dünn-schichtige Sequenzen benötigt wurden, um die genaue Korrelation von Histologie und MRT erst zu ermöglichen. Auch muss bedacht werden, dass die Aufnahmen selbst in Narkose noch die beschriebenen Bewegungsartefakte aufwiesen; eine noch aufwendigere und somit langwierigere Messung hätte diese möglicherweise noch deutlicher ausfallen lassen.

Eine zu erwähnende Limitation ist die fehlende Verblindung des Auswerters. Eine Verblindung bezüglich des histologischen Bildes war jedoch nicht möglich, da der histologische Schnitt jeweils mit dem entsprechenden MRT-Bild zur genauen Korrelation der Anatomie verglichen werden musste. Eine Verblindung bezüglich der Klinik wäre prinzipiell durchführbar gewesen; es ist jedoch fraglich ob dies ein Bias sicher hätte ausschließen können, da sich der klinische Ausprägungsgrad anhand der MRT und der Histologie zumindest erahnen ließe.

6.2.6 Statistische Auswertung

Die Daten der Auswertung von Alcianfärbung in der Histologie und MRT wurden über Korrelationskoeffizienten (Spearman's rho) und den Mann-Whitney-U-Test verglichen, wobei auch nach klinischen Gruppen sortiert wurde (Siehe Kapitel 5).

Dies waren die angemessenen statistischen Tests, da die histologischen Alcian-Scores nicht parametrisch waren, so dass auch eine Normalverteilung nicht die Verwendung des Korrelationskoeffizienten nach Pearson oder des t-Tests erlaubt hätte.

Als Alternative hätte auch ein One-way-ANOVA durchgeführt werden können, der jedoch keine Ränge angezeigt hätte, d. h. es wäre am Testergebnis nicht sofort ersichtlich gewesen, ob ein ermittelter Unterschied durch eine positive oder negative Korrelation zustande kommt.

Obschon letztendlich sowohl bei der Einteilung nach klinischen als auch nach Alcian-Scores mehr als 2 Stichproben (in diesem Falle also Alcian- oder klinische Gruppen) zu vergleichen waren, schied eine Untersuchung mittels des Kruskal-Wallis-Tests für mehr als 2 Stichproben oder eines ANOVA mit wiederholter Messung aus: Die Antwort auf die Frage, ob sich die Gruppen insgesamt von einander unterscheiden, hätte in diesem Zusammenhang nicht weiter geführt. Es ist ja letztendlich relevant, welche Gruppen sich von einander unterscheiden, d. h. welche Differenzierungen zwischen den einzelnen Gruppen bestehen und welche nicht. Der Nachteil des Vergleiches sämtlicher Permutationen besteht natürlich in der höheren Datenmenge und etwas geringeren Übersichtlichkeit der Ergebnisse.

6.3 Lösungsansätze für die Limitationen

6.3.1 Auswahl der Versuchstiere

Wie in 6.2.1 bereits ausgeführt, scheint insgesamt ein für die Fragestellung geeignetes Tiermodell verwendet worden zu sein.

Ein Teil der diskutierten Limitationen bei der Messung hätten sich natürlich durch Wahl eines größeren Tieres als Modell umgehen lassen, z. B. ein Schweine- oder Hundemodell. Neben der fraglichen ethischen Vertretbarkeit der Verwendung eines Großtiermodells bei einem verfügbaren gut evaluierten Rattenmodell wäre aber auch die Durchführbarkeit problematisch. Zu Bedenken wären die deutlich kompliziertere Haltung der Tiere und die höheren Kosten. Weiterhin wären Narkose und MRT-Messung aufwendiger, so hätten sich die Messzeiten deutlich verlängert: zum einen hätte immer nur ein Tier auf einmal gemessen werden können, zum anderen hätte auch immer nur eine Pfote in die Spule gepasst. Letzteres hätte wieder neue Probleme mit sich gebracht, da die zeitsensitiven Messungen in den Frühphasen nicht reproduzierbar möglich gewesen wären, während in den Spätphasen durch den nötigen Wechsel und die dadurch entstehenden unterschiedlichen Positionen im Messfeld zumindest die Auswertung mittels ROI aufwendiger und fehlerintensiver wäre.

6.3.2 Arthritisinduktion

Insgesamt gelang die Arthritisinduktion in den untersuchten Ratten sehr gut. Bei der relativ geringen Anzahl der untersuchten Tiere gelang bei allen eine Arthritisinduktion.

Bei der ohnehin sehr kleinen Kontrollgruppe könnte erwogen werden, bei nachfolgenden Experimenten diese eher auch zu exponieren und zu hoffen, dass sich bei einem Teil der Tiere keine Arthritis entwickelt, man hätte jedoch in diesem Fall nicht sicher eine homogene Vergleichsgruppe: es wäre nicht auszuschließen, dass eine subklinische CIA die Ergebnisse verfälscht hätte. Zudem hätte das Risiko bestanden, keine Vergleichsgruppe zu bekommen, falls bei allen Tieren eine Arthritis eingetreten wäre.

Ein Lösungsansatz könnte darin bestehen, die Tiere nacheinander zu exponieren, beispielsweise immer 3 - 4 Ratten auf einmal, und abzuwarten, ob alle Tiere eine

Arthritis entwickeln oder ob einzelne ausgespart bleiben. Sollte sich eine hundertprozentige Inzidenz der ersten Gruppen herausstellen, könnte man die letzte verbliebene Gruppe nicht exponieren und zur Vergleichsgruppe deklarieren.

6.3.3 Narkose

Im Rahmen der Narkose traten im Wesentlichen zwei Probleme auf: zum einen verstarben zwei Ratten, zum anderen erschwerten mäßige Bewegungsartefakte die Befundung in den distaleren Anteilen der Gelenke. Letztendlich können diese beiden Probleme als die bei jeder Narkose notwendige Gratwanderung zwischen einer zu niedrigen und zu hohen Narkosetiefe aufgefasst werden.

Ein Lösungsansatz könnte in der Intubation der Ratten liegen. In diesem Fall könnte ein Muskelrelaxans verwendet werden, da die Tiere nicht mehr selbstständig atmen müssten. Dies wäre ein technisch durchführbarer, jedoch nicht ganz simpler Ansatz. (Vgl. Hoymann 2006 und Erhardt et al. 1979) Die Bewegungsartefakte sollten sich auf diese Weise weitgehend vermeiden lassen.

Ob die Narkosetiefe im Fall einer Intubationsnarkose reduziert werden könnte, ist jedoch fraglich: Zwar ist die MRT-Messung nicht schmerzhaft, doch das Gefühl intubiert und bewegungsunfähig zu sein, wäre für die Tiere wohl nicht weniger qualvoll und somit stresshaft.

Als möglicherweise einfacher Lösungsansatz könnte ein Fixieren der Pfoten dienen. Ob sich hierdurch die geringen Mikrobewegungen, die ja das Problem waren, verhindern ließen, müsste in künftigen Experimenten geprüft werden. Zudem müsste sichergestellt werden, dass die verwendeten Materialien nicht selbst das Messergebnis verfälschen, z. B. durch vorangehende Messungen von diesen vor Einsatz im Tierexperiment.

Letztendlich waren in den proximaleren Gelenkanteilen jedoch keine allzu starken Artefakte und selbst die Plantarfaszie war auswertbar, so dass das Risiko, neue Fehlerquellen zu generieren, überwiegen mag, und ggf. einfach bei der Auswertung nur die Limitationen zu berücksichtigen sind.

6.3.4 Histologische Auswertung

Wie bereits in 6.2.4 diskutiert, könnte die Auswertung der Alcian-Färbung in der Histologie an Hand eines Scores mit wenigen Gruppen als Limitation aufgefasst werden, wobei dem gegenüber die erwähnten Vorteile der Vergleichbarkeit mit der Klinik, der sonst möglicherweise nicht gegebenen, im Wesentlichen ausreichenden Größe der Subgruppen sowie der Praktikabilität genannt wurden.

Es ist fraglich, ob eine größere Anzahl an Scores ein besseres Ergebnis gebracht hätte: Bei klinischer Einteilung der Gruppen ließen sich letztendlich nur betroffene von nicht betroffenen Gelenken sicher unterscheiden. Bei histologischer Einteilung der Gruppen anhand der Blaufärbung war es hingegen v. a. die 120 min Spätphase, die Unterschiede aufwies mit einzelnen Ausreißern. Im präachillären Fettkörper war diese Unterscheidung weitestgehend auch in der 60 min Phase möglich, mit Ausnahme der Differenzierung zwischen mittel- und hochgradigem Alcian-Score (Siehe Tabelle 20). In der Plantarfaszie gelang die Unterscheidung in der 120 min Phase nur beim Vergleich zwischen mittel- und hochgradiger Blaufärbung nicht (Siehe Tabelle 18). Insgesamt müsste also allenfalls erwogen werden, die Alcian-Scores 2 und 3 zusammenzufassen, wobei dies - wie erwähnt - die Korrelation mit der Klinik erschweren würde.

Ein Lösungsansatz, der die Verwendung der Histomorphometrie hier praktisch durchführbar machen könnte, wäre eine modifizierte Schneidetechnik der Gelenke: Statt Frontalschnitte mit Übersicht über die gesamte Hinterpfote anzufertigen, könnte man ggf. auf die distalere Anteile bei der Auswertung verzichten und stattdessen axiale Schnitte auf Höhe des OSG mit Erfassung der vorderen Gelenkkapsel und des präachillären Fettkörpers anfertigen. Die kleineren Präparate wären bei größerer Standardisierung besser vergleichbar, ein Zerfasern würde limitiert und die Software könnte die geringere Anzahl von Aufnahmen beim Kacheln besser automatisiert bearbeiten. (Vgl. Cotrell et al. 2010)

Ein gänzlich anderer Verbesserungsansatz bestünde im Ersatz der histologischen Auswertung durch ein anderes Verfahren. Beispielsweise könnte der präachilläre Fettkörper nach Abschluss der MRT-Messungen und Töten der Ratten herauspräpariert werden und die Konzentration von GAG und Gadolinium direkt gemessen werden. Dies wäre in der aktuellen Arbeit noch nicht sinnvoll gewesen, da ja noch nicht klar war, wo sich entsprechend geeignete anatomische Areale befunden hätten. Nachteilig wäre

hier, dass eine gleichzeitige histologische Aufarbeitung des Restgelenkes schwierig und artefaktbeladen wäre. Ggf. wäre eine Verwendung eines Teiles des präachillären Fettkörpers im Sinne einer Biopsie und die histologische Aufarbeitung des Restes möglich.

6.3.5 MRT-Messung und -Auswertung

Insgesamt bestünde bei der MRT-Messung bzw. –Auswertung v. a. Potential in der höheren Auflösung des untersuchten anatomischen Abschnittes. Hierfür kämen prinzipiell eine Erhöhung der Stärke des Magnetfeldes, eine kleinere Spule oder auch eine Erhöhung der Messzeit in Frage. Zudem stellte die Überlagerung durch Gefäße ein Problem dar.

Eine Möglichkeit hätte in der Verwendung eines dedizierten Kleintierscanners bestanden, in dem sich sowohl eine höhere Feldstärke als auch eine entsprechend kleine Spule hätten realisieren lassen. Ein solcher stand für Ratten zum Zeitpunkt der Experimente jedoch nicht zu Verfügung; ein ggf. verfügbarer kleinerer Scanner für Mäuse wäre (natürlich bei Verwendung eines anderen Tiermodelles) wahrscheinlich nicht weiterführend gewesen, da der kleineren Gantry die deutlich kleineren Gelenke gegenüber gestanden hätten.

Eine Verlängerung der Messzeit der einzelnen Sequenzen hätte auch ein Mehr an Bewegungsunschärfe bedeutet und wäre von fraglichem Nutzen gewesen.

Ein einfacher, in zukünftigen Untersuchungen möglicher Ansatz wäre die Verwendung einer kleineren Spule im gleichen Scanner, wobei in diesem Falle aber nur jeweils eine Ratte auf einmal gemessen werden könnte. Es würde sich eine Verdoppelung der erforderlichen Messzeit ergeben. Dem gegenüber wäre die Auswertung jedoch möglicherweise etwas einfacher. In einer zukünftigen Studie sollte dies versucht werden.

Die Gefäßüberlagerung könnte möglicherweise umgangen werden, indem man das Kontrastmittel sehr langsam injiziert und auf eine Anreicherung im Gewebe wartet.

6.3.6 Statistische Auswertung

Die durchgeführten statistischen Verfahren entsprechen den für die vorliegenden Daten angemessenen. Eine Verbesserung hin zu parametrischen Daten, wie weiter oben diskutiert, könnte die Ergebnisse noch belastbarer machen, brächte jedoch natürlich die erwähnten anderen Limitationen mit sich.

6.4 Interpretation der Ergebnisse

6.4.1 Korrelation von Klinik und MRT

Bei der Einteilung der Tiere in Gruppen nach dem klinischen Schweregrad fällt auf, dass vor allem eine Unterscheidung zwischen der Kontrollgruppe und den CIA-Tieren gelingt. Weiterhin ist es die Frühphase 5 min nach Kontrastmittelapplikation, in der diese Unterscheidung unter Verwendung des SI-Enhancements durchgehend möglich ist. Die proximaleren Gelenkanteile lassen die Unterscheidung Kontrollgruppe vs. CIA-Gruppe auch in den späteren Phasen zu. Die höheren klinischen Scores sind bei den signifikanten Unterschieden durchgehend mit einer stärkeren Anreicherung assoziiert. Im präachillären Fettkörper zeigen sich signifikante Korrelationskoeffizienten auch in den späteren Kontrastmittelphasen.

Ausschlaggebend für das Enhancement in der Frühphase dürften die vermehrte Perfusion und die erhöhte Kapillardichte sein. Eine Extravasation wäre eher später zu erwarten und muss als Grundlage für die Differenzierbarkeit in den späteren Kontrastmittelphasen im präachillären Fettkörper und an der vorderen Gelenkkapsel angesehen werden.

Die signifikanten Korrelationskoeffizienten im präachillären Fettkörper in allen Kontrastmittelphasen lassen sich in Anbetracht der fehlenden Differenzierbarkeit zwischen den einzelnen CIA-Gruppen in erster Linie als hier durchscheinendes Phänomen der Differenzierbarkeit von kranken und gesunden Tieren deuten. Zudem fallen die Korrelationskoeffizienten niedriger aus als bei Gruppeneinteilung nach Alcian-Scores in derselben Region (Siehe Tabelle 11 und Tabelle 14).

6.4.2 Korrelation von Alciananfärbung und MRT

Die Gruppeneinteilung nach den histologischen Kriterien für die Anwesenheit von GAG, also dem Grad der durch die Alcian-Komponente der Movat-Färbung verursachten Blaufärbung ermöglicht v. a. die Differenzierung in der Spätphase nach 120 min, teils auch nach 60 min, wobei die Unterscheidung bei größeren Differenzen im Alcian-Score besser gelang. Auch hier gelang dies an der vorderen Gelenkkapsel des OSG sowie im präachillären Fettkörper besser als in der Plantarfaszie. Die Korrelationskoeffizienten waren in der vorderen Gelenkkapsel des OSG und im präachillären Fettkörper in den Kontrastmittelphasen durchgehend signifikant. Zusammengefasst korreliert die SI in der Spätphase stark mit dem Alcian-Score, der die Anwesenheit von GAG anzeigt.

Die gute Differenzierbarkeit in den späten Kontrastmittelphasen, d. h., dass höhere Alcian-Scores einem stärkeren Signalenhancement nach KM-Applikation entsprechen, lässt sich nicht durch vaskuläre Phänomene ausreichend erklären. Eine Diffusion des Kontrastmittels in die entsprechenden Gewebe muss daher als auslösend angenommen werden.

Dass in den frühen Kontrastmittelphasen die Unterscheidung befallener und nicht befallener Gelenke teils ebenfalls gelingt, scheint auf den ersten Blick etwas problematisch, muss jedoch nicht verwundern: Ein hoher Alcian-Score wird letztlich auch durch ein Entzündungsphänomen, nämlich die Vermehrung von GAG verursacht und verhindert nicht die anderen Komponenten der Entzündungsreaktion wie z. B. Hypervaskularisation oder Permeabilitätserrhöhung.

6.4.3 Zusammenschau der Korrelation von klinischen Scores und Alcian-Scores mit der MRT

Im Vergleich der beiden oben genannten Einteilungen fallen mehrere Zusammenhänge auf: Bei der klinischen Einteilung lassen sich mittels des SI-Enhancements in erster Linie befallene und nicht befallene Gelenke unterscheiden und dies ist in den frühen Phasen besser möglich, während bei Einteilung nach Alcian-Score eine Differenzierung eher in den Spätphasen gelingt und auch vom MRT her verschiedene Schweregrade abstufbar sind.

Diese Differenzen lassen sich als Ausdruck der erwähnten Komponenten des Signalanstieg nach Kontrastmittelgabe deuten. Im Wesentlichen sprechen die Ergebnisse für die initiale Hypothese, dass das Spätenhancement durch die in der Histologie über die Blaufärbung nachgewiesenen GAG zumindest verstärkt wird.

Einschränkend muss jedoch Erwähnung finden, dass es selbstverständlich Überschneidungen zwischen den beiden Einteilungsvarianten gibt:

Im präachillären Fettkörper finden sich signifikante Korrelationskoeffizienten auch zwischen Klinik und MRT, diese fallen jedoch geringer aus als ihr Pendant zwischen Blaufärbung und MRT. In den anderen beiden Messregionen bleiben die Korrelationen zwischen Klinik und MRT sogar unterhalb des Signifikanzniveaus. Wie bereits in 6.4.1 erwähnt, dürfte die Differenzierbarkeit kranker und gesunder Tiere hier eine Rolle spielen.

Weiterhin lassen sich bereits in den frühen Phasen kranke und gesunde Tiere bei Gruppenbildung nach dem Alcian-Score unterscheiden. Dieses Phänomen ist jedoch weniger ausgeprägt als bei Gruppenbildung nach dem klinischen Untersuchungsergebnis und lässt sich, wie in 6.4.2 erwähnt, damit erklären, dass die Vermehrung von GAG bzw. die Komplexbildung mit Gadolinium nicht eine ebenfalls bei Entzündungen auftretende Vermehrung der Kapillaren und Hyperperfusion verhindert, d.h. dass beide Phänomene nebeneinander auftreten.

6.5 Resümee und Ausblick

Die Ergebnisse dieser Arbeit passen zu der initialen Hypothese, dass ein Spätenhancement in der MRT mit histologisch Alcian-positiven Arealen, welche den Gehalt an GAG anzeigen, korreliert. Grundlage hierfür könnte sein, dass GAG im entzündeten Gewebe mit Gadolinium komplexieren. Die Aussagekraft wird jedoch durch nicht ganz aus den Messungen herauszurechnende Überlagerung anderer Komponenten des Signalenhancements nach KM-Gabe eingeschränkt, wie beispielsweise der Hyperperfusion. Der analytische Nachweis der Bildung von Gd-GAG-Komplexen steht noch aus.

Weitergehende Untersuchungen sollten darauf zielen, das Gadolinium bzw. dessen Komplexe direkt in den in der aktuellen Arbeit gefundenen Arealen zu finden und zu quantifizieren.

Optimierungen in der MRT-Messung oder noch spätere Kontrastmittelmessungen sollten in zukünftigen Arbeiten angestrebt werden, um eine präzisere Darstellung des Späthenancements unabhängig von vaskulären Faktoren zu erzielen.

7. Abkürzungsverzeichnis

ACPA – Anti-citrullinated protein antibodies

ACR – American College of Rheumatology

B_0 – Magnetfeldstärke in Tesla

BSG – Blutsenkungsgeschwindigkeit

bzw. – beziehungsweise

CIA – Collagen-induced Arthritis

CRP – C-reaktives Protein

d. h. – das heißt

E – Tier der exponierten bzw. der erkrankten Gruppe

FLASH – Fast Low Angle Shot

FoV – Field of View

GAG – Glykosaminoglykan bzw. Glykosaminoglykane

Gd – Gadolinium

ggf. – gegebenenfalls

γ_0 – Gyromagnetisches Verhältnis

h – Stunde

K - Tier der Kontrollgruppe

kg – Kilogramm

KG – Körpergewicht

kHz – Kilohertz

KM – Kontrastmittel

li – links

$\text{Log}_K \text{ therm}$ – Thermodynamische Stabilitätskonstante

M – molar

MCP- – Metacarpo-Phalangeal-

MHC – Major Histocompatibility Complex

MHz – Megahertz

min - Minuten

mmol – Millimol

ml – Milliliter

μm – Mikrometer

MR- – Magnetresonanz-

MRT – Magnetresonanztomographie oder Magnetresonanztomograph

ms – Millisekunden

MTP- – Metatarsophalangeal-

M_z – Längsmagnetisierung (Entlang der Z-Achse)

NSF – Nephrogene Systemische Fibrose

ω_0 – Larmorfrequenz

OSG – Oberes Sprunggelenk

PIP- – Proximales Interphalangeal-

RA – Rheumatoide Arthritis

re – rechts

ROI – region of interest

s. – siehe

SI – Signalintensität

SNR – Signal to Noise Ratio (Signal zu Rausch Verhältnis)

SPSS – Statistical Package for the Social Sciences

T – Tesla

T1 – longitudinale Relaxationszeit

T2 – horizontale Relaxationszeit

TE – echo time (Echozeit)

TR – repetition time (Repetitionszeit)

v. a. – vor allem

Vgl. – Vergleiche

vs. - versus

z. B. – zum Beispiel

8. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Arbeitsplatz	19
Abbildung 2: Positionierung der Ratten im MRT	21
Abbildung 3: Durchführung der MRT-Sequenzen	23
Abbildung 4: Ausgewertete Regionen in der MRT	25
Abbildung 5: Beispiel eines Gelenkes ohne wesentliche Blaufärbung	26
Abbildung 6: Beispiel eines Gelenkes mit gering- bis mittelgradiger Blaufärbung	26
Abbildung 7: Beispiel eines Gelenkes mit gering- bis mittelgradiger Blaufärbung	27
Abbildung 8: Beispiel eines Gelenkes mit hochgradiger Blaufärbung	27
Abbildung 9: Verlauf des SNR in der Plantarfaszie für die einzelnen klinischen Gruppen	36
Abbildung 10: Verlauf des SNR an der vorderen Gelenkkapsel des OSG für die einzelnen klinischen Gruppen.....	37
Abbildung 11: Verlauf des SNR im präachillären Fettkörper für die einzelnen klinischen Gruppen.....	39
Abbildung 12: Verlauf des SNR in der Plantarfaszie bei Gruppeneinteilung nach Alcian- Score	41
Abbildung 13: Verlauf des SNR im OSG bei Gruppeneinteilung nach Alcian-Score	42
Abbildung 14: Verlauf des SNR präachillär bei Gruppeneinteilung nach Alcian-Score .	44

9. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Bestimmung des klinischen Schweregrades der CIA	20
Tabelle 2: Klinischer Score der einzelnen Rattenpfoten	30
Tabelle 3: Anzahl (n) der Gelenke mit den jeweiligen klinischen Schweregraden.....	30
Tabelle 4: Alcian-Score (Movat-Färbung) der einzelnen Regionen	31
Tabelle 5: Anzahl (n) der einzelnen Alcian-Scores jeder Region.....	31
Tabelle 6: SNR in der Plantarregion im zeitlichen Verlauf.....	32
Tabelle 7: SNR in der vorderen Gelenkkapsel des OSG im zeitlichen Verlauf.....	33
Tabelle 8: SNR im präachillären Fettkörper im zeitlichen Verlauf.....	34
Tabelle 9: Korrelation des klinischen Scores mit dem SNR der Plantarfaszie im Zeitverlauf.....	36
Tabelle 10: Korrelation des klinischen Scores mit dem SNR im vorderen OSG im Zeitverlauf.....	38
Tabelle 11: Korrelation des klinischen Scores mit dem SNR im präachillären Fettkörper im Zeitverlauf	39
Tabelle 12: Korrelation des Alcian-Scores in der Plantarfaszie mit den entsprechenden SNR	41
Tabelle 13: Korrelation des Alcian-Scores des OSG mit den entsprechenden SNR.....	43
Tabelle 14: Korrelation des Alcian-Scores im präachillären Fettkörper mit den entsprechenden SNR	44
Tabelle 15: Vergleich der SNR der Plantarfaszie für die verschiedenen klinischen Gruppen.....	46
Tabelle 16: Vergleich der SNR im OSG für die verschiedenen klinischen Gruppen	47
Tabelle 17: Vergleich der SNR im präachillären Fettkörper für die verschiedenen klinischen Gruppen	48
Tabelle 18: Vergleich der SNR der Plantarfaszie bei Gruppeneinteilung nach Alcian- Score	50
Tabelle 19: Vergleich der SNR im OSG bei Gruppeneinteilung nach Alcian-Score	51
Tabelle 20: Vergleich der SNR im präachillären Fettkörper bei Gruppeneinteilung nach Alcian-Score	52

10. Literatur

Adams Waldorf KM, Nelson JL. Autoimmune disease during pregnancy and the microchimerism legacy of pregnancy. *Immunol Invest.* 2008;37(5):631-44.

Aletaha D, Neogi T, Silman AJ, Funovits J, Felson DT, Bingham CO 3rd, Birnbaum NS, Burmester GR, Bykerk VP, Cohen MD, Combe B, Costenbader KH, Dougados M, Emery P, Ferraccioli G, Hazes JM, Hobbs K, Huizinga TW, Kavanaugh A, Kay J, Kvien TK, Laing T, Mease P, Ménard HA, Moreland LW, Naden RL, Pincus T, Smolen JS, Stanislawski-Biernat E, Symmons D, Tak PP, Upchurch KS, Vencovsky J, Wolfe F, Hawker G. 2010 rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. *Ann Rheum Dis.* 2010 Sep;69(9):1580-8.

American College of Rheumatology Subcommittee on Rheumatoid Arthritis Guidelines. Guidelines for the management of rheumatoid arthritis: 2002 Update. *Arthritis Rheum.* 2002 Feb;46(2):328-46.

Ando A, Ando I, Hiraki T, Takeshita M, Hisada K. Mechanism of tumor and liver concentration of ¹¹¹In and ¹⁶⁹Yb: ¹¹¹In and ¹⁶⁹Yb binding substances in tumor tissues and liver. *Eur J Nucl Med.* 1982;7(7):298-303.

Arnett FC, Edworthy SM, Bloch DA, McShane DJ, Fries JF, Cooper NS, Healey LA, Kaplan SR, Liang MH, Luthra HS, et al. The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 1988 Mar;31(3):315-24.

Bellin MF, Vasile M, Morel-Precetti S. Currently used non-specific extracellular MR contrast media. *Eur Radiol.* 2003 Dec;13(12):2688-98. Epub 2003 Jun 19. Review.

Berg JM, Tymoczko JL, Stryer L. „Carbohydrates” In: Berg JM, Tymoczko JL, Stryer L. *Biochemistry.* 5th ed. New York, USA: W.H. Freeman and Company, 2002:295-318.

Borrero CG, Mountz JM, Mountz JD. Emerging MRI methods in rheumatoid arthritis. *Nat Rev Rheumatol.* 2011 Feb;7(2):85-95. Epub 2010 Nov 2. Review.

Cojocaru M, Cojocaru IM, Silosi I, Vrabie CD, Tanasescu R. Extra-articular Manifestations in Rheumatoid Arthritis. *Maedica (Buchar)*. 2010 Dec;5(4):286-91. Review.

Cottrell JA, Vales FM, Schachter D, Wadsworth S, Gundlapalli R, Kapadia R, O'Connor JP. Osteogenic activity of locally applied small molecule drugs in a rat femur defect model. *J Biomed Biotechnol*. 2010;2010:597641.

Doganges PT, Schubert M. The use of Lanthanum to study the degradation of a proteinpolysaccharide from cartilage. *J Biol Chem*. 1964 May;239:1498-503.

Durie FH, Fava RA, Noelle RJ. Collagen-induced arthritis as a model of rheumatoid arthritis. *Clin Immunol Immunopathol*. 1994 Oct;73(1):11-8. Review.

Erhardt W, Wriedt-Lübbe I, Schmeller ML, Neumann G, Pfeiffer C, Pfeiffer U, Tölle W, Blümel G. [Anesthesiological experiences in experimental surgery]. *Anaesthesist*. 1979 Aug;28(8):359-67. Review. German.

Fox MG, Stephens T, Jarjour WN, Anderson MW, Kimpel DL. Contrast-enhanced magnetic resonance imaging positively impacts the management of some patients with rheumatoid arthritis or suspected RA. *J Clin Rheumatol*. 2012 Jan;18(1):15-22.

Gossec L, Dougados M. Combination therapy in early rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol*. 2003 Sep-Oct;21(5 Suppl 31):S174-8. Review.

Gulko PS, Kawahito Y, Remmers EF, Reese VR, Wang J, Dracheva SV, et al. Identification of a new non-major histocompatibility complex genetic locus on chromosome 2 that controls disease severity in collagen-induced arthritis in rats. *Arthritis Rheum* 1998;41:2122–31.

Handel TM, Johnson Z, Crown SE, Lau EK, Proudfoot AE. Regulation of protein function by glycosaminoglycans--as exemplified by chemokines. *Annu. Rev. Biochem*. 2005; 74: 385-410.

Harisinghani, Mukesh G.; Weissleder, Ralph; Schima, Wolfgang; Saini, Sanjay; Hahn, Peter F.; Mueller, Peter R. (2001), MRI Contrast Agents for Evaluating Focal Hepatic Lesions, 56, *Clinical Radiology*, pp. 714–725.

Hayes AJ, Hughes CE, Ralphs JR, Caterson B. Chondroitin sulphate sulphation motif expression in the ontogeny of the intervertebral disc. *Eur Cell Mater*. 2011 Jan 7;21:1-14.

Herold G et al. „Rheumatoide Arthritis“. In: Herold G et al. *Innere Medizin*. Köln, Deutschland:629-37.

Hoymann HG. Invasive and noninvasive lung function measurements in rodents. *J Pharmacol Toxicol Methods*. 2007 Jan-Feb;55(1):16-26. Epub 2006 May 9. Review.

Huang J, Stewart N, Crabbe J, Robinson E, McLean L, Yeoman S, Tan PL, McQueen FM. A 1-year follow-up study of dynamic magnetic resonance imaging in early rheumatoid arthritis reveals synovitis to be increased in shared epitope-positive patients and predictive of erosions at 1 year. *Rheumatology (Oxford)*. 2000; 39: 407-416.

Kivity S, Ehrenfeld M. Can we explain the higher prevalence of autoimmune disease in women? *Expert Rev Clin Immunol*. 2010 Sep;6(5):691-4. Review.

Mason RM, Mayes RW. Solubilization of cartilage protein-polysaccharide with lanthanum chloride. *Biochemical Journal*. 1972; 128: 120P.

Mason RM, Mayes RW. Extraction of cartilage protein-polysaccharides with inorganic salt solutions. *Biochem J*. 1973 Mar;131(3):535-40.

Mathur-De Vré R, Lemort M. Invited review: biophysical properties and clinical applications of magnetic resonance imaging contrast agents. *Br J Radiol*. 1995 Mar;68(807):225-47. Review.

Matteson EL, Weyand CM, Fulbright JW, Christianson TJ, McClelland RL, Goronzy JJ. How aggressive should initial therapy for rheumatoid arthritis be? Factors associated with response to 'non-aggressive' DMARD treatment and perspective from a 2-yr open label trial. *Rheumatology (Oxford)*. 2004 May;43(5):619-25.

Mitchell RN, Kumar V. „Diseases of Immunity“. In: Kumar V, Cotran RS, Robbins SL. *Robbins Basic Pathology*. 7th ed. Philadelphia, USA: Saunders, 2003:136-9.

Movat HZ. Demonstration of all connective tissue elements in a single section; pentachrome stains. *AMA Arch Pathol*. 1955 Sep;60(3):289-95.

Nakahara N, Uetani M, Hayashi K, Kawahara Y, Matsumoto T, Oda J. Gadolinium-enhanced MR imaging of the wrist in rheumatoid arthritis: value of fat suppression pulse sequences. *Skeletal Radiol.* 1996 Oct;25(7):639-47.

Nakamura H, Ito N, Kotake F, Mizokami Y, Matsuoka T. Tumor-detecting capacity and clinical usefulness of SPIO-MRI in patients with hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol.* 2000;35(11):849-55.

Ostergaard M, Stoltenberg M, Løvgreen-Nielsen P, Volck B, Sonne-Holm S, Lorenzen I. Quantification of synovitis by MRI: correlation between dynamic and static gadolinium-enhanced magnetic resonance imaging and microscopic and macroscopic signs of synovial inflammation. *Magn Reson Imaging.* 1998 Sep;16(7):743-54.

Pugner KM, Scott DI, Holmes JW, Hieke K. The costs of rheumatoid arthritis: an international long-term view. *Semin Arthritis Rheum.* 2000 Apr;29(5):305-20. Review.

Reimer P, Vosshenrich R. [Contrast agents in MRT. Substance, effects, pharmacology and validity]. *Der Radiologe.* 2004 Mar;44(3):273-83. Review. German.

Remmers EF, Joe B, Griffiths MM, Dobbins DE, Dracheva SV, Hashiramoto A, Furuya T, Salstrom JL, Wang J, Gulko PS, Cannon GW, Wilder RL. Modulation of multiple experimental arthritis models by collagen-induced arthritis quantitative trait loci isolated in congenic rat lines: different effects of non-major histocompatibility complex quantitative trait loci in males and females. *Arthritis Rheum.* 2002 Aug;46(8):2225-34.

Rief M, Huppertz A, Asbach P, Franiel T, Schwenke C, Hamm B, Taupitz M, Wagner M. Manganese-based oral contrast agent for liver magnetic resonance imaging: evaluation of the time course and dose response of liver signal intensity enhancement. *Invest Radiol.* 2010 Sep;45(9):565-71.

Ruof J, Hülsemann JL, Mittendorf T, Handelsmann S, von der Schulenburg JM, Zeidler H, Merkesdal S. Costs of rheumatoid arthritis in Germany: a micro-costing approach based on healthcare payer's data sources. *Ann Rheum Dis.* 2003 Jun;62(6):544-9.

Schellenberger E, Rudloff F, Warmuth C, Taupitz M, Hamm B, Schnorr J. Protease-specific nanosensors for magnetic resonance imaging. *Bioconjug Chem.* 2008 Dec;19(12):2440-5.

Schraml C, Schwenger NF, Martirosian P, Koetter I, Henes JC, Geiger K, Claussen CD, Horger M. Assessment of synovitis in erosive osteoarthritis of the hand using DCE-MRI and comparison with that in its major mimic, the psoriatic arthritis. *Acad. Radiol.* 2011; 18: 804-809.

Schwenger NF, Kötter I, Henes JC, Schraml C, Fritz J, Claussen CD, Horger M. The role of dynamic contrast-enhanced MRI in the differential diagnosis of psoriatic and rheumatoid arthritis. *AJR Am J Roentgenol.* 2010 Mar;194(3):715-20.

Scott DL, Wolfe F, Huizinga TW. Rheumatoid arthritis. *Lancet.* 2010 Sep 25;376(9746):1094-108.

Tamai M, Kawakami A, Uetani M, Fukushima A, Arima K, Fujikawa K, Iwamoto N, Aramaki T, Kamachi M, Nakamura H, Ida H, Origuchi T, Aoyagi K, Eguchi K. Magnetic resonance imaging (MRI) detection of synovitis and bone lesions of the wrists and finger joints in early-stage rheumatoid arthritis: comparison of the accuracy of plain MRI-based findings and gadolinium-diethylenetriamine pentaacetic acid-enhanced MRI-based findings. *Mod Rheumatol.* 2011 Dec 28.

Taupitz M, Stolzenberg N, Ebert M, Schnorr J, Hauptmann R, Kratz H, Hamm B, Wagner S. Gadolinium-containing Magnetic Resonance Contrast Media: Investigation on the Possible Transchelation of Gd^{3+} to the Glycosaminoglycan Heparin. *Contrast Media Mol Imaging.* 2013 Mar-Apr;8(2):108-16. (in press)

Taylor KR, Gallo RL. Glycosaminoglycans and their proteoglycans: host-associated molecular patterns for initiation and modulation of inflammation. *FASEB. J.* 2006; 20: 9-22.

Trentham DE. Collagen arthritis as a relevant model for rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 1982 Aug;25(8):911-6. Review.

Trentham DE, Dynesius RA, Rocklin RE, David JR. Cellular sensitivity to collagen in rheumatoid arthritis. *N Engl J Med.* 1978 Aug 17;299(7):327-32.

Trentham DE, Townes AS, Kang AH. Autoimmunity to type II collagen an experimental model of arthritis. *J Exp Med.* 1977 Sep 1;146(3):857-68.

Trentham DE and Dynesius-Trentham R. „Collagen-induced Arthritis“. In: Henderson B, Edwards JA, Pettipher ER. Mechanisms and Models in Rheumatoid Arthritis. 1st ed. London, England: Academic Press: 1995:447-56.

Turesson C, McClelland RL, Christianson TJ, Matteson EL. No decrease over time in the incidence of vasculitis or other extraarticular manifestations in rheumatoid arthritis: results from a community-based study. *Arthritis Rheum.* 2004 Nov;50(11):3729-31.

Voieta I, de Queiroz LC, Andrade LM, Silva LC, Fontes VF, Barbosa A Jr, Resende V, Petroianu A, Andrade Z, Antunes CM, Lambertucci JR. Imaging techniques and histology in the evaluation of liver fibrosis in hepatosplenic schistosomiasis mansoni in Brazil: a comparative study. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2010 Jul;105(4):414-21.

Vollmer S, Vater A, Licha K, Gemeinhardt I, Gemeinhardt O, Voigt J, Ebert B, Schnorr J, Taupitz M, Macdonald R, Schirner M. Extra domain B fibronectin as a target for near-infrared fluorescence imaging of rheumatoid arthritis affected joints in vivo. *Mol Imaging.* 2009 Dec;8(6):330-40.

Weinreich S, Chopin M, Ivanyi P, Pla M. Naturally occurring arthritis in experimental animals. *Clin Exp Rheumatol.* 1993 May-Jun;11 Suppl 9:S9-14. Review.

Weishaupt D, Köchli VD, Marinček B. „Relaxation“. In: Weishaupt D, Köchli VD, Marinček B. *Wie funktioniert MRI?*. 5th ed. Heidelberg, Deutschland: Springer Medizin Verlag, 2006:5-8.

Weishaupt D, Köchli VD, Marinček B. „Spin und das MR-Phänomen“. In: Weishaupt D, Köchli VD, Marinček B. *Wie funktioniert MRI?*. 5th ed. Heidelberg, Deutschland: Springer Medizin Verlag, 2006:1-4.

Wilke WS, Sweeney TJ, Calabrese LH. Early, aggressive therapy for rheumatoid arthritis: concerns, descriptions, and estimate of outcome. *Semin Arthritis Rheum.* 1993 Oct;23(2 Suppl 1):26-41.

Wang Y, Cha YN, Kim KS, Kim C. Taurine chloramine inhibits osteoclastogenesis and splenic lymphocyte proliferation in mice with collagen-induced arthritis. *Eur J Pharmacol.* 2011 Jul 28.

Workie DW, Dardzinski BJ, Graham TB, Laor T, Bommer WA, O'Brien KJ. Quantification of dynamic contrast-enhanced MR imaging of the knee in children with juvenile rheumatoid arthritis based on pharmacokinetic modeling. *Magn. Reson. Imaging.* 2004; 22: 1201-1210.

Yamato M, Tamai K, Yamaguchi T, Ohno W. MRI of the knee in rheumatoid arthritis: Gd-DTPA perfusion dynamics. *J. Comput. Assist. Tomogr.* 1993; 17: 781-785.

Young A, Koduri G. Extra-articular manifestations and complications of rheumatoid arthritis. *Best Pract Res Clin Rheumatol.* 2007 Oct;21(5):907-27. Review.

Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Peter Manuel Moscovici, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: ‚Gelenkentzündung in der Kontrastmittel-gestützten Magnetresonanztomographie: Experimentelle Untersuchungen zum Einfluss von Matrixkomponenten auf das Signalenhancement‘ selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung (siehe „Uniform Requirements for Manuscripts (URM)“ des ICMJE - www.icmje.org) kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) entsprechen den URM (s. o.) und werden von mir verantwortet.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem/der Betreuer/in, angegeben sind. Sämtliche Publikationen, die aus dieser Dissertation hervorgegangen sind und bei denen ich Autor bin, entsprechen den URM (s. o.) und werden von mir verantwortet.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§156, 161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Datum

Unterschrift

Anteilerklärung an etwaigen erfolgten Publikationen:

Keine erfolgten Publikationen zu dieser Dissertation.

Lebenslauf

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

Danksagung

An dieser Stelle gebührt vielen Menschen Dank:

Großer Dank gilt natürlich meinem Doktorvater Prof. Dr. Matthias Taupitz für die Überlassung des Themas und die permanente gute Betreuung, insbesondere die große Geduld und das kontinuierliche zeitnahe Feed-back. Nicht zuletzt möchte ich mich bei ihm auch für die stetige Förderung und Lehre im klinischen Alltag bedanken.

Bei meiner Betreuerin Dr. Ines Gemeinhardt möchte ich mich neben der Hilfe bei der Arthritisinduktion, der klinischen Bewertung der Tiere und der Anfertigung der Histo-Schnitte auch für Tipps, Anregungen und Diskussionen besonders bedanken.

Besonderer Dank gilt auch Dr. Jörg Schnorr, der mir mit den MRT-Experimenten, Ratschlägen zur histologischen Auswertung sowie den initialen Denkanstößen für diese Arbeit half.

Bei Dr. Susanne Wagner möchte ich mich insbesondere für das Näherbringen der Histologie und Physiologie der Extrazellulärmatrix bedanken ohne die die Interpretation der Ergebnisse schwierig gewesen wäre.

Besonders bedanken möchte ich mich auch bei Dipl.-Math. Maryna Verba vom Institut für Biometrie und klinische Epidemiologie für die nochmalige Dursicht der Ergebnisse bei der statistischen Beratung.

Ich danke Prof. Dr. Bernd Hamm für die Möglichkeit zur hervorragenden klinischen Weiterbildung sowie für die Rahmenbedingungen, welche die wissenschaftliche Tätigkeit neben der Klinik im Allgemeinen, sowie die Anfertigung dieser Dissertation im Speziellen erst ermöglichten.

Bedanken möchte ich mich natürlich auch bei meinen Kollegen, sowohl im Labor, als auch in der Klinik für das gute Arbeitsklima und den stets konstruktiven und hilfreichen Gedankenaustausch.

Nicht zuletzt gilt mein ganz spezieller Dank meiner Familie, die mich immer unterstützt hat. Ohne ihren Beistand wäre diese Arbeit sicher nicht zustande gekommen.