

6 Zusammenfassung

Ziel dieser Arbeit war die Untersuchung eines Zitrat-stabilisierten, eisenoxidhaltigen, superparamagnetischen Kontrastmittels (VSOP-C144T) für die intravenöse MR-Lymphographie. Die neuen, monomer beschichteten Eisenoxidpartikel erfüllen mit ihrer definierten und besonders geringen Größe ($\varnothing < 8\text{nm}$) die wichtigste Voraussetzung für eine lange Bluthalbwertszeit. Eine optimale Aufnahme und Verteilung in die Lymphknoten werden dadurch ermöglicht.

Die Partikel wurden histologisch und MR-tomographisch (T_{2w} GRE- und d_w SE- Sequenz) auf mehrere wichtige Eigenschaften untersucht: Anreicherung in den Lymphknoten, Leber und Milz, Metabolisierung, Reutilisation und Verträglichkeit.

Die Substanz VSOP-C144T wurde an der Wistar-Ratte im Vergleich zu entsprechend alten Kontrolltieren untersucht, um dem altersbedingt unterschiedlichen Eisenstoffwechsel Rechnung zu tragen. Die optimale Dosis wurde 24 Stunden p.i. unter verschiedenen Dosierungen (25, 50 bzw. 75 $\mu\text{mol Fe/kg KM iv.}$) durch Beurteilung der MR-Signalreduktion ermittelt.

Die Dosis 75 $\mu\text{mol Fe/kg KM}$ wurde aufgrund der deutlichen MR-Signalreduktion um ca. 23% bei den oberflächlichen bzw. 44% bei den Eingeweidelymphknoten (Median der rel. SI ,24 h‘ 0,64 bzw. 0,53 im Vergleich zur entsprechenden Kontrollgruppe 0,93 bzw. 0,93) zusätzlich über einen Zeitraum von zwei Monaten (1 Woche, 1 bzw. 2 Monate p.i.) untersucht.

Die deutliche Signalreduktion geht mit einem verstärkten histologischen Nachweis an Eisen in den Lymphknoten einher, wobei intralymphonodale Inhomogenitäten sowohl histologisch als auch MR-tomographisch beobachtet werden. Der vollständige lichtmikroskopische Nachweis dieser kleinen Partikel in den Makrophagen gelingt erst nach Agglomeration ab ,1 Wo‘ p.i., obwohl die maximale Signalreduktion schon früher beobachtet wird (,24 h‘).

Der anschließende Anstieg der MR-Signalintensitäten durch den Verlust der Spinellstruktur, sowie der histologisch nachweisbare Rückgang an Eisen im Lymphknoten zu den nachfolgenden Untersuchungszeitpunkten verdeutlichen die Metabolisierung. Lediglich die Eingeweidelymphknoten zeigen auch eine Woche bzw. einen Monat p.i. eine weitere Signalreduktion einhergehend mit relativ verstärktem Eisennachweis. Ihre Signalintensitäten liegen auch 2 Monate p.i. deutlich unter denen der entsprechenden Kontrollgruppen sowie den oberflächlichen Lymphknoten (Mediane der rel. SI Eingeweidelymphknoten: 0,69 bei ,2 Mo‘ bzw. 0,85 bei entsprechend alten Kontrolltieren, Reduktion ca. 19%). Gründe für die stärkere

Anreicherung sind die stärkere Durchblutung der Drainagegebiete der Eingeweidelymphknoten, sowie deren Kollektorenfunktion. Die Unterschiede im Abbau des Kontrastmittels entstehen durch die geringere Immunreaktion, ersichtlich aus der geringeren Aktivierung der Sinusmakrophagen im Vergleich zu den oberflächlichen Lymphknoten.

Einen unterschiedlich schnellen Rückgang von Signalreduktion bzw. Eisenmenge spiegeln auch die Ergebnisse der histologischen und MR-Untersuchung von Leber und Milz wider. Das Kontrastmittel VSOP-C144T zeichnet sich durch eine relativ geringe Aufnahme in Leber und Milz aus. Während in der Leber die Kontrastmittel induzierte Signalreduktion und der histologische Eisennachweis relativ langsam auf das Niveau der entsprechend alten Kontrolltiere absinkt, ist in der Milz eine Woche p.i. keine Signalreduktion mehr nachweisbar. Die im Gegensatz dazu histologisch nachweisbare, zunehmende Eisenmenge in der Milz kommt durch die langsame Abgabe des dort abgebauten Eisens in den Stoffwechsel, sowie altersbedingt und haltungsbedingt steigende Eisenaufnahme und Speicherung zustande. Die histologisch nachweisbare Eisenmenge übertrifft die der entsprechend alten Kontrolltiere, während die Signalintensitäten keine Abweichungen zeigen.

Im Vergleich mit einem herkömmlichen Eisenoxidkontrastmittel (SPIO) wurde eine ebenso deutliche, dosisabhängige Signalreduktion gefunden. Allerdings ist für die äquivalente Signalreduktion bei den hier untersuchten VSOP-Eisenoxidpartikeln nur ca. Dreiviertel der Kontrastmittelmenge nötig. Ein weiterer Vorteil der VSOP-Substanz ist die gute Verträglichkeit, da diese statt des potentiell allergen wirkenden Dextran Zitrats und Tannin enthält. Die beobachteten Effekte des VSOP-Kontrastmittels auf die Aktivität der immunkompetenten Lymphknoten scheinen gering zu sein. Lediglich die unspezifische Abwehr, gekennzeichnet durch die Makrophagen, wird besonders in den oberflächlichen Lymphknoten aktiviert. Es konnten keine pathologischen Veränderungen erkannt werden.

Die interlymphnodalen Unterschiede bei dem untersuchten VSOP-Kontrastmittel sind geringer ausgeprägt als bei dem herkömmlichen SPIO-Kontrastmittel. Dem Ziel der gleichmäßigen, interlymphnodalen Anreicherung mit deutlicher, homogener, reversibler Signalreduktion kommt das VSOP-Kontrastmittel somit näher. Allerdings sind die Kontrastierung der lymphnodalen Binnenstrukturen, sowie die Homogenität der Verteilung für die untersuchte Substanz noch nicht optimal.

7 Summary

MRI and histological Examination on Rats with Citrate-stabilised, Small Iron Oxide Particles as Contrast Agent for intravenous MR-Lymphography

Objective of this study was to examine a citrate- stabilised, superparamagnetic iron oxide contrast agent (VSOP-C144T) for intravenous MR-Lymphography. With their defined and very small diameter ($\varnothing < 8\text{nm}$) the new, Monomer coated particles fulfil the most important requirement for a long blood half-life, thus making an optimised uptake and distribution in the lymph nodes possible.

The particles were tested on account of several important characteristics by means of histology and MRI (T_{2w}GRE- and d_wSE- sequence): accumulation in lymph nodes, liver and spleen, metabolisation, reutilisation and compatibility.

Research on the substance VSOP-C144T was conducted on Wistar- rats, comparing them to equally aged control- animals, thereby taking the age-related changes in iron metabolism into account.

The optimal dose (75 $\mu\text{mol Fe/kg BM}$) was selected out of different dosages (25, 50 resp. 75 $\mu\text{mol Fe/kg BM iv.}$) by assessing the signal reduction 24 hours p.i.. This dose showed the most pronounced signal reduction of app. 23% in superficial and 44% in internal lymph nodes (Mean of rel. SI '24 h' 0,64 resp. 0,53 in comparison to the correspondent control group 0,93 resp. 0,93) and was observed additionally over a period of two months (1week, 1 resp. 2 months p.i.).

Histological verification of iron in lymph nodes accompanies the profound signal reduction whereas intralymphonodal inhomogeneity are observed histologically as well as by MRI. The complete light microscopic detection of these very small particles in the macrophages succeeds after their agglomeration at one week p.i., although maximum signal reduction is observed at an earlier stage (24 h p.i.).

The metabolisation is demonstrated at later times of examination by the following rise in signal intensity due to the loss of spinell structure as well as the histological decline of iron in the lymph nodes.

Solely the internal Lymph nodes show a further signal reduction at one week and one month p.i. with a relative increase in detectable iron.

At two months p.i., their signal intensities are clearly reduced compared to the correspondent control group and the superficial lymph nodes (Mean of rel SI internal lymph nodes: 0,69 at ,2 Mo' resp. correspondent control group 0,85, signal reduction app. 19%).

Reasons for the increasing accumulation are the larger perfusion of the draining area of the internal lymph nodes and their collector function. The differences in degradation of the contrast media derive from less immune reaction demonstrated by the lower activation of sinus macrophages in comparison to superficial lymph nodes.

A differing decline of signal reductions resp. iron quantity in terms of time in liver and spleen were also reflected by their histological and MRI findings.

Whilst the contrast agent- induced signal reduction and histological iron quantities in the liver decline relatively slowly to the levels of the correspondent control groups, the spleen shows no more signal reduction as early as one week p.i.. In contrast, the histologically verifiable, rising amount of iron in the spleen not only results from slower elimination of its metabolised iron, furthermore iron uptake and storage are also increased by age-related and husbandry-related factors. Histologically detectable iron in the spleen surpasses the amount of the correspondent control group, though signal intensities no longer differ.

The comparison with a conventional iron oxide contrast agent (SPIO) revealed a likewise distinct and dose-related signal reduction. However, a dose reduction of the tested VSOP-particles by two thirds produces an equivalent signal reduction. An additional advantage of VSOP- contrast agents is their better compatibility as they consist of citrate and tannin instead of the potentially allergenic dextrane. The observed effects of the VSOP-contrast agent on the activity of the immune- competent lymph nodes appeared to be slight.

Solely the unspecific immune reaction, characterised by the macrophages, is activated especially in superficial lymph nodes. No pathological changes were to be observed.

The interlymphnodal differences were less predominant in the tested VSOP- contrast media than in the conventional SPIO-substance. Consequently the VSOP-contrast media approach the objective of an even, interlymphnodal accumulation with pronounced, homogenous, reversible signal reduction. Contrast of internal structures as well as homogeneity of distribution are not yet ideal for the examined substance.