

## 7. Zusammenfassung

Ziel dieser Arbeit war der Nachweis entzündlicher Gelenkveränderungen am Modell der Maus mit Hilfe unspezifischer Nahinfrarot (NIR)-Farbstoffe. Als Tiermodell wurde das etablierte Modell der Lyme-Borreliose der Maus eingesetzt. Es wurde die normierte Fluoreszenz im Bereich der Sprunggelenke nach der intravenösen Gabe von NIR-Farbstoffen dargestellt und ermittelt. Die gewonnenen Ergebnisse sollten klären, ob dieses Verfahren zum Nachweis von Arthritiden geeignet ist und ob es ergänzend eine Aussage zum Grad der Entzündung ermöglicht.

In den Vorversuchen wurden die zwei unspezifischen NIR-Farbstoffe Indocyaningrün (ICG) und NIR-1 auf ihre Eignung zum Nachweis einer Arthritis überprüft und die Optimierung des Messablaufs und der Messtechnik vorgenommen. Während sich mit ICG aufgrund der hohen Plasmaproteinbindung lediglich die Anflutungsphase im Körper bzw. die erhöhte Perfusion im Entzündungsgebiet darstellen lassen kann, kommt es bei dem hydrophilen Farbstoff NIR-1 zu einer Extravasation und Anreicherung im Bereich der entzündlichen Veränderungen.

In den weiterführenden Versuchen wurde daher der Farbstoff NIR-1 sieben Kontroll- und zehn Tieren mit einer Gelenkentzündung in der Dosis 1  $\mu\text{mol/kg}$  sowie acht Kontroll- und zehn Tieren mit Arthritis in der Dosis 2  $\mu\text{mol/kg}$  injiziert. Die Anregung der Laser-induzierten Fluoreszenz erfolgte mit einem Festkörperlasersystem bei einer Anregungswellenlänge von  $\lambda = 740 \text{ nm}$ . Zum Nachweis der Fluoreszenz wurde eine intensivierte CCD-Kamera eingesetzt. Direkt mit der Applikation des Farbstoffes wurde die Aufnahme einer aus 60 Einzelbildern bestehenden Bildfolge begonnen, die eine Zeitspanne von ca. drei Minuten umfasst. Eine die Messung abschliessende Aufnahme wurde fünf Minuten nach der Injektion des Farbstoffes erstellt.

Die Auswertung der ermittelten Daten erfolgte mit Hilfe einer Windows-basierten Visual-Basic-Auswertesoftware (Petzelt, D., PTB). Nach der Platzierung von drei gleich großen „regions of interest“ (ROIs) im Bereich des linken und rechten Sprunggelenkes sowie in einer Referenz wurde in diesen Arealen zunächst der arithmetische Mittelwert der Fluoreszenzintensität aller Pixel ermittelt. Für jedes Sprunggelenk wurde durch die Division mit der Fluoreszenzintensität der Referenz eine normierte Fluoreszenzintensität ermittelt, die mögliche Schwankungen in der Laserleistung ausgleicht.

Für die Dosis 1  $\mu\text{mol/kg}$  konnten signifikante Unterschiede zwischen Kontrolltieren und Tieren mit einer Gelenkentzündung für den Kurvenverlauf (Steigung) und für die normierte Fluoreszenzintensität drei und fünf Minuten nach Farbstoffinjektion ermittelt werden. Für die Dosis 2  $\mu\text{mol/kg}$  unterschieden sich diese Werte zwischen den Tiergruppen nicht.

Eine individuelle Auswertung der NIR-Bilder durch zwei Untersucher anhand der Verteilungsmuster der Fluoreszenzintensität ermöglichte mit der Dosis 2  $\mu\text{mol/kg}$  eine erste Aussage über das Vorliegen einer Arthritis bei Mäusen mit einer Borrelien-Infektion. Bei einer Dosis von 1  $\mu\text{mol/kg}$  ergab die individuelle Auswertung kein eindeutiges Ergebnis.

Die histologische Untersuchung anhand HE-gefärbter Schnittpräparate zeigte bei den Tieren mit einer Borrelien-Infektion pathologische Veränderungen im Bereich der Synovialis, der Achillessehne, im umliegenden Gewebe und vereinzelt auch an Knorpel und Knochen.

Die NIR-Bildgebung ermöglichte mit Unterstützung von unspezifischen Farbstoffen die Abgrenzung einer Arthritis im Bereich der Sprunggelenke von Mäusen. Der Farbstoff NIR-1 lieferte dabei in der Dosierung 1  $\mu\text{mol/kg}$  gute Differenzierungsmöglichkeiten zwischen Tieren mit einer Arthritis und Kontrolltieren, wobei sich die mittelgradigen Arthritiden im Vergleich zu geringgradigen und hochgradigen Arthritiden signalreicher darstellten. Das Ergebnis zeigt, dass die farbstoffunterstützte NIR-Bildgebung das Potential besitzt, als Früherkennungsverfahren entzündlicher Veränderungen in der Human- und Veterinärmedizin z. B. in der Diagnose von rheumatoider Arthritis eingesetzt zu werden. Sie stellt ein einfach zu bedienendes, relativ kostengünstiges Verfahren dar, welches mit geringen Anforderungen an den apparativen, finanziellen sowie personellen Aufwand und ohne ionisierende Strahlung auskommt.