

Technische Universität München
Institut für Röntgendiagnostik

**Experimentelle Studie zur Wertigkeit von neuen Eisenoxid-Kontrastmitteln
für die Magnet Resonanz Tomographie der Arthritis**

Johannes von Vopelius-Feldt
München, Juli 2007

Technische Universität München
Institut für Röntgendiagnostik

**Experimentelle Studie zur Wertigkeit von neuen Eisenoxid-Kontrastmitteln
für die Magnet Resonanz Tomographie der Arthritis**

Johannes von Vopelius-Feldt

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät für Medizin der Technischen Universität München zur Erlangung des akademischen Grades eines Doktors der Medizin genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Univ.-Prof. Dr. D. Neumeier
Prüfer der Dissertation:
1. Univ.-Prof. Dr. E. J. Rummeny
2. apl. Prof. Dr. H. P. Rechl

Die Dissertation wurde am 16.07.2007 bei der Technischen Universität München eingereicht und durch die Fakultät für Medizin am 09.04.2008 angenommen.

Inhaltsverzeichnis

| | | |
|-----------|--|----|
| 1. | Einleitung | 1 |
| 2. | Grundlagen | 4 |
| 2.1. | Makroskopische Anatomie und Histologie des Kniegelenkes..... | 4 |
| 2.2. | Rheumatoide Arthritis (RA)..... | 6 |
| 2.3. | Charakteristika der Antigen induzierten Arthritis (AIA)..... | 9 |
| 2.4. | Bildgebende Verfahren zur Diagnostik der RA..... | 12 |
| 2.5. | MRT des normalen und arthritischen Kniegelenkes..... | 14 |
| 2.6. | MRT-Kontrastmittel..... | 17 |
| 2.6.1. | Übersicht..... | 17 |
| 2.6.2. | Paramagnetische MRT-Kontrastmittel..... | 21 |
| 2.6.3. | Superparamagnetische MRT-Kontrastmittel..... | 24 |
| 2.6.3.1. | SHU555C..... | 26 |
| 2.6.3.2. | Ferumoxtran-10..... | 27 |
| 2.6.3.3. | Ferumoxytol..... | 28 |
| 3. | Material und Methoden | 30 |
| 3.1. | Tiermodell..... | 30 |
| 3.1.1. | Narkose..... | 30 |
| 3.1.2. | Induktion der Monoarthritis..... | 31 |
| 3.2. | Kontrastmittel..... | 32 |
| 3.3. | Magnet Resonanz Tomographie..... | 32 |
| 3.4. | Datenauswertung..... | 37 |
| 3.5. | Histologie..... | 38 |
| 3.6. | Statistik..... | 40 |

Inhaltsverzeichnis

| | | |
|-----------|---|----|
| 4. | Ergebnisse | 42 |
| 4.1. | Histologie..... | 42 |
| 4.2. | Detektion der Arthritis mit Gd-DTPA und SHU555C..... | 45 |
| 4.3. | Charakterisierung der Arthritis mit SHU555C..... | 52 |
| 4.4. | Vergleich der T1- und T2-Effekte der USPIOs SHU555C, Ferumoxtran-10 und Ferumoxytol..... | 56 |
| 5. | Diskussion | 63 |
| | Zusammenfassung | 70 |
| | Literaturverzeichnis | 73 |
| | Danksagung | 87 |

1. Einleitung

Die Rheumatoide Arthritis (RA) ist eine chronisch entzündliche Systemerkrankung mit weltweitem Vorkommen, sie geht mit erhöhter Morbidität, Mortalität sowie hohen wirtschaftlichen Verlusten einher. Sie betrifft geschätzt etwa 40 Millionen Menschen weltweit, die durchschnittliche Lebenserwartung betroffener Patienten mit RA sinkt um 7.5 Jahre bei Männern und um 3.5 Jahre bei Frauen. Frauen erkranken in etwa doppelt so oft an der RA wie Männer. (Silman, S265-72; Gabriel, 269-81) Der initial entscheidende Schritt im RA-Management ist eine möglichst frühzeitige Diagnose mit konsekutivem frühzeitigem Therapiebeginn und dem Ziel, irreversible Gelenksdestruktionen zu vermindern oder gar zu vermeiden. (Quinn, S154-7) Diese frühe Diagnose kann klinisch schwer zu stellen sein, da in der Anfangsphase der Erkrankung nur wenige, eher unspezifische Symptome vorhanden sind. (Schumacher, S15-9) Der Rheumafaktor z.B. ist lediglich bei 75% der Patienten mit RA positiv, er kann aber auch bei anderen Erkrankungen positiv sein und ist auch bei 5% der gesunden Bevölkerung im Serum zu finden. (Schrohenloher)

Konventionelle Röntgenaufnahmen zeigen lediglich fortgeschrittene, sekundäre Prozesse im Krankheitsverlauf der RA wie Erosionen des Knochens und Gelenkspaltveränderungen und -deformitäten. (Machold, 2278-87) Die Magnetresonanztomographie (MRT) ermöglicht eine hochauflösende Darstellung der Synovialmembran, an der sich die frühesten und auch kausalen pathologischen Veränderungen der RA zeigen. (Klarlund, 521-8; Rand, 107-10; McQueen, 350-6; Tehranzadeh, 89-107) Histopathologisch kommt es bei der frühen RA zu einer Angiogenese der Gefäße der Synovialmembran und einer Zellproliferation und -infiltration durch Lymphozyten, Monozyten bzw. Makrophagen. (Paleolog, S81-90; Kinne, 189-202; Iguchi, 600-13; Jenkins, 171-80) Diese Prozesse sind eng miteinander verknüpft, aktuelle Studien lieferten neue Erkenntnisse über diese Zusammenhänge und die Rolle verschiedener

Wachstumsfaktoren und Zytokine für den Krankheitsverlauf der RA. (Jackson, 457-65) Das paramagnetische MRT-Standardkontrastmittel Gd-DTPA ermöglicht die Darstellung dieser Hypervaskularisation der Synovialmembran. (Klarlund, 521-8; Rand, 107-10; McQueen, 350-6; Tehranzadeh, 89-107) Mit MRT-Kriterien für die frühe RA, die durch eine positive Signalanhebung nach i.v. Gabe von Gd-DTPA definiert sind, konnte die Erkrankung mit einer Sensitivität von 96% und einer Genauigkeit von 94% diagnostiziert werden. (Sugimoto, 185-92) Die Diagnose durch klinische Zeichen, definiert durch die American Rheumatism Association erreicht vergleichsweise eine Sensitivität von 69% und eine Genauigkeit von 81%. (Arnett, 315-24)

Jedoch hat das Kontrastmittel Gd-DTPA auch einige Nachteile. Die Kontrastmittelanreicherung in der Synovialmembran ist unspezifisch und lediglich von kurzer Dauer. (Sugimoto, 159-65; Ostergaard, 1050-4) In bis zu 19% zeigt auch die Synovialmembran nicht erkrankter Gelenke eine gewisse Signalanhebung, was zu einem Überlappen von Kontrastmitteleffekten von normalen und arthritischen Gelenken führt. (Rand, 26-30; Klarlund, 108-15) Es gibt keine festgelegten Grenzwerte oder Gradierungen des GD-DTPA Effektes, der eine RA des untersuchten Gelenkes definiert, ausschließt, oder beschreibt. Des Weiteren kann mit der Verwendung von Gd-DTPA zwar die Hypervaskularisation dargestellt werden, diese ist aber nur ein Teil der Prozesse, die in der frühe RA stattfinden, gleichzeitige Zellinfiltrationen werden mit dieser Methode nicht erfasst.

Kontrastmittel die aus so genannten kleinen Eisenoxidpartikeln (Ultrasmall Superparamagnetic Iron Oxides Particles, USPIOs) bestehen, könnten diese zwei wichtigen Faktoren der Pathogenese der frühen RA erfassen. In ihrer Eigenschaft als makromolekulare Blutpool-Kontrastmittel könnten die USPIOs eine Signaländerung in der arthritischen Synovialmembran hervorrufen, die mit dem Blutvolumen und der Kapillarpermeabilität korreliert und ein Maß für die Angiogenese in der Synovialmembran ist. (Turetschek, 882-8) Außerdem sind

USPIOs auch zellspezifische Kontrastmittel, sie werden von Makrophagen phagozytiert. Gewebe des RES zeigen nach USPIO Gabe einen negativen T2-Effekt. So wäre zu erwarten, dass durch die Aufnahme von USPIOs in Makrophagen der arthritischen Synovialmembran und die daraus resultierende Signaländerung der entzündliche Prozess charakterisiert und gradiert werden kann. (Lutz, 149-57)

Derzeit befinden sich drei USPIOs weltweit in unterschiedlichen Phasen der klinischen Prüfung zur Anwendung als zellspezifische Blutpoolkontrastmittel: Ferumoxtran-10, SHU555C und Ferumoxytol. Alle drei Kontrastmittel besitzen eine ähnliche Pharmakokinetik und ein ähnliches Sicherheitsprofil.

Die Ziele dieser Arbeit sind:

- (1) Erkennung der Arthritis: Vergleich der T1-Signalanhebung der Synovialitis nach Gabe des neuen USPIOs SHU555C und nach Gabe des Standardkontrastmittel Gd-DTPA.
- (2) Charakterisierung der Arthritis: Vergleich der Kontrastmitteleffekte des USPIOs SHU555C und des Standard MRT-Kontrastmittels Gd-DTPA in normaler und arthritischer Synovialmembran, mit Korrelation zur Histopathologie.
- (3) Vergleich der drei USPIO-Kontrastmittel für die Erkennung und Charakterisierung der Arthritis: Vergleich von SHU555C, Ferumoxtran-10 und Ferumoxytol bezüglich Ausprägung und Verlauf der Kontrastmitteleffekte in normaler und arthritischer Synovialmembran.

2. Grundlagen

2.1. Makroskopische Anatomie und Histologie des Kniegelenkes

Man unterscheidet im menschlichen Körper drei verschiedene Arten von Gelenken. Die Synarthrosen, wie man sie zum Beispiel zwischen den Knochen der Schädeldecke sieht, sind prinzipiell unbeweglich, die betreffenden Knochenoberflächen liegen eng zusammen und werden durch Bindegewebe verbunden. In Amphiarthrosen erlauben Faserknorpel (Bandscheiben) oder interosseale Bänder wie zwischen distaler Tibia und Fibula eine eingeschränkte Bewegung benachbarter Knochen. Der Grossteil der Gelenke des Menschen sind jedoch so genannte Diarthrosen, klassische Beispiele sind das Knie- oder Humeroulnargelenk. Diese beweglichen Gelenke bestehen stets aus den jeweils beteiligten Knochen, Knorpel, Bändern und einer Synovialmembran. (Gray, 217-293)

Knochen besteht makroskopisch aus kortikalem und trabekulärem Knochen. An der Oberfläche und in Gebieten wo mechanische Belastungen auftreten ist die Knochensubstanz zur so genannten Kompakta verdichtet. Das Innere des Knochens besteht aus trabekulär aufgebauter Spongiosa, deren Hohlräume mit Knochenmark gefüllt sind. Die gesamte Oberfläche des Knochens mit Ausnahme der Gelenkflächen ist von einer dünnen Schicht Periost überzogen. Zwei Drittel des Knochens ist anorganische Substanz, bestehend aus über 80 Prozent Kalzium-Phosphat, ansonsten überwiegend aus Kalzium-Karbonat, Kalzium-Fluorid, Kalzium-Chlorid und Magnesium-Phosphat. Histologisch kann man kreisförmig angeordnete Lamellen mit Osteozyten erkennen, die konzentrisch um so genannte Haversche Kanäle angeordnet sind. Die Osteozyten entsprechen eingemauerten Osteoblasten, durch die Haverschen Kanäle laufen Gefäße und Nerven. Die Knochenmatrix ist einem ständigen Umbau

unterworfen, der durch die Aktivität von Osteoklasten und Osteoblasten bedingt ist. (Gray, 217-293; Gray, 1073-1146)

Hyaliner Knorpel überzieht die Gelenkflächen der Knochen in Diarthrosen und schützt den Knochen vor übermäßiger Belastung, indem er punktuellen Druck auf die gesamte Gelenkfläche verteilt. Die bläuliche, elastisch verformbare Substanz enthält keine Nerven oder Gefäße. Mikroskopisch besteht der Knorpel aus einer homologen, strukturlosen Knorpelmatrix, aufgebaut aus Kollagen vom Typ II sowie Hyaluronsäure, Chondroitin-Sulfat und Keratan-Sulfat. In dieser Matrix findet man ovale Lakunen, in die jeweils zwei oder mehr Chondrozyten eingelagert sind. (Gray, 1073-1146; Ross, 132-148)

In einigen mechanisch stark belasteten Gelenken, wie zum Beispiel dem Kniegelenk, bestehen zusätzliche Knorpelstrukturen, die Menisci, die die Druckverteilung auf die Gelenkflächen zusätzlich unterstützen. (Gray, 1073-1146) Beide, laterale und mediale, Menisci im Kniegelenk sind halbringförmige, faserknorpelige Strukturen, die dem Tibiaplateau aufliegen und somit die Gelenkfläche zwischen Tibia und Femur vergrößern. Sie sind gegenüber beiden Gelenkflächen beweglich, diese Beweglichkeit ist eingeschränkt durch Verbindungen zu Tibia, einzelnen Bändern und der Gelenkkapsel. (Sinnatamby, 128-134) Menisci bestehen aus fibrösem Knorpelgewebe, mikroskopisch dominieren Fibrillen des dichten Bindegewebes über Chondrozyten und hyaliner Knorpelmatrix. (Ross, 132-148)

Die Aufgabe der Bänder besteht darin, das jeweilige Gelenk zu stabilisieren und unphysiologische Bewegungen zu vermeiden. Sie verbinden die artikulierenden Enden der entsprechenden Knochen, bestehen aus Fasergewebe, sind extrem zugfest und unelastisch. Ein Band besteht aus parallel verlaufenden Bündeln von angeordneten, kollagenen Fasern, so genannten Fibrillen, zwischen diesen Bündeln finden sich säulenartig angeordnete Fibrozyten. (Gray, 217-293; Gray, 1073-1146)

Die Synovialmembran ist eine zarte, bindegewebige Membran, die den gesamten Innenraum der Gelenkkapsel mit Ausnahme des Gelenkknorpels bedeckt. Außerdem bildet sie die Begrenzung der Bursae und die Sehnenscheiden. Sie produziert die weißlich transparente, visköse Gelenkflüssigkeit, auch Synovia genannt. (Gray, 1073-1146)

Histologisch sieht man einen Aufbau der Synovialmembran aus zwei Schichten. Die Intima ist dem Gelenkinnenraum zugewandt und besteht aus einer oder wenigen Reihen von flachen Zellen mesenchymalen Ursprungs. Bei diesen unterscheidet man die makrophagenartigen A Zellen von den fibroblastenartigen B Zellen mit sekretorischen Eigenschaften. Im Gegensatz zu serösen Membranen sind diese Zellen nicht durch eine kollagene Basalmembran von der nachfolgenden Stromaschicht getrennt. Diese Stromaschicht besteht aus losem, kollagenem Bindegewebe, in dem sich Blutgefäße, relativ wenig Zellen, meist synoviale Fibroblasten (Synoviozyten) und einzelne Makrophagen, befinden. (Fassbender, 55-159)

2.2. Rheumatoide Arthritis (RA)

Typisch für die rheumatoide Arthritis ist die symmetrische Manifestation an den peripheren Gelenken, wie zum Beispiel den proximalen Interphalangeal- oder Kniegelenken. Allgemeine Zeichen der akuten Arthritis sind eine Leistungsminderung mit Abgeschlagenheit und Schwächegefühl. Die betroffenen Gelenke zeigen eine mit Schmerzen und Einschränkung der Beweglichkeit einhergehende Schwellung sowie Hautrötung. (Hough, 2612-2652)

Die RA ist eine systemische Erkrankung, deren exakte Ursache nach wie vor unklar ist. Eine genetische Prädisposition ist durch bestimmte MHC-II und TCR (T-Zell-Rezeptor) Gene gegeben, beide Moleküle spielen eine Rolle in der

Reaktion des Immunsystems auf Antigene. (Jenkins, 171-80; Weyand, 801-6.) Der so genannte Rheumafaktor, ein Antikörper, meist IgM, gegen den Fc-Teil von IgG, wird im Serum von bis zu 75% von RA Patienten gefunden, ist jedoch nicht spezifisch für die RA. Die entstehenden IgG-IgM-Komplexe reichern sich in der Synovialmembran an und aktivieren das Komplementsystem. Rheumafaktoren sind weder Ursache noch Bedingung für die RA, ihr Vorkommen lässt jedoch einen schwereren Verlauf der Erkrankung erwarten. (Jenkins, 171-80; Fassbender, 55-159) Die Bedeutung von T-Zellen, besonders vom CD4+ und Th1 Typ, wird am Beginn der Pathogenese der RA, in der Erkennung und Präsentation von Autoantigenen via MHC-II vermutet. Im weiteren Verlauf führt die Aktivierung von Monozyten und Makrophagen zur Produktion von proinflammatorischen Zytokinen und Chemokinen wie $\text{TNF}\alpha$ und IL-1 β . Über verschiedene Signalkaskaden und Aktivierung weiterer Entzündungszellen kommt es letztendlich zur akuten Synovialitis mit Hypervaskularisation, Hyperplasie und Zellinfiltration. (Jenkins, 171-80)

Die ersten histologischen Veränderungen zeigen sich in der entzündeten Synovialmembran. In der initialen exudativ-infiltrativen Phase findet man Fibrinablagerungen auf der Synovialoberfläche sowie eine Infiltration der Stromaschicht durch Makrophagen, Lymphozyten und Plasmazellen. (Fassbender, 55-159) Darauf folgt eine proliferative Phase mit einer deutlich erhöhten Anzahl von Makrophagen in der Intima, die überwiegend auf einer Rekrutierung von Monozyten aus dem peripheren Blut und Knochenmark beruht. Die fibroblastenartigen B Zellen zeigen eine ausgeprägte Hyperplasie, mit gesteigerter Proliferation und verminderter Apoptoserate. (Falk, 55-67; Fassbender, 55-159) Diese Hyperplasie führt zu zellreichen, villösen Formationen, die die Kontaktfläche zwischen Intima und Gelenkflüssigkeit vergrößern. Geprägt wird diese Phase durch die teils massive Proliferation der Fibroblasten der Stromaschicht, die aufgrund hoher Zelldichte und invasivem Wachstum auch als "tumor like proliferation" bezeichnet wird. (Fassbender, 55-159) In der anschließenden, vergleichsweise lang andauernden

Übergangsphase, verringert sich die Zelldichte des Synovialgewebes wieder, man findet vermehrt Blutgefäße, Lymphfollikel, Makrophagen und Plasmazellen. Zuletzt befindet sich die Synovialmembran wieder in einer Ruhephase, kennzeichnend sind die jetzt vaskularisierten Villi, zellarmes Stroma mit lymphozytärem Infiltrat sowie einzelne Siderophagen. (Fassbender, 55-159)

Bei länger andauernder Arthritis kann es durch die Schwellung zu Überdehnung der Gelenkkapsel und Bänder kommen, Luxationen und Bewegungseinschränkung der betroffenen Gelenke sind die Folge. (Hough, 2612-2652) Auch können die Bänder, vor allem das vordere Kreuzband, durch infiltratives Wachstum der Synovialmembran geschädigt werden. Das kann bis zur Ruptur einzelner Bänder führen. (Fujii, 1728-34. Epub 2002 Dec 6.)

Die möglichen Ursachen für die irreversiblen Schädigungen an Knochen und Knorpel der betroffenen Gelenke bei chronischer Arthritis sind vielfältig. Zytokine, produziert von Makrophagen und T-Lymphozyten der Synovialmembran, stimulieren die Osteoklastengenesse und damit den Knochenabbau. Auch könnte die tumorartige Proliferation der Fibroblasten zu Knochenläsionen durch infiltratives Wachstum führen. (Fassbender, 55-159) Autoantikörper gegen Kollagen vom Typ-II stehen im Verdacht, am Abbau von Knorpelsubstanz beteiligt zu sein, ebenso wie von Makrophagen sezerniertes $\text{TNF}\alpha$. (Barnett, 290-7.) Nicht zuletzt stimulieren IL-1 und TNF die Fibroblasten der Synovialmembran sowie die Chondrozyten zur Produktion von zahlreichen Proteasen und Kollagenasen, die zu Abbau von Knochen- und Knorpelmatrix führen. (Jenkins, 171-80; Kay, III2-III9.)

Histologisch findet man in der chronischen Arthritis lokale Destruktion des physiologischen Knorpel und Knochengewebes, mit einem Infiltrat von Synovialgewebe. Das Infiltrat besteht zunächst aus zahlreichen Fibroblasten sowie Makrophagen, entwickelt sich dann zu vaskularisiertem Granulationsgewebe. (Fassbender, 55-159)

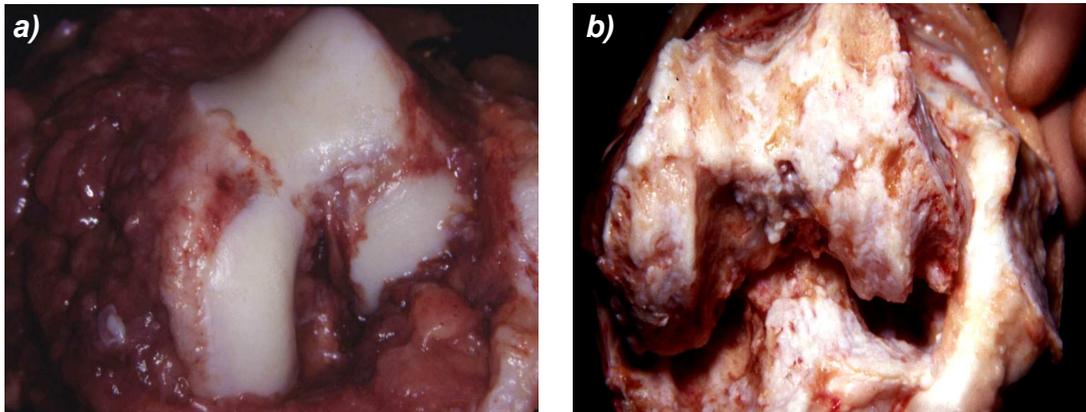


Abbildung 1: Rheumatoide Arthritis des Kniegelenkes. Fröhe (a) und fortgeschrittene (b) Gelenkveränderungen (Aufnahmen erstellt von N. Brewster).

2.3. Charakteristika der Antigen-induzierten Arthritis (AIA)

Wie auch alle anderen derzeit existierenden Tiermodelle ist die in unserer Studie angewandte Antigen-induzierte Arthritis (AIA) kein exaktes Spiegelbild der RA im Menschen. (van den Berg, 599-616.) Je nachdem, welche Aspekte untersucht werden, sollte das in einer Studie verwendete Modell einzelne der folgenden Merkmale der humanen RA enthalten: Klinische Charakteristika, histologisches Bild der Entzündung im Gelenk, Assoziation mit MHC-II Genen, Bildung von Rheumafaktoren, potentiell pathogene Immunreaktionen wie z.B. Bildung von Kollagen-II-Antikörper, sowie das Ansprechen auf spezifische Therapien. (Klareskog, 315-33.; Sokoloff, 107-45.)

Die Versuche, entsprechende Tiermodelle mit Hilfe immunologischer Methoden hervorzurufen, reichen zurück bis zum Anfang des 20. Jahrhunderts. Friedberger injizierte 1913 homologes Serum in Kniegelenke von zuvor sensibilisierten Hasen, was zu einer Immunreaktion vom Sofort-Typ führte. (Friedberger, 88) Die entstandene Synovialitis zeigte jedoch weder morphologische Ähnlichkeiten noch den chronischen Verlauf der rheumatoiden Arthritis. (Dumonde, 373-83.) 1961 sensibilisierten Dumonde und Glynn Hasen mit einer Emulsion von

vollständigem Freundschens Adjuvans und hetero- bzw. homologem Fibrin. Nach intraartikulärer Injektion des jeweiligen Fibrins entwickelte sich eine chronische, monoartikuläre Arthritis aufgrund einer verzögerten Hypersensibilität gegen Fibrin.(Dumonde, 373-83.) Dieses, später als Antigen-induzierte Arthritis bezeichnete Modell wurde bald auch mit anderen Substanzen wie Ovalbumin und bovinem Serumalbumin (BSA) als Antigen beschrieben.(Glynn, Suppl:3-4.) 1977 verwendeten Brackertz et al. methyliertes bovines Serumalbumin (mBSA) als Antigen zur Arthritisinduktion in Mäusen. (Brackertz, 1639-44.) Dieses Modell wurde bis heute, mit unterschiedlichen Variationen was Menge, Konzentrationen und Zeitpunkte der Injektionen angeht, in zahlreichen Studien an verschiedenen Versuchstieren, meist Hasen, Mäusen und Ratten, durchgeführt. (Andersson, 1772-7.; Andersson, 1778-84.; Beckmann, 1047-55; Cooke, 323-38.; Dawson, 119-28.; Varisco, 781-7.)

Die Antigen-induzierte Arthritis mit mBSA und Freundschem Adjuvans zeigt folgende Pathogenese: Nach einer systemischen Verabreichung einer Emulsion von mBSA und Freundschem Adjuvans entwickeln die Versuchstiere innerhalb von einigen Tagen eine T-Zell-abhängige Immunität gegenüber mBSA. (Griffiths, 88-95.) Nach einer späteren intraartikulären Injektion (Tag 0) von mBSA bilden im sich Gelenk Antigen-Antikörper-Komplexe, die die Grundlage für eine sich entwickelnde Synovialitis sind.(Cooke, 323-38.) Die akute Phase beginnt nach wenigen Stunden mit einer erhöhten Vaskularität der Synovialmembran, die an Tag 3 ihr Maximum erreicht und zu Ödemen und Gelenkerguss führt. (Andersson, 1772-7.) Ab Tag 1 zeigen sich eine zunehmende Proliferation der Fibroblasten sowie ein Infiltrat von Monozyten, Makrophagen und Granulozyten. Die resultierende Volumenzunahme der Synovialmembran ist an Tag 7 maximal. (Andersson, 1778-84.; Griffiths, 88-95.; Verschure, 371-81.)

Erste chronische Veränderungen wie Knorpelschädigung sind schon ab dem dritten Tag erkennbar, jedoch erst nach ca. zwei Wochen deutlich ausgeprägt, hier zeigen sich auch die ersten ossären Destruktionen. (Andersson, 1772-7.;

Griffiths, 88-95.) Ein kleiner Teil des an Tag 0 in das Kniegelenk injizierten mBSA verbleibt in Knorpel und Bändern, von wo aus es beständig in das Gelenk diffundiert. Das führt zu einer milden chronischen Arthritis, die bis zu Tag 30 beschrieben wurde. (van den Berg, 233-41.) Auch resultiert eine Hypersensitivität des jeweiligen Gelenks gegenüber dem Antigen, so dass mit erneuter i.a. Injektion von mBSA eine Reaktivierung der akuten Arthritis möglich ist (sog. "flare-up"). (Buchner, 61-74.)

Betrachtet man die oben erwähnten Merkmale, die ein Tiermodell für RA besitzen sollte, so zeigt die AIA sowohl Gemeinsamkeiten als auch Unterschiede.

Unterschiede zwischen humaner RA und der AIA in Ratten finden sich im klinischen Bild, der genetischen Grundlage, Bildung von Rheumafaktoren und der Pathogenese. Der für die RA typische, symmetrische Befall mehrerer Gelenke ist nicht gegeben, da mit der intraartikulären Injektion des mBSA gezielt eine monoartikuläre Arthritis induziert wird. Der Vorteil hierbei ist, dass mit dem linken, lediglich mit NaCl injizierten und somit nicht entzündeten Kniegelenk eine Kontrolle im selben Tier vorhanden ist. Weder eine relevante Assoziation mit MHC-II Genen, noch die Bildung von Rheumafaktoren im Lauf der AIA sind bei diesem Modell bisher beschrieben worden. Auch über potentiell pathogene Immunreaktionen lässt sich mit diesem Modell keine Aussage treffen, die Sensibilisierung gegen das verwendete mBSA steht in keinem direkten Zusammenhang mit der multifaktorellen Pathogenese der humanen RA. (Klareskog, 315-33.)

Merkmale der RA, die sich auch in der AIA zeigen, sind das histologische Bild der Entzündung im Gelenk, Teile des klinischen Bildes, sowie das Ansprechen auf spezifische Therapien. Mikroskopisch entwickelt sich in beiden Fällen eine akut entzündete Synovialmembran mit einer vergleichbaren villösen Hypertrophie mit Hypervaskularisation und Infiltration durch Lymphozyten,

Mastzellen und Makrophagen. (Wooley, 47-58.) Der Verlauf der RA mit Schüben von akuter Arthritis gefolgt von längeren chronischen Phasen lässt sich mit wiederholter i.a. Antigeninjektion simulieren. (Buchner, 61-74.) Auch bietet die AIA die Möglichkeit, Anti-Makrophagen und Anti-T-Zell Therapien zu evaluieren, da die Entstehung und der Verlauf der Arthritis wesentlich von diesen Zelltypen abhängen. (Brackertz, 1639-44.; Verschure, 371-81.)

Da der Schwerpunkt dieser Studie in der Bildgebung der Arthritis liegt, die wiederum von der Morphologie des Gewebes abhängt, entschieden wir uns aufgrund der histologischen Ähnlichkeit für die Antigen-induzierte Arthritis als Modell für die RA. Die Pathogenese und die zugrunde liegenden immunologischen Vorgänge in der Entstehung der humanen RA können mit diesem Tiermodell nicht untersucht werden, dies ist aber auch nicht das Ziel dieser Arbeit.

2.4. Bildgebende Verfahren zur Diagnostik der Rheumatoiden Arthritis

Die bildgebenden Verfahren zur Darstellung der RA umfassen konventionelle Röntgenbilder, Ultraschall, nuklearmedizinische Methoden, Computertomographie, sowie die Magnet-Resonanz-Tomographie.

Die konventionelle Radiographie (KR) ist aufgrund der breiten Verfügbarkeit und relativ geringen Kosten nach wie vor das Mittel der Wahl zur Evaluation von Patienten mit Synovialitis. (Wakefield, 435-42.) Der große Nachteil der KR gegenüber den anderen bildgebenden Methoden ist, dass lediglich Veränderungen des Knochengewebes dargestellt werden können. So kann man Erosion des Knochens und die Weite des Gelenkspaltes beurteilen, diese Prozesse zeigen sich jedoch erst relativ spät im Verlauf der RA und sind dann teilweise irreversibel. (Peterfy, 288-95.) (Machold, 2278-87)

Die Sonographie zur Diagnostik der RA hat in den letzten Jahren an Bedeutung gewonnen, da sie kostengünstig und nicht-invasiv die Möglichkeit bietet, Weichteilveränderungen in den entzündeten Gelenken darzustellen. (Szkudlarek, 2103-12.) Auch bei der Erkennung von Knochenläsionen ist Ultraschall der konventionellen Radiologie überlegen, erreicht jedoch nicht die Sensitivität der Magnet-Resonanz-Tomographie. (Hermann, 3338-49.) (Alasaarela, 1152-6.) Limitierend auf die Anwendbarkeit wirken vor allem das eingeschränkte Gesichtsfeld und die schlechte Erreichbarkeit mancher Gelenkareale. (Wakefield, 435-42.)

Nuklearmedizinische Methoden wie Positronen-Emissions-Tomographie (PET) oder Szintigraphie bieten die Möglichkeit, radioaktiv markierte Proteine, Antikörper oder Zellen im Körper zu lokalisieren. So lässt sich im PET entzündliches Gewebe aufgrund der erhöhten Glukoseaufnahme mit ^{18}F markiertem FDG darstellen, ^{11}C -Cholin wird von schnell proliferierenden Zellen in Synovialitis aufgenommen. (Roivainen, 3077-84.) Mit $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -markierten Phosphaten kann man szintigraphisch die entzündlichen Knochenveränderungen detektieren und auch das Ausmaß der Entzündung anhand des relativen Traceruptakes abschätzen. (Sandrock, 476-80.) Die szintigraphischen Methoden zeigen eine hohe Sensitivität, jedoch geringe Spezifität und geringe anatomische Auflösung für die Diagnose der entzündlichen Gelenkveränderungen. (Roivainen, 3077-84.; Sandrock, 476-80.)

Die Computer-Tomographie ist trotz hoher Auflösung bei großem Gesichtsfeld nur relativ selten das Mittel der Wahl zur RA Diagnostik. Die Durchführung der Untersuchung ist relativ aufwendig und die hohe Strahlenbelastung der CT ist ungünstig für die Anwendung zur Verlaufs- und Therapiekontrolle von RA Patienten, die wiederholte Scans, oft über Jahre hinweg, erfordert. (Wakefield, 435-42.)

Mit der Magnet-Resonanz-Tomographie lassen sich alle Strukturen des Gelenkes, Skelettanteile, Knorpel, Bandstrukturen und die Synovia, darstellen. Die Abbildung dieser Strukturen auf der MRT-Aufnahme erfolgt mit unterschiedlicher Auflösung und unterschiedlichem Kontrast, je nachdem welche Pulssequenzparameter verwendet werden. Die Möglichkeit, sowohl den Zustand von Synovialmembran und Sehnen zu beurteilen, als auch kleinste Knochenläsionen zu erkennen, machen die MRI zu einem wertvollen Instrument bei der Diagnostik der frühen RA. (Peterfy, 288-95.) (Benton, 555-61.)

2.5. Magnet-Resonanz-Tomographie des normalen und pathologischen Kniegelenkes

Der hohe Weichteilkontrast der MRT beruht auf Unterschieden in der Protonendichte sowie den T1- und T2-Relaxationszeiten der einzelnen Gewebe. Diese unterschiedlichen Gewebeeigenschaften können zur Klärung unterschiedlicher Fragestellungen betont oder unterdrückt werden. (Hendrick, 43-67)

Bei langer Repetitionszeit (TR) und kurzer Echozeit (TE) entstehen Protonendichte-gewichtete Aufnahmen, hier ist die Signalintensität umso größer, je höher der Wassergehalt und damit die Protonendichte eines Gewebes ist. T1-gewichtete Bilder erhält man, wenn man sowohl eine kurze TR als auch eine kurze TE wählt, dabei entspricht eine lange T1-Relaxationszeit einer geringen Signalintensität. die Anatomie von Gelenkstrukturen lässt sich mit T1-gewichteten Aufnahmen besonders gut darstellen. Wählt man hingegen eine Sequenz mit langer TR und langer TE, so entsteht ein T2-gewichtetes Bild, das bei langer T2-Relaxationszeit eine hohe Signalintensität zeigt. Die meisten pathologischen Prozesse, so auch der Gelenkerguss und die Synovialproliferation bei der RA zeigen auf T2-gewichteten Aufnahmen eine sehr hohe Signalintensität, während normale Gelenkstrukturen mit relativ geringer

Signalintensität zur Darstellung kommen. Daher eignen sich T2-gewichtete Aufnahmen besonders für die Erkennung des Entzündungsprozesses. (Rinck, 155-174)

Tabelle 1: Signalintensitäten (SI) unterschiedlicher Gewebe bei verschiedenen Pulssequenzen. Hohe SI:+++ Mittel:++ Niedrig:+ Kein Signal:0 (Gires, 263-283)

| | Protonendichte | T1 | T2 |
|---|----------------|-----|-----|
| Fett | +++ | +++ | ++ |
| Muskel | + | + | + |
| Kortikaler Knochen Sehnen und Bänder Gelenkkapsel Fibröser Knorpel | 0 | 0 | 0 |
| Hyaliner Knorpel | ++ | ++ | + |
| Gelenkflüssigkeit | + | + | +++ |

Bei dem Erscheinungsbild des Knochens muss man zwischen dem kortikalen und dem trabekulären Knochen unterscheiden. Kortikaler Knochen erscheint aufgrund seines geringen Wassergehaltes stets dunkel. Der mit fettigem und hämatopoetischen Knochenmark angefüllte trabekuläre Knochen besitzt besonders auf T1 Bildern eine hohe SI, diese ist bei T2-Wichtung etwas geringer. (Gires, 263-283)

Der hyaline Knorpel der Gelenkflächen zeigt auf T2-gewichteten Aufnahmen eine geringe SI, bei T1-Wichtung steigt die SI etwas an, was den Kontrast gegenüber dem dunklen Knochen vergrößert. Die Oberfläche des Knorpels lässt sich besser auf T2 Bildern beurteilen, da hier die Gelenkflüssigkeit eine hohe SI aufweist. Der hohe Anteil an Fibrillen in den Menisci beschränkt die vorhandenen Wassermoleküle in ihrer Beweglichkeit, es resultiert eine geringere SI als bei hyalinem Knorpel. (Crues, 811-871)

Auch die Bänder des Kniegelenkes wie vorderes und hinteres Kreuzband, das Innen- und Außenband, sowie die Patellarsehne bestehen überwiegend aus Fibrillen. Dementsprechend zeigen sie ebenfalls eine geringe SI, sie erscheinen stets dunkel. (Gires, 263-283)

Die Synovialmembran des nicht pathologischen Kniegelenkes ist aufgrund ihrer geringen Dicke normalerweise nicht zu erkennen. Selten kann sie auf T2-gewichteten Bildern als dünner Streifen mit hoher SI wahrgenommen werden. (Gires, 263-283)

Im Knochen von RA Patienten sind oft juxtaartikuläre Knochenmarksödeme zu erkennen. Sie fallen aufgrund höheren Wassergehaltes im T1-gewichteten Bild als subkortikale Areale mit niedriger SI auf, auf T2-Aufnahmen besitzen sie eine hohe SI. Die, meist unscharf begrenzten Bereiche werden als Vorstufen von erosiven Knochenläsionen angesehen. (Alasaarela, 1152-6.; Wakefield, 435-42.) Diese tatsächlichen Läsionen sind, durch OMERACT, unter anderem definiert als scharf begrenzte Areale mit Unterbrechung der einheitlichen dunklen Linie des kortikalen Knochens sowie Erhöhung der sonst niedrigen SI auf T1-Bildern. (Ostergaard, 1385-6.)

Bei der Beurteilung des Knorpels im Kniegelenk von RA Patienten sind vor allem die Dicke sowie die Beschaffenheit der Oberfläche des Gelenkknorpels von Bedeutung. Die Dicke des Knorpels nimmt uniform und diffus ab, fokale Invasionen durch Synovialmembran zeigen sich als unregelmäßige Erosion der Knorpeloberfläche. (Forslind, 683-8.; Verstraete, 674-89.)

Bänder, die aufgrund der Entzündung Läsionen entwickelten, zeigen auf MR-Bildern Areale, in denen die ansonsten homogen niedrige SI gestört ist, die Oberfläche ist weniger regelmäßig und der Durchmesser des Bandes nimmt ab. Rupturen erscheinen als Unterbrechungen des dunklen Streifens des normalen Bandes. (Fujii, 1728-34. Epub 2002 Dec 6.)

Die entzündete Synovialmembran ist bei der RA aufgrund der Volumenzunahme MR-tomographisch zu erkennen. Sie zeigt eine niedrige SI auf T1-Aufnahmen, auf T2-gewichteten Bildern kann man zwischen hypervaskularisiertem Pannus mit hoher SI und fibrösem Pannus mit niedrigerer SI unterscheiden. Schwierigkeiten können in der Abgrenzung gegenüber bestehendem Gelenkerguss bestehen, da hypervaskularisierte Synovialmembran und Gelenkflüssigkeit ähnlich niedrige bzw. hohe SI-Werte auf T1 bzw. T2 Bildern besitzen. Es kann versucht werden, mit starker T2-Wichtung den Kontrast zu verbessern, im Allgemeinen werden aber zur Darstellung der Synovialmembran Kontrastmittel, wie z.B. Gd-DTPA, verwendet. (Narvaez, 1819-28. Epub 2002 Jan 11.; Beltran, 153-7.; Ostergaard, 1050-4)

2.6. Kontrastmittel

2.6.1. Übersicht

Um eine Systematik für die Vielfalt der neuen MR-Kontrastmittel zu erhalten, gibt es verschiedene Möglichkeiten der Einteilung in Gruppen. So kann man ein Kontrastmittel anhand seines Effektes auf die Bildgebung, seiner Verteilung im Körpervolumen, sowie der Anreicherung in bestimmten Organen klassifizieren. (Rinck, 155-174)

Bei dem Effekt auf die Bildgebung unterscheidet man zwischen T1- und T2-Kontrastmitteln. T1-Kontrastmittel verkürzen die T1-Relaxationszeit, was sich in einer Verstärkung der Signalintensität von kontrastmittelhaltigem Blut und Gewebe auf T1-gewichteten Bildern äußert. Dieser Effekt ist umso ausgeprägter, je länger die native T1-Relaxationszeit eines Gewebes ist. Klassische Vertreter dieser Gruppe sind gadolinium-haltige Kontrastmittel (z.B. Gd-DTPA, Gd-DOTA). Im Gegensatz dazu verkürzen T2-Kontrastmittel die T2-Relaxationszeit, dies

ergibt einen Signalabfall in T2-gewichteten Bildern. Klassische Vertreter der T2-Kontrastmittel sind Eisenoxid-haltige Kontrastmittel, die man weiter unterteilt in superparamagnetische Eisenoxidpartikel (SPIO) mit einem Partikeldurchmesser > 50 nm, z.B. Ferumoxides (Endorem) und SHU555A (Resovist), und in ultrakleine SPIO (USPIO) mit einem Partikeldurchmesser < 50 nm, z.B. Ferumoxtran-10 (Sinerem), SHU555C (Supravist) sowie Ferumoxytol. (Rinck, 155-174; Dawson, 201-4.; Metz, 1851-8)

Die Einteilung bezüglich der Molekülgröße der MRT-Kontrastmittel erfolgt in niedermolekulare und makromolekulare Kontrastmittel. Die Molekülgröße bestimmt die Bioverteilung der Kontrastmittel. Niedermolekulare Kontrastmittel haben ein Molekulargewicht von < 1 kDa. Klassische Vertreter der niedermolekularen MR-Kontrastmittel sind die MRT-Standardkontrastmittel Gd-DTPA, Gadodiamid und Gd-DOTA. Sie verteilen sich nach i.v. Injektion zunächst im Intravasalraum und treten dann, innerhalb von Sekunden nach der Injektion, rasch in den extrazellulären Raum aus. Diese niedermolekularen Kontrastmittel werden glomerulär filtriert und rasch renal eliminiert. (Runge, 257-275) Im Gegensatz dazu besitzen makromolekulare Kontrastmittel ein Molekulargewicht von >1 kDa. Ihre Größe verhindert in normalen Geweben das Austreten aus der Blutbahn, so dass das Verteilungsvolumen annähernd dem Blutvolumen entspricht. Prototyp der makromolekularen Kontrastmittel ist das Albumin-Gd-DTPA. Aber auch die superparamagnetischen Eisenoxid-Partikel Ferumoxides und Ferumoxtran-10 werden zur Gruppe der makromolekularen Kontrastmittel gezählt. (Rinck, 155-174)

Schließlich kann man die MRT-Kontrastmittel auch in zell-spezifische, intrazelluläre und unspezifische, extrazelluläre Kontrastmittel klassifizieren. Unspezifische Kontrastmittel reichern sich unselektiv im Extravasalraum in allen Geweben mit Ausnahme des ZNS an. Zu den unspezifischen MR-Kontrastmitteln zählen die niedermolekularen Standard-Kontrastmittel Gd-DTPA, Gadodiamid oder Gd-DOTA. Zellspezifische Kontrastmittel werden selektiv von

bestimmten Zellverbänden oder Organen aufgenommen. Die oben bereits erwähnten superparamagnetischen Eisenoxid-Partikel Ferumoxides und Ferumoxtran-10 werden von Zellen des retikuloendothelialen Systems (RES) phagozytiert und reichern sich so in diesen Zellen an. Dadurch kommt es in Organen des RES wie Leber, Milz, Knochenmark und Lymphknoten zu einem Signalintensitätsverlust auf T2-gewichteten MRT-Bildern. Weitere Vertreter der zell-spezifischen Kontrastmittel sind Mn-DPDP, Gd-DTPA-EOB und Gd-BOPTA, diese markieren spezifisch Hepatozyten. (Rinck, 155-174; Runge, 257-275)

Tabelle 2: Ausgewählte MRT-Kontrastmittel und ihre Anwendungen

| Kontrastmittel | Handelsname | Applikation |
|---------------------------------------|-------------|--|
| T1-Kontrastmittel | | |
| Gd-DOTA | Dotarem | ZNS-, Organ-, Gefäßdarstellung |
| Gd-DTPA | Magnevist | ZNS-, Organ-, Gefäßdarstellung |
| Gd-BOPTA | MultiHance | Leber- und Pankreasdarstellung |
| T2-Kontrastmittel | | |
| Feruglose | Clariscan | MR-Angiographie, Perfusionsstudien |
| Ferumoxides | Endorem | Leberdarstellung |
| Ferumoxtran-10 | Sinerem | Lymphknotendarstellung |
| EZR-Kontrastmittel | | |
| Gd-DOTA | Dotarem | ZNS-, Organ-, Gefäßdarstellung |
| Gd-DTPA | Magnevist | ZNS-, Organ-, Gefäßdarstellung |
| Makromolekulare Kontrastmittel | | |
| Albumin-Gd-DTPA | | MR-Angiographie, Perfusionsstudien: v.a. Tumorperfusion |
| Polylysine-Gd-DTPA | | MR-Angiographie, Perfusionsstudien: v.a. Tumorperfusion |
| Carboxymethyldextran-Gd-DOTA | | MR-Angiographie, Perfusionsstudien: v.a. Tumorperfusion |
| P 792 | Vistarem | MR-Angiographie |
| Gd-Cascade-Polymer | Gadomer 17 | MR-Angiographie |
| spezifische Kontrastmittel | | |
| hepatobiliär | | |
| Gd-EOB-DTPA | Eovist | Leberdarstellung |
| Mn-DPDP | Teslascan | Leberdarstellung |
| Gd-BOPTA | MultiHance | Leberdarstellung |
| RES | | |
| Ferumoxides | Endorem | Leberdarstellung |
| Ferumoxtran-10 | Sinerem | Leber-, Lymphknoten- und Gefäßdarstellung |

Die folgenden Kapitel geben nähere Informationen zu den in dieser Arbeit verwendeten MRT-Kontrastmitteln.

2.6.2. Paramagnetische Kontrastmittel

Niedermolekulare Gadolinium-Chelate sind die Standard-Kontrastmittel in der Magnetresonanztomographie. Prototyp ist das Gadopentetat-Dimeglumin (Gd-DTPA, Magnevist[®], Schering), weitere Vertreter sind das Gadodiamid (Omniscan[™], Amersham Health), Gadoteridol (ProHance[®], Bracco Diagnostics) und Gadoterate Dimeglumin (Dotarem[®], Guerbet). Nach den bereits erwähnten Kriterien werden diese Kontrastmittel als unspezifische, extrazelluläre T1-Kontrastmittel bezeichnet. (Rinck, 155-174)

Für die vorliegende Studie wurde das in Deutschland für klinische Untersuchungen zugelassene Standard-MRT-Kontrastmittel Gadopentetat-Dimeglumin (Gd-DTPA, Magnevist[®]) verwendet.

Gadolinium ist eine seltene Erde und besitzt eine hohe Zahl von sieben ungepaarten Elektronen. Einzelne, ungepaarte Elektronen erzeugen ein sehr viel stärkeres magnetisches Feld als gepaarte Elektronen und Protonen. Auch wird die Relaxationszeit der Elektronenspins eines Moleküls länger, je mehr ungepaarte Elektronen vorhanden sind. (Rinck, 155-174; Runge, 257-275)

Der Aufbau der Elektronenhülle von Gadolinium resultiert in einer relativ langsamen Relaxation der Elektronenspins sowie einem magnetischen Moment, das circa um den Faktor 1000 stärker ist als das von Protonen. (Reimer, 9)

Dies führt dazu, dass Gadolinium die Präzession benachbarter Wasserstoffatome beeinflusst. Die T1-Relaxationszeit der kontrastmittelaufnehmenden Gewebe wird verkürzt, die Region erscheint auf T1-gewichteten MR-Bildern heller als vor Kontrastmittelgabe. Dieser Prozess wird auch als positive Verstärkung, Gd-DTPA und Gd-DOTA daher auch als positive Kontrastmittel bezeichnet. (Rinck, 1993, 155-74) Gleichzeitig besitzen alle gadoliniumhaltigen Kontrastmittel auch einen T2-Effekt, der sich durch Signalmindering auf T2-gewichteten Bildern zeigt. Dieser Effekt ist im Vergleich

zum T1-Effekt relativ gering, so dass er im Allgemeinen keine Anwendung findet. (Rinck, 155-174; Schering)

Tabelle 3: Einzelne paramagnetischen Substanzen und ihre Eigenschaften
(Rinck, 155-174)

| Element | | Anzahl ungepaarter Elektronen | Relaxationszeit der Elektronenspins |
|------------|------------------|-------------------------------|---|
| Gadolinium | Gd ³⁺ | 7 | 10 ⁻⁸ – 10 ⁻⁹ s |
| Mangan | Mn ²⁺ | 5 | 10 ⁻⁸ – 10 ⁻⁹ s |
| Dysporium | Dy ³⁺ | 5 | 10 ⁻¹² – 10 ⁻¹³ s |
| Eisen | Fe ²⁺ | 4 | 10 ⁻¹⁰ – 10 ⁻¹¹ s |

Aufgrund der hohen Toxizität von Gadolinium wird das Element zur Verwendung als Kontrastmittel mit DTPA (Diethylentriaminpentaessigsäure) komplexiert. Diese, Gadopentetat-Dimeglumin (Gd-DTPA) genannte Verbindung, ist extrem hydrophil, nichttoxisch und weist keine nennenswerte Proteinbindung oder Enzymwechselwirkung auf. Während die Beeinflussung der Signalintensität weitgehend auf den paramagnetischen Effekt des Gadoliniums zurückzuführen ist, bestimmt das DTPA die pharmakokinetischen Eigenschaften des Komplexes. (Schering)

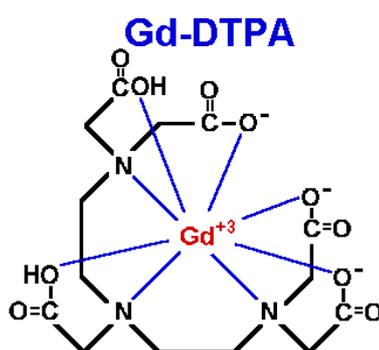


Abbildung 2: Chemische Struktur von Gadolinium DTPA (Hornak)

Tabelle 4: Physikalische Eigenschaften von Magnevist® (Schering)

| | | |
|-----------------------------------|-----------|------------------------------|
| Osmolalität | bei 37° C | 1.96 Osm/kg H ₂ O |
| Viskosität | bei 20° C | 4.9 mPa · s (bzw. cP) |
| | 37° C | 2.1 mPa · s (bzw. cP) |
| Dichte | bei 20° C | 1.210 g/cm ³ |
| | 37° C | 1.195 g/cm ³ |
| pH | | 7.0 - 7.9 |
| In vivo und in vitro Stabilität | | 22 - 23 log K |
| Verteilungskoeffizient bei pH 7.6 | | 0.0001 |

Magnevist® kann intravenös als Bolusinjektion verabreicht werden. Die Dosis variiert bei klinischer Anwendung zwischen 0.1 mmol Gadopentetat/kg Körpergewicht (0.2 ml Magnevist®/kg) und 0.3 mmol Gadopentetat/kg (0.6 ml Magnevist®/kg). Nach Injektion und einer wenigen Minuten dauernden Verteilungsphase im Intravasalraum verteilt sich Gd-DTPA dosisunabhängig im extrazellulären Raum. Die intakte Blut-Hirn- sowie Blut-Testes-Schranke wird nicht passiert.

Die Ausscheidung des Gadopentetat-Dimeglumins erfolgt in unveränderter Form nahezu ausschließlich durch glomeruläre Filtration über die Niere, mit einer mit der von Inulin vergleichbaren Clearance. Die Halbwertszeit der Konzentration von Gd-DTPA im Plasma beträgt bei Dosierung bis 0.25 mmol/kg Körpergewicht 90 Minuten. Nach 6 Stunden kann man 83%, nach 24 Stunden 91% der ursprünglich verabreichten Menge an Gd-DTPA im Urin wieder finden. Weniger als ein Prozent wird über den Stuhl ausgeschieden. (Schering)

Die folgende Tabelle gibt einen Überblick über die Nebenwirkungen von Magnevist®.

Tabelle 5: Nebenwirkungen von Magnevist® nach 45 Millionen Anwendungen (Niendorf)

| Nebenwirkung | Häufigkeit des Auftretens pro 100 000 Anwendungen |
|----------------------------------|---|
| Subjektive Symptome | 11.61 |
| Kardiovaskuläre Reaktionen | 4.68 |
| Übelkeit | 4.34 |
| Urtikaria | 4.15 |
| Reaktion der Mukosa | 3.39 |
| Dyspnoe | 1.93 |
| Hautausschlag | 1.68 |
| Reaktion an der Injektionsstelle | 0.94 |
| Larynxödeme | 0.43 |
| Anaphylaktischer Schock | 0.29 |
| Krampfanfall | 0.25 |
| Sehstörungen | 0.12 |
| Gefäßödeme | 0.07 |
| Nierenschädigungen | 0.04 |

Gadolinium-DTPA war das erste paramagnetische, extrazelluläre gadoliniumhaltige Kontrastmittel, das für die MRT verwendet wurde. Die ersten Anwendungen an Patienten wurden 1983 durchgeführt, unter dem Handelsnamen Magnevist® (Schering, Berlin) wurde Gd-DTPA 1988 erstmals in Europa, den USA und Japan für die kraniale und spinale MRT zugelassen. (Niendorf)

2.6.3. Superparamagnetische Kontrastmittel und Suszeptibilitätseffekt

Zu den superparamagnetischen Kontrastmitteln zählen die superparamagnetischen Eisenoxidpartikel (SPIO) mit einem Durchmesser > 50 nm, wie Ferumoxides (Endorem®, Guerbet) und Ferucarbotran (Resovist®, Schering), sowie die ultrakleinen superparamagnetischen Eisenoxidpartikel (USPIO) mit einem Durchmesser < 50 nm, wie Ferumoxtran-10 (Sinerem®, Guerbet), SHU555C (Supravist®, Schering) und Ferumoxytol (Advanced Magnetics) (Tabelle 6). Ihr Effekt auf die Signalintensität besteht überwiegend aus einer

Verkürzung der T2*- und T2-Relaxationszeit, was zu einer Signalminderung auf T2*/T2-gewichteten Bildern führt. Dieser Effekt wird auch als Suszeptibilitätseffekt bezeichnet. (Metz, 1851-8; Rinck, 155-174)

Ferromagnetische Substanzen wie Eisen, Nickel oder Fe₃O₄ bestehen aus Multidomänenpartikeln, die jeweils ihren eigenen magnetischen Dipol besitzen. Setzt man diese Substanzen einem externen magnetischen Feld aus, so richten sich die einzelnen Dipole parallel zu diesem aus, wodurch die Substanz ihr eigenes Magnetfeld aufbaut. Dies ist schon bei einem relativ schwachen externen Magnetfeld zu beobachten und wird als hohe magnetische Suszeptibilität bezeichnet. Nach Entfernen des externen Magnetfeldes verbleiben die Dipole in ihrer organisierten Orientierung, die Substanz behält ihr eigenes, permanentes Magnetfeld. (Saini, 735-43.; Josephson, 647-53.)

Reduziert man die Größe der Partikel auf z.B. unter 350Å für Fe₃O₄, so entstehen Eindomänenpartikel mit superparamagnetischen Eigenschaften. Wie die Multidomänenpartikel der ferromagnetischen Substanzen, so richten sich auch die Dipole der Eindomänenpartikel parallel zu einem externen Magnetfeld, wie z.B. im MRT, aus. Auch hier kommt es zur Bildung eines lokalen Magnetfeldes, das die Relaxationszeiten des umgebenden Gewebes beeinflusst. Diese Verkürzung von überwiegend T2* und T2 mit konsekutiver Signalminderung auf T2*/T2-Bildern nennt man Suszeptibilitätseffekt. Im Unterschied zu den ferromagnetischen Substanzen ist der Einfluss der Brown'schen Molekularbewegung durch die geringe Partikelgröße so groß, dass sich die Dipole nach Entfernen des externen Magnetfeldes wieder zufällig im Raum orientieren. Somit behalten superparamagnetische Substanzen unter Normalbedingungen kein permanentes magnetisches Feld. Insofern ähneln sie paramagnetischen Substanzen, jedoch ist die durch ein externes Magnetfeld induzierbare Magnetisierung der superparamagnetischen Stoffe wesentlich höher. (Saini, 735-43.; Rinck, 155-174; Wang, 2319-31.)

Tabelle 6: Verschiedene superparamagnetische Kontrastmittel und ihre Eigenschaften (Metz, 1851-8; Wang, 2319-31.; Ersoy, 1181-6)

| Name | Substanz-klasse | Hülle | Partikel-durchmesser | T1-Relaxation | T2-Relaxation |
|---------------------------|-----------------|-----------------------------|----------------------|-------------------------------------|--------------------------------------|
| Ferucarbotran (Resovist®) | SPIO | Carboxydextran (ionisch) | 62 nm | 25 mM ⁻¹ s ⁻¹ | 151 mM ⁻¹ s ⁻¹ |
| Ferumoxides (Endorem®) | SPIO | Dextran T10 (anionisch) | 80-150 nm | 40 mM ⁻¹ s ⁻¹ | 160 mM ⁻¹ s ⁻¹ |
| Ferumoxtran-10 (Sinerem®) | USPIO | Dextran T10 (anionisch) | 20-50 nm | 22 mM ⁻¹ s ⁻¹ | 80 mM ⁻¹ s ⁻¹ |
| SHU555C (Supravist®) | USPIO | Carboxydextran (ionisch) | 21 nm | 24 mM ⁻¹ s ⁻¹ | 60 mM ⁻¹ s ⁻¹ |
| Ferumoxytol | USPIO | Carbohydrat semisynthetisch | 30 nm | N.A. | N.A. |

2.6.3.1. SHU555C

SHU555C (Supravist®, Schering AG, Berlin) ist ein USPIO, das sich derzeit in Phase III der klinischen Prüfung befindet und voraussichtlich 2006 in Europa zugelassen wird. SHU555C besteht aus einer Subfraktion von kleinen USPIO-Partikeln, die durch Filterung aus dem SPIO Ferucarbotran (Resovist®, Schering AG) gewonnen werden. SHU555C und Ferucarbotran Partikel sind Eisenoxidpartikel, die von einer ionischen Carboxydextranhülle umgeben sind. Das SPIO Ferucarbotran besteht aus Partikeln von durchschnittlich 62nm Gesamtdurchmesser, der Eisenoxidkern von SHU 555 C hat einen Durchmesser von 3-4nm, die Carboxydextranhülle 20-30nm.(Turetschek, 448-55.) Die geringere Partikelgröße von SHU555C im Vergleich zu Ferucarbotran bedingt eine höheres T1/T2* Verhältnis, mit R1 und R2 Relaxivitäten von 7.8 bzw. 86.6 L*mmol⁻¹*s⁻¹ bei einer Feldstärke von 2Tesla. Auch resultiert eine verlängerte Plasmahalbwertszeit, da die kleineren Partikel weniger schnell vom retikuloendothelialen System phagozytiert werden. (Allkemper, 432-8.; Metz, 1851-8) Aufgrund dieser Eigenschaften wird SHU555C als Kontrastmittel zur

Angiographie mit positivem Effekt auf T1-gewichteten Bildern untersucht. (Clarke, 787-94; Tombach, S425-7) Die bisher höchste verwendete Dosis von SHU555C für die Anwendung im Menschen ist $80\mu\text{mol/kg}$, es ist als Bolus injizierbar. (Tombach, S425-7) Das Verteilungsvolumen ist 0.04l/kg , die akute Toleranz bei i.v. Injektion in Mäusen ist $>10\text{mmol/kg}$. Die Plasmahalbwertszeit in Ratten beträgt ca. 1h. (Turetschek, 448-55.)

2.6.3.2. Ferumoxtran-10

Ferumoxtran-10 (AMI-227, Sinerem[®], Guerbet Group, Paris, Frankreich oder Combidex, Advanced Magnetix, Cambridge, USA) ist ein weiteres MRT-Kontrastmittel aus der Gruppe der USPIOs. Die Ferumoxtran-10 Eisenoxidpartikel bestehen aus einem 4-6nm großen Eisenoxidkern, der von einer anionischen Dextran-T10 Hülle mit einem 20-40nm Durchmesser umgeben ist. (Jung, 661-74) Auch hier ist das Verhältnis von T1/T2-Relaxation größer als bei dem ebenfalls Dextran-T10 beschichteten SPIO Ferumoxides (Endorem[®], Guerbet Group, Paris, Frankreich oder Feridex, Advanced Magnetix, Cambridge, USA), mit R1 und R2 von 22 bzw. $80\text{L}\cdot\text{mmol}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$ bei einer Feldstärke von 0.47Tesla und 37°C . (Metz, 1851-8) Die Bluthalbwertszeit von Ferumoxtran-10 im Menschen liegt bei über 24h, die Eisenoxide werden nach und nach von Zellen des RES phagozytiert und gehen letztendlich in die Eisenspeicher des Körpers ein. (McLachlan, 301-7) Nach i.v. Injektion kann Ferumoxtran-10 in einer frühen Phase als positives Blutpoolkontrastmittel verwendet werden (Anzai, 209-14.), spätere MRT-Aufnahmen dienen der Evaluation von Lymphknoten (Anzai, 777-88.), Leber (Kim, 1217-23.), Milz (Harisinghani, 770-6.) und Knochenmark (Daldrup-Link, 1557-66. Epub 2002 Feb 5.).

Sinerem[®] befindet sich aktuell in Europa in Phase IIIb der klinischen Prüfung. Es sollte nicht als Bolus injiziert werden, da Nebenwirkungen wie Hypotension und

Lumbalschmerzen auftreten können. (Wang, 2319-31.) Bei langsamer Infusion von insgesamt 100ml verdünntem Kontrastmittel bis zu einer Dosis von 1.7mg Fe/kg wurden in einer Phase 2 Studie die in Tabelle 7 aufgeführten Nebenwirkungen festgestellt. Die Nebenwirkungen traten dosisunabhängig auf. (Sharma, 291-4)

Tabelle 7: Nebenwirkungen von Ferumoxtran-10 (Sharma, 291-4)

| Nebenwirkung | Häufigkeit des Auftretens (%) |
|---------------------------------|-------------------------------|
| Dyspnoe | 3.8 |
| Brustschmerz | 2.9 |
| Hautausschlag | 2.9 |
| Pruritus | 1.9 |
| Hämatom an der Injektionsstelle | 1.9 |
| Vasodilatation | 1.9 |
| erhöhte Temperatur | 1.9 |
| Übelkeit | 1.9 |
| Nausea | 1.9 |
| Diarrhö | 1.9 |
| Kopfschmerz | 1 |
| Rückenschmerz | 1 |
| Hypertension | 1 |

2.6.3.3. Ferumoxytol

Ferumoxytol (Code 7228, Advanced Magnetix, Cambridge, USA) ist ein weiteres MR-Kontrastmittel aus der Gruppe der USPIOs. Es besteht aus einem superparamagnetischen Eisenoxidkern, umgeben von einer niedermolekularen, semisynthetischen Carbohydrathülle. Der Gesamtdurchmesser ist ca. 30nm. Die Anwendung im Menschen als positives Blutpool-Kontrastmittel in der MR Angiographie mit einer Gesamtdosis von 4mg Fe/kg ist beschrieben worden. (Ersoy, 1181-6) Ferumoxytol befindet sich derzeit in Phase III der klinischen Prüfung. Die Bluthalbwertszeit beträgt 10-14h, die Elimination aus der Blutbahn erfolgt durch Phagozytose durch Makrophagen des RES. (Ersoy, 1181-6) Da die Eisenpartikel letztendlich in den Eisenhaushalt des Körpers eingehen, wird

Ferumoxytol auch zur intravenösen Eisenersatztherapie eingesetzt. Mit dieser Indikation befindet sich Ferumoxytol ebenfalls in Phase III der klinischen Prüfung.

3. Material und Methoden

3.1. Tiermodell

Die Versuche dieser Arbeit wurden an Tieren durchgeführt, da die verwendeten Eisenoxid-Kontrastmittel noch nicht für die Anwendung am Menschen zugelassen sind. Auch die Möglichkeit, die Ergebnisse der MRT-Messungen mit der Histologie der entsprechenden Gewebe zu vergleichen sprechen für die Verwendung von Versuchstieren. Wir wählten für diese Studie Ratten, da die Antigen-induzierte Arthritis in Ratten in früheren Arbeiten als reproduzierbares und in entscheidenden Aspekten übertragbares Modell für die Rheumatoide Arthritis im Menschen charakterisiert worden ist (siehe Grundlagen S.9). Die Studie wurde durch das Institutional Animal Care and Use Committee (IACUC) der University of California, San Francisco, am 20.04.04 begutachtet und genehmigt (Genehmigungs-Nr. A287-24049-01A).

Für unsere Experimente wurden 27 weibliche Sprague Dawley Ratten (Charles River Laboratories Inc. Wilmington, MA) mit einem Alter von drei bis vier Wochen und einem Gewicht zwischen 190g und 230g verwendet.

3.1.1. Narkose

Die Ratten wurden aus ihrem Käfig einzeln in eine ungefähr eineinhalb Liter fassende, luftdicht verschließbare Kammer überführt. Über den Zulauf wurde ein Sauerstoff / Isofluran (Forane[®], Baxter Healthcare Corporation, Deerfield, IL) Gemisch mit einer Isofluran Konzentration von 4% in die Kammer eingeleitet. Nach wenigen Minuten wurde die nun narkotisierte Ratte auf eine mit Zellstoff ausgekleidete Arbeitsfläche gelegt, die Narkose mit 2.5% bis 1% Isofluran und Sauerstoff über eine Maske weitergeführt. Die Tiefe der Narkose wurde vor jeder

Injektion durch einen Schmerzreiz an der Sohle des Hinterlaufes der Ratte getestet, während der MRT-Messungen diente die Atemfrequenz als Indikator. Nach Beenden der Narkose wurden alle Ratten beobachtet, bis sie wieder bei Bewusstsein waren.



Abbildung 3: Ratte mit Zuführung von Isofluran/Sauerstoff über eine Maske, mit fixiertem venösen Zugang über eine laterale Schwanzvene

3.1.2. Induktion der monoartikulären Arthritis

Alle Ratten wurden mit einer Gesamtdosis von 0.5ml einer Emulsion von komplettem Freundschem Adjuvans (Lee Laboratories, Grayson, CA) und methyliertem bovines Serumalbumin (MBSA), 20mg/ml (Sigma, St.Louis, MO) im Verhältnis eins zu eins sensibilisiert. Die Dosis wurde durch fünf subkutane Injektionen mit einer 25G, 5/8" Nadel (Precision Glide[®] Needle, Becton Dickinson & Co, Franklin Lakes, NJ) an unterschiedlichen Stellen am Rücken der Ratte appliziert. Zehn bis fünfzehn Tage später erfolgte eine intraartikuläre Injektion von 40µl MBSA (25mg/ml) in das rechte Kniegelenk mit einer 27G 1/2" Nadel (Precision Glide[®] Needle, Becton Dickinson & Co, Franklin Lakes, NJ). Das linke

Kniegelenk erhielt dieselbe Menge an 0.9% NaCl (Abbott Laboratories, North Chicago, IL). Die intraartikuläre Injektion wurde nach vier bis sechs Tagen wiederholt. Zum Zeitpunkt der MRT-Messung zeigten alle so behandelten Ratten deutliche klinische Zeichen einer Arthritis wie Hinken und Gelenkschwellung, die auf das rechte Kniegelenk beschränkt blieben.

3.2. Kontrastmittel

Die Kontrastmittel Gd-DTPA, SHU555C, Ferumoxtran-10 und Ferumoxytol wurden intravenös (i.v.) über eine Butterfly Kanüle (Butterfly[®], 23 x 3/4, 12" Tubing Infusion Set, Abbott Laboratories, North Chicago, IL) in eine Schwanzvene der Ratte injiziert. Die applizierten Kontrastmitteldosen sind Tabelle 8 zu entnehmen. Nähere Informationen zu den Kontrastmitteln sind auf den Seiten 21-29 im Kapitel Grundlagen aufgeführt. Die zu applizierende Kontrastmitteldosis entsprach jeweils einem sehr kleinen Volumen von 70-150µl und wurde daher in 4.0ml 0.9% NaCl verdünnt

Tabelle 8: Verwendete Kontrastmittel und Dosierung

| Markenname | Code | Art | Dosierung |
|------------------------|----------------|----------------|---------------|
| Magnevist [®] | GD-DTPA | Makromolekular | 200µmol Gd/kg |
| Supravist [™] | SHU555C | USPIO | 200µmol Fe/kg |
| Sinerem [®] | Ferumoxtran-10 | USPIO | 200µmol Fe/kg |
| N.A. | Ferumoxytol | USPIO | 200µmol Fe/kg |

3.3. Magnet-Resonanz-Tomographie

Die MRT-Messungen wurden an einem supraleitendem 2 Tesla Omega CSI-II Magneten (Brucker Instruments, Fremont, CA) mit selbstabschirmenden Acustar S-150 Gradientenspulen (± 20 G/cm, 15cm Innendurchmesser) durchgeführt.



Abbildung 4: 2 Tesla Omega CSI-II Magnet (Brucker Instruments, Fremont, CA) mit selbstabschirmenden Acustar S-150 Gradientenspulen

Um ein Absinken der Körpertemperatur während der MRT-Messung zu vermeiden, wurden die Ratten in Rückenlage auf einem Wasserkissen (Mul-T-Pad[®], Gaymar, Orchard Park, NY) in einer konkaven Schiene gelagert und fixiert. Dieses Wasserkissen wurde mit schwerem Wasser (Deuterium Oxide, Spectra Stable Isotopes, Columbia, MD) von 37°C aus einer Warmwasserpumpe (Micro-Temp[®] Pump, CSZ, Cincinnati, OH) durchflutet. Deuterium gibt kein Signal auf T1- und T2-gewichteten MRT-Aufnahmen und beeinflusst daher die Abbildung der Arthritis nicht. Aufgrund technischer Defekte wurden die Messungen an vier Ratten auch mit einfachem destilliertem Wasser im Pumpsystem durchgeführt, dies führte zu Flussartefakten auf den MR-Bildern, die Phasenkodierung wurde jedoch so ausgerichtet, dass die die Auswertung der

Kontrastmittelanreicherung in der Arthritis nicht beeinträchtigt wurde. Die Lagerungsschiene mit Wasserkissen und Ratte wurde in einer "birdcage"-Spule (Eigenbau) mit einem Innendurchmesser von 5.5cm und einer Länge von 7cm platziert.



Abbildung 5: 'Birdcage'-Spule, rechts daneben narkotisierte Ratte, fixiert auf Lagerungsschiene mit Wasserkissen

Die Ratten wurden nach erfolgreicher Induktion der Arthritis in 4 randomisierten Gruppen von je 6 Tieren MR-tomographisch untersucht (Tab.9). Eine Gruppe von drei nicht Arthritis induzierten Ratten diente als Kontrolle. Gruppe 1 wurde zu verschiedenen Zeitpunkten vor und nach Injektion von Gd-DTPA an Tag 1 sowie vor und nach Injektion von SHU 555 C an Tag 2 untersucht. Diese Messungen sollten einen Vergleich des T1-Effektes des USPIO und des Standard-Kontrastmittels Gd-DTPA im gleichen Tier unter Ausschaltung inter-individueller Einflussfaktoren ermöglichen. Der Vergleich der beiden Kontrastmittel im gleichen Tier war möglich, da das an Tag 1 injizierte Gd-DTPA aufgrund seiner

geringen Plasmahalbwertszeit nach 24h ausgeschieden war, was durch Vergleich der "nativen" Aufnahmen vor Injektion von Gd-DTPA an Tag 1 und SHU 555 C an Tag 2 gesichert wurde.

Ein Vergleich des Signaleffektes verschiedener USPIO war nicht im gleichen Tier möglich, da wegen der langen Plasmahalbwertszeit Signalveränderungen des entzündlichen Gewebes über mehrere Tage erwartet wurden. Daher erfolgte eine Untersuchung des Signaleffektes von SHU 555 C, Ferumoxtran und Ferumoxytol in 3 verschiedenen Gruppen: Gruppe 2 erhielt SH U 555 C, Gruppe 3 Ferumoxtran-10 und Gruppe 4 Ferumoxytol als i.v. Injektion. Alle drei Gruppen wurden vor, direkt nach sowie 24h nach Kontrastmittelgabe tomographisch untersucht.

Gruppe 5 bestand aus den normalen Kontrollratten, das Schema von Kontrastmittelinjektion (Gd-DTPA und SHU555C) und MRT-Untersuchungen entsprach dem von Gruppe 1.

Tabelle 9: Einteilung der Ratten in die verschiedenen Gruppen sowie die entsprechenden Pulssequenzen zu den einzelnen Zeitpunkten

| Gruppe | MRT vor Kontrastmittelinjektion | MRT Verlauf nach Kontrastmittelinjektion | MRT 1-2h nach Kontrastmittelinjektion | MRT 24h nach Kontrastmittelinjektion |
|--|--|--|--|--------------------------------------|
| Arthritische Ratten | | | | |
| Gruppe 1 Gd-DTPA und SHU555C n=6 | T2 - SE T1 - GE T2 - SE T2* - GE T1 - GE | T1 - GE T2* - GE T1 - GE | T2 - SE T2* - GE T1 - GE | T1 - GE |
| Gruppe 2 SHU555C n=6 | T2 - SE T2* - GE T1 - GE | T2* - GE T1 - GE | T2 - SE T2* - GE T1 - GE | T2 - SE T2* - GE T1 - GE |
| Gruppe 3 Ferum- oxtran-10 n=6 | T2 - SE T2* - GE T1 - GE | T2* - GE T1 - GE | T2 - SE T2* - GE T1 - GE | T2 - SE T2* - GE T1 - GE |
| Gruppe 4 Ferum- oxytol n=6 | T2 - SE T2* - GE T1 - GE | T2* - GE T1 - GE | T2 - SE T2* - GE T1 - GE | T2 - SE T2* - GE T1 - GE |
| Normale Ratten | | | | |
| Gruppe 5 Gd-DTPA und SHU555C n=3 | T2 - SE T1 - GE T2 - SE T2* - GE T1 - GE | T1 - GE T2* - GE T1 - GE | T2 - SE T2* - GE T1 - GE | T1 - GE |

In jeder Untersuchungsgruppe wurden sagittale MRT-Aufnahmen des arthritischen und kontralateralen normalen Kniegelenkes mit folgenden Pulssequenzen erstellt:

T2-gewichtete 2D Spinecho (SE) Sequenzen mit einer Repetitionszeit (TR) von 2000ms und Echozeiten (TE) von 20ms, 40ms, 60ms und 80ms, einem field of view (FOV) von 70mm, einer 128 x 128 Pixel Matrix, jeweils vier Schichten über dem rechten und linken Knie mit einer Schichtdicke von 1.5mm ohne Abstand.

T2*-gewichtete 3D spoiled gradient recalled (SPGR) Sequenzen mit einer Repetitionszeit (TR) von 100ms, Echozeit (TE) von 15ms, field of view (FOV) von 70mm, einer 128 x 128 x 30 Pixel Matrix, zwei Bildmittelungen (NEX), 32 Schichten von 1.5mm Dicke und ein Flipwinkel von 38°.

T1 gewichtete 3D-SPGR Sequenzen mit einem TR von 50ms, TE von 1.7ms, FOV von 70mm, einer 128 x 128 x 32 Pixel Matrix, zwei NEX, 32 Schichten von 1.5mm Dicke und einem Flipwinkel von 60°.

3.4. Datenauswertung

Die MRT Datensätze wurden auf einen Sun Spark 10 Computer (Sun Microsystems, Mountain View, CA) kopiert, dort prozessiert sowie qualitativ und quantitativ ausgewertet.

Die Quantitative Auswertung der Daten wurde von einem einzelnen Untersucher durchgeführt, der durchschnittliche Signalintensitäten (SI) von Synovialmembran, paraartikulärem Muskel und Hintergrundrauschen bestimmte. Diese SI wurden in benutzerdefinierten Arealen, so genannten regions of interest (ROI) gemessen. Die SI der Synovialmembran wurde im vorderen Anteil des Kniegelenkes bestimmt, im Bereich des Rezessus Suprapatellaris. Hier war die Gefahr, andere anatomische Strukturen wie Bänder, Sehnen, Gefäße oder die Patella mit in die ROI einzuschließen, gering. Auch ergaben frühere Arbeiten, dass die Synovialmembran in diesem Areal ausgeprägte Zeichen der Entzündung zeigt. (Andersson, 1772-7.; Andersson, 1778-84.) Die ROI für die Bestimmung des Hintergrundrauschens wurde ventral des Kniegelenkes gemessen, in der Richtung der Frequenzkodierung. Bei der Bestimmung der SI des paraartikulären Muskels wurde darauf geachtet, Gefäße oder Faszien auszuschließen, die eventuell die SI beeinflussen könnten. Die Größe der ROIs variierte je nach anatomischen Gegebenheiten zwischen 15 und 200 Pixel. (Abb.6)

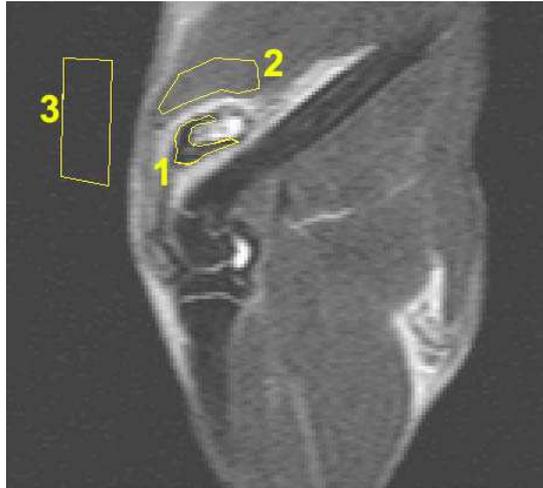


Abbildung 6: T2-Spin-Echo Sequenz eines arthritischen Kniegelenks, 2h nach Gabe von 200 μ mol/kg Sinerem[®], mit exemplarischen ROIs. 1: Synovialmembran, 2: paraartikulärer Muskel, 3: Hintergrundrauschen

Das Verhältnis von Signal zu Hintergrundrauschen (SNR) der Zielgewebe wurde anhand der SI Werte berechnet:

$$\text{SNR}_{\text{Zielgewebe}} = \text{SI}_{\text{Zielgewebe}} / \text{SI}_{\text{Hintergrundrauschen}}$$

Die durch Kontrastmittelinjektion (KMI) hervorgerufenen Effekte können anhand der prozentualen Differenz der SI vor und nach KMI des jeweiligen Gewebes quantifiziert werden:

$$\Delta\text{SI}(\%)_{\text{Zielgewebe}} = (\text{SI}_{\text{Zielgewebe nach KMI}} - \text{SI}_{\text{Zielgewebe vor KMI}}) / \text{SI}_{\text{Zielgewebe vor KMI}}$$

3.5. Histologie

Unmittelbar nach der letzten MRT-Messung wurden die Ratten mit einer Überdosis Pentobarbital (Nembutal[®] Sodium Solution 50mg/ml, Abbott Laboratories, North Chicago, IL, 200mg/kg Körpergewicht), sowie bilateraler Thorakotomie euthanasiert. Die rechten und linken Hinterläufe wurden proximal des Kniegelenkes abgetrennt und nach Entfernen von Weichteilgewebe für 10 Tage bei 4°C in 10% phosphatgepuffertem Formalin (Poly Scientific[®], Bay Shore,

NY) fixiert. Anschließend wurden die Gewebeproben für vier Tage in EDTA (Versenate[®], American Master Techs, Inc.) dekalzifiziert. Nach vollständiger Dekalzifizierung wurden die Kniegelenke in einer Reihe von Lösungen mit steigendem Alkoholgehalt dehydriert und in Paraffinblöcke eingelagert. Von jedem Kniegelenk wurden drei Schnitte von 5µm Dicke im Abstand von jeweils ca. 350µm angefertigt, es wurden jeweils eine Standard Hämatoxilin-Eosin (H&E) sowie eine immunhistochemische Färbung durchgeführt.

Für die H&E Färbung wurden die Schnitte nach dem folgenden Schema bearbeitet.

Tabelle 10: Schritte der Hämotoxilin-Eosin Färbung

| Färbeschritt | Färbebad | Zeit |
|--------------|--------------|---------|
| 1 | Xylol | 2 min |
| 2 | Xylol | 2 min |
| 3 | Xylol | 2 min |
| 4 | Alkohol 100% | 25 sec |
| 5 | Alkohol 96% | 25 sec |
| 6 | Alkohol 96% | 25 sec |
| 7 | Alkohol 70% | 25 sec |
| 8 | Wasserbad | 25 sec |
| 9 | HTX-Mayer | 3 min |
| 10 | HTX-Mayer | 3 min |
| 11 | Wasserbad | 2 min |
| 12 | Wasserbad | 2 min |
| 13 | Eosin | 2 min |
| 14 | Alkohol 96% | 30 sec |
| 15 | Alkohol 100% | 25 sec |
| 16 | Alkohol 100% | 25 sec |
| 17 | Xylol | 1,5 min |
| 18 | Xylol | 1,5 min |

Es resultiert eine dunkel-bläuliche Färbung basischer Gewebsteile wie z.B. der Zellkerne, andere Komponenten, wie z.B. extrazelluläre Knorpelmatrix zeigen sich rosa. Die H&E Färbungen dienen hauptsächlich zur Beurteilung der Anatomie der Schnitte und des histologischen Bildes der Antigen-induzierten Arthritis.

Die immunhistochemische Färbung diente zum Nachweis der Dextran beschichteten USPIO-Partikeln im Gewebe. Es wurde ein markiertes Streptavidin-Biotin-Set (DAKO[®], Hamburg, Deutschland) verwendet. Die Schnitte wurden mit einem monoklonalen Antikörper gegen Dextran inkubiert (StemCell Technology[®], Vancouver, B.C., Kanada) und anschließend mit PBS (Poly Scientific[®], Bay Shore, NY) gewaschen um freie Antikörper zu entfernen. Daraufhin wurden die Schnitte mit einem zweiten Antikörper (DAKO[®]) inkubiert, wiederum mit PBS (Poly Scientific[®]) gewaschen und schließlich mit einem Streptavidin-Peroxidase konjugierten Antikörper (DAKO[®]) inkubiert und mit PBS (Poly Scientific[®]) gewaschen. Mit dem anschließenden Färbebad mit 3,3-Diaminbeizidin (DAKO[®]) wurden die Lokalisationen an denen sich Antikörper angelagert hatten braun gefärbt. Negativ Kontrollen wurden mit derselben Prozedur ohne den primären Dextran-Antikörper durchgeführt.

Alle Gewebeproben wurden mit einem Eclipse E400 (Nikon, Japan) Mikroskop mit 40, 100, 200 und 400 facher Vergrößerung untersucht.

3.6. Statistik

Alle statistischen Analysen wurden von Mei-Hsiu Chen, PhD, University of California durchgeführt. Für die Analysen der Daten wurde ein gemischtes Modell (mixed effects model) angewendet, d.h. ein Modell sowohl mit festen Effekten (fixed effects) als auch zufälligen Effekten (random effects). Feste Effekte sind feste, unbekannte Konstanten und werden vom Untersucher mit dem Ziel festgelegt, die jeweiligen Daten miteinander zu vergleichen. Sie sind Effekte, die durch vom Untersucher gewollt veränderte Abläufe des Experiments verursacht werden. (Laird, 963-74) Somit wurden die Effekte der verschiedenen Kontrastmittel, Messung im arthritischen oder normalen Kniegelenk sowie die verschiedenen Zeitpunkte der Messungen auf die SNR- bzw. $\Delta SI(\%)$ -Werte als feste Effekte (fixed effects) des Modells bestimmt. Ihre Signifikanz wurde mit dem F-Test überprüft, mit dem getestet werden kann, ob zwei Stichproben aus

unterschiedlichen Populationen sich hinsichtlich ihrer Varianz statistisch signifikant unterscheiden. Feste Effekte (fixed effect) mit einem p-Wert von kleiner 0.05 wurden als signifikant bewertet. Das bedeutet, dass die Wahrscheinlichkeit, dass beobachtete Unterschiede der Daten lediglich durch Zufall entstanden sind geringer als 5% ist. (Laird, 1963-74) Die Variationen, die unweigerlich bei wiederholten Messungen am gleichen Versuchstier auftreten, wurden als zufälliger Effekt (random effect) in das Modell eingeschlossen. Dabei wird davon ausgegangen, dass die Zufallsgrößen normalverteilt und voneinander unabhängig sind.

Für die Präsentation der Daten in Tabellen und Graphen wurden alle SNR- und $\Delta SI(\%)$ -Werte der einzelnen Gruppen zu arithmetischen Mittelwerten mit Standardabweichungen zusammengefasst. Die statistischen Berechnungen am Computer wurden mit den Programmen SAS 9.1 (SAS institute, Cary, NC) und Splus 6.2 (Insightful Inc., Seattle, WA) durchgeführt.

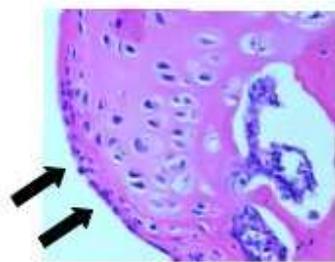
4. Ergebnisse

4.1. Histologie

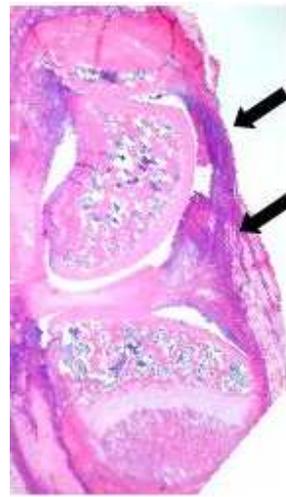
Auf den H&E gefärbten Schnitten der arthritischen Kniegelenke zeigte sich eine akute Entzündung mit deutlicher Verdickung der Synovialmembran sowie massiver leukozytärer Infiltration. Die Synovialmembran der kontralateralen Kniegelenke hingegen war unverändert dünn, ohne Zeichen einer akuten oder chronischen Entzündung. (Abb.7) Auf den Anti-Dextran Färbungen präsentierten sich sowohl 2 h als auch 24 h nach Gabe von USPIO-Kontrastmitteln positive bräunlich gefärbte Areale in der arthritischen Synovialmembran. 2h p.i. waren die USPIO-Partikel überwiegend im Interstitium nachzuweisen, während 24 h p.i. ein Grossteil der Partikel intrazellulär in Makrophagen der entzündeten Synovialmembran zu finden war. In der Synovialmembran der kontralateralen Kniegelenke waren zu keinem der beiden Zeitpunkte USPIO-Partikel nachweisbar. (Abb.8) Es wurde keine Unterschiede zwischen den einzelnen USPIO-Kontrastmitteln festgestellt.

Normales Kniegelenk

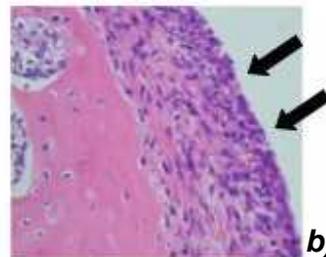
a)



b)

arthritisches Kniegelenk

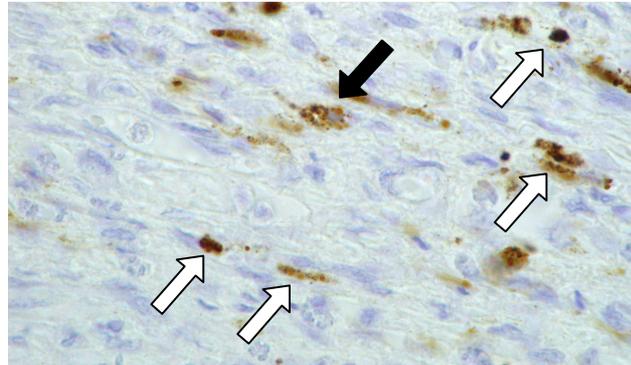
a)



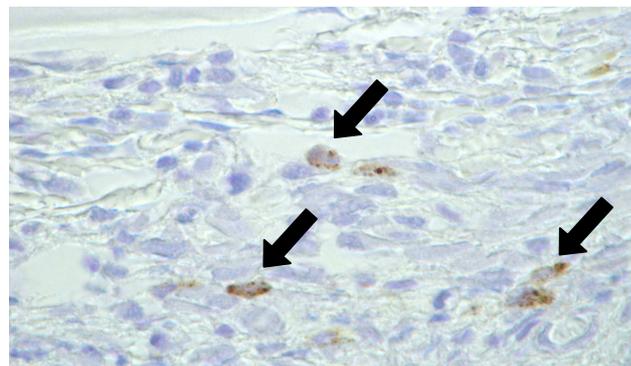
b)

Abbildung 7: H&E Färbung von normalem und arthritischem Kniegelenk einer Ratte in der Übersichtsaufnahme (a) und im jeweiligen Detailausschnitt (b). Die Synovialmembran (schwarze Pfeile) im normalen Kniegelenk ist äußerst dünn während im arthritischen Kniegelenk deutliche Entzündungszeichen wie Verdickung und leukozytäre Infiltration zu erkennen sind.

a) Arthritisches Kniegelenk, 2 h p.i.



b) Arthritisches Kniegelenk, 24 h p.i.



c) Normales Kniegelenk, 24 h p.i.

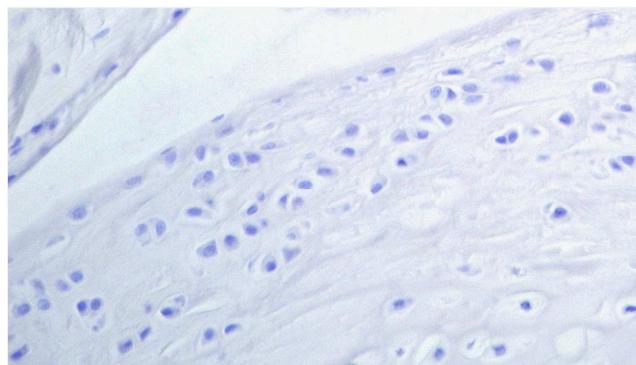


Abbildung 8: Anti-Dextran Färbung nach i.v. Injektion von USPIO. 2 h p.i. (a) sind die USPIO-Partikel überwiegend im Interstitium zu finden (weisse Pfeile), 24 h p.i. (b) überwiegend intrazellulär (schwarze Pfeile). Im normalen Kniegelenk (c) sind 24 p.i. keinerlei USPIO-Partikel zu sehen.

4.2. Detektion der Arthritis (T1-Signalanhebung)

Die intravenöse Injektion von SHU555C resultierte in einer deutlichen, positiven Signalanhebung der entzündeten Synovialmembran auf den T1-gewichteten Gradientenecho-Bildern (Abb. 9). Diese Signalanhebung der Synovialmembran war ab ca. 3 min nach Kontrastmittelinjektion (KMI) zu erkennen und nahm stetig zu, bis zu einer maximalen Signalanhebung zum Zeitpunkt 2h nach der Kontrastmittelgabe (post Injektion = p.i.) (Abb.9a, 10a). Der Kontrastmittel-Bedingte Signalanstieg der Synovialmembran war zum Zeitpunkt 3 min p.i. noch nicht signifikant unterschiedlich vom Ausgangswert ($p > 0.05$). Alle weiteren MRT-Aufnahmen von 13 min p.i. bis 123 min p.i. zeigten jedoch einen signifikanten Signalanstieg der entzündlich veränderten Synovialmembran ($p < 0.05$) ($p < 0.001$, Tabelle 10). Bei 2 Versuchstieren waren zusätzliche, T1-gewichtete MRT Bilder bis zu 4h p.i. aufgenommen worden. Für diesen Zeitraum zwischen 2h und 4h p.i. nahm die Kontrastmittel bedingte Signalanhebung der Synovialmembran kontinuierlich ab, 24h p.i. entsprachen die SNR Werte aller Versuchstiere wieder denjenigen vor Injektion von SHU555C, die ΔSI Werte waren nicht signifikant unterschiedlich vom Basiswert (0) ($p < 0.05$).

Die Synovialmembran des kontralateralen Kniegelenkes zeigte eine schwache Anreicherung, jedoch waren die SNR-Werte nach Kontrastmittelinjektion nicht signifikant verschieden von dem Wert vor Kontrastmittelinjektion ($p > 0.05$; Abb. 9a, 10a). Auch bestand kein signifikanter Unterschied zwischen der Kontrastmittelanreicherung in den gesunden, kontralateralen Kniegelenken von Arthritis-induzierten Ratten und den normalen Kniegelenken von gänzlich unbehandelten Versuchstieren ohne Arthritis. ($p = 0.44$).

Die intravenöse Injektion von Gd-DTPA zeigte bei denselben Tieren eine deutliche, jedoch nur wenige Minuten währende, positive Signalverstärkung der arthritischen Synovialmembran (Abb. 9b). Sowohl ΔSI als auch SNR Werte waren bei der ersten Messung zum Zeitpunkt 2 min p.i. maximal und signifikant

verschieden von den Ausgangswerten vor der Kontrastmittelinjektion ($p < 0.001$, Tabelle 10). Bereits 60 min p.i. war keine Gd-DTPA bedingte Signalverstärkung der entzündlichen Synovialmembran mehr festzustellen (Abb.10b). Die Synovialmembran der kontralateralen, normalen Kniegelenke zeigte ebenfalls eine signifikante Signalverstärkung nach der Gd-DTPA-Injektion ($p < 0,05$). Der zeitliche Verlauf der Kontrastmittelanreicherung in der normalen Synovialmembran verlief parallel zu der der arthritischen (Abb.9b). Die Gd-DTPA-Anreicherung in der normalen Synovialmembran des normalen Kniegelenkes war jedoch signifikant geringer ausgeprägt als in der entzündlich veränderten Synovialmembran des arthritischen Kniegelenkes ($p < 0.05$).

Vergleich von GD-DTPA und SHU555C: Der T1-Effekt der beiden Kontrastmittel in den entzündeten Kniegelenken war signifikant unterschiedlich, sowohl was das Ausmaß der Signalverstärkung angeht ($p < 0.001$), als auch deren Verlauf über die Zeit ($p < 0.001$). Die maximalen Differenz des Kontrastmitteleffektes in der normalen und arthritischen Synovialmembran, quantifiziert als ΔSI Werte, war signifikant höher nach der i.v. Gabe des USPIOs als nach Gabe von Gd-DTPA ($p < 0.001$, Abb. 9, 10). Diese maximale Differenz zwischen ΔSI Werten von arthritischer und normaler Synovialmembran wurde bei SHU555C deutlich später beobachtet (40-120 min nach KMI) als bei Gd-DTPA (2-10 min nach KMI).

Tabelle 10a: SNR Werte in T1-gewichteten SPGR- Sequenzen von arthritischen Kniegelenken (n=6). Vergleich von SNR Werten vor und nach KMI: *: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$, ***: $p < 0.001$; S.E.: Standardabweichung vom Mittelwert.

| | Gd-DTPA | SH U 555 C |
|------------------|-------------------|-------------------|
| Zeitpunkt | Mittelwert (S.E.) | Mittelwert (S.E.) |
| Pre-Kontrast | 19.0 (4.6) | 22.1 (5.2) |
| 2-3 min p.i. | 65.5 (13.3)*** | 34.1 (4.3) |
| 23-25 min p.i. | 40.5 (10.3)** | 73.8 (9.0)*** |
| 40-43 min p.i. | 28.0 (6.3)* | 96.6 (18.2)*** |

Tabelle 10b: Vergleich des Kontrastmitteleffektes von SHU555C und Gd-DTPA in arthritischen Kniegelenken auf T1-gewichteten SPGR-Sequenzen

| Effekt | p-Wert |
|--|---------------|
| SH U 555 C versus Gd-DTPA | <.0001 |
| Durchschnittlicher KM-Effekt über den Zeitverlauf | 0.017 |
| Einzelne KM-Effekte zu unterschiedlichen Zeitpunkten | <.0001 |
| SNR vor KMI | 0.2002 |

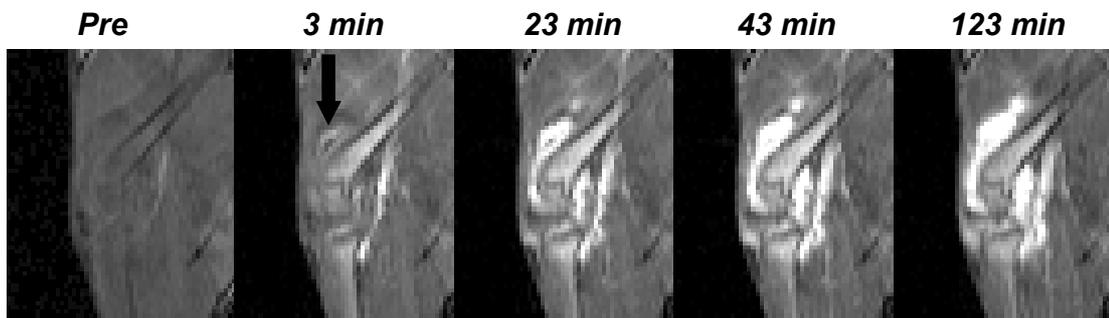
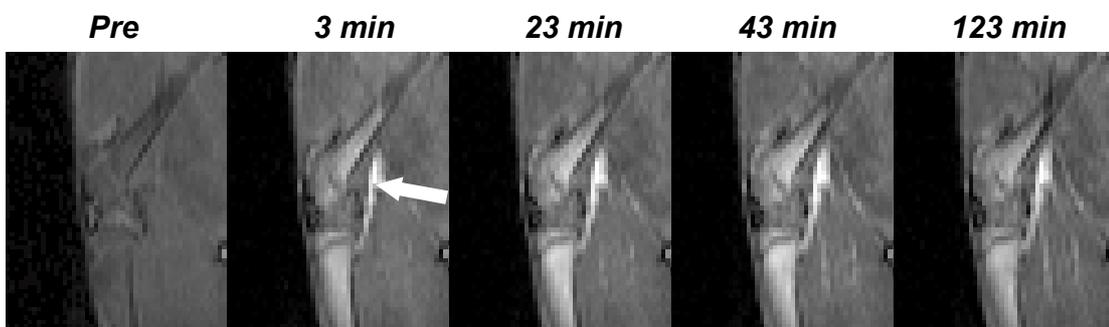
Arthritisches Kniegelenk**Normales Kniegelenk**

Abbildung 9a: Erkennung der Arthritis auf sagittalen, T1-gewichteten SPGR MRT Bildern ($TR/TE/\alpha = 50 \text{ ms}/1.7 \text{ ms}/60^\circ$) nach Gabe von SHU555C. T1-gewichtete MRT Bilder von arthritischen Kniegelenken vor und zu verschiedenen Zeitpunkten nach SHU555C Injektion zeigen eine Signalanhebung der arthritischen Synovialmembran, die ab 3 min p.i. sichtbar ist (schwarzer Pfeil) und bis zu 2h p.i. stetig stärker wird. Im kontralateralen, normalen Kniegelenk ist keine deutliche Signalanhebung zu erkennen. Der weiße Pfeil markiert die Poplitealarterie, in der eine Signalanhebung durch intravaskuläres SHU555C zu beobachten ist.

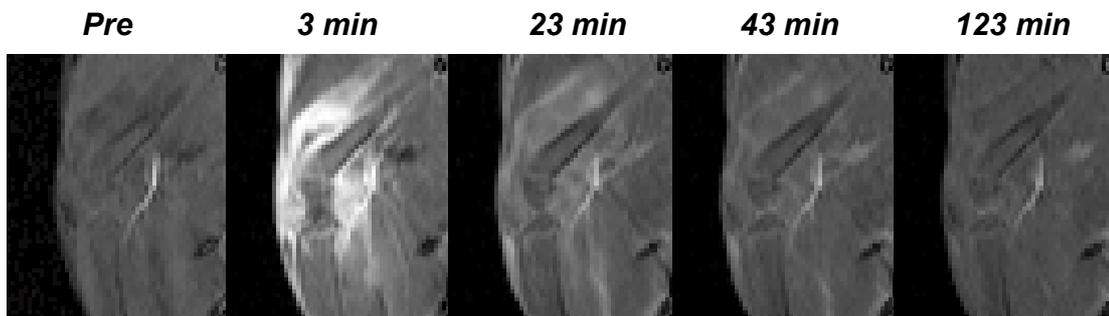
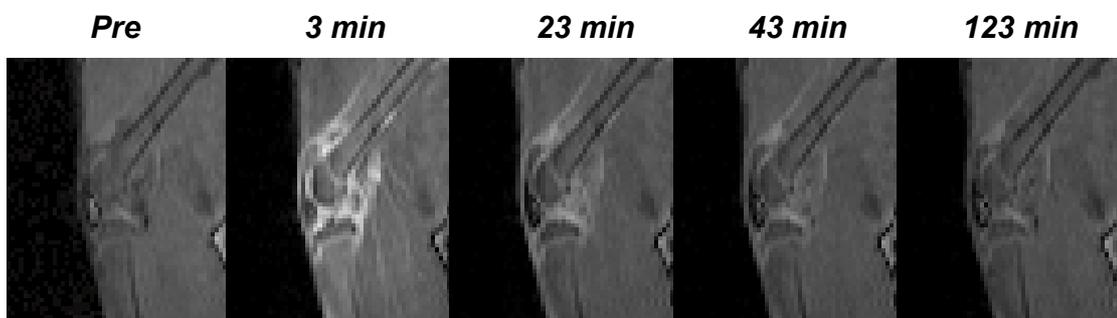
Arthritisches Kniegelenk**Normales Kniegelenk**

Abbildung 9b: Erkennung der Arthritis auf sagittalen, T1-gewichteten SPGR MRT Bildern ($TR/TE/\alpha = 50 \text{ ms}/1.7 \text{ ms}/60^\circ$) nach Gabe von Gd-DTPA. Bei den gleichen, sagittalen MRT Aufnahmen ($TR/TE/\alpha = 50 \text{ ms}/1.7 \text{ ms}/60^\circ$) im selben Versuchstier ist nach der Gabe von Gd-DTPA eine deutliche Signalanhebung der entzündeten Synovialmembran zu beobachten, die lediglich wenige Minuten anhält. Der Kontrastmitteleffekt 60 min p.i. ist nahezu verschwunden. Im Kontralateralen Kniegelenk zeigt sich ein ähnlicher Verlauf, jedoch weniger ausgeprägt.

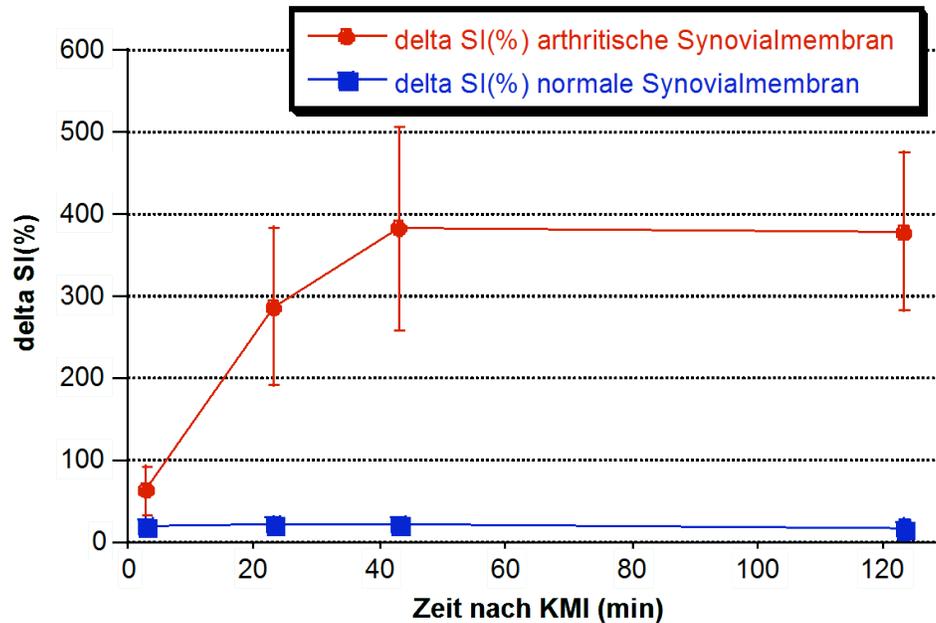


Abbildung 10a: Quantitative ΔSI -Werte der arthritischen und kontralateralen Kniegelenke, gemessen nach Injektion von SHU555C in T1-gewichteten SPGR Sequenzen ($TR/TE/\alpha = 50\text{ms}/1.7\text{ms}/60^\circ$). Dargestellt sind Mittelwerte und Standardabweichungen aus einer Gruppe von sechs Versuchstieren (Gruppe 2). Das arthritische Kniegelenk zeigt eine kontinuierlich ansteigende Signalanhebung, während beim kontralateralen Kniegelenk nur eine minimale Signaländerung zu beobachten ist.

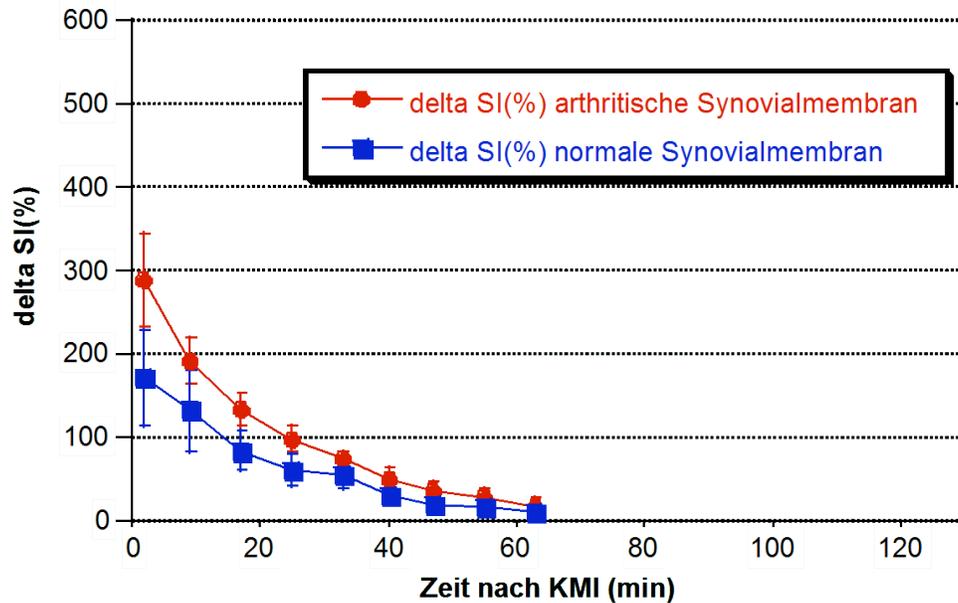


Abbildung 10b: Die entsprechenden quantitativen ΔSI -Werte arthritischer und kontralateraler Kniegelenke, nach Injektion von Gd-DTPA in denselben Versuchstieren (Gruppe 1). Die Einteilung der X- und Y-Achse ist analog zu Abbildung 9a. Es wurden ebenfalls T1-gewichteten SPGR Sequenzen ($TR/TE/\alpha = 50\text{ms}/1.7\text{ ms}/60^\circ$) verwendet. Beide Kniegelenke zeigen früh ein kurzes Maximum der Signalanhebung, gefolgt von einem biexponentiellen Abfall der Signalanhebung, 60 min p.i. sind die ΔSI Werte wieder um Null. Im Vergleich zu Abb. 2a erkennt man einen geringeren maximalen Signalanstieg der entzündlich veränderten Synovialmembran nach Injektion von Gd-DTPA als nach Injektion des USPIOs.

4.3. Charakterisierung der Arthritis

Nach Injektion von SHU555C zeigte sich während der ersten 2h p.i. auf T2-gewichteten MRT Bildern ein signifikanter Signalabfall der arthritischen Synovialmembran ($p < 0.05$, Abb. 11, 12). Die anatomischen Areale, in denen dieser Signalabfall auftrat, entsprachen weitgehend denen mit positiver Signalverstärkung auf den T1-gewichteten Bildern. Auch die normalen Kniegelenke zeigten 2h p.i. einen geringen, aber doch signifikanten Signalverlust, der wahrscheinlich auf einer Perfusion der Blutgefäße durch das USPIO beruhte ($p < 0.05$, Abb. 11, 12).

Spätere T2-gewichtete Aufnahmen, 24h p.i., zeigten einen persistierenden Signalverlust in der entzündeten Synovialmembran, der offensichtlich auf dem negativem T2-Effekt von in der Synovialmembran verbliebenen Eisenoxiden beruhte, da er mit einem Verlust des T1-Effektes einher ging. Dieser persistierende Signalverlust wurde in den kontralateralen Kniegelenken nicht festgestellt. Der beschriebene Effekt war sowohl auf T2*-gewichteten GE-Sequenzen als auch auf den T2-gewichteten SE-Sequenzen zu beobachten (Abb. 11, 12, Tabelle 11). Die entsprechenden ΔSI und SNR Werte 24h p.i. waren für die arthritischen Kniegelenke signifikant unterschiedlich von den Ausgangswerten ($p < 0.05$), bei den normalen Kniegelenken war kein signifikanter Unterschied festzustellen ($p > 0.05$, Tabelle 11).

Tabelle 11a: SNR Werte in T2*-gewichteten SPGR und T2-gewichteten SE-Sequenzen von arthritischen und normalen Kniegelenken. Vergleich von SNR Werten vor und nach KMI. *: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$, *: $p < 0.001$; S.E.: Standardabweichung vom Mittelwert.**

| T2*-gewichtet | Arthritisches Kniegelenk | Normales Kniegelenk |
|----------------------|---------------------------------|----------------------------|
| Zeitpunkt | Mittelwert (S.E.) | Mittelwert (S.E.) |
| Pre-Kontrast | 53.9 (5.7) | 41.1 (9.2) |
| 13 min p.i. | 10.8 (3.9)*** | 31.5 (12.1)** |
| 33 min p.i. | 9.2 (2.3)*** | 32.3 (11.9)** |
| 53 min p.i. | 12.0 (4.6)*** | 35.3 (9.7)* |
| 115 min p.i. | 12.2 (9.3)*** | 39.8 (12.2) |
| 24 h p.i. | 24.8 (13.3)*** | 36.1 (9.5) |
| T2-gewichtet | Arthritisches Kniegelenk | Normales Kniegelenk |
| Zeitpunkt | Mittelwert (S.E.) | Mittelwert (S.E.) |
| Pre-Kontrast | 26.7 (2.6) | 14.4 (6.6) |
| 70 min p.i. | 5.2 (3.1)*** | 12.8 (5.4) |
| 24 h p.i. | 12.4 (5.2)*** | 14.1 (6.5) |

Tabelle 11b: Vergleich des Kontrastmitteleffekts in arthritischen und gesunden Kniegelenken auf T2*-gewichteten SPGR-Sequenzen

| Effekt | P-Value |
|--|----------------|
| Normale versus arthritische Synovialmembran | <.0001 |
| Durchschnittlicher KM-Effekt über den Zeitverlauf | 0.0007 |
| KM-Effekt in der normalen und arthritischen Synovialmembran zu verschiedenen Zeitpunkten | 0.0299 |
| SNR vor KMI | 0.0002 |

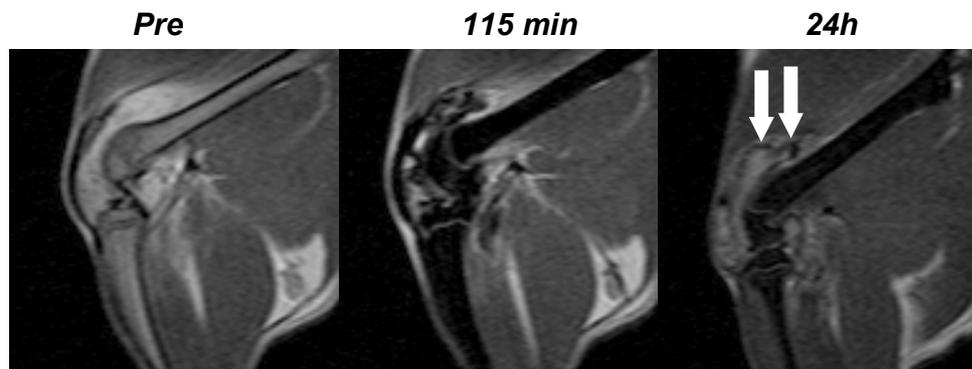
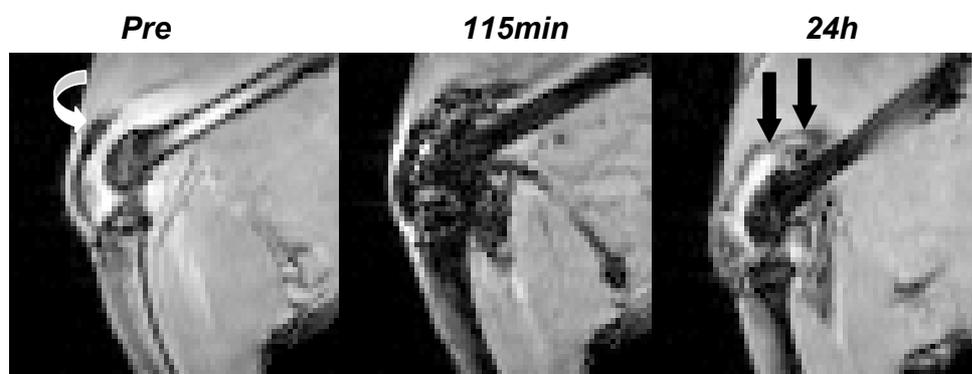
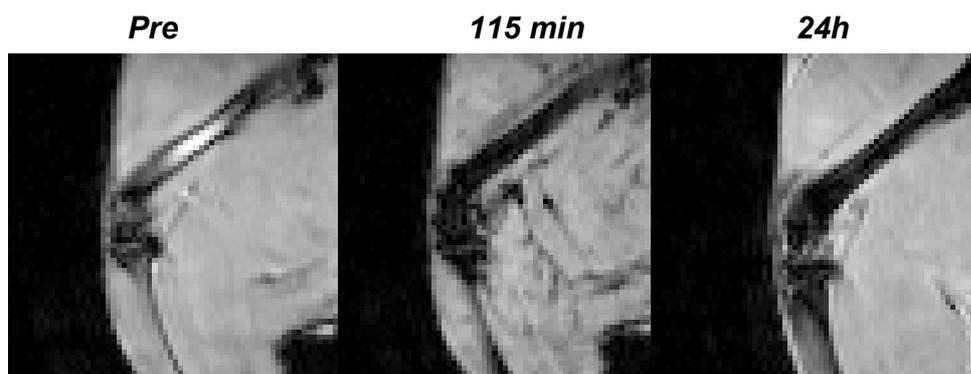
Arthritisches Kniegelenk, T2-gewichtete SE-Sequenz**Arthritisches Kniegelenk, T2*-gewichtete SPGR-Sequenz****Normales Kniegelenk, T2*-gewichtete SPGR-Sequenz**

Abbildung 11: Charakterisierung der Arthritis auf T2-gewichteten SE- (TR/TE = 2000ms/40 ms) und T2*-gewichteten SPGR- (TR/TE/ α = 100 ms/15 ms/38°) Sequenzen vor und nach Gabe von SHU555C. Nach KMI ist auch in den kontralateralen, normalen Kniegelenken eine minimale T2*-Signalsenkung zu erkennen, diese beruht wahrscheinlich auf der Perfusion des SHU555C in den Blutgefäßen. Spätere T2- und T2*-Bilder, 24 h p.i., zeigen einen

bestehenden negativen Kontrastmitteleffekt der arthritischen Gelenkkapsel (zwei Pfeile). Am besten ist die Signalminderung im Bereich der Bursa Suprapatellaris zu erkennen (zwei Pfeile), sie beruht offensichtlich auf der Speicherung von Eisenoxiden in der entzündeten Synovialmembran. Im normalen Kniegelenk ist 24 h p.i. kein derartiger Effekt zu beobachten. Der geschwungene Pfeil markiert die Patella.

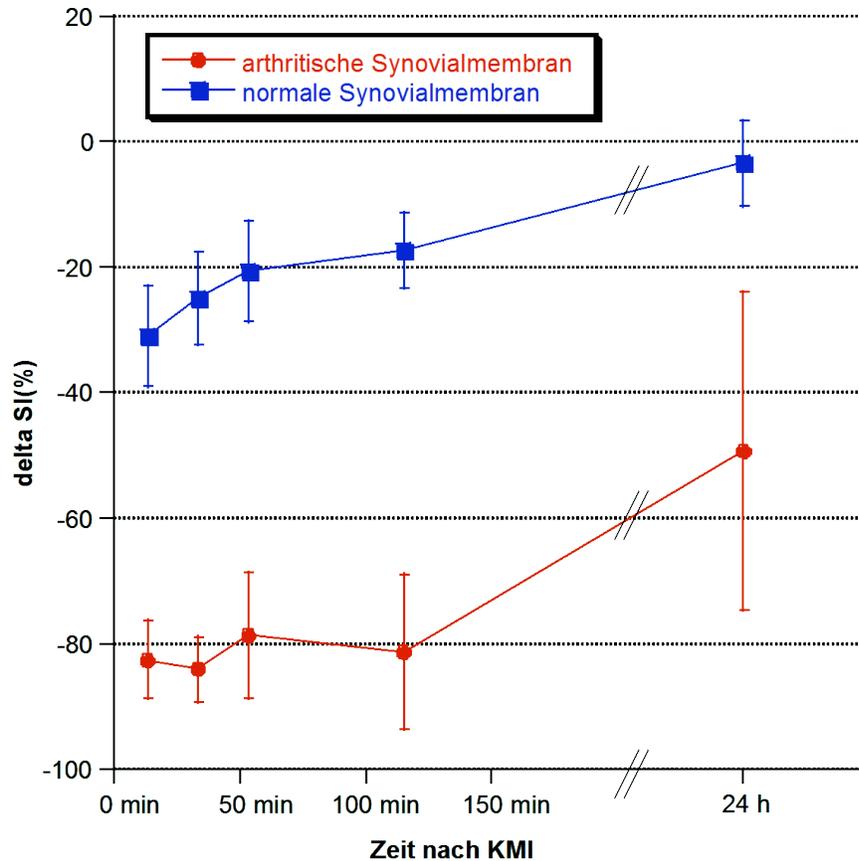


Abbildung 12: Quantitative $\Delta SI(\%)$ Werte der Synovialmembran von entzündeten und normalen Kniegelenken auf T2*-gewichteten SPGR Sequenzen ($TR/TE/\alpha = 100 \text{ ms}/15 \text{ ms}/38^\circ$). Dargestellt sind Mittelwerte und Standardabweichungen einer Gruppe von sechs Ratten (Gruppe 2). Die anhaltende negative Signalverstärkung in den arthritischen Kniegelenken 24 h p.i. entsprechen der intrazellulären Anreicherung von Eisenoxiden in Makrophagen, die in der Histologie nachgewiesen wurden. Bei den normalen Kniegelenken wurde 24 h p.i. kein signifikanter Signalverlust gemessen.

4.4. Vergleich dreier USPIOs zur Charakterisierung der Arthritis

Quantitative Auswertung:

Arthritische Kniegelenke: Alle drei in dieser Studie untersuchten USPIOs führten nach i.v. Injektion zu einer deutlichen T1-Signalanhebung sowie einem ausgeprägten T2/T2*-Signalabfall in der entzündeten Synovialmembran. Diese Kontrastmitteleffekte zeigten weder in der Lokalisation, Intensität noch im Zeitverlauf sichtbare Unterschiede zwischen den einzelnen USPIOs. Auf T1-Sequenzen kurz nach KMI war zunächst eine schwach ausgeprägte, linienförmige Signalanhebung im Kniegelenk zu erkennen, die mit der histologisch bestimmten, entzündeten Synovialmembran übereinstimmte. Dieser frühe Kontrastmitteleffekt ist wahrscheinlich auf eine Perfusion der hypervaskularisierten Synovialmembran durch die jeweiligen USPIOs zurückzuführen. Die weiteren T1-Sequenzen zeigten eine zunehmende Signalanhebung im angrenzenden ödematösen Gewebe und im Gelenkserguss, mit einem Maximum 45 min p.i., das auch 2 h p.i. noch vorhanden war. 24h p.i. war im Kniegelenk kein T1-Effekt mehr festzustellen. (Abb. 13)

Auf T2*- und T2-gewichteten MRT Bildern war 2 h p.i. ein deutlicher Signalabfall in den arthritischen Kniegelenken feststellbar, die Lokalisation entsprach der Lokalisation der positiven Signalanhebung auf T1-gewichteten Bildern. 24 h p.i. zeigte sich Areale mit Signalminderung im Bereich des Kniegelenkes, die histopathologisch den Bereichen arthritisch veränderter Synovialmembran entsprachen. Dieser bestehende, negative Kontrastmitteleffekt ist offensichtlich auf eine Speicherung der Eisenoxidpartikel durch Makrophagen der entzündeten Synovialmembran zurückzuführen. Die niedrige Signalintensität der Synovialmembran ermöglichte eine gute Abgrenzung zum Gelenkserguss mit hoher Signalintensität. Der beschriebene Kontrastmitteleffekt der USPIOs war auf T2*-gewichteten SPGR Sequenzen ausgeprägter als auf den T2-gewichteten SE Sequenzen. (Abb. 14, 15)

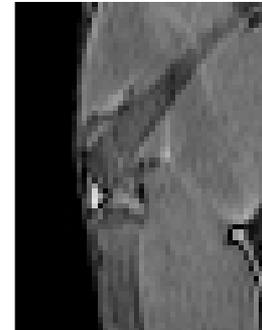
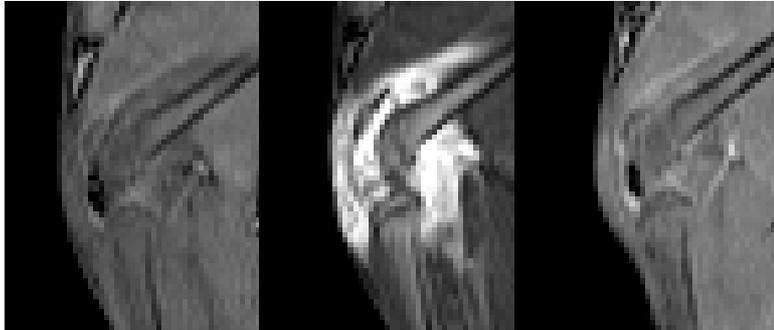
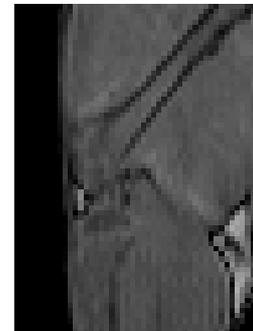
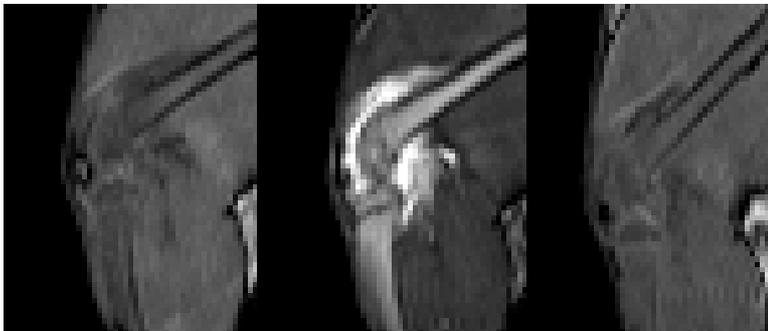
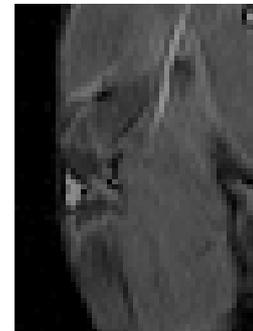
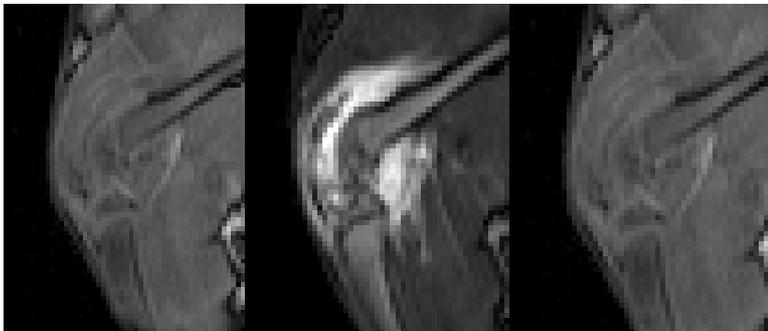
Normale Kniegelenke: Die kontralateralen, normalen Kniegelenke zeigten zu keinem Zeitpunkt nach Injektion der USPIOs eine erkennbare Signalanhebung

auf T1-gewichteten Bildern. Lediglich auf T2*-Bildern war bis zu 2 h p.i. ein minimaler Signalabfall zu erkennen, 24 h p.i. gab es in den normalen Kniegelenken, im Gegensatz zu den arthritischen, auf T2*-Bildern keinen Kontrastmitteleffekt mehr. (Abb. 13, 14, 15)

Quantitative Analyse:

Arthritische Kniegelenke: Die quantitativen Daten für den Kontrastmitteleffekt waren nicht signifikant unterschiedlich für die einzelnen USPIOs, weder für T1-gewichtete ($p=0.65$), noch für T2*-gewichtete Sequenzen ($p=0.84$). 2 h p.i. waren die SNR und ΔSI Werte für jedes USPIO signifikant erhöht auf T1-gewichteten Sequenzen und signifikant erniedrigt auf T2*-gewichteten Sequenzen, verglichen mit den Ausgangswerten ($p<0.001$). 24 h p.i. waren die SNR und ΔSI Werte auf den T1-gewichteten Sequenzen nicht signifikant verschieden zu den Ausgangswerten vor Kontrastmittelgabe ($p=0.35$). Die SNR und ΔSI Werte der T2*-Sequenzen hingegen zeigten einen signifikanten Abfall ($p<0.001$). Diese 24 h p.i. beobachtete Entkoppelung von T1- und T2*-Effekt in der entzündeten Synovialmembran lässt eine intrazelluläre Kompartimentbildung der Eisenoxide in Makrophagen vermuten. (Abb. 16, 17)

Normale Kniegelenke: Bei allen drei verwendeten USPIOs waren die Kontrastmitteleffekte auf die SNR und ΔSI Werte signifikant kleiner, verglichen mit den arthritischen Kniegelenken ($p<0.001$). Die Unterschiede wurden 2 h p.i. für die jeweils T1- bzw. T2*-gewichteten Sequenzen bestimmt ($p<0.001$), sowie 24 h p.i. für T2*-gewichtete Bilder ($p<0.001$). Trotz der großen Unterschiede zu den Werten der arthritischen Kniegelenken zeigten auch die SNR und ΔSI Werte der normalen Kniegelenke p.i. einen signifikanten Unterschied im Vergleich zu den Ausgangswerten ($p<0.01$). Die Signalanhebung auf den frühen T1- bzw. der Signalabfall auf frühen T2*-gewichteten Bildern lässt sich wahrscheinlich auf eine vorübergehende Perfusion der normalen Synovialmembran mit dem Kontrastmittel zurückführen. 24 h p.i. waren bei allen USPIOs für keine der beiden Pulssequenzen signifikante Unterschiede zu den Ausgangswerten festzustellen ($p>0.05$). (Abb. 16, 17)

Arthritisches Kniegelenk**Normales
Kniegelenk****SHU555C****Ferumoxtran-10****Ferumoxytol**

pre

2 h

24 h

24 h

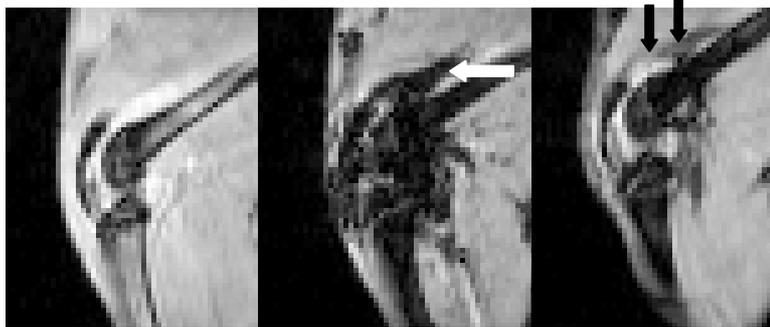
Abbildung 13: Repräsentative sagittale T1-gewichtete 3D-SPGR MRT Bilder (TR/TE/ α =50ms/1.7ms/60°) durch das Kniegelenk einer Ratte vor, 2 h und 24 h nach i.v. Injektion der drei einzelnen USPIOs (obere Zeile: SHU555C, mittlere Zeile: Ferumoxtran-10, untere Zeile: Ferumoxytol) in drei verschiedenen Versuchstieren. Jedes USPIO führt 2 h p.i. zu einer deutlichen Signalanhebung im arthritischen Kniegelenk. 24 h p.i. ist kein Kontrastmitteleffekt mehr nachzuweisen. In den normalen Kniegelenken ist zu keinem Zeitpunkt nach Injektion eines der USPIOs eine sichtbare Signalveränderung zu

beobachten (Bilder der normalen Kniegelenke jeweils 2 h nach Kontrastmittelinjektion).

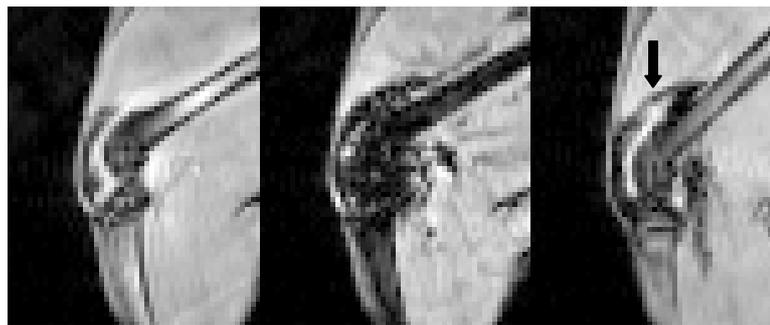
Arthritisches Kniegelenk

Normales Kniegelenk

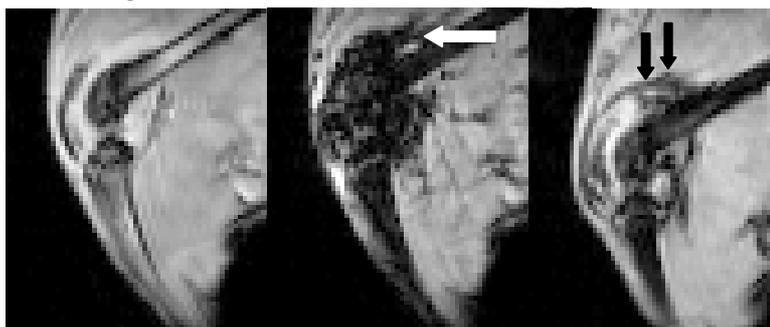
SHU555C



Ferumoxtran-10



Ferumoxytol



pre

2 h

24 h

24 h

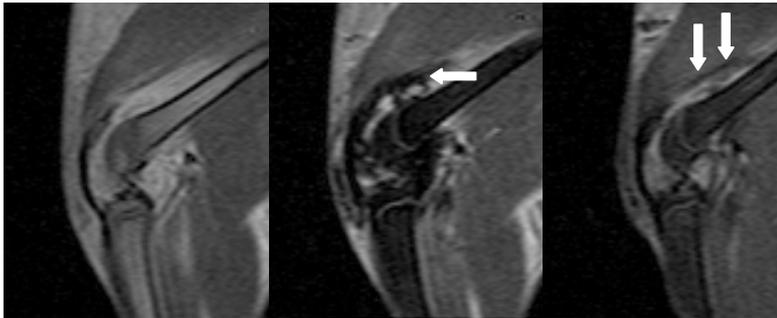
Abbildung 14: Repräsentative sagittale T2*-gewichtete 3D-SPGR MRT Bilder (TR/TE/ α =100ms/15ms/38°) durch das Kniegelenk einer Ratte vor, 2 h und 24 h nach i.v. Injektion der drei einzelnen USPIOs in drei verschiedenen Versuchstieren. Die Schnitte entsprechen denen der T1-gewichteten Bilder aus Abbildung 12. Alle USPIOs zeigen eine ausgeprägte Signalminderung, besonders im Recessus Suprapatellaris, 2 h p.i. (weißer Pfeil)

sowie 24 h p.i. (schwarze Pfeile). Die 24 h p.i. Aufnahmen der normalen Kniegelenke zeigen keinen Kontrastmitteleffekt.

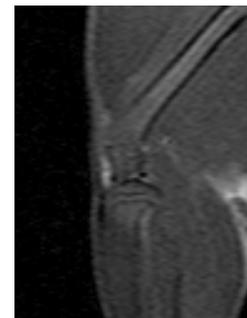
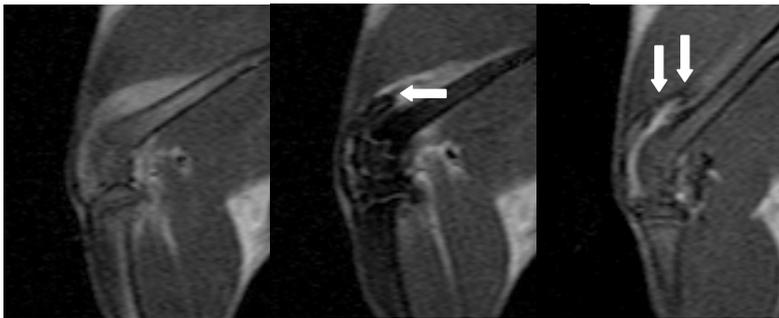
Arthritisches Kniegelenk

Normales Kniegelenk

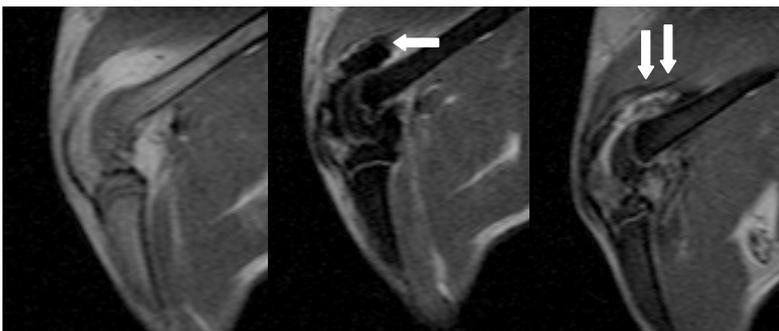
SHU555C



Ferumoxtran-10



Ferumoxytol



pre

2 h

24 h

24 h

Abbildung 15: Repräsentative sagittale T2-gewichtete SE MRT Bilder (TR/TE = 2000ms/40 ms) durch das Kniegelenk einer Ratte vor, 2 h und 24 h nach i.v. Injektion der drei einzelnen USPIOs in drei verschiedenen Versuchstieren. Die Schnitte entsprechen denen der Bilder aus Abbildung 12 und 13. Entsprechend Abbildung 13 zeigen alle USPIOs eine ausgeprägte

Signalmindering, besonders im Recessus Suprapatellaris, 2 h p.i. (weißer Pfeil) sowie 24 h p.i. (weiße Pfeile). Die 24 h p.i. Aufnahmen der normalen Kniegelenke zeigen keinen Kontrastmitteleffekt.

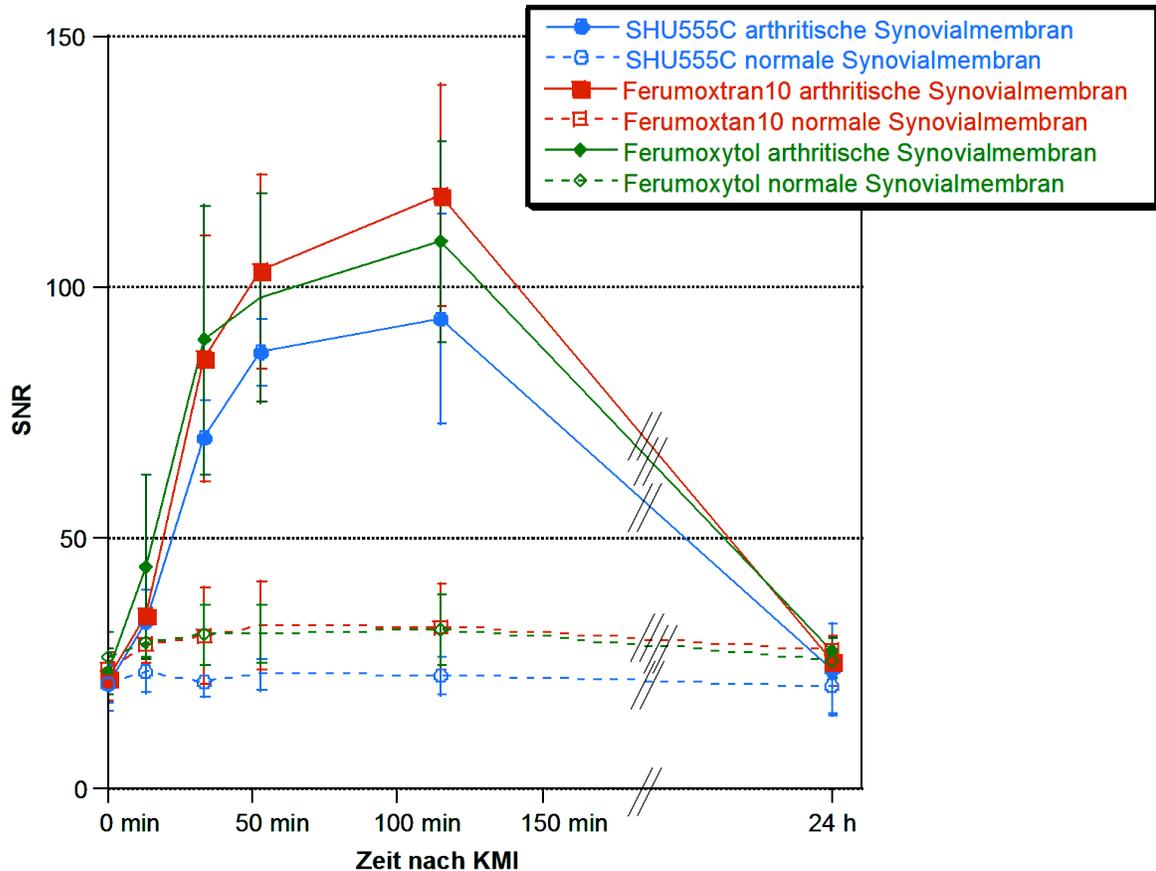


Abbildung 16: Quantitative SNR-Werte der arthritischen und kontralateralen Kniegelenke, gemessen nach Injektion von SHU555C, Ferumoxtran-10 bzw. Ferumoxytol in T1-gewichteten 3D-SPGR Sequenzen ($TR/TE/\alpha = 50ms/1.7 ms/60^\circ$). Dargestellt sind Mittelwerte und Standardabweichungen aus drei Gruppen von jeweils sechs Versuchstieren (Gruppe 2,3,4). Das arthritische Kniegelenk zeigt bei jedem der verwendeten USPIOs einen vergleichbaren, zunächst stark zunehmenden, später flacheren Anstieg der Signalanhebung. Maximale SNR-Werte werden ca. 2 h p.i. erreicht, 24 h p.i. sind die SNR-Werte wieder bei Ausgangsniveau. Bei dem kontralateralen Kniegelenk ist jeweils nur eine minimale Änderung der SNR-Werte zu beobachten.

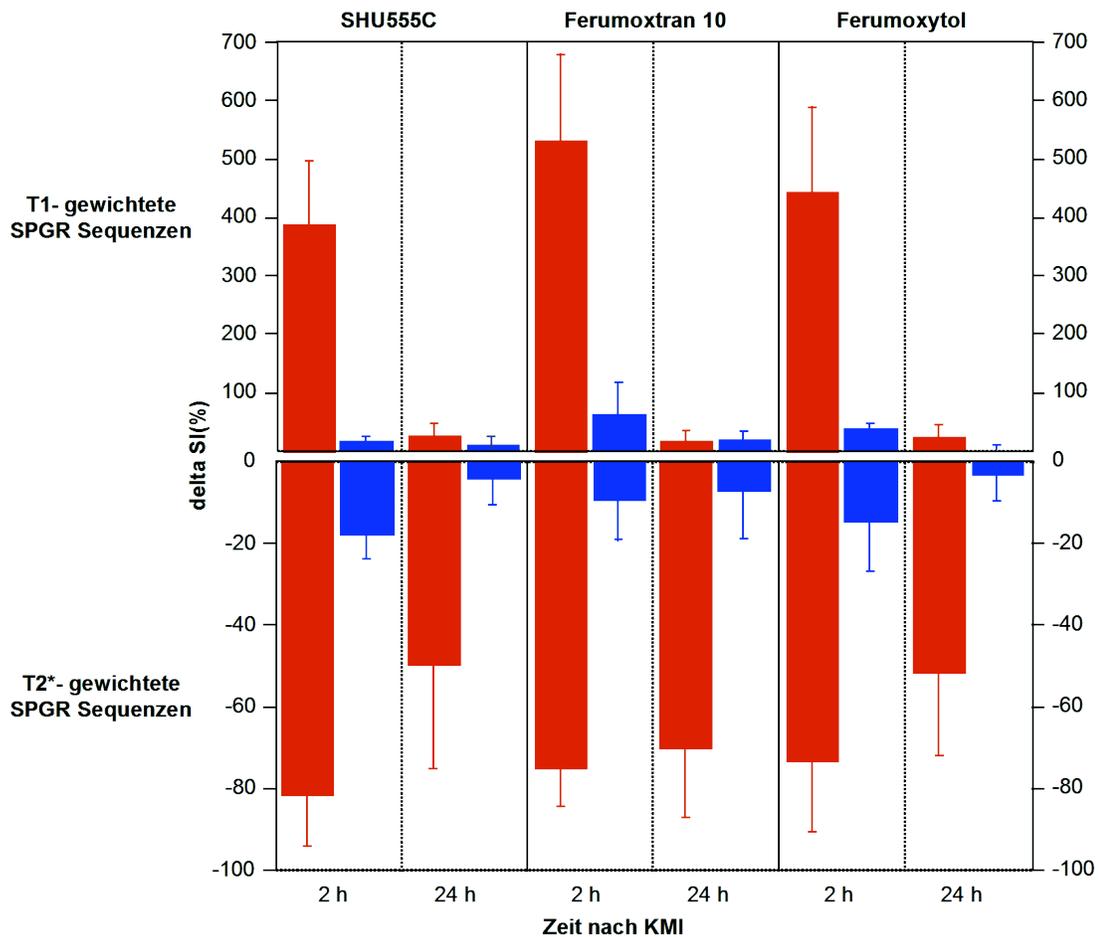


Abbildung 17: Quantitative $\Delta Si(\%)$ -Werte der arthritischen und kontralateralen Kniegelenke, gemessen nach Injektion von SHU555C, Ferumoxtran-10 bzw. Ferumoxytol in T1- ($TR/TE/\alpha = 50ms/1.7 ms/60^\circ$) und T2*- ($TR/TE/\alpha=100ms/15ms/38^\circ$) gewichteten 3D-SPGR Sequenzen. Dargestellt sind Mittelwerte und Standardabweichungen aus drei Gruppen von jeweils sechs Versuchstieren (Gruppe 2,3,4). In den arthritischen Kniegelenken präsentiert sich 2 h p.i. jeweils eine vergleichbare maximale Signaländerung, sowohl auf T1- als auch auf T2*-gewichteten Bildern. Die $\Delta Si(\%)$ -Werte der kontralateralen Kniegelenke sind 2 h p.i. deutlich geringer. 24 h p.i. ist jeweils noch ein ausgeprägter T2*-Effekt zu beobachten, eine signifikante T1-Signalanhebung ist nicht mehr festzustellen. In den kontralateralen Kniegelenken sind die $\Delta Si(\%)$ -Werte minimal, sowohl auf den T1- als auch für den T2*-Aufnahmen.

5. Diskussion

Die Daten zeigen, dass die Arthritis der Versuchstiere mit dem USPIO SHU555C besser erkannt sowie charakterisiert werden konnte als mit Gd-DTPA. Die T1-Signalanhebung mit SHU555C ist mindestens so ausgeprägt, zusätzlich aber länger andauernd, verglichen mit der von Gd-DTPA. Dieses Phänomen wurde anscheinend bislang nicht beschrieben. Außerdem ist SHU555C in der Lage, die Entzündung durch einen persistierenden negativen Kontrastmitteleffekt auf T2/T2*-gewichteten MRT Bildern zu charakterisieren, was auf einer Phagozytose des USPIOs durch Makrophagen beruht.

Des Weiteren ist aus den Daten zu erkennen, dass die Arthritis mit allen drei USPIOs, SHU555C, Ferumoxtran-10 und Ferumoxytol gleichermaßen gut erkannt und charakterisiert werden kann. Jedes der USPIOs bewirkt eine lang anhaltende, deutliche positive Signalanhebung auf den frühen T1-gewichteten MRT-Sequenzen, die zur Entdeckung der Entzündung genutzt werden kann. Außerdem zeigte sich sowohl bei SHU555C, Ferumoxtran-10 als auch Ferumoxytol ein bestehender negativer Signalverlust auf den späten T2/T2*-gewichteten Bildern, die der Charakterisierung der Erkrankung dienen könnten. Da sich derzeit alle drei USPIOs in verschiedenen Ländern in unterschiedlichen Phasen der klinischen Prüfung befinden, kann jeder Anwender dasjenige Kontrastmittel für seine Untersuchungen verwenden, welches in seinem Land am ehesten für potentielle klinische Anwendungen zugelassen und verfügbar ist. Alle drei USPIOs wurden von anderen Untersuchern für andere Indikationen bereits sicher und mit guter Toleranz bei Patienten angewendet. (Sharma, 291-4; Tombach, S425-7; Ersoy, 1181-6)

Frühere Studien betonten wiederholt eine ausgeprägte positive Signalanhebung auf T1-gewichteten MRT Bildern im Blutpool von Blutgefäßen nach i.v. Gabe von USPIOs. Dieser Effekt wurde sowohl in Versuchstieren (Wacker, 1251-4.; Wacker, 459-64) als auch Patienten (Reimer, 474-81. Epub 2004 Mar 24.;

Tombach, S425-7) zur Angiographie genutzt. Die positive Signalanhebung der USPIOs beruht auf einer Interaktion der Kontrastmittel mit freien Protonen, die Verteilung der USPIOs im Blut ermöglicht hier verstärkt diese Interaktionen. Im Gegensatz dazu wurde der T1-Effekt von USPIOs in Geweben immer als geringer im Vergleich zu dem T1-Effekt der Standard-extrazellulären Kontrastmittel angesehen. Die USPIO Partikel haben in Geweben ein unvorteilhaft großes $T2^*/T1$ Verhältnis, was zurückzuführen ist auf das geringe Verteilungsvolumen von USPIOs in Geweben, der möglichen Kompartimentalisierung in Organen des RES (Saini, 1147-52) und der relativ geringen Anzahl freier Protonen in Geweben. Die hier erhobenen Daten zeigen jedoch, dass entzündetes Gewebe eine spezifische pathologische Entität darstellen könnte, in der der T1-Effekt von USPIOs mehr zu Geltung kommt. Die Hyperämie und die Hyperpermeabilität der Kapillaren in entzündetem Gewebe führt zu einer massiven Extravasation von USPIOs aus dem Blutpool in das Interstitium. (Andersson, 1772-7.; Warren, 581-4) Auch findet man in dem mit Entzündungen einhergehenden Ödem ein vermehrtes Vorkommen freier Protonen im Interstitium, mit denen die USPIO Partikel interagieren können. In der arthritischen Synovialmembran resultiert damit eine hohe Gesamtkonzentration USPIO Partikel, die mit zahlreichen freien Protonen in den intra- und extravaskulären Kompartimenten interagieren können, woraus sich der beobachtete starke T1-Effekt ergibt. Des Weiteren zeigen die Daten auch, dass die T1-Signalanhebung nach Gabe von SHU555C im Vergleich zum Standardkontrastmittel Gd-DTPA nicht nur quantitativ gleichwertig ist, sondern auch wesentlich länger anhält. Dieser deutlich längere Zeitverlauf des T1-Effekts von USPIO kann durch die langsamere Pharmakokinetik des USPIOs verglichen mit Gd-DTPA erklärt werden (Brasch, 625-30; Weinmann, 619-24; Weissleder, 489-93) und könnte zur Erkennung multifokaler entzündlicher Erkrankungen mit der MRT genutzt werden.

Der $T2^*/T2$ -Effekt der USPIOs fügte den anatomischen Informationen, die mit T1-gewichteten Pulssequenzen gewonnen werden konnten, noch einen

funktionellen Aspekt hinzu. Die Unterschiede der Signalintensitäten in der arthritischen Synovialmembran 2 h p.i. im Vergleich zu den Intensitäten 24h p.i. können mit einer zunehmenden Kompartimentalisierung und daraus resultierender Änderung der Dipolinteraktionen und des Suszeptibilitätseffekts begründet werden. (Guimaraes, 201-7; Chambon, 509-19; Muller, 178-82; discussion 195-6) Auch in der frühen Kontrastmittelfase rufen die USPIO-Partikel durch Protonendephasierung und „outer sphere interactions“ schon einen gewissen T2-Effekt hervor. Mit zunehmender Kompartimentalisierung in Makrophagen tritt dieser T2- und T2*-Effekt der Eisenoxidpartikel im Zeitverlauf mehr in den Vordergrund, da die Partikel in den Makrophagen eine hohe Dichte aufweisen. (Briley-Saebo, 622-31) Gleichzeitig nimmt der T1-Effekt kontinuierlich ab, es gibt weniger mögliche Interaktionen zwischen USPIO-Partikel und freien Protonen in der Zelle. Das Ergebnis ist die beobachtete Entkoppelung von T1- und T2-Effekt auf den späten MRT-Bildern. Ein persistierender negativer USPIO-Kontrastmitteleffekt in der Synovialmembran auf den MRT-Bildern 24 h p.i. war bezeichnend für eine erfolgte Phagozytose der Eisenoxide durch Makrophagen in der aktiven Entzündung. (Lutz, 149-57) Da die Phagozytose der USPIO-Partikel ein langsamer Prozess ist, der über einen Zeitraum von mehreren Stunden erfolgt kann, muss die Beurteilung des T2*/T2-Effektes zu diesem Zweck auf späten MRT-Aufnahmen erfolgen. (Weissleder, 489-93; Kaim, 169-74; Kaim, 808-14) Die maximale Speicherung von USPIO-Partikeln in der Entzündung steigt mit vermehrter zellulärer Infiltration des Gewebes. (Kaim, 169-74; Kaim, 808-14) Nach unseren Ergebnissen sind alle drei verwendeten USPIOs gleichermaßen geeignet, die Aktivität entzündlicher Prozesse zu beurteilen. Es soll betont werden, dass Angiogenese und zelluläre Infiltration entscheidende und voneinander abhängige Merkmale der rheumatoiden Arthritis sind. (Jackson, 457-65) Während der Einsatz von Gd-DTPA lediglich die Angiogenese darstellbar macht, könnten USPIO für die Charakterisierung beider Merkmale genutzt werden.

Nach Gabe von USPIOs wurden ausgeprägte positive Signalanhebungen der entzündeten Synovialmembran auf T1-gewichteten Sequenzen mit bis zu 400% Erhöhung gegenüber den Ausgangswerten beobachtet. Ein T1-Effekt dieser Größenordnung in Geweben wurde nach Wissen des Autors noch nicht beschrieben. Der T1-Effekt wurde optimiert durch Verwendung einer Pulssequenz mit minimaler Echozeit, die T2/T2*-Effekte unterdrückt, sowie Verwendung einer optimierten Kontrastmitteldosis. Bemerkenswert ist, dass in einem Bereich von 40 $\mu\text{mol Fe/kg}$ bis 200 $\mu\text{mol Fe/kg}$ eine Erhöhung der USPIO-Dosis nicht zu einer Abnahme des T1-Effekts durch überlagernde T2*-Effekte führt, sondern tatsächlich zu einer Zunahme des T1-Effekts.

Die kombinierte Darstellung der USPIO-Perfusion der entzündeten Synovialmembran auf T1-gewichteten Sequenzen und der USPIO-Phagozytose auf den späten T2/T2*-gewichteten Sequenzen ermöglicht zusätzliche Informationen verglichen mit den herkömmlichen Gd-DTPA Untersuchungen oder vorangegangenen Studien, die USPIOs lediglich zu Charakterisierung der Makrophagenaktivität verwendeten. (Lutz, 149-57; Kaim, 169-74; Kaim, 808-14; Beckmann, 1047-55) Es wurde gezeigt, dass der durch USPIOs hervorgerufene T1-Effekt auf den frühen MRT-Bildern mit dem Grad der Angiogenese korrelierte. Der T2-Effekt der späten MRT-Bilder korrelierte mit der Anzahl von phagozytierenden Monozyten/Makrophagen in der Synovialmembran, der Menge an phagozytierten Eisenoxidpartikeln und dem Grad der Entzündung. (Metz, 1851-8; Tak, 217-25) Durch Kombination von T1- und T2-gewichteten Sequenzen nach Gabe von USPIOs wäre es möglich, frühe und für den Krankheitsverlauf entscheidende Merkmale der rheumatoiden Arthritis, Angiogenese und zelluläre Infiltration der Synovialmembran, mit einer einzigen Untersuchung zu entdecken und zu beurteilen.

Einschränkungen:

Die Antigen induzierte Arthritis ist ein weit verbreitetes Modell für die rheumatoide Arthritis im Menschen. (Jasin, 147-52; Wooley, 47-58.) Trotz der vielen Gemeinsamkeiten zwischen den beiden Arthritisformen wie z.B. das histologische Erscheinungsbild mit synovialer Hypervaskularisation und zellulärer Infiltration bestehen auch einige Unterschiede wie Pathogenese, Krankheitsverlauf und Verteilungsmuster der betroffenen Gelenke. (Klareskog, 315-33.)

Die Verabreichte Dosis des SHU555C in dieser Studie (200 $\mu\text{mol Fe/kg}$) war deutlich höher als die zugelassene Dosis für SHU555C bei Menschen (40 $\mu\text{mol Fe/kg}$). (Wacker, 1251-4.) Eine Erhöhung der Dosis von SHU555C in Nagetieren wird empfohlen, um die im Vergleich zum Menschen schnellere Biodistribution des USPIOs in Nagetieren auszugleichen. (Corot, 619-25) Eine Erhöhung der Dosis führt zu einer zunehmenden Sättigung der Aufnahme von USPIO-Partikeln in Leber und Milz und somit zu einer verlängerten Halbwertszeit von SHU555C. Die optimale Dosis, die notwendig ist, den in dieser Studie beschriebenen T1-Effekt im Menschen zu erreichen, muss noch bestimmt werden. SHU555C wurde bislang in Patienten mit einer Dosis von bis zu 80 $\mu\text{mol Fe/kg}$ Körpergewicht sicher i.v. verabreicht. (Tombach, S425-7)

Alle drei USPIOs wurden in dieser Studie als Bolusinjektion verabreicht um die Art und Weise der Applikation konstant zu halten. Im klinischen Gebrauch sind lediglich SHU555C und Ferumoxytol als Bolus zu verabreichen, Ferumoxtran-10 muss als langsame Infusion appliziert werden. Diese Unterschiede in der klinischen Anwendung könnte zu weiteren Unterschieden der in vivo Distribution der drei USPIOs führen.

Es wurden keine späteren MRT Aufnahmen als 24h p.i. gemacht, es ist davon auszugehen, dass ein kontinuierlich abnehmender T2-Effekt der USPIOs zu beobachten wäre. Wie frühere Studien gezeigt haben, unterliegen die Hüllen der USPIO Partikel einem progressiven Abbau und anschließender renalen

Elimination. Die so freigesetzten Eisenoxidkerne können dadurch vermehrt mit freien Protonen interagieren und somit zu einem erneuten T1-Effekt führen. (Daldrop-Link, 197-205) Die Eisenoxide gehen letztendlich in den Eisenpool des Körpers ein. Weitere Studien könnten zeigen, ab wann die Signalintensitäten der MRT Sequenzen wieder den Ausgangswerten entsprechen. Dies wäre von Bedeutung für die eventuelle Planung von follow up Untersuchungen.

Mögliche klinische Anwendungen:

USPIOs könnten zur Erkennung und Charakterisierung von entzündlichen Prozessen verwendet werden, was besonders in der frühen Diagnose und Verlaufsbeobachtung der Rheumatoiden Arthritis Anwendung finden würde. Außerdem könnte die Methode auch der Diagnostik anderer arthritischer oder entzündlicher Prozesse wie Abszesse, granulomatöse Erkrankungen oder durch Ischämien verursachte Entzündungen bei Herz- oder Hirninfarkt dienen. Der lang anhaltende T1-Effekt in entzündeten Geweben ermöglicht die Evaluierung mehrerer Organe und/oder Gelenke eventuell sogar Ganzkörperuntersuchungen bei multifokalen entzündlichen Erkrankungen. Die Aufnahme der USPIOs durch Makrophagen und der daraus resultierende späte T2-Effekt ließen sich zur Charakterisierung und Beurteilung der Aktivität entzündlicher Prozesse verwenden. Bezüglich der rheumatoiden Arthritis wäre somit die Möglichkeit gegeben, Therapien früher und gezielter anzusetzen und das Ansprechen der Erkrankung auf die Therapie besser zu beurteilen, was letztendlich manifeste Gelenks- und Organdestruktionen verhindern oder zumindest verzögern würde. (Quinn, S154-7)

Zusammenfassend hat die vorliegende Studie gezeigt, dass USPIOs sowohl die Erkennung einer Synovialitis auf frühen T1-gewichteten Sequenzen als auch die Charakterisierung der Entzündung auf späten T2-gewichteten Sequenzen nach Kontrastmittelgabe ermöglichen. Alle drei verwendeten USPIOs, SHU555C, Ferumoxtran-10 und Ferumoxytol, die sich momentan in Phase III der klinischen

Prüfung befinden, können gleichermaßen mit dieser Indikation verwendet werden.

Zusammenfassung

HINTERGRUND: Die Magnet-Resonanz-Tomographie (MRT) besitzt bei der Beurteilung von Gelenkveränderungen im Rahmen der Rheumatoiden Arthritis (RA) einen hohen Stellenwert. Die Aussagekraft der Untersuchungen können durch die Verwendung von Kontrastmitteln deutlich erhöht werden.

ZIELSETZUNG: Bestimmung der Wertigkeit der neuen Gruppe von Eisenoxid-Kontrastmitteln (USPIO) bei der Erkennung und Charakterisierung von Antigen-induzierter monoartikulärer Arthritis im MRT im Vergleich zum Standard MRT-Kontrastmittel Gd-DTPA sowie Vergleich dreier repräsentativer USPIOs untereinander.

MATERIAL UND METHODEN: 27 sieben Wochen alte weibliche Sprague Dawley Ratten wurden randomisiert in fünf Gruppen eingeteilt. Bei den jeweils 6 Ratten der Gruppen I bis IV wurde eine monoartikuläre Arthritis des rechten Kniegelenks induziert, die 3 Ratten der Gruppe V dienten als Kontrollgruppe. In Gruppe I wurden an Tag 1 T1-gewichtete 3D-SPGR Sequenzen erstellt, vor der Injektion von Gd-DTPA sowie 2, 9, 17, 25, 33, 40, 47, 55 und 63 Minuten nach Injektion (p.i.). An Tag 2 wurden dieselben Sequenzen vor SHU555C-Injektion sowie 3, 23, 43 und 123 Minuten p.i. erstellt. In den Gruppen II, III und IV wurden jeweils vor Injektion der USPIOs SHUCCC5 in Gruppe II, Ferumoxtran-10 in Gruppe III und Ferumoxytol in Gruppe IV sowie bis zu zwei Stunden p.i. und noch einmal 24 Stunden p.i. T2-gewichtete 2D Spinecho, T2*-gewichtete 3D-SPGR und T1-gewichtete 3D-SPGR Sequenzen erstellt. Signal-to-noise ratios (SNRs) und das relative Enhancement ($\Delta SI\%$) von arthritisch veränderter und normaler Synovialmembran wurden von einem Untersucher in benutzerdefinierten regions of interest (ROIs) gemessen. Die Daten wurden mittels mixed-effect model und F-Test ($p < 0,05$) auf signifikante Unterschiede zwischen den Kontrastmitteln Gd-DTPA und SHU555C bzw. den einzelnen USPIOs untereinander sowie zwischen arthritischen und normalen Kniegelenken

untersucht. Als Goldstandard diente die histopathologische Untersuchung der Kniegelenke.

ERGEBNISSE: SHU555C und Gd-DTPA zeigten signifikante Unterschiede im Enhancement ($p < 0,001$) in Gruppe I. Während SHU555C einen progressiven und persistierenden Kontrastmitteleffekt erzeugte, zeigte das Enhancement nach Gabe von Gd-DTPA einen frühen Peak mit raschem Abfall. Maximales Enhancement der Synovialmembran war 400% 40-120 min nach SHU555C Injektion und 300% 2 Minuten nach Gd-DTPA Injektion. Der Unterschied im Kontrastmitteleffekt zwischen arthritisch veränderter und normaler Synovialmembran war signifikant höher nach SHU555C Applikation, verglichen mit Gd-DTPA. In den Gruppen II bis IV zeigten sich in sämtlichen verwendeten Sequenzen keine signifikante Unterschiede der SNR- und $\Delta SI\%$ -Werte zwischen den einzelnen USPIOs ($p > 0,05$). 2 Stunden nach Injektion der USPIOs waren SNR und $\Delta SI\%$ in den T1-gewichteten Sequenzen signifikant erhöht gegenüber den Ausgangswerten und im entsprechenden Areal in T2*-gewichteten Sequenzen signifikant erniedrigt ($p > 0,1001$). 24 Stunden nach Injektion der USPIOs war der Kontrastmitteleffekt der T1-gewichteten Sequenzen wieder im Bereich der Ausgangswerte, während das Enhancement auf T2*-gewichtete Sequenzen noch deutlich zu erkennen war ($p < 0,0001$). Histopathologisch wurden ausgeprägte entzündliche Veränderungen in der Synovialmembran der rechten Kniegelenke gefunden, die linken Kniegelenke zeigten keine Veränderungen. Immunhistochemische Färbung ergab eine Kompartimentalisierung der USPIOs in Makrophagen der arthritisch veränderten Synovialmembran.

SCHLUSSFOLGERUNGEN: Sowohl SHU555C als auch Gd-DTPA können zur Detektion der Arthritis aufgrund von positivem T1-Enhancement verwendet werden. SHU555C erzielt ein vergleichbares maximales T1-Enhancement wie das Standard-Kontrastmittel Gd-DTPA (2 Minuten p.i. für Gd-DTPA, zwischen 43 und 123 Minuten p.i. für SHU555C). Zusätzliche Vorteile von SHU555C

gegenüber Gd-DTPA sind in ein insgesamt länger anhaltendes T1-Enhancement sowie eine höhere Differenz im relativen Enhancement zwischen arthritisch veränderter und normaler Synovialmembran. Es bestehen keine Unterschiede in der Wertigkeit der USPIOs SHU555C, Ferumoxtran-10 und Ferumoxytol für die MRT der Arthritis. Mögliche weitere Vorteile der USPIOs gegenüber Gd-DTPA liegen in der Möglichkeit der Charakterisierung der Arthritis anhand des späten T2*-Enhancements.

Die vorliegende Arbeit zeigt, dass die neue Gruppe der Eisenoxid-Kontrastmittel (USPIOs) sowohl die Erkennung einer Synovialitis als auch die Charakterisierung der Entzündung nach Kontrastmittelgabe ermöglichen. Alle drei verwendeten USPIOs, SHU555C, Ferumoxtran-10 und Ferumoxytol, die sich momentan in Phase III der klinischen Prüfung befinden, können gleichermaßen mit dieser Indikation verwendet werden.

Literaturverzeichnis

"Primer on the rheumatic diseases." (1993). Arthritis Foundation.

Alasaarela, E., Suramo, I., Tervonen, O., Lahde, S., Takalo, R. and Hakala, M. (1998). "Evaluation of humeral head erosions in rheumatoid arthritis: a comparison of ultrasonography, magnetic resonance imaging, computed tomography and plain radiography." *Br J Rheumatol* 37(11): 1152-6.

Allkemper, T., Bremer, C., Matuszewski, L., Ebert, W. and Reimer, P. (2002). "Contrast-enhanced blood-pool MR angiography with optimized iron oxides: effect of size and dose on vascular contrast enhancement in rabbits." *Radiology* 223(2): 432-8.

Andersson, S.E., Johansson, A., Lexmuller, K. and Ekstrom, G.M. (1998). "Physiological characterization of mBSA antigen induced arthritis in the rat. II. Joint blood flow, glucose metabolism, and cell proliferation." *J Rheumatol* 25(9): 1778-84.

Andersson, S.E., Lexmuller, K. and Ekstrom, G.M. (1998). "Physiological characterization of mBSA antigen induced arthritis in the rat. I. Vascular leakiness and pannus growth." *J Rheumatol* 25(9): 1772-7.

Anzai, Y., Piccoli, C.W., Outwater, E.K., Stanford, W., Bluemke, D.A., Nurenberg, P., Saini, S., Maravilla, K.R., Feldman, D.E., Schmiedl, U.P., Brunberg, J.A., Francis, I.R., Harms, S.E., Som, P.M. and Tempany, C.M. (2003). "Evaluation of neck and body metastases to nodes with ferumoxtran 10-enhanced MR imaging: phase III safety and efficacy study." *Radiology* 228(3): 777-88.

Anzai, Y., Prince, M.R., Chenevert, T.L., Maki, J.H., Londy, F., London, M. and McLachlan, S.J. (1997). "MR angiography with an ultrasmall superparamagnetic iron oxide blood pool agent." *J Magn Reson Imaging* 7(1): 209-14.

- Arnett, F.C., Edworthy, S.M., Bloch, D.A., McShane, D.J., Fries, J.F., Cooper, N.S., Healey, L.A., Kaplan, S.R., Liang, M.H., Luthra, H.S. and et al. (1988). "The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis." *Arthritis Rheum* 31(3): 315-24.
- Barnett, M.L., Kremer, J.M., St Clair, E.W., Clegg, D.O., Furst, D., Weisman, M., Fletcher, M.J., Chasan-Taber, S., Finger, E., Morales, A., Le, C.H. and Trentham, D.E. (1998). "Treatment of rheumatoid arthritis with oral type II collagen. Results of a multicenter, double-blind, placebo-controlled trial." *Arthritis Rheum* 41(2): 290-7.
- Beckmann, N., Falk, R., Zurbrugg, S., Dawson, J. and Engelhardt, P. (2003). "Macrophage infiltration into the rat knee detected by MRI in a model of antigen-induced arthritis." *Magn Reson Med* 49(6): 1047-55.
- Beltran, J., Caudill, J.L., Herman, L.A., Kantor, S.M., Hudson, P.N., Noto, A.M. and Baran, A.S. (1987). "Rheumatoid arthritis: MR imaging manifestations." *Radiology* 165(1): 153-7.
- Benton, N., Stewart, N., Crabbe, J., Robinson, E., Yeoman, S. and McQueen, F.M. (2004). "MRI of the wrist in early rheumatoid arthritis can be used to predict functional outcome at 6 years." *Ann Rheum Dis* 63(5): 555-61.
- Brackertz, D., Mitchell, G.F., Vadas, M.A., Mackay, I.R. and Miller, J.F. (1977). "Studies on antigen-induced arthritis in mice. II. Immunologic correlates of arthritis susceptibility in mice." *J Immunol* 118(5): 1639-44.
- Brasch, R.C., Weinmann, H.J. and Wesbey, G.E. (1984). "Contrast-enhanced NMR imaging: animal studies using gadolinium-DTPA complex." *AJR Am J Roentgenol* 142(3): 625-30.
- Briley-Saebo, K., Hustvedt, S.O., Haldorsen, A. and Bjornerud, A. (2004). "Long-term imaging effects in rat liver after a single injection of an iron oxide

- nanoparticle based MR contrast agent." *J Magn Reson Imaging* 20(4): 622-31.
- Buchner, E., Brauer, R., Schmidt, C., Emmrich, F. and Kinne, R.W. (1995). "Induction of flare-up reactions in rat antigen-induced arthritis." *J Autoimmun* 8(1): 61-74.
- Chambon, C., Clement, O., Le Blanche, A., Schouman-Claeys, E. and Frija, G. (1993). "Superparamagnetic iron oxides as positive MR contrast agents: in vitro and in vivo evidence." *Magn Reson Imaging* 11(4): 509-19.
- Clarke, S.E., Weinmann, H.J., Dai, E., Lucas, A.R. and Rutt, B.K. (2000). "Comparison of two blood pool contrast agents for 0.5-T MR angiography: experimental study in rabbits." *Radiology* 214(3): 787-94.
- Cooke, T.D., Hurd, E.R., Ziff, M. and Jasin, H.E. (1972). "The pathogenesis of chronic inflammation in experimental antigen-induced arthritis. II. Preferential localization of antigen-antibody complexes to collagenous tissues." *J Exp Med* 135(2): 323-38.
- Corot, C., Petry, K.G., Trivedi, R., Saleh, A., Jonkmanns, C., Le Bas, J.F., Blezer, E., Rausch, M., Brochet, B., Foster-Gareau, P., Baleriaux, D., Gaillard, S. and Dousset, V. (2004). "Macrophage imaging in central nervous system and in carotid atherosclerotic plaque using ultrasmall superparamagnetic iron oxide in magnetic resonance imaging." *Invest Radiol* 39(10): 619-25.
- Cruess, J.V., Manji, S.A. and Shellock, F.G. (1999). *Knee. Magnetic Resonance Imaging*. Stark, D. D. and Bradley, W. G. St.Louis, Mosby. Volume 2: 811-871.
- Daldrup-Link, H.E., Rudelius, M., Piontek, G., Metz, S., Brauer, R., Debus, G., Corot, C., Schlegel, J., Link, T.M., Peschel, C., Rummeny, E.J. and Oostendorp, R.A. (2005). "Migration of iron oxide-labeled human

- hematopoietic progenitor cells in a mouse model: in vivo monitoring with 1.5-T MR imaging equipment." *Radiology* 234(1): 197-205.
- Daldrup-Link, H.E., Rummeny, E.J., Ihssen, B., Kienast, J. and Link, T.M. (2002). "Iron-oxide-enhanced MR imaging of bone marrow in patients with non-Hodgkin's lymphoma: differentiation between tumor infiltration and hypercellular bone marrow." *Eur Radiol* 12(6): 1557-66. Epub 2002 Feb 5.
- Dawson, J., Gustard, S. and Beckmann, N. (1999). "High-resolution three-dimensional magnetic resonance imaging for the investigation of knee joint damage during the time course of antigen-induced arthritis in rabbits." *Arthritis Rheum* 42(1): 119-28.
- Dawson, P. (1996). "Contrast agents in magnetic resonance imaging." *Eur J Radiol* 23(3): 201-4.
- Dumonde, D.C. and Glynn, L.E. (1962). "The production of arthritis in rabbits by an immunological reaction to fibrin." *Br J Exp Pathol* 43: 373-83.
- Ersoy, H., Jacobs, P., Kent, C.K. and Prince, M.R. (2004). "Blood pool MR angiography of aortic stent-graft endoleak." *AJR Am J Roentgenol* 182(5): 1181-6.
- Falk, P. (2000). Examination of the synovium and synovial fluid. *Rheumatoid Arthritis, Frontiers in Pathogenesis and Treatment*. Firestein, G., Panayi, G. and Wollheim, F., Oxford University Press: 55-67.
- Fassbender, G. (2002). *Rheumatoid Arthritis. Pathology and Pathobiology of Rheumatic Diseases*, Springer: 55-159.
- Forslind, K., Larsson, E.M., Johansson, A. and Svensson, B. (1997). "Detection of joint pathology by magnetic resonance imaging in patients with early rheumatoid arthritis." *Br J Rheumatol* 36(6): 683-8.
- Friedberger, D. (1913). *Berl. Klin. Wschr.* 50: 88.

- Fujii, M., Tomita, T., Nakanishi, K., Kaneko, M., Hayashida, K., Sugamoto, K., Ochi, T. and Yoshikawa, H. (2003). "The value and limitation of gadopentetate-enhanced magnetic resonance imaging in detecting the condition of anterior cruciate ligament in rheumatoid knee: comparative study with histology." *Eur Radiol* 13(7): 1728-34. Epub 2002 Dec 6.
- Gabriel, S.E. (2001). "The epidemiology of rheumatoid arthritis." *Rheum Dis Clin North Am* 27(2): 269-81.
- Gires, F., Chevrot, A., Leroy-Willig, A., Wybier, M., Vallee, C., Roucayrol, J.C. and Pallardy, G. (1989). *Joints. MRI of the Body*. Vanel, D. and McNamara, M. T. Paris, Springer: 263-283.
- Glynn, L.E. (1969). "Aetiology of rheumatoid arthritis with regard to its chronicity." *Ann Rheum Dis* 28(5): Suppl:3-4.
- Gray, H. (1974). *The Articulations. Gray's Anatomy*. Pick, T. P. and Howden, R. Philadelphia, Running Press: 217-293.
- Gray, H. (1974). *General Anatomy or Histology. Gray's Anatomy*. Pick, T. P. and Howden, R. Philadelphia, Running Press: 1073-1146.
- Griffiths, R.J. (1992). "Characterisation and pharmacological sensitivity of antigen arthritis induced by methylated bovine serum albumin in the rat." *Agents Actions* 35(1-2): 88-95.
- Guimaraes, R., Clement, O., Bittoun, J., Carnot, F. and Frija, G. (1994). "MR lymphography with superparamagnetic iron nanoparticles in rats: pathologic basis for contrast enhancement." *AJR Am J Roentgenol* 162(1): 201-7.
- Harisinghani, M.G., Saini, S., Weissleder, R., Rubin, D., deLange, E., Harms, S., Weinreb, J., Small, W., Sukerkar, A., Brown, J.J., Zelch, J., Lucas, M., Morris, M. and Hahn, P.F. (2001). "Splenic imaging with ultras-small

- superparamagnetic iron oxide ferumoxtran-10 (AMI-7227): preliminary observations." *J Comput Assist Tomogr* 25(5): 770-6.
- Hendrick, R.E. (1999). *Image Contrast and Noise. Magnetic Resonance Imaging.* Stark, D. D. and Bradley, W. G. St.Louis, Mosby. Volume 1: 43-67.
- Hermann, K.G., Backhaus, M., Schneider, U., Labs, K., Loreck, D., Zuhlsdorf, S., Schink, T., Fischer, T., Hamm, B. and Bollow, M. (2003). "Rheumatoid arthritis of the shoulder joint: comparison of conventional radiography, ultrasound, and dynamic contrast-enhanced magnetic resonance imaging." *Arthritis Rheum* 48(12): 3338-49.
- Hornak, J.P. (1996-2004). *Chemical Contrast Agents. The Basics of MRI,* www.cis.rit.edu/htbooks/mri/. 2004.
- Hough, A.J. (1996). *Joints. Anderson's Pathology.* Damjanov, I. and Linder, J. St.Louis, Mosby. Volume 2: 2612-2652.
- Iguchi, T., Kurosaka, M. and Ziff, M. (1986). "Electron microscopic study of HLA-DR and monocyte/macrophage staining cells in the rheumatoid synovial membrane." *Arthritis Rheum* 29(5): 600-13.
- Jackson, J.R., Seed, M.P., Kircher, C.H., Willoughby, D.A. and Winkler, J.D. (1997). "The codependence of angiogenesis and chronic inflammation." *Faseb J* 11(6): 457-65.
- Jasin, H.E., Cooke, T.D., Hurd, E.R., Smiley, J.D. and Ziff, M. (1973). "Immunologic models used for the study of rheumatoid arthritis." *Fed Proc* 32(2): 147-52.
- Jenkins, J.K., Hardy, K.J. and McMurray, R.W. (2002). "The pathogenesis of rheumatoid arthritis: a guide to therapy." *Am J Med Sci* 323(4): 171-80.

- Josephson, L., Lewis, J., Jacobs, P., Hahn, P.F. and Stark, D.D. (1988). "The effects of iron oxides on proton relaxivity." *Magn Reson Imaging* 6(6): 647-53.
- Jung, C.W. and Jacobs, P. (1995). "Physical and chemical properties of superparamagnetic iron oxide MR contrast agents: ferumoxides, ferumoxtran, ferumoxsil." *Magn Reson Imaging* 13(5): 661-74.
- Kaim, A.H., Jundt, G., Wischer, T., O'Reilly, T., Frohlich, J., von Schulthess, G.K. and Allegrini, P.R. (2003). "Functional-morphologic MR imaging with ultrasmall superparamagnetic particles of iron oxide in acute and chronic soft-tissue infection: study in rats." *Radiology* 227(1): 169-74.
- Kaim, A.H., Wischer, T., O'Reilly, T., Jundt, G., Frohlich, J., von Schulthess, G.K. and Allegrini, P.R. (2002). "MR imaging with ultrasmall superparamagnetic iron oxide particles in experimental soft-tissue infections in rats." *Radiology* 225(3): 808-14.
- Kay, J. and Calabrese, L. (2004). "The role of interleukin-1 in the pathogenesis of rheumatoid arthritis." *Rheumatology (Oxford)* 43(Suppl_3): III2-III9.
- Kim, Y.K., Kim, C.S., Lee, Y.H., Kwak, H.S. and Lee, J.M. (2004). "Comparison of superparamagnetic iron oxide-enhanced and gadobenate dimeglumine-enhanced dynamic MRI for detection of small hepatocellular carcinomas." *AJR Am J Roentgenol* 182(5): 1217-23.
- Kinne, R.W., Brauer, R., Stuhlmuller, B., Palombo-Kinne, E. and Burmester, G.R. (2000). "Macrophages in rheumatoid arthritis." *Arthritis Res* 2(3): 189-202.
- Klareskog, L. (1989). "What can we learn about rheumatoid arthritis from animal models?" *Springer Semin Immunopathol* 11(3): 315-33.
- Klarlund, M., Ostergaard, M., Jensen, K.E., Madsen, J.L., Skjodt, H. and Lorenzen, I. (2000). "Magnetic resonance imaging, radiography, and

- scintigraphy of the finger joints: one year follow up of patients with early arthritis. The TIRA Group." *Ann Rheum Dis* 59(7): 521-8.
- Klarlund, M., Ostergaard, M., Rostrup, E., Skjodt, H. and Lorenzen, I. (2000). "Dynamic magnetic resonance imaging of the metacarpophalangeal joints in rheumatoid arthritis, early unclassified polyarthritis, and healthy controls." *Scand J Rheumatol* 29(2): 108-15.
- Laird, N.M. and Ware, J.H. (1982). "Random-effects models for longitudinal data." *Biometrics* 38(4): 963-74.
- Lutz, A.M., Seemayer, C., Corot, C., Gay, R.E., Goepfert, K., Michel, B.A., Marincek, B., Gay, S. and Weishaupt, D. (2004). "Detection of synovial macrophages in an experimental rabbit model of antigen-induced arthritis: ultrasmall superparamagnetic iron oxide-enhanced MR imaging." *Radiology* 233(1): 149-57.
- Machold, K.P., Stamm, T.A., Eberl, G.J., Nell, V.K., Dunky, A., Uffmann, M. and Smolen, J.S. (2002). "Very recent onset arthritis--clinical, laboratory, and radiological findings during the first year of disease." *J Rheumatol* 29(11): 2278-87.
- McLachlan, S.J., Morris, M.R., Lucas, M.A., Fisco, R.A., Eakins, M.N., Fowler, D.R., Scheetz, R.B. and Olukotun, A.Y. (1994). "Phase I clinical evaluation of a new iron oxide MR contrast agent." *J Magn Reson Imaging* 4(3): 301-7.
- McQueen, F.M., Stewart, N., Crabbe, J., Robinson, E., Yeoman, S., Tan, P.L. and McLean, L. (1998). "Magnetic resonance imaging of the wrist in early rheumatoid arthritis reveals a high prevalence of erosions at four months after symptom onset." *Ann Rheum Dis* 57(6): 350-6.
- Metz, S., Bonaterra, G., Rudelius, M., Settles, M., Rummeny, E.J. and Daldrup-Link, H.E. (2004). "Capacity of human monocytes to phagocytose approved iron oxide MR contrast agents in vitro." *Eur Radiol* 14(10): 1851-8.

- Muller, R.N., Gillis, P., Moyny, F. and Roch, A. (1991). "Transverse relaxivity of particulate MRI contrast media: from theories to experiments." *Magn Reson Med* 22(2): 178-82; discussion 195-6.
- Narvaez, J.A., Narvaez, J., Roca, Y. and Aguilera, C. (2002). "MR imaging assessment of clinical problems in rheumatoid arthritis." *Eur Radiol* 12(7): 1819-28. Epub 2002 Jan 11.
- Niendorf, H.P. and Esser, M. (2002). *The Magnevist experience*. Berlin, Schering AG.
- Ostergaard, M. and Klarlund, M. (2001). "Importance of timing of post-contrast MRI in rheumatoid arthritis: what happens during the first 60 minutes after IV gadolinium-DTPA?" *Ann Rheum Dis* 60(11): 1050-4.
- Ostergaard, M., Peterfy, C., Conaghan, P., McQueen, F., Bird, P., Ejbjerg, B., Shnier, R., O'Connor, P., Klarlund, M., Emery, P., Genant, H., Lassere, M. and Edmonds, J. (2003). "OMERACT Rheumatoid Arthritis Magnetic Resonance Imaging Studies. Core set of MRI acquisitions, joint pathology definitions, and the OMERACT RA-MRI scoring system." *J Rheumatol* 30(6): 1385-6.
- Paleolog, E.M. (2002). "Angiogenesis in rheumatoid arthritis." *Arthritis Res* 4 Suppl 3: S81-90.
- Peterfy, C.G. (2003). "New developments in imaging in rheumatoid arthritis." *Curr Opin Rheumatol* 15(3): 288-95.
- Quinn, M.A. and Emery, P. (2003). "Window of opportunity in early rheumatoid arthritis: possibility of altering the disease process with early intervention." *Clin Exp Rheumatol* 21(5 Suppl 31): S154-7.

- Rand, T., Healy, J., Brossmann, A., Muhle, K., Clopton, P. and Resnick, D. (2001). "Atlantoaxial joints: patterns of gadolinium enhancement with MR imaging in normal subjects." *Eur J Radiol* 37(1): 26-30.
- Rand, T., Imhof, H., Czerny, C., Breitenseher, M., Machold, K., Turetschek, K. and Trattng, S. (1999). "Discrimination between fluid, synovium, and cartilage in patients with rheumatoid arthritis: contrast enhanced Spin Echo versus non-contrast-enhanced fat-suppressed Gradient Echo MR imaging." *Clin Radiol* 54(2): 107-10.
- Reimer, P., Bremer, C., Allkemper, T., Engelhardt, M., Mahler, M., Ebert, W. and Tombach, B. (2004). "Myocardial perfusion and MR angiography of chest with SH U 555 C: results of placebo-controlled clinical phase i study." *Radiology* 231(2): 474-81. Epub 2004 Mar 24.
- Reimer, P. and Vosshenrich, R. (2004). "[Contrast agents in magnetic resonance imaging]." *Radiologe* 9: 9.
- Rinck, P.A., Southon, T., Jones, R.A. and Kvaerness, J. (1993). *Contrast Agents. Magnetic Resonance in Medicine*. Rinck, P. A. Oxford, Blackwell Scientific Publications: 155-174.
- Roivainen, A., Parkkola, R., Yli-Kerttula, T., Lehtikainen, P., Viljanen, T., Mottonen, T., Nuutila, P. and Minn, H. (2003). "Use of positron emission tomography with methyl-11C-choline and 2-18F-fluoro-2-deoxy-D-glucose in comparison with magnetic resonance imaging for the assessment of inflammatory proliferation of synovium." *Arthritis Rheum* 48(11): 3077-84.
- Ross, M.H., Romrell, L.J. and Kaye, G.I. (1995). *Cartilage. Histology, A Text and Atlas*. Coryell, P. A. Baltimore, Williams & Wilkins: 132-148.
- Runge, V.M. and Nelson, K.L. (1999). *Contrast Agents. Magnetic Resonance Imaging*. Stark, D. D. and Bradley, W. G. St.Louis, Mosby. Volume 1: 257-275.

- Saini, S., Edelman, R.R., Sharma, P., Li, W., Mayo-Smith, W., Slater, G.J., Eisenberg, P.J. and Hahn, P.F. (1995). "Blood-pool MR contrast material for detection and characterization of focal hepatic lesions: initial clinical experience with ultrasmall superparamagnetic iron oxide (AMI-227)." *AJR Am J Roentgenol* 164(5): 1147-52.
- Saini, S., Frankel, R.B., Stark, D.D. and Ferrucci, J.T., Jr. (1988). "Magnetism: a primer and review." *AJR Am J Roentgenol* 150(4): 735-43.
- Sandrock, D., Backhaus, M., Burmester, G. and Munz, D.L. (2003). "[Imaging techniques in rheumatology: scintigraphy in rheumatoid arthritis]." *Z Rheumatol* 62(5): 476-80.
- Schering (2002). *Magnevist, Fachinformation (Zusammenfassung der Merkmale des Arzneimittels)*. Aulendorf, Schering.
- Schrohenloher, R.E. (1993). *Rheumatoid factor*. Philadelphia, Lea & Febiger.
- Schumacher, H.R., Pessler, F. and Chen, L.X. (2003). "Diagnosing early rheumatoid arthritis (RA). What are the problems and opportunities?" *Clin Exp Rheumatol* 21(5 Suppl 31): S15-9.
- Sharma, R., Saini, S., Ros, P.R., Hahn, P.F., Small, W.C., de Lange, E.E., Stillman, A.E., Edelman, R.R., Runge, V.M., Outwater, E.K., Morris, M. and Lucas, M. (1999). "Safety profile of ultrasmall superparamagnetic iron oxide ferumoxtran-10: phase II clinical trial data." *J Magn Reson Imaging* 9(2): 291-4.
- Silman, A.J. and Pearson, J.E. (2002). "Epidemiology and genetics of rheumatoid arthritis." *Arthritis Res* 4 Suppl 3: S265-72.
- Sinnatamby, C.S. (1999). *popliteal fossa and knee joint*. *Last's Anatomy, Regional and Applied*. Edinburgh, Churchill Livingstone: 128-134.

- Sokoloff, L. (1984). "Animal models of rheumatoid arthritis." *Int Rev Exp Pathol* 26: 107-45.
- Sugimoto, H., Takeda, A. and Hyodoh, K. (2001). "MR imaging for evaluation of early rheumatoid arthritis." *Semin Musculoskelet Radiol* 5(2): 159-65.
- Sugimoto, H., Takeda, A., Masuyama, J. and Furuse, M. (1996). "Early-stage rheumatoid arthritis: diagnostic accuracy of MR imaging." *Radiology* 198(1): 185-92.
- Szkudlarek, M., Narvestad, E., Klarlund, M., Court-Payen, M., Thomsen, H.S. and M, O.S. (2004). "Ultrasonography of the metatarsophalangeal joints in rheumatoid arthritis: Comparison with magnetic resonance imaging, conventional radiography, and clinical examination." *Arthritis Rheum* 50(7): 2103-12.
- Tak, P.P., Smeets, T.J., Daha, M.R., Kluin, P.M., Meijers, K.A., Brand, R., Meinders, A.E. and Breedveld, F.C. (1997). "Analysis of the synovial cell infiltrate in early rheumatoid synovial tissue in relation to local disease activity." *Arthritis Rheum* 40(2): 217-25.
- Tehranzadeh, J., Ashikyan, O. and Dascalos, J. (2004). "Advanced imaging of early rheumatoid arthritis." *Radiol Clin North Am* 42(1): 89-107.
- Tombach, B., Reimer, P., Mahler, M., Ebert, W., Pering, C. and Heindel, W. (2002). "First-pass and equilibrium phase MRA following intravenous bolus injection of SH U 555 C: Phase I clinical trial in elderly volunteers with risk factors for arterial vascular disease." *Acad Radiol* 9 Suppl 2: S425-7.
- Turetschek, K., Preda, A., Floyd, E., Shames, D.M., Novikov, V., Roberts, T.P., Wood, J.M., Fu, Y., Carter, W.O., Brasch, R.C., Moeglich, M., Weinmann, H.J. and Corot, C. (2003). "MRI monitoring of tumor response following angiogenesis inhibition in an experimental human breast cancer model." *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 30(3): 448-55.

- Turetschek, K., Roberts, T.P., Floyd, E., Preda, A., Novikov, V., Shames, D.M., Carter, W.O. and Brasch, R.C. (2001). "Tumor microvascular characterization using ultrasmall superparamagnetic iron oxide particles (USPIO) in an experimental breast cancer model." *J Magn Reson Imaging* 13(6): 882-8.
- van den Berg, W.B. (2000). "What we learn from arthritis models to benefit arthritis patients." *Baillieres Best Pract Res Clin Rheumatol* 14(4): 599-616.
- van den Berg, W.B., Lens, J.W., van de Putte, L.B. and van Beusekom, H.J. (1982). "Antigen induced arthritis: antigen handling and chronicity of joint inflammation." *Agents Actions Suppl* 11: 233-41.
- Varisco, P.A., Peclat, V., van Ness, K., Bischof-Delaloye, A., So, A. and Busso, N. (2000). "Effect of thrombin inhibition on synovial inflammation in antigen induced arthritis." *Ann Rheum Dis* 59(10): 781-7.
- Verschure, P.J., Van Noorden, C.J. and Dijkstra, C.D. (1989). "Macrophages and dendritic cells during the early stages of antigen-induced arthritis in rats: immunohistochemical analysis of cryostat sections of the whole knee joint." *Scand J Immunol* 29(3): 371-81.
- Verstraete, K.L., Almqvist, F., Verdonk, P., Vanderschueren, G., Huysse, W., Verdonk, R. and Verbrugge, G. (2004). "Magnetic resonance imaging of cartilage and cartilage repair." *Clin Radiol* 59(8): 674-89.
- Wacker, F.K., Reither, K., Ebert, W., Wendt, M., Lewin, J.S. and Wolf, K.J. (2003). "MR image-guided endovascular procedures with the ultrasmall superparamagnetic iron oxide SH U 555 C as an intravascular contrast agent: study in pigs." *Radiology* 226(2): 459-64.
- Wacker, F.K., Wendt, M., Ebert, W., Hillenbrandt, C., Wolf, K.J. and Lewin, J.S. (2002). "Use of a blood-pool contrast agent for MR-guided vascular

- procedures: feasibility of ultrasmall superparamagnetic iron oxide particles." *Acad Radiol* 9(11): 1251-4.
- Wakefield, R.J., Conaghan, P.G., Jarrett, S. and Emery, P. (2004). "Noninvasive techniques for assessing skeletal changes in inflammatory arthritis: imaging technique." *Curr Opin Rheumatol* 16(4): 435-42.
- Wang, Y.X., Hussain, S.M. and Krestin, G.P. (2001). "Superparamagnetic iron oxide contrast agents: physicochemical characteristics and applications in MR imaging." *Eur Radiol* 11(11): 2319-31.
- Warren, J.B. (1993). "Vascular control of inflammatory oedema." *Clin Sci (Lond)* 84(6): 581-4.
- Weinmann, H.J., Brasch, R.C., Press, W.R. and Wesbey, G.E. (1984). "Characteristics of gadolinium-DTPA complex: a potential NMR contrast agent." *AJR Am J Roentgenol* 142(3): 619-24.
- Weissleder, R., Elizondo, G., Wittenberg, J., Rabito, C.A., Bengel, H.H. and Josephson, L. (1990). "Ultrasmall superparamagnetic iron oxide: characterization of a new class of contrast agents for MR imaging." *Radiology* 175(2): 489-93.
- Weyand, C.M., Hicok, K.C., Conn, D.L. and Goronzy, J.J. (1992). "The influence of HLA-DRB1 genes on disease severity in rheumatoid arthritis." *Ann Intern Med* 117(10): 801-6.
- Wooley, P.H. (2004). "The usefulness and the limitations of animal models in identifying targets for therapy in arthritis." *Best Pract Res Clin Rheumatol* 18(1): 47-58.

Danksagung

Ich danke meinen Eltern, Dr. Rita und Georg von Vopelius-Feldt sowie meinen Schwestern Bernadette und Julia.

Weiterer Dank geht an Prof. Dr. Heike Daldrup-Link für die ausgezeichnete Betreuung an der University of California, San Francisco, sowie an Univ.-Prof. Dr. Rummeny für die Unterstützung an der Technischen Universität München.