

Aus der Abteilung für Neuroradiologie des Instituts  
für Röntgendiagnostik der Universität Würzburg  
Leiter: Professor Dr. med. L. Solymosi

---

Eisenpartikelverstärkte Magnetresonanztomographie  
bei der Experimentellen-Autoimmun-Neuritis (EAN)

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung der Doktorwürde der  
Medizinischen Fakultät  
der  
Bayerischen Julius-Maximilians-Universität zu  
Würzburg

vorgelegt von  
**Carmen Gudrun Wesemeier**  
aus Würzburg

Würzburg, Dezember 2006

Referent: Priv. Doz. Dr. med. M. Bendszus

Koreferent: Professor Dr. med. L. Solymosi

Dekan: Professor Dr. med. M. Frosch

Tag der mündlichen Prüfung: 12. Oktober 2007

Die Promovendin ist Ärztin

**FÜR  
MEINE ELTERN**

<b>1. Einleitung:</b>	1
<b>2. Allgemeiner Teil:</b>	3
2.1. Klinische Aspekte der akuten Polyneuroradikulitis	3
2.1.1. Guillain-Barré Syndrom (GBS):	3
2.1.2. Epidemiologie/Ätiologie:	4
2.1.3. Pathophysiologie:	5
2.1.4. Symptomatik:	6
2.2. Experimentelle Aspekte	7
2.2.1. Experimentelle autoimmune Neuritis (EAN)	7
2.3. Magnetresonanztomographie (MRT)	9
2.3.1. Technische Aspekte/Grundlagen	9
2.3.2. Bildverarbeitung	10
2.3.3 Standardsequenzen	11
2.4. MR-Kontrastmittel	14
2.4.1. Paramagnetische Substanzen	15
2.4.2 Superparamagnetische Eisenoxidpartikel (SPIO; superparamagnetic iron oxid)	16
2.5. MR-Bildgebung peripherer Nervenläsion	19
2.5.1. Technische Aspekte der MR-Bildgebung peripherer Nervenläsionen	20
2.5.2. Darstellung des zeitlichen Ablaufs der De- und Regeneration peripherer Nerven (Waller'sche Degeneration, WD)	22
2.5.3. In vivo Monitoring pathophysiologischer Abläufe mit Eisenkontrastmittel-unterstützter MRT	23
<b>3. Material und Methodik:</b>	25
3.1. Zielsetzung	25
3.2. Induktion der experimentellen Autoimmun-Neuritis (EAN)	25
3.2.1. Induktion der Adoptiv-Transfer-EAN (AT-EAN)	25
3.2.2. Kontrastmittelgabe	26
3.3. MR-Messung:	26
3.3.1. Vorbereitung/Lagerung:	26
3.4. Histologisches und immunzytologisches Verfahren	27
3.4.1. Histologische Aufbereitung/ Färbung	27
3.4.2. Eisenfärbung	28
3.4.3. Immunhistochemische Färbung	28
<b>4. Ergebnisse:</b>	29
<b>5. Diskussion:</b>	33
<b>6. Zusammenfassung:</b>	38
<b>7. Literaturverzeichnis:</b>	40

## **1. Einleitung:**

In der Diagnostik von entzündlichen oder traumatischen Schädigungen des peripheren Nervensystems (PNS) gilt die klinische und elektrophysiologische Untersuchung als der Goldstandard. Bildgebende Verfahren dienen in der Diagnostik häufig nur als Zusatzuntersuchungen bei Verdacht auf Raumforderungen und/oder strukturell anatomischen Veränderungen der klinisch betroffenen Nerven- und Muskelabschnitte. In einer Vielzahl von Studien konnte in den letzten Jahren gezeigt werden, dass mit der Magnetresonanztomographie (MRT) präzise Aussagen über morphologische Veränderungen am Nerven selbst und auch über sekundäre neurogene Veränderungen am Skelettmuskel getroffen werden können. Damit bekommt die MR-Untersuchung einen neuen Stellenwert in der Differentialdiagnostik peripherer Nervenschädigungen [1-3].

Molekulare und zelluläre MR-Bildgebung mit superparamagnetisch-eisenoxidhaltigem Kontrastmittel (SPIO) ist ein schnell wachsendes Gebiet mit dem Ziel, Makromoleküle oder Zellen im lebenden Organismus zu markieren [4, 5].

Unter anderem gelten Makrophagen als die entscheidenden Effektorzellen bei entzündlichen neurologischen Erkrankungen, wie dem Guillain-Barré Syndrom (GBS), und spielen eine unverzichtbare Rolle bei Wundheilungs- und Regenerationsprozessen [6-8].

Mit herkömmlichen Methoden, wie histologischen und immunzytochemischen Untersuchungen, können Makrophageninfiltrationen in dem betroffenen Gewebe nachgewiesen werden. Angaben zur

zeitlichen Dynamik des entzündlichen Geschehens können dabei aber nicht gemacht werden. Erstmals konnte an einem mechanischen Läsionsmodell peripherer Nerven gezeigt werden, dass mit Eisenpartikeln das Migrationsverhalten von Makrophagen in der MR-Bildgebung visualisiert werden kann [9].

Mit der vorliegenden Arbeit soll das Migrationsverhalten von Makrophagen bei einer akut entzündlichen experimentellen Erkrankung des peripheren Nervs (experimentell autoimmune Neuritis, EAN) untersucht werden. [10, 11]. Als bildgebende Methode wurde hierbei die MRT nach Applikation von superparamagnetischen Eisenpartikeln gewählt. Durch die in vivo Markierung der Blut-Makrophagen mit Eisen konnte die zeitliche und räumliche Dynamik der Migration dieser Zellen im lebenden Organismus gezeigt werden was neben einem neuen Verständnis der Pathophysiologie dieser Erkrankung der MR-Bildgebung einen neuen Stellenwert in der Diagnostik entzündlicher peripherer Nervenerkrankungen verleiht.

## **2. Allgemeiner Teil:**

### **2.1. Klinische Aspekte der akuten Polyneuroradikulitis**

#### **2.1.1. Guillain-Barré Syndrom (GBS):**

Das Guillain-Barré Syndrom wird definiert als eine akut entzündliche, meist demyelinisierende Polyradikuloneuritis des peripheren Nervensystems (PNS), und wird zu den immunvermittelten Neuropathien gezählt.

1916 wurden von G. Guillain, A. Barré und A. Strohl die ersten zwei Fälle einer akuten paralytischen Erkrankung mit einer typischen Eiweißerhöhung im Liquor beschrieben [12]. Seitdem wurde der Pathophysiologie dieser Erkrankung, in der Postpolio-Ära weltweit am häufigsten auftretenden akuten schlaffen Parese, viel Aufmerksamkeit geschenkt.

Die erste Klassifikation diagnostischer Kriterien wurde durch Asbury et al. in 1978 erstellt, die danach in Teilen im Jahr 1990 erweitert und modifiziert wurde [13, 14].

Das Syndrom beinhaltet verschiedene sich im Pathomechanismus unterscheidende Subtypen. Am häufigsten ist die multifokale Demyelinisierung der peripheren Nerven, die eng mit einer Makrophagen-Aktivität assoziiert ist [15] (s. Tabelle1).

Diese klassische demyelinisierende Form des Guillain-Barré Syndroms wird als akute inflammatorische demyelinisierende Polyneuropathie (AIDP) bezeichnet [16], [17].

Daneben existiert eine, rein axonal betonte Form (Acute motor axonal neuropathy, AMAN) des klassischen GBS (AIDP) [18] und Mischformen,

sogenannte akute motorisch-sensible axonale Neuropathien (AMSAN).

Weitere Varianten sind das Miller-Fisher-Syndrom und die idiopathische autonome Neuropathie [19, 20].

**Tabelle 1: Spektrum des Guillain-Barré Syndroms  
(modifiziert nach Hahn, 1998, Schwerer 2002,  
Finsterer 2005)**

<b>Syndrom</b>	<b>Histologie/Klinik</b>
Akute entzündliche demyelinisierende Polyradikuloneuropathie (AIDP)	Perivenöse lymphozytäre Infiltrate und Demyelinisierungen; IgM-/IgG-Antikörper gegen GM <sub>1</sub>
Akute motorisch-sensibel axonale Neuropathie (AMSAN)	Ausgeprägte Paresen, frühzeitig Muskelatrophien; Axonale Degenerationen; IgG-Antikörper gegen GM <sub>1</sub>
Akute motorisch-axonale Neuropathie (AMAN)	Rein motorische Neuropathie mit axonalen Degenerationen; IgG-Antikörper gegen GM <sub>1</sub> , GD <sub>1a</sub> , GD <sub>1b</sub>
Miller Fisher Syndrom MFS	Ophthalmoplegie, Ataxie und Areflexie
Acute pandysautonomia (Idiopathic autonomic neuropathy)	Verzögerte Pupillenreaktion, Hypotonie ohne Tachykardie, Gastrointestinale Störungen, sympathische und parasymphatische Funktionsstörungen

### **2.1.2. Epidemiologie/Ätiologie:**

Das Guillain-Barré Syndrom (GBS) ist eine der häufigsten akuten paralytischen Erkrankungen in den industrialisierten Staaten. Die Inzidenz beträgt zwischen einem und zwei Fällen pro 100.000 Einwohner weltweit [21].

Die Inzidenz steigt gleichmässig mit zunehmenden Alter, wobei ein Peak im jungen Erwachsenenalter

zu, beobachten ist. Insgesamt tritt die Erkrankung häufiger bei Männern als bei Frauen auf [22-25].

Es konnten regionale Häufungen bestimmter Varianten beobachtet werden. Beispielsweise tritt die Variante AIDP (akute inflammatorische demyelinisierende Polyneuropathie) hauptsächlich in Nordamerika und Europa, AMAN (akute motorische axonale Neuropathie) in China und Japan auf [26].

Häufig sind vorausgegangene gastrointestinale oder pulmonale Infektionen (v.a. mit *Campylobacter jejuni*, Cytomegalie-Virus), außerdem sind Traumata, Schwangerschaft und Operationen prädisponierend. Somit ist das GBS ein Prototyp einer postinfektiösen Erkrankung. Das Intervall zwischen Infekt und den ersten GBS Symptomen variiert zwischen 1 und 3 Wochen und beträgt im Durchschnitt 11 Tage [26, 27].

Die häufige Verbindung einer Infektion in der Anamnese und dem Auftreten der Erkrankung ist die wahrscheinliche Folge einer Kreuzreaktion im Rahmen molekularen Mimikry. Bei allen GBS-Unterformen konnten Antikörper gegen Ganglioside nachgewiesen werden [28, 29]. So wurden z.B. Lipopolysaccharidkomponenten von *Campylobacter jejuni* als kreuzreagierende Epitope beschrieben, die Ähnlichkeiten mit GM1, GD1a, GT1a und GD3 aufwiesen [30, 31]. Insgesamt beträgt die Mortalität der Erkrankung 5-10% [28, 32, 33] und kann mit optimaler Therapie in spezialisierten Zentren (Plasma Exchange/Sandoglobulin Guillain-Barré Syndrom Trial Group, 1997) auf 3% gesenkt werden. Bei ca. 15% verbleiben permanente neurologische Defizite [16].

### **2.1.3. Pathophysiologie:**

In den betroffenen peripheren Nervenabschnitten finden sich histologisch multifokal entzündliche Veränderungen und Läsionen der Markscheide. Die zellulären Infiltrationen bestehen hauptsächlich aus Lymphozyten und Makrophagen. Bevorzugt hiervon sind die Spinalwurzeln und die proximalen Nervenabschnitte der peripheren Nerven. Es sind sowohl zelluläre als auch humorale Immunreaktionen beteiligt [34]. Je nach Erkrankungsvariante (s. Tabelle 1) findet man unterschiedliche Antikörper, die gegen Myelin oder bestimmte Gangliosiduntergruppen gerichtet sind [35]. Im Blut von GBS-Patienten wurden außerdem aktivierte T-Zellen gefunden, und zwar eine Häufung von CD4<sup>+</sup>, CD29<sup>+</sup>-Helferzellen. Außerdem findet man vermehrt T-Zellen in den Perineuralscheiden der betroffenen Nerven. Die Untersuchung der Antigenspezifität dieser T-Zellen hat bisher noch kein schlüssiges Ergebnis gebracht. Ganz allgemein scheinen aktivierte T-Lymphozyten eine wesentliche Funktion bei der Öffnung der Blut-Nerven-Schranke wahrzunehmen, die es pathogenen Antikörpern ermöglichen, ihr Antigen an der Oberfläche des Nerven zu erkennen [36]. Die Markscheidenschädigung wird vor allem durch Makrophagen induziert. Diese durchdringen erstens die Basalmembran der Nervenfasern und entfernen das normale Myelin vom Körper der Schwann-Zellen. Zweitens dienen sie als antigen-präsentierende Zellen, die im geschädigten Nerv entzündungsfördernde Substanzen freisetzen. Drittens sind sie maßgeblich an den

Reparaturvorgängen, also Remyelinisierung bzw. Stimulierung der Schwannzell-Proliferation, beteiligt. Bei vielen Fällen von GBS steht die Demyelinisierung im Vordergrund, und die Axone bleiben erhalten. Bei sehr schwer verlaufenden GBS-Varianten kommt es auch zur sekundären Beteiligung der Axone, und damit häufig zu bleibenden neurologischen Defiziten [28, 29].

#### **2.1.4. Symptomatik:**

Das klinische Bild des Guillain-Barré Syndroms (GBS) ist gekennzeichnet durch aufsteigende Paresen, Reflexverlust und einer variablen sensiblen und autonomen Beteiligung. Die Paresen beginnen typischerweise distal an den unteren Extremitäten, die im Verlauf nach proximal und auf die oberen Extremitäten übergreifen. Hinzukommen häufig Hirnnervenbeteiligungen, wovon die Fazialisparese mit ca. 50% am häufigsten ist. Sensibilitätsstörungen sind häufig nur leichter Natur und werden meist nur vorübergehend nachgewiesen. Häufiger treten ernstzunehmende autonome Störungen, wie Bradykardie, Sinustachykardie, Arrhythmie, arterielle Hyper- oder Hypotonie auf, welche z.T. eine intensivmedizinische Überwachung erfordern. Der Krankheitsprogression folgt innerhalb von spätestens 4 Wochen eine Plateauphase, die unterschiedlich lang andauert. Die Krankheitssymptome bilden sich anschließend langsam zurück. Selten treten Rezidive und subakute Verläufe mit einem Maximum nach 4-6 Wochen auf.

## 2.2. Experimentelle Aspekte

### 2.2.1. Experimentelle autoimmune Neuritis (EAN)

Die experimentelle autoimmune Neuritis (EAN) stellt das klassische Tiermodell der akuten Polyradikuloneuritis (Guillain-Barré Syndrom) dar [37]. Die EAN ist eine akute, selbstlimitierende, Th 1-vermittelte entzündliche demyelinisierende Autoimmunkrankheit, die die wesentlichen klinischen, elektrophysiologischen und morphologischen Aspekte des menschlichen Guillain-Barré Syndroms widerspiegelt [38, 39]. Diese Krankheit kann durch *aktive* Immunisierung mit homogenisierten peripheren Nerven, gereinigtem Myelin, gereinigten Myelinproteinen oder durch das immundominante Peptidpitop (AA53-78) induziert werden [36]. Weitere zur Induktion verwendete Autoantigene sind das P0-Antigen [40], das Myelin-basische Protein (MBP) [41], peripheres Myelinprotein 22 (PMP) [42] und das myelinassoziierte Glykoprotein (MAG) [43]. Eine *passive* Immunisierung ist möglich mittels adoptiven Transfer von P2-autoreaktiven T-Lymphozytenlinien vom CD4-Helfer-Induktorphänotyp (AT-EAN) [44, 45].

Die EAN ist pathophysiologisch charakterisiert durch eine von T-Zellen und Makrophagen induzierte akut demyelinisierende Entzündung des peripheren Nervensystems. Histologisch findet man im Bereich der Nerven und vor allem der Nervenwurzeln perivenöse Infiltrate mit Lymphozyten und Makrophagen, die beschädigtes wie auch intaktes Myelin phagozytieren [46]. Die immigrierten Immunzellen setzen Zytokine frei, die eine Kaskade entzündlicher Reaktionen auslösen. Es kommt zu einer Demyelinisierung der Axone und bei

fulminanten Verläufen auch zur Zerstörung des Axons. Ein wichtiger Entzündungsinitiator ist Interferon- $\gamma$ , welches durch einwandernde CD4+ Th1-Zellen freigesetzt wird. Dieser induziert in Makrophagen die Bildung des stark entzündungsfördernden Tumornekrosefaktor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) [47, 48]. Neben den T-Zell-vermittelten entzündlichen Reaktionen spielen bei der EAN-Pathogenese Antikörper gegen Bestandteile des Myelins eine wichtige Rolle [49]. Bei der EAN besteht ein synergistischer Mechanismus zwischen der durch die T-Zellen ausgelösten Entzündung (Öffnung der Blut-Nerv-Schranke) und der direkten Wirkung spezifischer Antikörper, die Komplement binden [10, 50].

## **2.3. Magnetresonanztomographie (MRT)**

### **2.3.1. Technische Aspekte/Grundlagen**

F. Bloch und E.M. Purcell haben 1946 das erste kernmagnetische Resonanzexperiment durchgeführt, wofür sie 1952 den Nobelpreis erhalten haben. Seitdem hat sich diese Meßmethode rasant weiterentwickelt und durch den Einsatz moderner Rechnersysteme und Herstellung leistungsfähiger Magnetsysteme seit Anfang der 80er Jahre zum klinischen Routineverfahren entwickelt. Besonders attraktiv an dieser Methode ist, dass sie ohne die Anwendung ionisierender Strahlung hervorragende Weichteilkontraste auf Schnittbildern beliebiger Orientierung praktisch des gesamten Körpers liefert. Grundlage der kernspintomographischen Bildgebung (Magnet-Resonanz-Tomographie MRT, Magnetic Resonance Imaging MRI, Nuclear Magnetic Resonance NMR) ist, dass alle Atomkerne mit ungerader Nukleonenzahl das Phänomen der Kernresonanz zeigen. Wegen ihrer elektrischen Ladung (Dipolcharakter) und ihrer spontanen Rotation um ihre eigene Achse (Kernspin) besitzen sie einen magnetischen Moment. Dadurch verhalten sich diese Atomkerne in einem homogenen Magnetfeld als kleine permanentmagnetische Partikel.

Ein Hauptbestandteil des menschlichen Körpers ist Wasser. Der Wasserstoffkern, ein Teil des Wassermoleküls, besteht nur aus einem einzigen Proton und besitzt eine sehr hohe Nachweisempfindlichkeit zur Messung der kernmagnetischen Resonanz. Somit sind mit der Magnetresonanztomographie wasserhaltige

Gewebe, aber auch Lipide und Proteine durch ihren hohen Gehalt an Wasserstoffatomen besonders gut darstellbar [51]. Bringt man eine Wasserprobe in ein äußeres Magnetfeld richten sich die Kerne entlang der Feldlinien aus, dabei zeigen sie eine Kreisbewegung um die Feldlinien des äußeren Magnetfeldes. Diese wird als Präzessionsbewegung bezeichnet und hat eine charakteristische Frequenz, die von kernspezifischen Faktoren und der örtlichen Feldstärke abhängt. Für Protonen beträgt diese Frequenz ungefähr 42 MHz/Tesla (Larmorfrequenz) [52].

Durch Einstrahlung von Hochfrequenz-(HF-)Impulsen mit der Larmorfrequenz geraten die Wasserstoffprotonen in einen als Kernresonanz bezeichneten Zustand und übernehmen einen Teil der HF-Energie. Dabei präzedieren die Kerne nun nicht mehr ungeordnet, sondern synchron (in Phase) und „klappen“ je nach Stärke und Dauer des HF-Impulses zunehmend in die höherenergetische antiparallele Stellung um. Die Rückkehr der Spins in die Ausgangsposition wird als Relaxationsbewegung bezeichnet, d.h. die Quermagnetisierung nimmt ab, wohingegen die Längsmagnetisierung sich wieder ihrem Ausgangswert nähert. Bei der Abnahme der Querrelaxation wird die vorher aufgenommene Energie als HF-Welle abgestrahlt und kann über eine geeignete Empfängerspule als Resonanzsignal registriert werden.

Verantwortlich für den MR-Bildkontrast ist neben dem unterschiedlichen Relaxationsverhalten von Geweben außerdem die Dichte der „freien“, nicht fest gebundenen Wasserstoffkerne, die Protonendichte (PD). Sie ist proportional zur Signalintensität, je mehr

Kerne relaxieren, desto größer ist das erhaltene Signal [53].

### **2.3.2. Bildverarbeitung**

Die Rohdaten der abgestrahlten HF-Signale (Kernresonanzsignale), werden von einer Antenne empfangen und dann in Bildmatrizen transformiert. Spezielle Kopf- und Oberflächenantennen („Spulen“) verbessern das Signal-Rausch-Verhältnis und damit beispielsweise die Ortsauflösung bei gleicher Messzeit [54].

Eine Ortskodierung wird möglich durch den Einsatz von sog. Gradientenspulen, die ein kontinuierlich ansteigendes Magnetfeld aufbauen, das sich dem homogenen Grundfeld überlagert. Diese Überlagerung bewirkt, dass in jedem Punkt des Messvolumens eine andere Feldstärke vorliegt. Durch schnelle Schaltung dieser Gradienten in der x, y und z-Achse wird die exakte räumliche Zuordnung des Signals möglich. Eine Schichtselektion (Schichtkodierung) wird erreicht, indem ein Gradientenfeld senkrecht während der HF-Impulseinstrahlung zur gewählten Schnittebene geschaltet wird.

Unterschiedliche Phasenkodiergradienten, die zwischen Anregung und Auslesen wiederholt geschaltet werden, liefern lokal verschiedene Frequenzverläufe im Signal. Durch deren Fourier-Transformation wird die Schichtmatrix determiniert. Die Zeit zwischen zwei aufeinander folgenden Anregungszyklen bezeichnet man als Repetitionszeit (TR). Die Zeit zwischen Anregung und Empfang eines Signals als Echozeit (TE). Frequenz- und Phasenkodierung werden dann in einem Schritt, mit

Hilfe der sog. Zwei-dimensionalen Fourier-Transformation (2-D-FT) dechiffriert. Auf diese Weise erhält man abhängig von der Stärke des HF-Signals verschiedene Grauwerte für jeden Bildpunkt (Pixel), bezogen auf das entsprechende Volumenelement (Voxel) [52].

### **2.3.3 Standardsequenzen**

Durch geschickte Wahl der Sequenz-Parameter ist es möglich, ausgewählte anatomische Strukturen gezielt darzustellen.

#### Spin-Echo (SE)-Technik:

Die Anregung der Wasserstoffkerne kann mit verschiedenen Messesequenzen erfolgen. Die *Spin-Echo (SE)-Technik* gehört zu den am häufigsten verwendeten Standardsequenzen im klinischen Alltag.

Zuerst wird ein 90°-Anregungsimpuls gesendet und anschließend ein 180°-Inversionsimpuls. Bei Vorgabe einer kurzen Repetitionszeit (TR) ( $\leq 500\text{ms}$ ) und einer kurzen Echozeit (TE) (15-30 ms) entsteht ein T1-gewichtetes Bild.

T1-gewichtete Bilder bzw. Sequenzen geben durch ein gutes Signal-Rausch-Verhältnis besonders gut die Anatomie wieder. Gewebe mit langer T1-Relaxationszeit, wie z.B. Liquor, sind signalarm und erscheinen somit dunkel.

Gewebe mit kurzer T1-Relaxationszeit, wie z.B. Fett und paramagnetisches Kontrastmittel sind signalreich und bilden sich hell ab.

Gibt man eine lange Echozeit (TE>50-200ms) und lange Repetitionszeit (TR=2000-3000) vor, entsteht ein T2-gewichtetes Bild. Gewebe mit langer T2-

Relaxationszeit, wie z.B. Liquor und viele pathologische Prozesse sind signalreich und somit hell. Umgekehrt, Gewebe mit kurzer T2-Relaxationszeit, wie z.B. Basalganglien und eisenhaltiges superparamagnetische Kontrastmittel werden signalarm abgebildet.

Die dritte Abbildungsmöglichkeit ist das Protonendichte (PD)-gewichtete Bild, dort verwendet man eine lange Repetitionszeit ( $TR > 1500\text{ms}$ ) und eine kurze Echozeit ( $TE < 20\text{ms}$ ). Die Signalintensitäten hängen ab von der Protonendichte im Gewebe.

Außerdem werden *Turbo-Spinechosequenzen (TSE)* oder *RARE (Rapid Acquisition with Relaxation Enhancement)* verwendet. Dort werden pro Anregung mehrere Echos einer Schicht ausgelesen. Dies führt zur der Messzeitverkürzung und somit zu kürzeren Untersuchungszeiten. Mit dieser Technik können vor allem T2- gewichtete SE-Bilder in sehr kurzer Zeit akquiriert werden.

#### Gradienten (GE)-Echosequenzen:

Bei den *Gradienten-Echosequenzen* werden Schichtselektion und Phasenkodierung analog zur Spinecho-Technik ausgeführt. Der Hauptunterschied zur SE-Sequenz ist, dass nur ein RF-Anregungsimpuls, der variabel und meist  $< 90^\circ$  (=Flipwinkel  $\alpha$ ) beträgt, geschaltet wird. Der  $180^\circ$  Refokussierungsimpuls fällt weg. Somit ist die transversale Magnetisationskomponente geringer als bei der SE-Sequenz. Um ein Signal aus lesen zu können, werden die bereits dephasierten Kerne durch eine Gradientenschaltung mit gleicher

Amplitude aber in entgegengesetzter Richtung zum initialen Hochfrequenzimpuls rephasiert. Durch die Spinrephasierung kann ein Signal von der Spule empfangen werden, das sowohl T1 als auch T2 Informationen enthält. Die erreichbare Signalintensität der Gewebe hängt weniger von den variablen TR und TE, sondern vielmehr vom Flipwinkel  $\alpha$  ab. Ist er über  $60^\circ$  erhält man T1-gewichtete Aufnahmen, ist er kleiner als  $20^\circ$  ergeben sich T2-gewichtete Aufnahmen. Vorteile der GE-Sequenzen sind die verkürzten Untersuchungszeiten, dadurch können Bewegungsartefakte vermindert werden, und in hoher zeitlicher Auflösung können Fluss- und Gewebdurchblutung (z.B. Gefäße) dargestellt werden. Nachteilig ist ihre hohe Empfindlichkeit gegenüber Magnetfeldinhomogenitäten.

Sequenz-Beispiele: FLASH (Fast Low Angle Shot),

FISP (Fast Imaging with Steady Precession),

CISS 3D (Constructive interference in steady state) [55].

#### CISS 3D (constructive interference in steady state):

Die CISS-3D-Sequenz ist eine balancierte hochauflösende Sequenz, bei der, basierend auf 3D-Gradientenechosequenzen (true FISP, fast imaging with steady-state precession), die Gradienten in allen Raumrichtungen refokussiert werden. Damit ist eine Gleichgewichtssituation in Richtung der transversalen Magnetisierung für Gewebe mit einer langen T2-Relaxationszeit geschaffen. Somit erhält

man stark T2-betonte Sequenzen, die eine hochauflösende Darstellung feinsten anatomischer Strukturen ermöglichen. Eine genaue Differenzierung von nervösen und vaskulären Strukturen vor allem im Bereich liquorhaltiger Räumen, speziell von Hirnnerven und Nervenwurzeln des Rückenmarks, ist möglich. Dabei werden die vaskulären Strukturen als signalfreie Strukturen, also als Aussparung im umgebenden signalreichen Liquor wiedergegeben. Auch neuronale Strukturen erscheinen signalarm und können gut gegen den Liquorraum abgegrenzt werden. Als dritte Gewebekomponente weist Fettgewebe ein erhöhtes, wenn auch gegenüber Liquor reduziertes bzw. geringeres Signal auf [55, 56]. Vorteilhaft ist die Möglichkeit der Bildverarbeitung in jeder Schichtrichtung [57]. Somit erhält man eine exzellente räumliche Auflösung, mit hohem Kontrast für flüssiges gegen festes Gewebe. Im Gebrauch mit eisenhaltigen Kontrastmittel erwies sich die CISS 3D-Sequenz als sehr eisensensitiv mit deutlich geringeren Suszeptibilitätsartefakten im Vergleich zu herkömmlichen T2-gewichteten Gradientenechosequenzen [9].

#### **2.4. MR-Kontrastmittel**

Durch Kontrastmitteleinsatz in der MR-Bildgebung erzielt man allgemein eine erhöhte Nachweisempfindlichkeit und Sensitivität für pathologische Veränderungen. Die Kontrastverstärkung entsteht durch die Beeinflussung der Relaxationszeit der Protonen (T1/T2), für die die entsprechenden Substanzen ungepaarte Elektronen besitzen müssen. Diese weisen einen parallelen Spin auf, der sich zu einem

Nettoelektronenspin addiert. Diesen Vorgang nennt man Paramagnetismus. Das magnetische Moment dieser ungepaarten Elektronen führt zu einem starken magnetischen Wechselfeld in unmittelbarer Nachbarschaft zu den Protonen und stimuliert ihre Relaxation [58].

Mittlerweile existieren bereits vier verschiedene, für den klinischen Alltag zugelassene Substanzklassen, die routinemäßig intravenös appliziert werden. Hierzu zählen (I) niedermolekulare Gadoliniumchelate, (II) höher konzentrierte Gadoliniumchelate, (III) superparamagnetische Eisenoxidpartikel und (IV) hepatobiliäre Kontrastmittel. Alle MRT-Kontrastmittel, sowohl gadoliniumhaltige Verbindungen als auch die auf Eisenoxid- basierten Substanzen verkürzen die T1- und/oder die T2-Relaxationszeit des umgebenden Gewebes [58].

#### **2.4.1. Paramagnetische Substanzen**

In der Routinediagnostik werden paramagnetische Substanzen (z.B. Gadolinium-DTPA, Gadolinium-Diamid, Mangan) noch am häufigsten verwendet. Gadolinium (Gd) ist ein Element aus der Reihe der so genannten "Seltene Erden" und hat aufgrund seiner großen Anzahl ungepaarter Elektronen einen starken paramagnetischen Effekt. Hauptvertreter dieser Gruppe ist Gadolinium-DTPA, ein Metallchelatkomplex kombiniert aus der seltenen Erde Gadolinium und dem Chelatbildner Diäthyltriaminopentaazetat.

Gadolinium-DTPA ist ein hydrophiles, extrem stabiles und biologisch inertes Komplexsalz, das sich nach intravenöser Gabe rasch im Extrazellulärraum verteilt und in unveränderter Form über die Nieren durch

glomeruläre Filtration ausgeschieden wird. Gadolinium-DTPA kann die intakte Bluthirnschranke nicht passieren, kann aber ansonsten das Gefäßendothel extrazerebraler Gewebe passieren und reichert sich extrazellulär, intravasal und interstitiell an und demarkiert somit pathologische Herde. Gewebe, die sonst dunkel erscheinen würden, zeigen in T1-gewichteten Untersuchungssequenzen einen deutlichen Signalanstieg und erscheinen deutlich heller bis weiß [59].

Chelatkomplexe auf Gadoliniumbasis zählen somit zu den extrazellulären Kontrastmitteln, die zwar vielseitig einsetzbar sind aber nur durch eine unspezifische Gleichverteilung pathologische Bezirke markieren. Ansätze zur spezifischen Kontrastierung bestimmter Kompartimente oder Gewebe sind mit Gd-DTPA nicht möglich. Weitere Nachteile von gadoliniumhaltigen Kontrastmitteln sind erstens eine fehlende Biokompatibilität mit wenig Erfahrung über im Verlauf auftretende toxische Zellreaktionen, zweitens fehlende Informationen über zelluläre Vorgänge und drittens der relative hohe Schwellenwert bis eine veränderte Relaxationszeit im MRT-Bild sichtbar wird [4]. Somit findet nur eine unspezifische, extrazelluläre KM-Anreicherung im betreffenden Gewebe statt.

#### **2.4.2 Superparamagnetische Eisenoxidpartikel (SPIO superparamagnetic iron oxid)**

Der Begriff Superparamagnetismus wurde 1952 erstmalig geprägt [60] und beschreibt die Eigenschaft von sehr kleinen Eisenoxidpartikeln in Pulvern oder Suspensionen, die sich im Magnetfeld

stark magnetisieren lassen. Im Gegensatz zu Ferromagneten, ist nach Abschalten des Magnetfeldes bei diesen Substanzen keine Restmagnetisierung mehr vorhanden [61]. Durch die Anordnung der Atome in einem Kristallgitter kommt es, im Vergleich zu Gadolinium, in einem magnetischen Feld zu einer Verstärkung des magnetischen Moments um den Faktor 10-1000. „SPIO“ dient heute als Überbegriff für alle in der MRT als Kontrastmittel eingesetzten superparamagnetischen Eisenoxidpartikel, die eine Größe vergleichbar eines Virus besitzen und somit etwa 1000mal größer als ein Gadoliniummolekül sind. Alle Partikeldurchmesser, die etwa 50-150 nm oder größer sind, werden als „SPIO“ oder auch, seltener verwendet, als Standard SPIO (SSPIO) bezeichnet. Partikel mit kleineren Durchmesser (ca. 20 nm) bezeichnet man als ultrakleine superparamagnetische Eisenoxidpartikel (USPIO). Weiterhin unterteilt man die Partikel anhand ihres Strukturaufbaus, wie z.B. in monokristalline Eisenoxidpartikel (MION: Monocrystalline Iron Oxide Nanoparticles) oder CLIO (Cross Linked Iron Oxide)-Partikel, die durch Quervernetzung des Hüllmaterials entstehen. Um eine für die intravenöse Injektion geeignete Präparation von SPIO zu erhalten, müssen die Partikel mit einer Umhüllung versehen werden. SPIO-, USPIO- und MION-Partikel werden mit Polymeren umhüllt. Um noch kleinere Partikel herzustellen, werden Monomere als Hüllmaterial verwendet. Diese ca. 7-10 nm im Gesamtdurchmesser großen Partikel werden als VSOP (Very Small Superparamagnetic Iron Oxide Particles) bezeichnet. Als Hüllmaterial wurden

bislang Polymere wie Dextran (z.B. AMI 25, Ami 227), Carboxydextran (SHU 555A, SHU 555C), Albumin, Stärke, Polyethylenglykol oder eine liposomale Umhüllung verwendet. Als monomeres Hüllmaterial wurde Citrat erfolgreich in vivo eingesetzt. Im Vergleich zum Körpereisenpool sind diagnostische Dosierungen von ca. 10-50  $\mu\text{m Fe/kg}$  gering und entsprechen ca. 5-10% der Gesamteisenmenge. Nach intravenöser Injektion werden die Partikel abgebaut, das Eisen wird in den Körpereisenpool überführt [62].

Primär fanden diese Partikel Verwendung bei Immunoassays im Biomedizinischen Bereich. Im Jahr 1986 wurde SPIO als immunspezifisches Kontrastmittel für die MRT entdeckt und erstmals verwendet [63]. Zellen des Mononukleären-Phagozyten-Systems (MPS) besitzen die Eigenschaft, unspezifisch Partikel aus der Blutbahn aufzunehmen. Diese Entdeckung veranlasste, dass man 1987 SPIO als intravenös applizierbares Kontrastmittel in der MRT-Diagnostik von Leber und Milz, also Organe reich an mononukleären Zellen, einsetzte [5]. Da benigne primäre Leberläsionen (kavernöses Leberhämangiom, Leberadenom und fokale noduläre Hyperplasie) in der Regel, wie auch das umgebende normale Leberparenchym, Kupfer-Zellen (mononukleäre Zellen) enthalten, werden Eisenoxidpartikel von normalen, wie auch von benignen Lebertumorenzellen aufgenommen. Das intrazellulär abgelagerte Eisen führt im MRT-Bild zu einem Signalabfall in T2-gewichteten Sequenzen. Da maligne Leberläsionen (primäre und sekundäre Lebertumoren) in der Regel keine intakten Kupfer-Zellen besitzen, werden innerhalb der Läsion keine

Eisenoxidpartikel aufgenommen und somit kommt es zu keinem Signalabfall. Aufgrund der Phagozytoseaktivität der Kupffer-Zellen kann somit SPIO-unterstützte Leber-MRT mit einer hohen diagnostischen Sicherheit zwischen benignen und malignen Läsionen unterscheiden [64, 65].

Seit dieser Zeit ist der Einsatz eisenhaltiger Kontrastmittel in der MR-Bildgebung auf zellulärer und molekularer Ebene in vielfältiger Weise weiterentwickelt worden. Dabei sind folgende Eigenschaften von großem Nutzen. Erstens die signifikanten hypointensen Signalveränderungen, vor allem im T2-gewichteten Bild, zweitens die Eisenpartikel werden in den körpereigenen Eisenmetabolismus eingeschleust und komplett abgebaut und drittens die Partikelumhüllung (meist Dextran), die eine gute Markierung mit Liganden, z.B. an Medikamenten ermöglicht [66]. Angewendet bei unterschiedlichen Krankheitsmodellen hat die Monozyten/Makrophagen-Markierung mittels SPIO-Partikel einen hohen Stellenwert bekommen [4].

In einem Tiermodell mit experimentell gesetzten peripheren Nervenverletzungen konnte in vivo das Migrationsverhalten von Makrophagen, die Haupteffektorzellen der Waller-Degeneration, MR-tomographisch durch den Einsatz von SPIO-Partikeln visualisiert werden [9]. In Gehirnen von Ratten und Mäusen mit experimenteller autoimmuner Enzephalomyelitis (EAE) befinden sich Makrophagen in entzündlichen Herden in direkter Umgebung von Blutgefäßen. Die Aufnahme der Eisenpartikel in den Makrophagen wird unterschiedlich erklärt: zum einen können die eisenhaltigen Partikel von denen im Blut zirkulierenden Monozyten phagozytiert werden und

somit ins Gewebe gelangen. Zum anderen können sie durch Aufnahme von der ortsständigen Mikroglia über die defekte Blut-Hirnschranke zum Entzündungsherd gelangen. Somit konnten auch sehr kleine entzündliche Herde durch die i. v. Gabe von USPIO deutlich sichtbar gemacht werden [67].

Zerebrale Ischämien demarkieren sich innerhalb der ersten Stunde sowohl in einer Standard-T2-gewichteten-, wie auch in einer CISS-Sequenz als hyperintense Areale im MR-Bild. Dies wurde genutzt, um in einem tierexperimentellen Ansatz zu zeigen, dass erst 6 Tage nach Infarkt es zu einer SPIO-Anreicherung und damit zu einer Signalauslöschung am Rande des Infarktareals kommt. Native, d.h. nicht „eisenbeladene“ Makrophagen können in jedem Infarktstadium an der Läsionsstelle nachgewiesen werden. Daraus lässt sich schlussfolgern, dass die durch die SPIO-Anreicherung sichtbare Signalauslöschung durch eine aktive, erst im Verlauf einsetzende Makrophagenmigration, wie histologisch bestätigt, entstanden ist. Dies dient als Beweis dafür, dass die SPIO-Anreicherung im MR-Bild unabhängig von der Bluthirnschrankenstörung ist [68].

Neben den vielfältigen diagnostischen Ansätzen werden auch therapeutische Anwendungsmöglichkeiten erforscht, unter anderem mit SPIO als Hyperthermie-Vermittler in der Tumortherapie [69] oder zur Markierung von Genkonstrukten zur Lokalisationskontrolle in der Gentherapie [70].

Einschränkungen und Nachteile SPIO-verstärkter MRT sind einmal, dass die Eisenakkumulation zu „Signalauslöschungen“ führt, die anatomische Details verdecken können. Zweitens ist das angezeigte

Gebiet größer als der KM angereicherte Bereich, das macht einen Vergleich der Messungen von vor- u. nach der KM-Gabe erforderlich. Drittens besteht die Gefahr einer möglich erschwerten Unterscheidung zwischen markierten Zellen/Molekülen und sequenzabhängigen Suszeptibilitätsartefakten z.B. durch Luft, Kalk oder Blut.

## **2.5. MR-Bildgebung peripherer Nervenläsionen**

Die Magnetresonanztomographie ist seit langem ein etabliertes bildgebendes Verfahren mit einem hohen Stellenwert in der Diagnostik zentralnervöser (ZNS-) Erkrankungen. Zur Diagnostik peripherer Nervenerkrankungen diente die MRT häufig nur als Zusatzuntersuchung bei der Fragestellung nach Raumforderungen und/oder strukturell-anatomischen Veränderungen in der direkten Nachbarschaft klinisch betroffenen Nerven- und Muskelareale. In einer Vielzahl von erst kürzlich erschienenen Studien konnte gezeigt werden, dass die MR-Bildgebung darüber hinaus ein viel versprechendes Verfahren ist, um genauer Auskunft über die Art, Umfang und den zeitlichen Verlauf der Schädigung peripherer Nerven und sekundär neurogener Veränderungen der Skelettmuskulatur zu geben [71]. Damit bekommt die MRT einen neuen Stellenwert in der Differentialdiagnostik peripherer Nervenschädigungen.

### **2.5.1. Technische Aspekte der MR-Bildgebung peripherer Nervenläsionen**

Zur klinischen Bildgebung von peripheren Nerven verwendet man Standard-Pulssequenzen an gängigen 1,5T Magnetresonanztomographen. Für

eine verbesserte räumliche Auflösung werden phased-array-Spulen verwendet, so dass man mittlerweile Nervenstrukturen vom umliegenden Gewebe genauesten im MR-Bild identifizieren kann.

*T1-gewichtete Bilder* sind optimal zur Darstellung von feinen anatomischen Details, wie die faszikulären Nervenstrukturen. Ein wichtiges Charakteristikum dieser Pulssequenz ist, dass Fett hell erscheint. Der normale Nerv erscheint im T1-gewichteten Bild als glatte rund-ovale Struktur, und dessen Signal ist im Vergleich zum gesunden Muskel isointens. Die peripheren Nerven sind von einem hellen signalreichen Fettsaum umgeben. Einzelne Nerv-Faszikel, am Besten im Querschnitt zu sehen, werden durch eine schmale Schicht, dem Perineurium demarkiert. Weiter innen liegt die Epineuriumschicht, die ein helleres Signalverhalten aufgrund eines höheren Fettgehaltes zeigt. Die T1-gewichtete Sequenz in Kombination mit Kontrastmittel, wie Gadolinium, kann helfen, die anatomischen Gegebenheiten von Nervfaszikeln zu raumfordernden Prozessen, wie Schwannome und Neurofibrome, zu unterscheiden. Gadolinium reichert sich im Tumor, nicht in normalen peripheren Nerven an [72].

*T2-gewichtete Sequenzen* sind geeignet, Schädigungen des Nervs selbst darzustellen. In T2-gewichteten Bildern bildet sich der gesunde periphere Nerv isointens, eventuell leicht hyperintens im Vergleich zum umgebenden Muskelgewebe ab. Prominente Nervenfaszikel im Querschnitt zeigen eine leicht höhere Signalintensität als das umgebende Perineurium und Epineurium [72]. Zur exakten räumlichen Darstellung von

Nervenstrukturen im T2-w Bild bewähren sich hochauflösende flüssigkeitssensitive fettunterdrückte T2-gewichtete Sequenzen, wie die TIRM Sequenz (turbo inversion recovery with magnitude) [73].

Zu berücksichtigen ist, dass es von der Magnetfeldorientierung abhängt, wie Nervenstrukturen im MRT-Bild erscheinen. Ein hyperintenses Signal entsteht auch bei einem gesunden Nerv bei einem Winkel von mehr als 55° (sogenannter „magic angle“) [74], so dass die Gefahr einer Überinterpretation vor allem bei Plexusuntersuchungen besteht.

Pathologische Nervenveränderungen im T1-Bild werden verursacht durch ein Aufquellen und damit Verlust der physiologischen Nervstruktur. Bei Nervenkompressionssyndromen verschwindet beispielsweise der dünne Fettsaum, so dass ein Fehlen des Fettsaums eine Nervenschädigung vermuten lässt.

Im T2-Bild fällt eine uncharakteristische fokale oder diffuse Signalanhebung auf. Dies ist eine regelmäßig vorkommende, unspezifische Veränderung sowohl bei Nervenkompressionssyndromen, als auch bei traumatisch oder entzündlich veränderten Nerven. Das Ausmaß oder Grad der Signalanhebung hängt von der Art der Nervenschädigung ab. In fokal demyelinisierten Bereichen ist die Signalanhebung nur auf der betroffenen Seite begrenzt. Im Gegensatz zur axonalen Schädigung, wo das gesamte Nervensegment, auch distal der Schädigung, betroffen ist. Somit kann anhand des MRT-Signalverhaltens unterschieden werden, ob die Nervenkontinuität erhalten ist oder nicht [75, 76].

Man vermutet, dass diese unspezifische Signalanhebung durch einen erhöhten Wassergehalt bzw. durch ein Ödem im geschädigten Nerv hervorgerufen wird und/oder der Myelinverlust zu einer Verlängerung der T2-Zeit führt [75-78]. Somit ist die MRT anhand dieses deutlichen Signalverhaltens im T2-Bild ein sehr sensitives Verfahren zum Nachweis geschädigter peripherer Nervenstrukturen, besitzt aber nur eine geringe Spezifität [71, 79].

### **2.5.2. Darstellung des zeitlichen Ablaufs der De- und Regeneration peripherer Nerven (Waller'sche Degeneration, WD)**

Durchtrennung oder Quetschung von peripheren Nerven oder einzelner Fasern führen zum axonalen Untergang und Myelinscheidenverlust, der sogenannten Waller'sche Degeneration (WD), die bereits 1850 erstmalig von August Waller beschrieben wurde [80]. Während der WD wird, ausgehend vom proximalen Nervenabschnitt, ein Mikromilieu geschaffen, das für eine erfolgreiche Rekonstruktion des verletzten Nerven verantwortlich ist. Schwannzellen, myelinbildende Hüllzellen peripherer Nervenfasern, reagieren auf den Axonverlust mit der Degeneration der Myelinscheiden. Im Verlauf formieren sich die Myelinscheidenreste zu Röhren, den sogenannten Bungner Banden, an deren Oberfläche Moleküle exprimiert werden. Diese Bungner Banden sind als Leitschienen für den neu aussprossenden Nerv und somit an der vollständigen Regeneration entscheidend beteiligt. An der vollständigen

Regeneration sind außerdem hämatogene Makrophagen beteiligt, die frühzeitig, durch Cytokine angelockt, am distalen Nervenstumpf nachweisbar sind. Einer ihrer Aufgaben ist die Beseitigung des Myelinabfalls [81].

In einem experimentellen Tiermodell konnte, erstmals in vivo mit Hilfe der MRT, der zeitliche Ablauf der Waller- Degeneration (WD) bei traumatischen Nervenverletzungen visualisiert und die pathophysiologischen Zusammenhänge näher beleuchtet werden [82]. Die WD ist im MR-Bild allgemein gekennzeichnet durch die Zunahme und Persistenz der Signalintensität im T2 gewichteten Bild [75, 83]. Diese Signalanhebung verschwindet nach kompletter Regeneration des betroffenen Nervens. In dem Tiermodell wurde der Nervus ischiadicus gequetscht. Innerhalb der ersten 24h erscheint im T2-Bild die Signalintensitätszunahme fokal begrenzt im Bereich der Nervenläsionsstelle. Histologisch ist eine massive Axondegeneration mit Verlust des zellulären und axonalen Verbunds nachweisbar. Die Signalintensitätszunahme schreitet im Verlauf mit einem proximo-distalen Gradienten fort. Ungefähr eine Woche nach der Schädigung kommt es in Form einer massiven Zunahme des extrazellulären Raums zu einem Nervenödem, das nun verantwortlich für eine andauernde Hyperintensität der geschädigten Nervenstruktur im T2-Bild ist [78]. Der Beginn der Regeneration wird im MRT-Bild durch die Abnahme der Signalintensität angezeigt. Histologisch ist eine Normalisierung des extrazellulären Raums nachzuweisen. Die MRT kann im Verlauf Aufschluss geben über die Art der Nervenverletzung. Eine axonale Nervenschädigung

durchläuft die oben genannten Veränderungen, eine Neuropraxie kennzeichnet sich im MR-Bild durch das alleinige Ansteigen der Signalintensität auf der Kompressionsseite [84]. Neben diesem wichtigen differentialdiagnostischen Kriteriums, kann das genaue Monitoring von Nerven De- und Regeneration die Indikation einer chirurgischen Intervention erleichtern bzw. den genauen postoperativen Verlauf anzeigen [82].

### **2.5.3. In vivo Monitoring pathophysiologischer Abläufe mit Eisenkontrastmittel-unterstützter MRT**

Eine neue Perspektive in der MR-Bildgebung peripherer Nervenläsionen stellt die in vivo Markierung von Makrophagen mit eisenhaltigen Partikeln dar. Diese lokale zelluläre Akkumulation der Eisenpartikel führt aufgrund des paramagnetischen Effekts zu einem Signalverlust im MR-Bild [85]. Makrophagen sind die Haupteffektorzellen der Waller'sche Degeneration(WD), die die zugrunde gegangenen Myelinscheiden beseitigen und einen wesentlichen Beitrag an der komplexen Regenerationsfähigkeit peripherer Nerven beitragen [86]. In einem Tiermodell der mechanischen Nervenverletzung (Crush-Läsion) konnte die räumlich-zeitliche Dynamik dieser Infiltration am lebenden Tier abgebildet werden.

Nach systematischer SPIO-Partikelapplikation zum Zeitpunkt der Nervenverletzung kam es 24h später an der Läsionsstelle in der T2-turbo spinecho (TSE) Sequenz und insbesondere in der hochauflösenden CISS-Sequenz zu einer Signalauslöschung im MR-Bild, die histologisch der Akkumulation von

eisenhaltigen Makrophagen entsprach. Die Signalauslöschung bezog in den folgenden 5 Tagen immer distaler gelegene, degenerierende Nervenabschnitte ein. Ab dem 8. Tag nahm die eisenbedingte MR-Signalauslöschung deutlich ab und war 14 Tage nach gesetztem Crush nicht mehr nachweisbar. Voraussetzung für diese Befunde war, dass die SPIO-Partikel immer 24h vor der MR-Untersuchung appliziert wurden. Ein Vergleich der MR-Daten mit histologischen Analysen an denselben Nerven (Makrophagenfärbung, Berliner Blau-Färbung zum Eisennachweis) ergab eine hervorragende Übereinstimmung der Signalveränderungen mit der lokalen Eisenakkumulation, die histologisch ED1-positiven Monozyten/Makrophagen in den Nerven zugeordnet werden konnte. Eisen ließ sich nur am Tag 1-8 nachweisen, am Tag 14 war die Färbung negativ, obwohl zu diesem Zeitpunkt noch massive Makrophageninfiltrate in den Nerven vorhanden waren. Dies bedeutet, dass im Nerv bereits befindliche Makrophagen kein Eisen aus der Zirkulation aufnehmen und Eisen auch nicht passiv über die Blut-Nerv-Schranke in die Nerven gelangt. Vielmehr belegen diese Befunde, dass das Eisen von Monozyten im Blut phagozytiert und von diesen ins Nervensystem intrazellulär importiert wird. Damit wurde erstmals an einem Läsionsmodell im Nervensystem gezeigt, dass sich über die SPIO-Markierung das Migrationsverhalten von Makrophagen in der MR- Bildgebung verfolgen lässt [9].

### **3. Material und Methodik:**

#### **3.1. Zielsetzung**

Die wichtige pathogenetische Rolle von Makrophagen bei entzündlichen Erkrankungen des peripheren Nervens ist bekannt. Die genaue Dynamik der Makrophageninvasion im Krankheitsverlauf ist jedoch noch weitgehend ungeklärt. Hierfür wurde ein in vivo Bildgebungsansatz gewählt. Makrophagen wurden in verschiedenen Krankheitsstadien mit SPIO-Partikeln markiert. Die Migration dieser eisenmarkierten Makrophagen wurde dann longitudinal in der MRT untersucht. Parallel hierzu wurden histologische Untersuchungen durchgeführt.

#### **3.2. Induktion der experimentellen Autoimmun-Neuritis (EAN)**

Verwendet wurden insgesamt 35 weibliche Lewisratten, von denen bei 32 Tieren eine experimentelle autoimmune Neuritis induziert wurde und 3 als gesunde Kontrollen dienten. Die Versuchstiere wogen 135-170g.

##### **3.2.1. Induktion der Adoptiv-Transfer-EAN (AT-EAN)**

In die Schwanzvene von 32 Versuchstieren wurden  $12 \times 10^6$  restimulierte und aktivierte CD4-positive T-Zellen der Zelllinie G7R6 injiziert, die gegen das Myelinprotein P2 gerichtet ist [87]. Die neurogenen T-Zellklone wurden in vitro generiert, erhalten und restimuliert mit P2 Protein (20 µg/ml), nach der Methode, die von Linington et al., 1984 [45] beschrieben wurde. Nach 72 h wurden T-Zellblasten durch Zentrifugation gewonnen.

Nach dem Zelltransfer wurden die Ratten täglich gewogen und anhand klinischer Zeichen, in einen Punktescore nach Hartung et al. 1988a, b [88] von 1-10 eingeteilt (s. Tabelle 2).

**Tabelle 2: Klinischer Punktescore**

<b>0</b> = normal	<b>5</b> = leichte Paraparese der Hinterbeine
<b>1</b> = reduzierter Schwanztonus, hängende Schwanzspitze	<b>6</b> = mittlere Paraparese
<b>2</b> = Schwanzlähmung	<b>7</b> = schwere Paraparese oder Paraplegie der Hinterbeine
<b>3</b> = Reflexverlust	<b>8</b> = Tetraparese
<b>4</b> = Gangataxie	<b>9</b> = Moribund
	<b>10</b> = Tod

### 3.2.2. Kontrastmittelgabe

Die drei gesunden Kontrollratten und 26 AT-EAN-Ratten erhielten systemisch 0,2 mmol Fe/kg Körpergewicht SPIO-Partikel (Resovist<sup>®</sup>, Schering, Berlin, Germany) immer 24h vor der geplanten MRT-Messung [85, 89].

Die restlichen neun AT-EAN-Ratten wurden nativ, d.h. ohne Kontrastmittel untersucht. Das Versuchsprotokoll ist in Tabelle 3 gezeigt.

**Tabelle 3**

<b>Versuchstiere</b>	<b>Anzahl</b>
Nativ + SPIO-Partikel	n=3
AT-EAN ohne SPIO-Partikel	n=9
AT-EAN + SPIO-Partikel	n=23

### 3.3. MR-Messung:

Die Messungen wurden an einem 1,5T Hochfeldgerät (Magnetom Vision<sup>®</sup>, Siemens, Erlangen, Germany) durchgeführt. Als Messeinheit diente eine runde Oberflächenspule von ca. 4 cm Durchmesser.

#### 3.3.1. Vorbereitung/Lagerung:

Die Tiere wurden, durch die intraperitoneale Gabe von 100 mg/ kg KG Ketamin (Ketanest<sup>®</sup> Parke Davis, Morris Plains, NJ) und 10mg/kg KG Xylazin (Rompun<sup>®</sup>, Bayer Vital, Leverkusen, Germany), für den Zeitraum der MRT-Messung anästhesiert.

Auf dem Rücken liegend, wurden die Tiere auf der runden Oberflächenspule fixiert. Die Zentrierung wurde auf den lumbalen Abschnitt der Wirbelsäule gerichtet.

#### 3.3.2. MR-Messprotokoll/Zeitlicher Messplan:

**Tabelle 4: MR-Sequenzen**

<b>Sequenz</b>	<b>Schicht- dicke</b>	<b>Schichtführung</b>
T1 (TR=460 ms;TE=14 ms)	3 mm	axial
T2 (TR=2500 ms,TE=80 ms)	3 mm	axial
CISS 3D (TR=16,4 ms,TE=8,2 ms)	1 mm	axial

**Tabelle 5: Messprotokoll**

<b>Messtage</b>	<b>Tieranzahl(n) nach SPIO-Appl./Tieranzahl(n) ohne SPIO-Appl.</b>
Tag 3	n=7/3
Tag 4	n=6/3
Tag 5	n=7/3
Tag 6	n=2/0
Tag 10	n=4/3

### **3.4. Histologisches und immunzytologisches Verfahren**

Nach Abschluss der MR-Untersuchungen wurden 3 von 4 Versuchstieren durch eine Überdosis an CO<sub>2</sub>-Gas getötet.

Der Rückenmarkskonus mit der anhaftenden Cauda equina wurde zügig und schonend entnommen und in 4% Paraformaldehyd fixiert und anschließend in Paraffin eingebettet. Mit einem Mikrotom wurden multiple 5-10 µm dicke Paraffinschnitte angefertigt.

#### **3.4.1. Histologische Aufbereitung/ Färbung**

Die Paraffinschnitte wurden mit Xylol zuerst deparaffiniert und anschließend in einer absteigenden Alkoholreihe rehydriert, um anschließend mit Hilfe eines PBS-Puffer-Bades auf folgende Spezialfärbungen vorbereitet zu werden.

#### **3.4.2. Eisenfärbung**

Nach einem vorbereitenden Bad mit destilliertem Wasser, wurden die Präparate in Perl's-Lösung (1:1 Mischung von 2% Kalium-ferrozyanid und 2% HCl-

Lösung) für 30 Minuten inkubiert, die überschüssige Farblösung im destilliertem Wasserbad entfernt und mit einer aufsteigenden Xylolreihe nach dehydriert.

### **3.4.3. Immunhistochemische Färbung**

Inkubation der vorpräparierten Schnitte mit ED1-Antikörper, einem Marker für Monozyten und Makrophagen (Serotec<sup>®</sup>, Oxford UK) in einem Verdünnungsverhältnis von 1:1000. An Makrophagen gebundene ED1-Antikörper wurden mit der Avidin-Biotin-Peroxidase Methode, mit Diaminobenzidine als Chromogen sichtbar gemacht [90].

Um die zelluläre Eisenverteilung zu beurteilen wurden beide oben genannten Färbungen einzeln und kombiniert angewandt. Anschließend wurden die Präparate an einem Zeiss<sup>®</sup>-Axiophot Mikroskop begutachtet.

#### **4. Ergebnisse:**

In der MR-Bildgebung der gesunden Kontrolltiere konnten keine Signalveränderungen nach SPIO-Applikation in der Cauda equina gezeigt werden. Die Kaudafasern erschienen isointens zum mit abgebildeten Weichteilgewebe. Ebenso wenig bestanden Signalveränderungen in den T2 gewichteten- und CISS-Bildern bei Tieren, bei denen zwar eine AT-EAN induziert wurde, die aber kein SPIO Partikel erhalten hatten (Abb.2 (A), (B)).

Im Gegensatz dazu konnte man bei allen AT-EAN-Tieren, am Tag 3, nachdem am Vortag SPIO Partikel verabreicht worden war, eine Signalauslöschung in den T2-gewichteten Bildern im Bereich der Cauda equina nachweisen. Diese Tiere waren zu diesem Zeitpunkt noch klinisch unauffällig. Das Muster der Signalauslöschung zeigte histologisch einen fleckförmigen Befall einzelner Nervenfasern (Abb. 2 (C)).

Am Tag 4 hatten 6 von 6 Ratten im Durchschnitt 12 g an Gewicht verloren und zeigten eine leichte Verschlechterung ihres klinisch-neurologischen Zustandes. Ab diesem Zeitpunkt zeigte sich bei allen betroffenen Tieren in den MR-Bildern eine vollständige Signalauslöschung der Cauda equina (Abb.1 (A), Abb.2(D)).

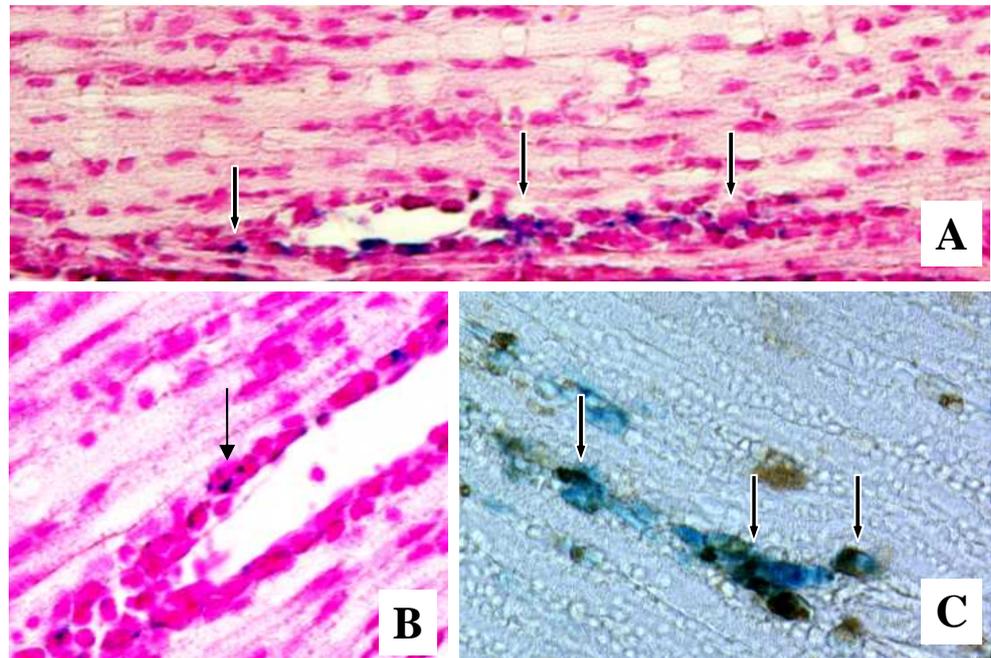
Am Tag 5 war das Erkrankungsmaximum erreicht, alle Tiere entwickelten eine asymmetrische Paraparese. Entgegen des zunehmenden klinischen Erkrankungsgrades zeigten die MR- Bilder bereits wieder eine Abnahme der Signalauslöschung (Abb.2 (E)) mit lediglich einzelnen punktförmigen Hypointensitäten der Kaudafasern. Zu späteren Zeitpunkten (ab Tag 6) konnte keine

Signalauslöschung mit der MRT mehr sichtbar gemacht werden, obwohl die Tiere noch klinisch betroffen waren (Abb. 2 (F)).

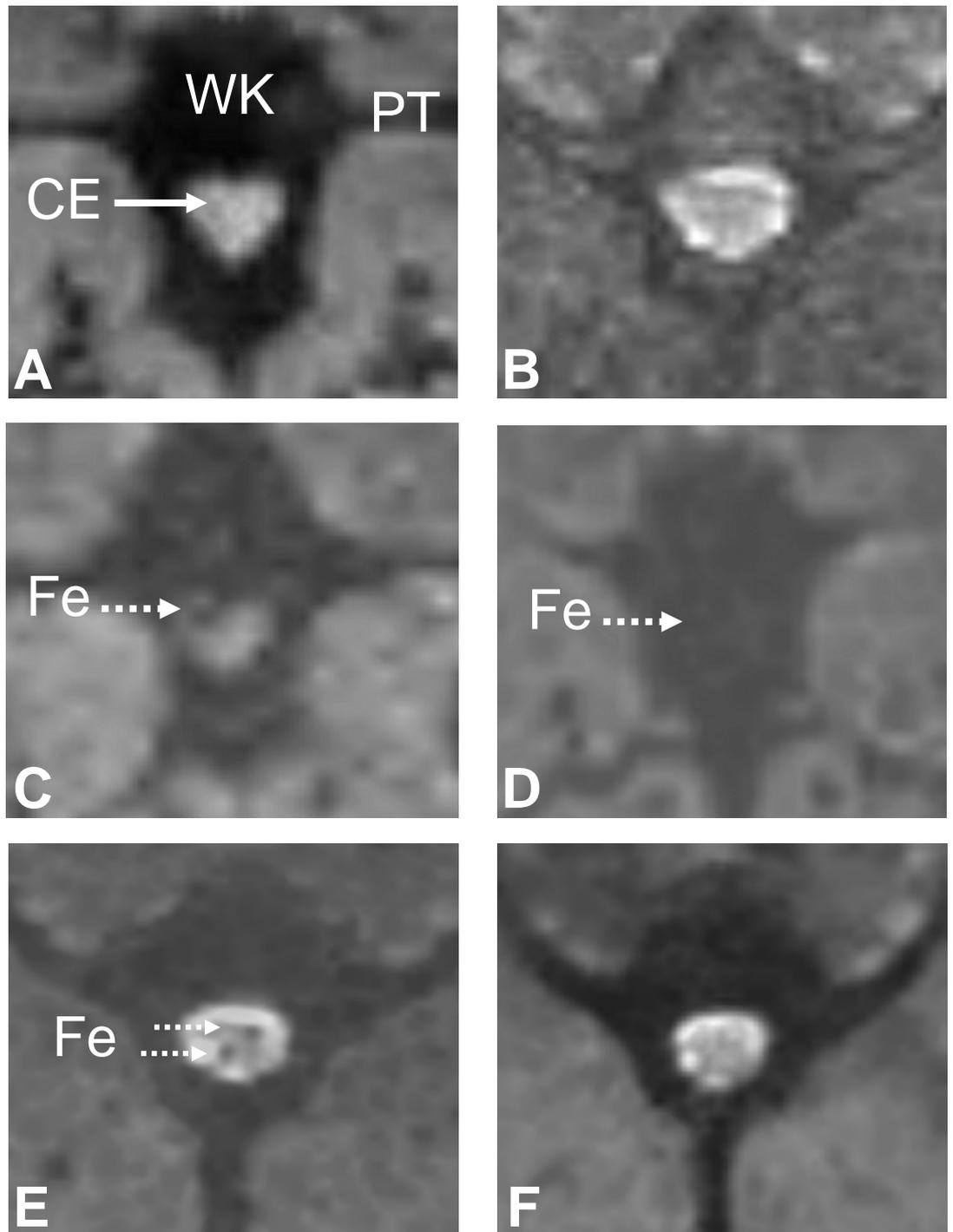
Korrespondierend zu den MR-Befunden zeigten die histologischen Eisenfärbungen (Berlin Blau Färbung) an den Tagen 3/4/5 nach Induktion der AT-EAN in den Spinalnerven eine fokale Akkumulation der Eisenpartikel. Die eisenpositiven Zellen waren fleckförmig und hauptsächlich perivaskulär angeordnet (Abb.1 (A); (B)). Durch den kombinierten Einsatz der Eisenfärbung mit Antikörpern gerichtet gegen den Oberflächenmarker ED1 konnten fast alle der eisenmarkierten Zellen als Monozyten bzw. Makrophagen identifiziert werden (Abb.1 (C)). Nur ein geringer Teil der eisenpositiven Zellen haben mit den Antikörpern nicht reagiert. Diese Zellen sind vermutlich frisch rekrutierte präphagozytische Monozyten, die noch nicht die erforderliche Oberflächenstruktur für ED1-Antikörper exprimiert haben.

Versuchstiere, die SPIO erst am Tag 5 oder später erhalten haben, zeigten keine relevante Eisenaufnahme. Bei AT-EAN Tieren am Tag 3 zeigte die immunzytologische Färbung mit ED-1 Antikörpern einen schmalen Saum perivaskulär angeordneter Makrophagen. Begleitend zu der deutlichen Signalauslöschung im MR-Bild am Tag 4 nach AT-EAN Induktion, konnte histologisch neben einer massiven Makrophagenimmigration, ein beträchtliches Anwachsen der Dichte von ED1-positiven Zellen gezeigt werden. Im Verlauf wanderten die Makrophagen in das Nervenparenchym ab und persistierten im Spätstadium der Erkrankung als große

postphagozytische Makrophagen direkt am entzündeten Areal.



**Abbildung 1:** Histologische 5 $\mu$ m dicke Parafinschnitte des N. ischiadicus (Vergrößerung (A,B) x650; (C)x1000)  
(A-C) Berliner Blau Färbung, (C) zusätzliche immunchemische Färbung mit ED-1 Makrophagen-Marker  
Pfeile markieren blau gefärbte eisen-positive Makrophagen in (A) Tag 4, in (B) Tag 5 nach T-Zell Transfer; in (C) doppelte Anfärbung blau für Eisen und braun für ED-1 positive Makrophagen



**Abbildung 2:** Zeitlicher Verlauf der MR-Signalveränderungen (Axiale Schnittführung, CISS 3D-Sequenz, 1mm Schichtdicke, lumbaler Spinalkanal)  
**(A)** Kontrolltier (SPIO-Applikation, keine T-Zell-Transfer); **(B)** Kontrolltier (keine SPIO-Applikation, T-Zell-Transfer); **(C)** 3 Tage, **(B, D)** 4 Tage, **(E)** 5 Tage und **(F)** 10 Tage nach T-Zell-Transfer und SPIO-Applikation

**Tabelle 6** : Zusammenhang zwischen Krankheitsgrad und MR-Signalverlust

<b>Tage nach Zelltransfer</b>	<b>Krankheitsgrad<sup>a</sup></b>	<b>MR-Signalauslöschung<sup>b</sup></b>	<b>Makrophagendichte u. Lokalisation<sup>c</sup></b>
<b>3</b>	0	-	*, perivaskulär
<b>4</b>	3,5	++	***, perivaskulär u. parenchymatös
<b>5</b>	5,3	+	***, verteilt in gesamter Nervenfasern
<b>6</b>	5,4	-	***, verteilt in gesamter Nervenfasern
<b>10</b>	2,7	-	***, große postphagozytische Makrophagen

<sup>a</sup>nach Hartung et. al. (1988)

<sup>b</sup>MR-Signalauslöschung: (-) keine, (+) vereinzelte, (++) komplett

<sup>c</sup>Makrophagenlokalisierung: (\*) geringe, (\*\*) mäßige (\*\*\*)zahlreiche

## **5. Diskussion:**

Die Einführung der MRT hat die Diagnostik von Erkrankungen des zentralen Nervensystems wie dem Schlaganfall oder der Multiplen Sklerose revolutioniert. Die Diagnostik von Läsionen des peripheren Nervensystems ist jedoch nach wie vor die Domäne der klinischen und elektrophysiologischen Untersuchungsverfahren. Bislang liegen nur wenige experimentelle und klinische Studien vor, die eine Anwendung der MRT bei neuromuskulären Erkrankungen beschreiben.

Wegen unspezifischen Signalveränderungen wurde die MRT bei Erkrankungen des peripheren Nervensystems (PNS) nur wenig genutzt [72]. Die gezielte Anwendung und Weiterentwicklung von Kontrastmitteln und Mess-Sequenzen hat in experimentellen Ansätzen zu einer deutlich erhöhten Spezifität dieser Technik geführt [71, 91].

Im diesem experimentellen Ansatz ist es gelungen, durch Einsatz von eisenhaltigem Kontrastmittel die MRT-Spezifität bei peripheren autoimmunen Nervenentzündungen deutlich zu erhöhen. Es ist gelungen in vivo den zeitlichen Verlauf der Monozyten-/Makrophageninfiltration bei entzündlichen Autoimmunerkrankungen des PNS zu demonstrieren. Wir nutzten die AT-EAN (adoptive transfer-experimentelle autoimmune Neuritis), die eine Th1-vermittelte Erkrankung des PNS widerspiegelt, und ein Tiermodell für eine T-Zell- und Makrophagen vermittelte Nervenentzündung ist. Die Versuchstiere erhielten im Rahmen eines Messprotokolls 24h vor jeder MR-Untersuchung systemisch eisenhaltiges Kontrastmittel (SPIO). In den eisensensitiven MR-Sequenzen (CISS 3 D-

Sequenz) [85] zeigte sich drei Tage nach Induktion der AT-EAN eine Signalauslöschung im Bereich der Cauda equina. Dies ging der klinischen Manifestation der AT-EAN um einen Tag voraus. Der Peak des Signalverlustes war am Tag 4 nach T-Zell Transfer, und was bereits regredient am Tag 5, dem Höhepunkt der klinischen Manifestation. Dies zeigte die in vivo Darstellung der Migration von Makrophagen in spinale Nervenfasern an.. Bestätigt wurde dies durch parallel durchgeführte histologische Untersuchungen. Immunhistochemisch konnte nur an den Tagen 3-5 nach Induktion der AT-EAN eisenpositive, perivaskulär angeordnete Monozyten/Makrophagen Infiltrationen nachgewiesen werden. Tiere in späteren Stadien der AT-EAN, z.B. Tag 6 und 10, zeigten zwar eine massive Makrophageninfiltration der spinalen Nerven, aber es konnte histologisch kein Eisen mehr nachgewiesen werden. Diese Beobachtung deutet darauf, dass die SPIO-Partikel nicht durch Diffusion oder durch eine defekte Blut-Nerv-Schranke in die Spinalnerven gelangt war.

Unsere Beobachtungen sind übereinstimmend mit bereits früheren Untersuchungen, die die aktive Makrophageninfiltration bei traumatischen Nervenverletzungen, experimentell gesetzten zerebralen Ischämien und EAE (experimental autoimmune encephalomyelitis), mit Hilfe eisenhaltiger Kontrastmittel und nachfolgender MRT, gezeigt haben [9, 67, 68, 92]

Makrophagen spielen als „krankmachende Zellen“ eine wichtige Rolle bei entzündlichen Erkrankungen. In zahlreichen pharmakologischen Studien wurden Makrophagen als die Haupteffektorzellen, neben den

autoreaktiven myelin-spezifischen T-Zellen, in der EAN identifiziert. Sie werden u. a. aktiviert durch Zelladhäsionsmoleküle endothelialer Nervenzellen [93]. Blockiert man diese spezifischen Zelladhäsionsmoleküle wird die Migration Makrophagen erschwert und es kommt nur zu einer abgeschwächten Krankheitsmanifestation [88, 94]. Wurden Makrophagen durch injizierten Siliconstaub in die Bauchhöhle „abgelenkt“, führte dies zu einer deutlichen Verbesserung der klinischen, elektrophysiologischen und histologischen Befunde der AT-EAN [44, 88, 94]. Bekannt ist außerdem, dass Makrophagen bei demyelinisierenden Erkrankungen (EAN, GBS) an der Oberfläche von Nervenfasern haften, um geschädigte Myelinscheiden abzubauen. Dies führt zur Komplementaktivierung und wahrscheinlich auch zu einer Antikörperproduktion die den späteren Regenerationsprozess unterstützen [95, 96].

Bis auf die seit langem bekannte krankheitsinduzierende und -modifizierende Rolle ist über die eigentliche in vivo-Dynamik der hämatogenen Makrophagen bei entzündlichen Nervenerkrankungen wenig bekannt. Eine genaue Vorstellung von zeitlichen und örtlichen Dynamik der Makrophageninvasion existierte bis jetzt nicht. Wir konnten mit dieser Studie, erstens in vivo die aktive Migration Makrophagen zum Entzündungsort nachweisen. Zweitens konnten wir zeigen dass dieser Vorgang bei der AT-EAN nur auf ein sehr schmales Zeitfenster von 48-72h begrenzt ist. Drittens konnte mit dieser Methode das früheste Stadium von durch Makrophagen induzierter Pathologie peripherer Nervenerkrankungen gezeigt

werden - der Eintritt ins Nervengewebe – und zwar bevor klinische Krankheitssymptome aufgetreten sind.

Somit könnte diese nicht invasive Methodik als neues Verfahren Einblicke in die pathophysiologischen Abläufe vieler entzündlicher Erkrankungen geben. Bei vielen Autoimmunerkrankungen wie z.B. die akute und chronische Polyneuritis, Multiple Sklerose, Rheumatoide Arthritis und Typ1 Diabetes spielen Monozyten/Makrophagen als Haupteffektorzellen eine entscheidende pathophysiologische Rolle [6-8]. Es wurden bereits therapeutische Strategien an Tiermodellen entwickelt, um das Rekrutment von Makrophagen zu verhindern oder ihre Aktivität durch Blockierung mit Zelladhäsionsmolekülen und Cytokinen, wie z.B. Tumornekrosefaktor- $\alpha$  zu mindern. Die Effizienz dieser neuen Strategien wurde bis jetzt hauptsächlich durch klinische und histopathologische Auswertungen überprüft [10]. Es ist vorstellbar in vivo, traumatische, autoimmune und infektiöse Erkrankungen des Menschen in frühem Erkrankungsstadium oder auch therapeutische Ansätze anhand des Makrophagenimaging mit der Magnetresonanztomographie frühzeitig sichtbar zu machen. Somit können vielleicht in der Zukunft neue immuntherapeutische Strategien entwickelt werden, die auf die frühe Makrophagenmigration bei entzündlichen Nervenerkrankungen abzielen und durch unsere Technik ein adäquates Monitoring erhalten. Floris et al. [92] konnte in einem experimentellen Ansatz mittels der gleichen Technik eine quantitative Aussage über die Makrophageninfiltration in entzündlichen Arealen der

EAE (experimental autoimmune encephalomyelitis) treffen. Bei erfolgreich medikamentös behandelten war im Vergleich zu unbehandelten Versuchstieren eine geringere Eisenakkumulation nachweisbar.

Wir verwendeten die kommerziell erhältlichen und im klinischen Routinebetrieb verwendeten SPIO-Partikel in einer etwas höheren Dosis als normalerweise in der humanen Leber-Diagnostik eingesetzt wird [89]. In weiterführenden Studien muss für dieses Verfahren noch die minimale SPIO-Dosis zur Nutzung am Menschen bestimmt werden.

Methodische Einschränkung bei der Verwendung von SPIO-Partikel in der MRT ist, dass die Signalauslöschung der Eisenpartikel umliegende Strukturen mit „überstrahlt“ und damit die Bildauflösung verschlechtert. Dies erfordert genaue anatomische Kenntnisse und/oder eine zuvor durchgeführte native Vergleichsuntersuchungen. Auch die Abgrenzung zu artifiziellen Veränderungen (Suszeptibilitätsartefakte) kann in Einzelfällen ein diagnostisches Problem sein. Dies hängt sowohl von der Konzentration der zu markierenden Struktur als auch von MR-spezifischen Parametern (Sequenz/Auflösung) ab. Verbesserungen durch Sequenz- und KM-Optimierung sind in naher Zukunft zu erwarten [4]. Auch wenn bereits die zelluläre Eisenmarkierung in der Leberdiagnostik ein Routineverfahren ist und eine Fülle von experimentellen Studien bezüglich anderer Einsatzgebiete bereits vorliegen, bedarf es auch noch Studien bezüglich der potenziellen Eisentoxizität und der Dosisfindung [3]. In in vitro Studien konnte gezeigt werden, dass in eisenbeladenen Makrophagen es zu keiner

nennenswerten Mehrproduktion von zellschädigenden freien Radikalen kommt [97, 98]. Bezüglich des Zytokinprofils konnte in einer in vitro Studie belegt werden, dass die intrazelluläre Aufnahme von Superparamagnetischen Eisenoxidpartikeln (SPIO, USPIO) das Zytokinprofil im Makrophagen ändert. Die SPIO/USPIO Aufnahme bewirkte das Überwiegen antientzündlicher Komponenten, ausgelöst durch die verminderte Produktion des entzündungsfördernden Tumornekrose-Faktors-(TNF) $\alpha$ - und vermehrten Produktion des entzündungshemmenden Zytokins Interleukin (IL)-10 [99].

Seit dem ersten Einsatz als Kontrastmittel in der MR-Leberdiagnostik haben Superparamagnetische Eisenoxidpartikel (SPIO) als Substanzgruppe ein weites Einsatzspektrum, vor allem auf dem Gebiet der molekularen MR-Bildgebung, hinzugewonnen. Zu nennen sind der Einsatz in der Lymphknoten- [100] und Tumordiagnostik [101], Artherosklerose-Früherkennung [102] und Markierung von spezifischen Zellrezeptoren, z.B. Transferrin-Rezeptoren bei Brustkrebs [103]. Eine Weiterentwicklung ist die Implantation von SPIO beladenen Zellen in lebende Organismen, mit nachfolgender Beobachtung der Migration und Lokalisation dieser Zellen im Zielgewebe [104]. Vielversprechend sind weiterhin experimentelle Ansätze in denen SPIO-Partikel zur Genermittlung bzw. -quantifizierung eingesetzt werden, sowie zur Darstellung von Enzymreaktionen auf zellulärer Ebene [105].

Ein entscheidender Vorteil der eisenkontrastunterstützten MRT ist neben der

zellulären Bildinformation die gleichzeitige hohe örtliche Auflösung sowie die Möglichkeit zu longitudinalen in vivo Untersuchungen.

## **6. Zusammenfassung:**

Die vorliegende Arbeit konnte zum ersten Mal mittels Magnetresonanztomographie unter Verwendung von Superparamagnetischen Eisenpartikeln (SPIO) die Infiltration von Makrophagen in einem autoimmun entzündlichen Tiermodell (AT-EAN) zeitaufgelöst zeigen. Ab dem 3. Tag nach der AT-EAN Induktion konnten die SPIO-Partikel in Form einer Signalauslöschung im Bereich der Cauda equina im MR-Bild detektiert werden. Der Höhepunkt der Signalauslöschung wurde am Tag 4 beobachtet, was dem Beginn der klinischen Symptome entsprach. Ab Tag 5, dem klinischen Höhepunkt der Erkrankung war diese Signalauslöschung im MR-Bild nicht mehr nachweisbar. Tiere, die zu einem späteren Zeitpunkt, z.B. Tag 6 oder 10 untersucht wurden, zeigten zwar histologisch eine massive Makrophageninfiltration, aber keine Eisenakkumulation mehr.

Daraus lässt sich folgern

- 1) Eisenpartikel werden von Monozyten/Makrophagen phagozytiert und von diesen intrazellulär ins Nervensystem importiert. Eisenpartikel gelangen nicht passiv über eine gestörte Blut-Nerv-Schranke in die Nervenfasern. Ebenso findet keine Phagozytose von Eisenpartikeln im Nervengewebe statt.
- 2) Mit dieser Technik ist es möglich, bereits präklinische Entzündungsstadien in vivo zu visualisieren.
- 3) Makrophagen scheinen maßgeblich in sehr frühen Stadien einer autoimmunen Entzündung pathogenetisch eine Rolle zu spielen. In späteren Stadien der klinisch manifesten Entzündung findet

keine nennenswerte Invasion von Makrophagen mehr statt.

- 4) Die eisenverstärkte MRT eröffnet als neues Verfahren des „Makrophagenimaging“ eine Fülle von möglichen experimentellen und klinischen Anwendungen. Es ist vorstellbar, traumatische, autoimmune und infektiöse Erkrankungen des Menschen frühzeitig *in vivo* durch die Makrophageninfiltration mit Hilfe dieser Technik zu diagnostizieren.

Diese Studienergebnisse wurden zwischenzeitlich publiziert: Stoll, G, Wesemeier, C, Gold, R, Solymosi, L, Toyka K V, Bendszus, M; *In vivo monitoring of macrophage infiltration in experimental autoimmune neuritis by magnetic resonance imaging*. J. Neuroimmunol 2004; 149:142-146

## 7. Literaturverzeichnis:

1. Bendszus M, et al., *Sequential MR imaging of denervated muscle: experimental study*. AJNR Am J Neuroradiol 2002;**23**: 1427-31.
2. Wessig C et al., *Muscle magnetic resonance imaging of denervation and reinnervation: correlation with electrophysiology and histology*. Exp Neurol, 2004;**185**:254-61.
3. Koltzenburg M, Bendszus M. *Imaging of peripheral nerve lesions*. Curr Opin Neurol 2004;**17**:621-6.
4. Bulte JW, Kraitchman DL. *Iron oxide MR contrast agents for molecular and cellular imaging*. NMR Biomed 2004;**17**:484-99.
5. Saini S, et al., *Ferrite particles: a superparamagnetic MR contrast agent for enhanced detection of liver carcinoma*. Radiology 1987;**162**:217-22.
6. Benveniste EN. *Role of macrophages/microglia in multiple sclerosis and experimental allergic encephalomyelitis*. J Mol Med 1997; **75**:165-73.
7. Stoll G, Jander S. *The role of microglia and macrophages in the pathophysiology of the CNS*. Prog Neurobiol 1999;**58**:233-47.
8. Kiefer R, et al., *The role of macrophages in immune-mediated damage to the peripheral nervous system*. Prog Neurobiol, 2001;**64**:109-27.
9. Bendszus M, Stoll G. *Caught in the act: in vivo mapping of macrophage infiltration in nerve injury by magnetic resonance imaging*. J Neurosci 2003;**23**:10892-6.
10. Hartung HP, Heininger K, Toyka KV. *[New aspects of the pathogenesis and therapy of Guillain-Barre syndrome and chronic polyneuritis]*. Nervenarzt 1990; **61**:197-207.
11. Maurer, M. and R. Gold, *Animal models of immune-mediated neuropathies*. Curr Opin Neurol, 2002. **15**: 617-22.
12. Guillain, G., J.A. Barre, and A. Strohl, *[Radiculoneuritis syndrome with hyperalbuminosis of cerebrospinal fluid without cellular reaction. Notes on clinical features and graphs of tendon reflexes. 1916]*. Ann Med Interne (Paris), 1999. **150**: 24-32.
13. *Criteria for diagnosis of Guillain-Barre syndrome*. Ann Neurol, 1978. **3**. 565-6.
14. Asbury, A.K. and D.R. Cornblath, *Assessment of current diagnostic criteria for Guillain-Barre syndrome*. Ann Neurol, 1990. **27** S21-4.

15. Ho, T.W., G.M. McKhann, and J.W. Griffin, *Human autoimmune neuropathies*. Annu Rev Neurosci, 1998. **21**:187-226.
16. Toyka, K.V., *Eighty three years of the Guillain-Barre syndrome: clinical and immunopathologic aspects, current and future treatments*. Rev Neurol (Paris), 1999. **155**(10): 849-56.
17. Prineas, J.W., *Pathology of the Guillain-Barre syndrome*. Ann Neurol, 1981. **9 Suppl**: 6-19.
18. Feasby, T.E., et al., *An acute axonal form of Guillain-Barre polyneuropathy*. Brain, 1986. **109**: 1115-26.
19. Fisher, M., *An unusual variant of acute idiopathic polyneuritis (syndrome of ophthalmoplegia, ataxia and areflexia)*. N Engl J Med, 1956. **255**(2):. 57-65.
20. Jankowicz, E., W. Drozdowski, and J. Pogumirski, [*Idiopathic autonomic neuropathy (pandysautonomia)*]. Neurol Neurochir Pol, 2001. **35**(3): 439-52.
21. Alter, M., *The epidemiology of Guillain-Barre syndrome*. Ann Neurol, 1990. **27 Suppl**: S7-12.
22. Kaplan, J.E., et al., *Simultaneous outbreaks of Guillain-Barre syndrome and Bell's palsy in Hawaii in 1981*. Jama, 1983. **250**(19): 2635-40.
23. Kaplan, J.E., et al., *Guillain-Barre syndrome in the United States, 1979-1980 and 1980-1981. Lack of an association with influenza vaccination*. Jama, 1982. **248**(6): 698-700.
24. Kaplan, J.E., et al., *Guillain-Barre syndrome in Larimer County, Colorado: a high-incidence area*. Neurology, 1985. **35**(4): 581-4.
25. Kaplan, J.E., et al., *Guillain-Barre syndrome in the United States, 1978-1981: additional observations from the national surveillance system*. Neurology, 1983. **33**(5): 633-7.
26. Hughes, R.A., et al., *Pathogenesis of Guillain-Barre syndrome*. J Neuroimmunol, 1999. **100**(1-2): 74-97.
27. Hahn, A.F., *Guillain-Barre syndrome*. Lancet, 1998. **352**(9128): 635-41.
28. Kuwabara, S., *Guillain-Barre syndrome: epidemiology, pathophysiology and management*. Drugs, 2004. **64**(6): 597-610.
29. Newswanger, D.L. and C.R. Warren, *Guillain-Barre syndrome*. Am Fam Physician, 2004. **69**(10): 2405-10.
30. Ang, C.W., B.C. Jacobs, and J.D. Laman, *The Guillain-Barre syndrome: a true case of molecular mimicry*. Trends Immunol, 2004. **25**(2): 61-6.
31. Schwerer, B., *Antibodies against gangliosides: a link between preceding infection and immunopathogenesis of Guillain-Barre syndrome*. Microbes Infect, 2002. **4**(3): 373-84.
32. Raphael, J.C., [*Present treatment of Guillain-Barre syndrome*]. Bull Acad Natl Med, 2004. **188**(1): p. 87-94; discussion 94-5.

33. Pritchard, J., *Novel therapeutic approaches to Guillain-Barre syndrome*. *Expert Opin Investig Drugs*, 2000. **9**(10): 2307-18.
34. Winer, J.B., *Guillain Barre syndrome*. *Mol Pathol*, 2001. **54**(6): 381-5.
35. Willison, H.J., *The immunobiology of Guillain-Barre syndromes*. *J Peripher Nerv Syst*, 2005. **10**(2): 94-112.
36. Gold, R., J.J. Archelos, and H.P. Hartung, *Mechanisms of immune regulation in the peripheral nervous system*. *Brain Pathol*, 1999. **9**(2): 343-60.
37. Gold, R., H.P. Hartung, and K.V. Toyka, *Animal models for autoimmune demyelinating disorders of the nervous system*. *Mol Med Today*, 2000. **6**(2): 88-91.
38. Hahn, A.F., *Experimental allergic neuritis (EAN) as a model for the immune-mediated demyelinating neuropathies*. *Rev Neurol (Paris)*, 1996. **152**(5): 328-32.
39. Maurer, M., K.V. Toyka, and R. Gold, *Immune mechanisms in acquired demyelinating neuropathies: lessons from animal models*. *Neuromuscul Disord*, 2002. **12**(4): 405-14.
40. Linington, C., et al., *Cell adhesion molecules of the immunoglobulin supergene family as tissue-specific autoantigens: induction of experimental allergic neuritis (EAN) by P0 protein-specific T cell lines*. *Eur J Immunol*, 1992. **22**(7): 1813-7.
41. Abromson-Leeman, S., R. Bronson, and M.E. Dorf, *Experimental autoimmune peripheral neuritis induced in BALB/c mice by myelin basic protein-specific T cell clones*. *J Exp Med*, 1995. **182**(2): 587-92.
42. Gabriel, C.M., et al., *Induction of experimental autoimmune neuritis with peripheral myelin protein-22*. *Brain*, 1998. **121**: 1895-902.
43. Weerth, S., et al., *Encephalitogenic and neuritogenic T cell responses to the myelin-associated glycoprotein (MAG) in the Lewis rat*. *J Neuroimmunol*, 1999. **95**(1-2): 157-64.
44. Heininger, K., et al., *Conduction failure and nerve conduction slowing in experimental allergic neuritis induced by P2-specific T-cell lines*. *Ann Neurol*, 1986. **19**(1): 44-9.
45. Linington, C., et al., *A permanent rat T cell line that mediates experimental allergic neuritis in the Lewis rat in vivo*. *J Immunol*, 1984. **133**(4): 1946-50.
46. Craggs, R.I., R.H. King, and P.K. Thomas, *The effect of suppression of macrophage activity on the development of experimental allergic neuritis*. *Acta Neuropathol (Berl)*, 1984. **62**(4): 316-23.
47. Zhu, J., E. Mix, and H. Link, *Cytokine production and the pathogenesis of experimental autoimmune neuritis and Guillain-Barre syndrome*. *J Neuroimmunol*, 1998. **84**(1): 40-52.

48. Bao, L., et al., *The critical role of IL-12p40 in initiating, enhancing, and perpetuating pathogenic events in murine experimental autoimmune neuritis*. Brain Pathol, 2002. **12**(4): 420-9.
49. Hughes, R.A., *Inflammatory neuropathies*. Baillieres Clin Neurol, 1994. **3**(1): 45-72.
50. Steck A, H.H.P.S.D., *Demyelinisierende Erkrankungen*. 2003: Steinkopff Darmstadt
51. Demarel, P., *Recent advances in diagnostic neuroradiology*. 2001 Berlin, Heidelberg, New York: Springer.
52. Sator, K., *Neuroradiologie*. 2001: Thieme.
53. Link, T., *Physikalische und technische Grundlagen der Radiologie*. 1998, Berlin, Heidelberg, New York: Springer.
54. Kretschmar, H., *Klinische Neuroanatomie und kraniale Bilddiagnostik*. 2003: Georg Thieme Verlag.
55. Casselman, J.W., et al., *Constructive interference in steady state-3DFT MR imaging of the inner ear and cerebellopontine angle*. AJNR Am J Neuroradiol, 1993. **14**(1): 47-57.
56. Masaryk, T.J., et al., *Three-dimensional (volume) gradient-echo imaging of the carotid bifurcation: preliminary clinical experience*. Radiology, 1989. **171**(3): 801-6.
57. Seitz, J., et al., *MR imaging of cranial nerve lesions using six different high-resolution T1- and T2(\*)-weighted 3D and 2D sequences*. Acta Radiol, 2002. **43**(4):349-53.
58. Reimer, P., Vosschenrich, R, *Contrast agents in magnetic resonance imaging*. Der Radiologe. 2004: Springer Verlag.
59. Brasch, R.C., H.J. Weinmann, and G.E. Wesbey, *Contrast-enhanced NMR imaging: animal studies using gadolinium-DTPA complex*. AJR Am J Roentgenol, 1984. **142**(3):625-30.
60. Kobozev, N., et al, *Magnetic and catalytic properties of dilute layers*. 1952.
61. Bean, C.e.a., *Magnetic granulometry and superparamagnetism*. . J Appl Phys 1956.
62. Taupitz, M., S. Schmitz, and B. Hamm, *[Superparamagnetic iron oxide particles: current state and future development]*. Rofo, 2003. **175**(6): 752-65.
63. Renshaw, P.F., et al., *Immunospecific NMR contrast agents*. Magn Reson Imaging, 1986. **4**(4): 351-7.
64. Reimer, P. and B. Tombach, *Hepatic MRI with SPIO: detection and characterization of focal liver lesions*. Eur Radiol, 1998. **8**(7): 1198-204.
65. Ferrucci, J.T. and D.D. Stark, *Iron oxide-enhanced MR imaging of the liver and spleen: review of the first 5 years*. AJR Am J Roentgenol, 1990. **155**(5): 943-50.

66. Pauser, S., et al., *Liposome-encapsulated superparamagnetic iron oxide particles as markers in an MRI-guided search for tumor-specific drug carriers*. *Anticancer Drug Des*, 1997. **12**(2): 125-35.
67. Dousset, V., et al., *In vivo macrophage activity imaging in the central nervous system detected by magnetic resonance*. *Magn Reson Med*, 1999. **41**(2): 329-33.
68. Kleinschnitz, C., et al., *In vivo monitoring of macrophage infiltration in experimental ischemic brain lesions by magnetic resonance imaging*. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2003. **23**(11): 1356-61.
69. Moroz, P., S.K. Jones, and B.N. Gray, *Tumor response to arterial embolization hyperthermia and direct injection hyperthermia in a rabbit liver tumor model*. *J Surg Oncol*, 2002. **80**(3): 149-56.
70. Weissleder, R., et al., *In vivo magnetic resonance imaging of transgene expression*. *Nat Med*, 2000. **6**(3): 351-5.
71. Bendszus, M. and G. Stoll, *Technology Insight: visualizing peripheral nerve injury using MRI*. *Nature clinical practice neurology*, 2005. **1**(1): 45-53.
72. Grant, G.A., et al., *The utility of magnetic resonance imaging in evaluating peripheral nerve disorders*. *Muscle Nerve*, 2002. **25**(3): 314-31.
73. Held, P., et al., *MRI of inner ear and facial nerve pathology using 3D MP-RAGE and 3D CISS sequences*. *Br J Radiol*, 1997. **70**(834): p. 558-66.
74. Chappell, K.E., et al., *Magic angle effects in MR neurography*. *AJNR Am J Neuroradiol*, 2004. **25**(3): 431-40.
75. Does, M.D. and R.E. Snyder, *Multiexponential T2 relaxation in degenerating peripheral nerve*. *Magn Reson Med*, 1996. **35**(2): p. 207-13.
76. Stanisiz, G.J., et al., *MR properties of rat sciatic nerve following trauma*. *Magn Reson Med*, 2001. **45**(3): 415-20.
77. Cudlip, S.A., et al., *Magnetic resonance neurography of peripheral nerve following experimental crush injury, and correlation with functional deficit*. *J Neurosurg*, 2002. **96**(4): 755-9.
78. Titelbaum, D.S., et al., *Wallerian degeneration and inflammation in rat peripheral nerve detected by in vivo MR imaging*. *AJNR Am J Neuroradiol*, 1989. **10**(4): 741-6.
79. Dailey, A.T., et al., *Magnetic resonance neurography of peripheral nerve degeneration and regeneration*. *Lancet*, 1997. **350**(9086): 1221-2.
80. Waller, A., *Experiments on the section of the glossopharyngeal and hypoglossal nerve of the frog, and observation of the alterations produced thereby in the Structure of their primitive Fibres*. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 1850(140): 423-429

81. Stoll, G. and H.W. Muller, *Nerve injury, axonal degeneration and neural regeneration: basic insights*. Brain Pathol, 1999. **9**(2): p. 313-25.
82. Bendszus, M., et al., *MRI of peripheral nerve degeneration and regeneration: correlation with electrophysiology and histology*. Exp Neurol, 2004. **188**(1): 171-7.
83. Kuntz, C.t., et al., *Magnetic resonance neurography of peripheral nerve lesions in the lower extremity*. Neurosurgery, 1996. **39**(4): 750-6; discussion 756-7.
84. Britz, G.W., et al., *Ulnar nerve entrapment at the elbow: correlation of magnetic resonance imaging, clinical, electrodiagnostic, and intraoperative findings*. Neurosurgery, 1996. **38**(3): 458-65; discussion 465.
85. Chen, F., J. Ward, and P.J. Robinson, *MR imaging of the liver and spleen: a comparison of the effects on signal intensity of two superparamagnetic iron oxide agents*. Magn Reson Imaging, 1999. **17**(4): 549-56.
86. Bruck, W., *The role of macrophages in Wallerian degeneration*. Brain Pathol, 1997. **7**(2): p. 741-52.
87. Stienekemeier, M., et al., *Heterogeneity of T-cell receptor usage in experimental autoimmune neuritis in the Lewis rat*. Brain, 1999. **122**: 523-35.
88. Hartung, H.P., et al., *The role of macrophages and eicosanoids in the pathogenesis of experimental allergic neuritis. Serial clinical, electrophysiological, biochemical and morphological observations*. Brain, 1988. **111**: 1039-59.
89. Shamsi, K., et al., *Superparamagnetic iron oxide particles (SH U 555 A): evaluation of efficacy in three doses for hepatic MR imaging*. Radiology, 1998. **206**(2): 365-71.
90. Stoll, G., et al., *Wallerian degeneration in the peripheral nervous system: participation of both Schwann cells and macrophages in myelin degradation*. J Neurocytol, 1989. **18**(5): 671-83.
91. Bendszus, M., et al., *Assessment of nerve degeneration by gadofluorine M-enhanced magnetic resonance imaging*. Ann Neurol, 2005. **57**(3): 388-95.
92. Floris, S., et al., *Blood-brain barrier permeability and monocyte infiltration in experimental allergic encephalomyelitis: a quantitative MRI study*. Brain, 2004. **127**(Pt 3): 616-27.
93. Stoll, G., et al., *Macrophages and endothelial cells express intercellular adhesion molecule-1 in immune-mediated demyelination but not in Wallerian degeneration of the rat peripheral nervous system*. Lab Invest, 1993. **68**(6): 637-44.
94. Archelos, J.J., et al., *Suppression of experimental allergic neuritis by an antibody to the intracellular adhesion molecule ICAM-1*. Brain, 1993. **116**: 1043-58.

95. Stoll, G., et al., *Presence of the terminal complement complex (C5b-9) precedes myelin degradation in immune-mediated demyelination of the rat peripheral nervous system.* Ann Neurol, 1991. **30**(2): 147-55.
96. Hafer-Macko, C.E., et al., *Immune attack on the Schwann cell surface in acute inflammatory demyelinating polyneuropathy.* Ann Neurol, 1996. **39**(5): 625-35.
97. Arbab, A.S., et al., *Characterization of biophysical and metabolic properties of cells labeled with superparamagnetic iron oxide nanoparticles and transfection agent for cellular MR imaging.* Radiology, 2003. **229**(3): 838-46.
98. Arbab, A.S., et al., *Efficient magnetic cell labeling with protamine sulfate complexed to ferumoxides for cellular MRI.* Blood, 2004. **104**(4): 1217-23.
99. Siglienti, I., et al., *Cytokine profile of iron-laden macrophages: implications for cellular magnetic resonance imaging.* J Neuroimmunol, 2006. **173**(1-2): 166-73.
100. Anzai, Y., et al., *Evaluation of neck and body metastases to nodes with ferumoxtran 10-enhanced MR imaging: phase III safety and efficacy study.* Radiology, 2003. **228**(3): 777-88.
101. Zimmer, C., et al., *MR imaging of phagocytosis in experimental gliomas.* Radiology, 1995. **197**(2): 533-8.
102. Ruehm, S.G., et al., *Ultrasmall superparamagnetic iron oxide-enhanced MR imaging of atherosclerotic plaque in hyperlipidemic rabbits.* Acad Radiol, 2002. **9 Suppl 1**: S143-4.
103. Thorstensen, K. and I. Romslo, *The transferrin receptor: its diagnostic value and its potential as therapeutic target.* Scand J Clin Lab Invest Suppl, 1993. **215**: 113-20.
104. Frank, J.A., et al., *Clinically applicable labeling of mammalian and stem cells by combining superparamagnetic iron oxides and transfection agents.* Radiology, 2003. **228**(2): 480-7.
105. Thorek, D.L., et al., *Superparamagnetic iron oxide nanoparticle probes for molecular imaging.* Ann Biomed Eng, 2006. **34**(1): 23-38.

## *Danksagung*

Mein besonderer Dank gilt Herrn Priv.-Doz. Dr. med. Martin Bendszus für die Anregung zu diesem Thema sowie für sein außerordentliches Engagement und die intensive Betreuung während der gesamten Arbeitsphase.

Bei Herrn Professor. Dr. med. L. Solymosi möchte ich mich für das wohlwollende Interesse am Zustandekommen dieser Arbeit, die wertvollen Anregungen und die Übernahme des Korreferates bedanken.

Herrn Professor. Dr. med. G. Stoll danke ich für die wertvolle Unterstützung und Zusammenarbeit.

Schließlich möchte ich ganz besonders meinen Eltern für ihre vielfältige Hilfe und Unterstützung danken!

# Curriculum Vitae

**Carmen Gudrun Wesemeier**

## Persönliche Daten:

*Geburtsdatum:* 30. September 1971  
*Geburtsort:* Salzgitter/Lebenstedt  
*Familienstand:* ledig  
*Staatsangehörigkeit:* deutsch

## Schulbildung:

*Schulbildung:* 1977-1981 Eichendorff Grundschule  
Cornberg  
1981-1990 Adam von Trott Gesamtschule  
Sontra  
*Schulabschluss:* 1990 Abitur

## Berufsausbildung und Berufstätigkeit:

*Berufsausbildung:* 1990-1993 Staatliche MTA-Schule  
Marburg  
*Berufsabschlüsse:* 1992 Med.-tech.-Laboratoriums-assistentin  
1993 Med.-tech.-Radiologieassistentin  
*Berufstätigkeit:* 01.10.-30.11.1993 Röntgenabteilung HKZ  
Rotenburg a. d. Fulda  
01.12.1993-30.04.1999 Institut für  
Röntgendiagnostik der Universität  
Würzburg  
01.06.1999-30.04.2004 Teilzeittätigkeit in  
der Röntgenabteilung der Missions-  
ärztlichen Klinik Würzburg  
*Berufsqualifikation:* 09/95–09/96; 11/97-04/99  
Leitende MTRA der Abteilung für  
Computertomographie am Institut für  
Röntgendiagnostik der Universität  
Würzburg, Direktor Professor Dr. med. D.  
Hahn

## Studium:

1999-2005 Medizinstudium an der Bayrischen Julius-Maximilians  
Universität Würzburg  
*Approbation:* 19.Mai.2005

*Dissertation:*

Experimentelle Doktorarbeit in der Abteilung für Neuroradiologie des Instituts für Röntgendiagnostik der Universität Würzburg mit dem Thema: „Eisenpartikelverstärkte Magnetresonanztomographie bei der Experimentellen-Autoimmun-Neuritis (EAN)“

Betreuer: Priv.-Doz. Dr. med. M. Bendszus,

Koreferent: Professor Dr. med. L. Solymosi

Auszüge der Dissertation wurden als Originalarbeit publiziert (Stoll G, Wesemeier C, Gold R, Solymosi L, Toyka K V, Bendszus M. In vivo monitoring of macrophage infiltration in experimental autoimmune neuritis by magnetic resonance imaging.

J.neuroimmunol. 2004;149:142-146 )

**Berufstätigkeit**

Seit 01.07.2005 Wissenschaftliche Mitarbeiterin mit ärztlichen Aufgaben an der Medizinischen Klinik und Poliklinik II der Universitätsklinik Würzburg; Direktor Professor Dr. med. H. Einsele