

UNIVERSITÄTSKLINIKUM HAMBURG-EPPENDORF

Klinik und Poliklinik für Diagnostische und Interventionelle Radiologie und Nuklearmedizin

Professor Dr. Gerhard Adam

Entwicklung eines *ex vivo* Nierenperfuisionsmodells für intermodale Angiographien und zur Darstellung von Gefäßen innerhalb eines Organs menschlicher Größe im Magnetic Particle Imaging

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg.

vorgelegt von:

Isabel Molwitz
aus Hamburg

Hamburg 2019

Angenommen von der Medizinischen Fakultät am: 02.06.2020

Veröffentlicht mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg.

Prüfungsausschuss, der Vorsitzende: Prof. Dr. Harald Ittrich

Prüfungsausschuss, zweiter Gutachter: PD Dr. Christian Krebs

INHALTSVERZEICHNIS

1. EINLEITUNG	1
1.1. Magnetic Particle Imaging	1
1.1.1. Signalgenerierung	2
1.1.1.1. Partikelmagnetisierung	2
1.1.1.2. Dreidimensionale Messungen	3
1.1.2. Ortskodierung	5
1.1.3. Erweiterung des Messvolumens	7
1.1.4. Bildrekonstruktion	7
1.1.4.1. Systemfunktionsbasierte Rekonstruktion	8
1.1.5. Partikeleigenschaften	9
1.1.6. Vorteile und Limitationen des MPI	11
1.2. Angiographische Modalitäten im Vergleich	13
1.3. Extrakorporale Organperfusion	15
1.3.1. Organkonservierung	15
1.3.2. <i>Ex vivo</i> Organperfuisionsmodelle	16
1.4. Hypothese und Zielsetzung	17
2. MATERIAL UND METHODEN	18
2.1. Versicherung der Befolgung guter wissenschaftlicher Praxis	18
2.2. Organgewinnung und Präparation	18
2.3. Perfusionssystem	21
2.4. Evaluation der <i>ex vivo</i> Perfusion	22
2.5. Versuchsaufbau und Etablierung	23
2.6. Multimodale Angiographien	25
2.6.1. DSA	25
2.6.2. MRA	25
2.6.3. MPI-Angiographien	26
2.6.4. Optimierung der MRT- und MPI-Messungen	27
2.7. Datenverarbeitung	28
2.8. Bild- und Datenanalysen	28
2.8.1. Numerische MRA- und MPI-Gefäßanalyse	28
2.8.2. Kalkulierte Eisenpartikelkonzentration	29

3.	ERGEBNISSE	31
3.1.	Publikation	31
3.2.	Organgewinnung	31
3.3.	Ex vivo Perfusion	31
3.4.	Multimodale Angiographien	32
3.4.1.	DSA	32
3.4.2.	MRA	33
3.4.3.	MPI-Angiographien.....	34
3.5.	Bild- und Datenanalysen	34
3.5.1.	Numerische MRA- und MPI-Gefäßanalyse.....	34
3.5.2.	Kalkulierte Eisenpartikelkonzentration	35
3.6.	Gefäßverschluss im MPI	36
4.	DISKUSSION	38
4.1.	Ex vivo Perfusionssystem	38
4.2.	Multimodale Angiographien	39
4.3.	Limitationen	40
4.4.	Schlussfolgerungen	41
4.5.	Wissenschaftlicher Ausblick	42
5.	ZUSAMMENFASSUNG	44
6.	ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	46
7.	ABBILDUNGS- UND TABELLENVERZEICHNIS	47
8.	LITERATURVERZEICHNIS	48
9.	DANKSAGUNG	57
10.	LEBENS LAUF	58
11.	EIDESSTÄTTLICHE ERKLÄRUNG	59

1. EINLEITUNG

1.1. Magnetic Particle Imaging

Das Magnetic Particle Imaging (MPI) ist eine von Gleich und Weizenecker entwickelte Bildgebungsmethode, die die Verteilung von Tracern aus superparamagnetischen Eisenoxidnanopartikeln (SPIONs) visualisiert (Gleich und Weizenecker 2005). Dabei tragen ausschließlich Strukturen, die SPIONs enthalten, zur Bildgewinnung bei (ebd.).

Zur Signalgenerierung wird das Messobjekt samt Tracern im MPI unterschiedlichen Magnetfeldern ausgesetzt, die zur Signalgenerierung, Ortskodierung und Erweiterung des Messvolumens dienen (ebd.). Diese werden als Anregungsfelder, Selektionsfeld und Fokusfelder bezeichnet (ebd.). Die Anregungsfelder dienen der dreidimensionalen Signalgenerierung und dem Abtasten des zu untersuchenden Volumens (ebd.). Das Selektionsfeld dient der Ortskodierung (ebd.). Die Fokusfelder erweitern die Größe des MPI-Messvolumens (Gleich et al. 2010). Zum aktuellen Zeitpunkt existieren verschiedene, ausschließlich präklinische, MPI-Scanner (Panagiotopoulos et al. 2015). Der in der vorliegenden Arbeit verwendete Scanner (Bruker BioSpin, Ettlingen, Deutschland) ist in Abbildung 1 a (S. 1) dargestellt.

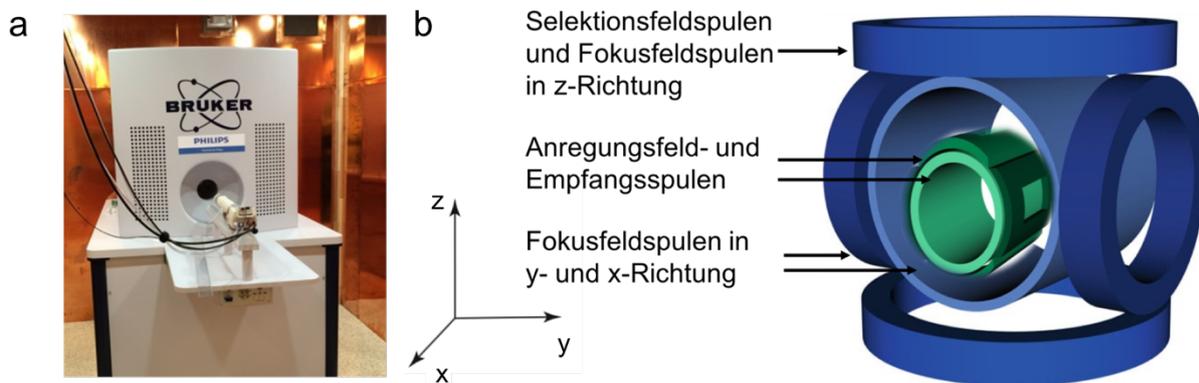


Abbildung 1 Verwendeter MPI-Scanner, Koordinatensystem der Magnetfelder und Spulenaufbau

(a) MPI-Scanner in einem mit Kupferplatten abgeschirmten Raum (*), (b) Spulenanordnung innerhalb des Scanners sowie das Koordinatensystem der resultierenden Magnetfelder (**). Das Selektionsfeld sowie das Fokusfeld in z-Richtung werden über das Spulenpaar in horizontaler Ausrichtung generiert. Die Spulenpaare zur Generierung des Fokusfeldes in y- und x-Richtung sind vertikal angeordnet. Die Anregungsfeldspulen und Empfangsspulen befinden sich zentral im Scanner.

(* Aufnahme aus der MPI-Forschungsgruppe am UKE, ** genehmigte Zusammenstellung auf Basis von Graphiken aus (Knopp und Buzug 2012, S. 85 - 87)).

1.1.1. Signalgenerierung

1.1.1.1. Partikelmagnetisierung

Die Signalgenerierung im MPI beruht auf der Magnetisierung der superparamagnetischen Eisenoxidnanopartikel durch die Anregungsfelder (Gleich und Weizenecker 2005). Superparamagnetismus beschreibt die Eigenschaft von Eindomänenkristallen eines ferromagnetischen oder ferrimagnetischen Stoffes oberhalb der Blockierungstemperatur, nach Abschalten des äußeren Magnetfeldes keine bleibende Magnetisierung, d.h. keine Remanenz, beizubehalten (Kolhatkar et al. 2013).

Bei den verwendeten Anregungsfelder handelt es sich um sinusförmige Magnetfelder (Abb. 2 b, S. 3). (Gleich und Weizenecker 2005). Durch diese werden die Partikel bei ausreichender Amplitudenhöhe magnetisch gesättigt (zur Amplitudenhöhe s. 1.1.1.2. Dreidimensionale Messungen, S. 3) (ebd.). Das Magnetisierungsverhalten der Partikel ist somit nicht-linear. Ihre Magnetisierungskurve verläuft sigmoid (Abb. 2 a, S. 3). Mathematisch wird sie bei Annahme eines vereinfachten Partikelmodels durch die Langevin-Funktion beschrieben (ebd.).

Passiert die sinusoidale Kurve der Anregungsfeldstärke die Nulllinie, ändert sich die Ausrichtung des magnetischen Moments innerhalb der Partikel (ebd.). Diese Änderung des magnetischen Moments und die konsekutive Änderung der magnetischen Flussdichte induziert, entsprechend des Faraday'schen Gesetzes, einen Strom (Faraday 1832). Dieser wird in den MPI-Empfangsspulen gemessen. Entsprechend der sinusoidalen Kurve der Anregungsfelder besteht das in den Empfangsspulen induzierte Partikelsignal aus zwei Signalspitzen pro Periode (Abb. 2 d, S. 3) (Gleich und Weizenecker 2005).

Die induzierten Signale werden über die Fourier-Transformation in den Frequenzraum übertragen (ebd.). Es ergeben sich dabei aufgrund des nicht-linearen Magnetisierungsverhaltens der Partikel für das induzierte Partikelsignal auch Signalspitzen für alle ungeraden harmonischen Frequenzen der Anregungsfeldfrequenz (Abb. 2 e, S. 3) (ebd.). Es tragen nur die ungeraden Frequenzkomponenten zum Signal bei, da die Langevin-Funktion eine punktsymmetrische Funktion ist (Knopp und Buzug 2012, S. 33).

Um das durch die Anregungsfeldfrequenz in den Empfangsspulen induzierte Signal vom induzierten Partikelsignal zu trennen, wird die Anregungsfeldfrequenz durch einen Bandstoppfilter unterdrückt und es werden ausschließlich die durch die Partikelmagnetisierung bedingten harmonischen Frequenzen weitergeleitet (ebd., S. 91). Da die Amplitude der harmonischen Frequenzen um mehrere Potenzen unterhalb der Anregungsfeldamplitude liegt, wird anschließend ein rauscharmer Verstärker verwendet (ebd., S. 90).

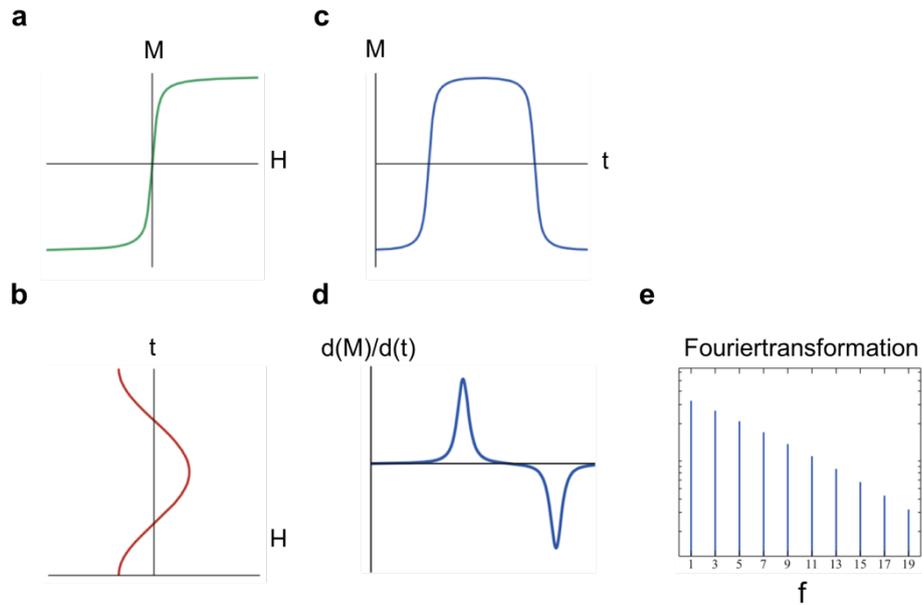


Abbildung 2 Partikelmagnetisierung und induziertes Signal

(a) Magnetisches Moment (M) der Partikel in Abhängigkeit von der Anregungsfeldstärke (H). (b) Zeitlicher Verlauf des Anregungsfeldes (H). (c) Partikelmagnetisierung über die Zeit (d) In den Empfangsspulen induziertes Partikelsignal als Ableitung der Partikelmagnetisierung über die Zeit. (e) Spektrum der ungeraden harmonischen Frequenzen des Partikelsignals nach Fourier-Transformation (genehmigte Zusammenstellung auf Basis von Graphiken aus (Knopp und Buzug 2012, S. 31, S. 35)).

Die physiologischerweise im Körper vorhandenen Eisenionen, beispielsweise als Depoteisen in Ferritin oder als Teil der Proteinkomplexe Hämoglobin und Myoglobin, sind nur wenige Pikometer groß (Ionenradius Fe^{2+} 78 pm, Fe^{3+} 65 pm) (Mortimer und Müller 2010) und somit deutlich kleiner als die ca. 20 - 30 Nanometer großen SPIONs (s. 1.1.5. Partikeleigenschaften, S. 9). Dieses Eisen verhält sich linear zum Anregungssignal und induziert somit ebenfalls nur Signale in der Basisfrequenz der Anregungsfelder (Knopp und Buzug 2012, S. 34). Daraus folgt, dass bei ausschließlicher Berücksichtigung der harmonischen Frequenzen auch sämtliche durch körpereigenes Eisen hervorgerufene Signale wegfallen. Entsprechend tragen körpereigene Strukturen im Gegensatz zur Computertomographie (CT) oder Magnetresonanztomographie (MRT) nicht zum MPI-Signal bei.

1.1.1.2. Dreidimensionale Messungen

Die beschriebene Bewegung des magnetischen Moments der Partikel durch die sinusförmige Anregung resultiert in einem eindimensionalen MPI-Signal (Gleich und Weizenecker 2005).

Um dreidimensionale MPI-Messungen durchzuführen, werden drei zueinander orthogonale Anregungsfelder verwendet, die das magnetische Moment der Partikel in x-, y- und z-Richtung bewegen (s. Abb. 1 b, S. 1) (ebd.)

Die Frequenz f^E der Anregungsfelder liegt in der Größenordnung von mehreren 10 bis über 100 kHz (Knopp und Buzug 2012, S. 34). Beim verwendeten Scanner beträgt die Frequenz in z-Richtung $f_z = 2,5 \text{ MHz}/99 = 25,25 \text{ kHz}$, in x-Richtung $f_x = 2,5 \text{ MHz}/102 = 24,51 \text{ kHz}$ und in y-Richtung $f_y = 2,5 \text{ MHz}/96 = 26,04 \text{ kHz}$. Es ergibt sich eine Bildwiederholungsrate von 46 Hz beziehungsweise eine absolute Repetitionszeit von $T^R = 21,54 \text{ ms}$. Höhere Frequenzen verbessern das Signal zu Rausch Verhältnis (signal-to-noise ratio = SNR), da das Hintergrundrauschen in den Empfangsspulen von $1/f^E$ bestimmt wird (ebd., S. 66).

Limitiert wird die maximal applizierbare Frequenz zum einen durch die Gefahr peripherer Nervenstimulation (PNS) aufgrund induzierter Wechselströme (Saritas et al. 2013, Schmale et al. 2013). Zum anderen begrenzt die spezifische Absorptionsrate (SAR) des menschlichen Körpers als Maß der Gewebserwärmung durch hochfrequente elektromagnetische Felder die maximal anwendbaren Frequenzen (ebd.). Zudem sollte die Frequenz f^E deutlich niedriger als $1/\tau$ sein, wobei τ die Relaxationszeit der Partikel bezeichnet. Ist dies der Fall folgt die Partikelmagnetisierung dem angelegten Magnetfeld ohne Hystereseeffekte und kann annäherungsweise durch die Langevin-Funktion beschrieben werden (Knopp und Buzug 2012, S. 22). Da die Anregungsfeldfrequenz nicht beliebig gesteigert werden kann, können die Messungen, um das SNR dennoch zu verbessern, mehrfach ausgeführt und gemittelt werden (ebd., S. 70). Die zeitliche Auflösung sinkt entsprechend (ebd., S. 70).

Die Amplitude der Anregungsfelder muss ausreichend hoch gewählt werden, damit die Partikel, basierend auf ihrem nicht-linearen Magnetisierungsverhalten, weitestgehend magnetische Sättigung erreichen (Knopp und Buzug 2012, S. 34). Als Sättigungsfeldstärke H_s der Anregungsfelder wird per definitionem die Feldstärke gewählt, bei der 80% der Partikel gesättigt sind (ebd., S. 17). Konkret handelt es sich um Amplituden von mehreren $mT\mu_0$ bis zu $20 mT\mu_0$ (ebd., S. 34). Die maximale Höhe der *in vivo* anwendbaren Anregungsfeldamplituden ist dabei ebenfalls sowohl durch die SAR als auch durch die Gefahr der PNS begrenzt (ebd., S. 59). Mit dem in dieser Arbeit verwendeten MPI-Scanner sind Anregungsfeldamplituden bis $14 mT\mu_0$ möglich.

Da sowohl die Anregungsfeldfrequenzen als auch die in den Empfangsspulen induzierten Signale hochfrequent sind, bestehen sowohl die Sendespulen der Anregungsfelder als auch die Empfangsspulen aus Hochfrequenzlitzen (ebd., S. 88). Dadurch werden Energieverluste durch den Skin-Effekt reduziert (ebd., S. 76 – 77). Als Skin-Effekt wird der durch hochfrequenten Wechselstrom steigende Widerstand innerhalb eines Leiters bezeichnet, der dazu führt, dass der Strom primär über die Außenfläche des Leiters fließt (Grimsehl et al. 1988, S. 175). Aufgrund der äquivalenten Anforderungen ist es möglich, dieselben

Spulenpaare sowohl für die Anregungsfelder als auch für die Empfangsspulen zu verwenden (s. Abb. 1 b, S. 1) (Knopp und Buzug 2012, S. 88).

Der gesamte durch die Anregungsfelder abgedeckte Raum wird als Field of view (FOV) bezeichnet (Gleich und Weizenecker 2005). Es existieren verschiedene dreidimensionale Trajektorien, entsprechend derer die Anregungsfelder koordiniert werden, um das komplette FOV abzudecken (Knopp et al. 2009). Im Fall des verwendeten MPI-Scanners handelt es sich um die Lissajous-Trajektorie (Abb. 3, S. 5). Die Dichte der Trajektorie sollte dabei ausreichend hoch sein, damit die örtliche Auflösung im MPI nicht durch diese begrenzt wird (ebd.). Sie wird durch die Anregungsfeldfrequenz bedingt.

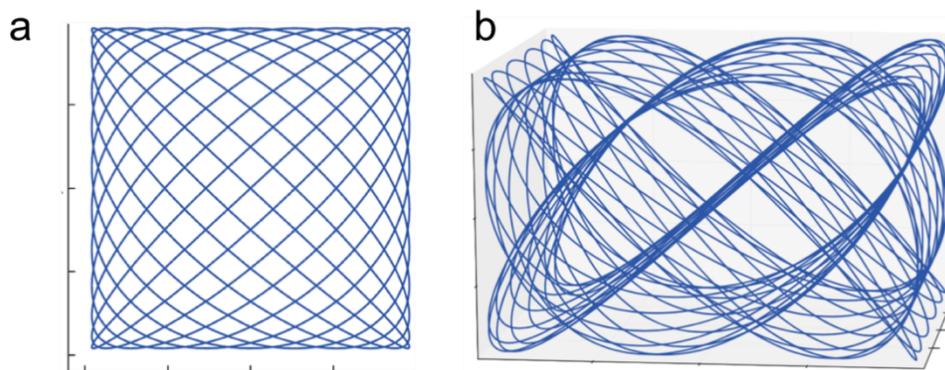


Abbildung 3 Lissajous-Trajektorie in 2-D und 3-D

Zweidimensionale (a) und dreidimensionale (b) schematische Darstellung der Lissajous-Trajektorie, entlang derer das MPI-FOV im Raum abgescannt wird. Dabei ist die tatsächliche Dichte der Trajektorie um mehrere Größenordnungen höher als der Übersichtlichkeit halber abgebildet (genehmigte Zusammenstellung basierend auf (Knopp und Buzug 2012, S. 54, S. 58)).

1.1.2. Ortskodierung

Für die Ortskodierung im MPI wird das zeitlich konstante, räumlich inhomogene Selektionsfeld verwendet (Gleich und Weizenecker 2005). Dieses kann durch Kupferspulen in Maxwell-Konfiguration erzeugt werden (Knopp und Buzug 2012, S. 79). Die innerhalb der Spulen in entgegengesetzte Richtungen fließenden Ströme erzeugen, entsprechend des Ampèreschen-Gesetzes, zwei einander entgegengesetzte Magnetfelder. Wo sich diese in ihrer Mitte kompensieren, entsteht ein Bereich ohne Magnetisierung, der sogenannte feldfreie Punkt (FFP) (Gleich und Weizenecker 2005). Ausgehend vom FFP nimmt die Feldstärke des Selektionsfeldes linear zu (s. Abb. 4, S. 6) (Knopp und Buzug 2012, S. 36). Abhängig vom Gradienten der Feldstärke sind die Partikel im Selektionsfeld mit einer gewissen Entfernung vom FFP magnetisch gesättigt. Sie reagieren nicht auf die Anregungsfeldfrequenzen (Gleich und Weizenecker 2005). Lediglich das magnetische Moment der Partikel im FFP wird durch die Anregungsfeldfrequenzen beeinflusst (ebd.). Entsprechend tragen von allen SPIONs im FOV ausschließlich die Partikel im FFP zum

Signal in den Empfangsspulen bei. Der FFP kann über eine mechanische Verschiebung des Messobjektes durch das Messvolumen bewegt werden oder wie im Fall des verwendeten MPI-Scanners elektronisch durch die Anregungsfelder (Weizenecker et al. 2009). Da die Lokalisation des FFP bekannt ist, gelingt so die Ortszuordnung des Messsignals.

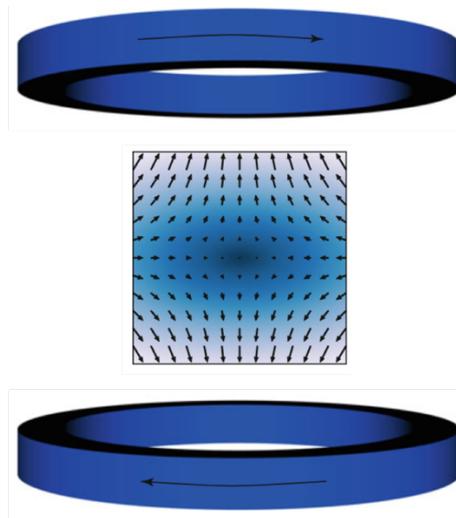


Abbildung 4 Selektionsfeldspulenpaar und FFP

Selektionsfeldspulen in Maxwell-Konfiguration. Durch die in entgegengesetzte Richtungen fließenden Ströme (Pfeile innerhalb der Spulen) entstehen zwei einander entgegengesetzte Magnetfelder. In der Mitte beider Felder entsteht ein feldfreier Punkt (FFP), in dem die Magnetfeldstärke null beträgt (Knopp und Buzug 2012, S. 82).

Wird die Feldstärke des Selektionsfeldes so gewählt, dass möglichst hohe Gradienten in alle Richtungen gewährleistet sind, so sind bereits die Partikel in einer geringen Entfernung vom FFP magnetisch gesättigt. Die räumliche Auflösung ist konsekutiv hoch. Der Gradient, mit dem die Feldstärke vom FFP ausgehend zunimmt, ist entsprechend der Maxwellgleichungen in z-Richtung (s. Abb. 1 b, S. 1) doppelt so hoch und anderen Vorzeichens wie in x- und y-Richtung (Knopp und Buzug 2012, S. 39). Die räumliche Auflösung verhält sich proportional zum Gradienten und ist in z-Richtung somit ebenfalls doppelt so hoch wie in x- und y-Richtung. Angaben über die Gradientenstärke des Selektionsfeldes beziehen sich stets auf den höchsten Gradienten, im Fall des verwendeten MPI-Scanners auf die z-Achse.

Je höher der Selektionsfeldgradient, desto kleiner ist das resultierende FOV, da zur Bewegung des FFP durch die Anregungsfelder andernfalls Anregungsfeldamplituden nötig sind, die für *in vivo* Anwendungen aufgrund der SAR und Gefahr von PNS (s. 1.1.1.2. Dreidimensionale Messungen, S. 3) nicht sicher sind. So wurden für *in vivo* Messungen MPI-Scanner mit Gradientenstärken von bis zu $7 \mu_0\text{T/m}$ konstruiert (Goodwill et al. 2013). Für *in vitro* Messungen wurden beispielhaft auch hochauflösende MPI-Scanner im Submillimeterbereich mit Gradientenstärken von bis zu $85 \mu_0\text{T/m}$ beschrieben (Vogel et al.

2015). Der für die Messungen in dieser Arbeit verwendete MPI-Scanner erzeugt maximale Gradientenstärken bis $2,5 \mu_0\text{T/m}$.

1.1.3. Erweiterung des Messvolumens

Das mit den bisher beschriebenen Magnetfeldern messbare FOV im MPI ist jedoch in allen drei Raumrichtungen auf wenige Zentimeter begrenzt (Gleich et al. 2010). Durch einen niedrigeren Selektionsfeldgradienten lässt sich das FOV vergrößern, die örtliche Auflösung sinkt jedoch konsekutiv. Die Steigerung der örtlichen Auflösung durch höhere Anregungsfeldfrequenzen ist wiederum durch die SAR begrenzt (Schmale et al. 2013). So beträgt die Größe des FOV für den in dieser Arbeit verwendeten MPI-Scanner mit dem höchsten einstellbaren Selektionsfeldgradienten von $2,5 \mu_0\text{T/m}$ und der größtmöglichen Anregungsfeldamplitude von $14 \text{ mT}\mu_0$ $11,2 \text{ mm}$ in z-Richtung und $22,4 \text{ mm}$ in x- und y-Richtung.

Um im Sinne medizinischer Anwendungen größere Volumina scannen zu können, wird das Fokusfeld verwendet (Gleich et al. 2010). Dieses dient dazu, das FOV innerhalb des zu scannenden Gesamtvolumens zu verschieben. Man spricht vom Multipatchmodus, in dem das Gesamtvolumen aus mehreren kleineren Volumina, den sogenannten Patches besteht, die nacheinander ausgelesen werden. Der durch das Fokusfeld generierte Verschiebung kann dabei jeweils nach erfolgter Ausmessung eines Patches erfolgen oder im kontinuierlichen Modus während der Ausmessung (Knopp und Buzug 2012, S. 59 – 60).

So vergrößert sich das messbare Gesamtvolumen am verwendeten MPI-Scanner bei maximal einstellbarer Fokusfeldamplitude von $42 \text{ mT}\mu_0$ in z-Richtung und $17 \text{ mT}\mu_0$ in x- und y-Richtung für eine Selektionsfeldgradientenstärke von $2,5 \mu_0\text{T/m}$ und Anregungsfeldamplitude von $14 \text{ mT}\mu_0$ auf $49,6 \times 49,6 \times 44,8 \text{ mm}^3$.

Das Fokusfeld ist ein homogenes Magnetfeld geringer Frequenz. Entsprechend spielt der Skin-Effekt keine Rolle und es ist möglich, das Spulenpaar des Selektionsfeldes auch zur Generierung des Fokusfeldes in z-Richtung zu verwenden (Knopp und Buzug 2012, S. 82). Für die Erzeugung des Fokusfeldes in y-Richtung kann wie im genutzten MPI-Scanner ein zusätzliches Spulenpaar in Helmholtzkonfiguration verwendet werden. Zur Generierung des Fokusfeldes in x-Richtung dient dort eine zylindrische Spule, welche die Anregungsfeld- und Empfangsspulen umgibt (s. Abb. 1 b, S. 1) (ebd., S. 82).

1.1.4. Bildrekonstruktion

Das MPI stellt die Konzentrationen der SPIONs im Bildvolumen dar. Um deren Verteilung aus dem MPI-Signal zu rekonstruieren, gibt es verschiedene Ansätze zur Signalrekonstruktion. So kann die Rekonstruktion durch eine auf Kalibrierungsmessungen

beruhende Systemfunktion erfolgen (Gleich und Weizenecker 2005). Zum anderen kann die Signalrekonstruktion, als x-Space Rekonstruktion bezeichnet, rein mathematisch ohne Kalibrierungsmessung durchgeführt werden (Gleich und Weizenecker 2005, Goodwill und Conolly 2010). Weiterhin gibt es Hybridmethoden, die sowohl auf vereinfachten Kalibrierungsmessungen, in einem auf MPI-Technik basierendem, nicht mehrdimensionalen magnetischen Partikelspektrometer (MPS), zur Erstellung einer Systemfunktion als auch auf Signalberechnung beruhen (Gruttner et al. 2013). Für die Koordination der Anregungsfelder über die Lissajous-Trajektorie, wie in der vorliegenden Arbeit erfolgt, wurden bislang ausschließlich systemfunktionsbasierte Ansätze umgesetzt.

1.1.4.1. Systemfunktionsbasierte Rekonstruktion

Für die Rekonstruktion mittels Systemfunktion wird eine mit Tracer gefüllte Probe mittels Roboterarm durch das Messvolumen gefahren und in jeder Position im Raum vermessen (Gleich und Weizenecker 2005). Der Versatz der Probe im Raum definiert die Größe des minimal möglichen Voxels und somit die spätere räumliche Auflösung. Der Tracer der Kalibrierungsmessung sollte äquivalent zum verwendeten Tracer in den später erfolgenden Messungen sein, da die Partikel der jeweiligen Tracer sich in ihren magnetischen Eigenschaften unterscheiden (s. 1.1.5. Partikeleigenschaften, S. 9) (Knopp und Buzug 2012, S. 124). Zudem erfolgen in regelmäßigen Abständen Leermessungen, um das Hintergrundrauschen zu quantifizieren. Die Ergebnisse der Kalibrierungsmessung an jeder Position im Raum werden nach erfolgter Fourier-Transformation in einer Systemmatrix abgelegt. In späteren Messungen kann die Tracerverteilung im Raum aus der Systemmatrix mittels linearer Gleichungssysteme rekonstruiert werden (ebd., S. 129). Da diese linearen Gleichungssysteme inkonsistent sind, es für sie also keine eindeutige Lösung gibt, wird das Signal über mehrfache Iterationen annähernd genau, z.B. mit Hilfe des Kaczmarz-Algorithmus, bestimmt (Knopp und Buzug 2012, S. 144, S. 146).

Das bildmorphologische Ergebnis der Rekonstruktion kann über mehrere Parameter reguliert werden. So besteht zur Steigerung der Signalintensität die Möglichkeit, das MPI-Signal vor Beginn der Rekonstruktion mehrfach zu mitteln. Entsprechend sinkt jedoch die zeitliche Auflösung. Abhängig vom gewünschten Rekonstruktionsergebnis wird der Schwellenwert festgelegt unter dem Frequenzkomponenten als Rauschen definiert und zur Verbesserung des SNR von der Rekonstruktion ausgeschlossen werden (Knopp und Buzug 2012, S. 144). Je niedriger der SNR-Schwellenwert gewählt wird, desto verrauschter ist das verbleibende Signal. Je höher dieser gewählt wird, desto mehr Signalinformation geht verloren. Einen ähnlichen Einfluss hat der relative Regularisierungsparameter λ , der das Signal gegenüber dem Rauschen wichtet. Wird λ zu klein gewählt, ist das Hintergrundrauschen hoch (Abb. 5,

S. 9, links) (Weizenecker et al. 2007). Mit steigendem λ wächst der Glättungseffekt. Wird λ zu groß gewählt, nimmt das Hintergrundrauschen ab, es geht jedoch auch räumliche Auflösung verloren und das Signal erscheint zunehmend verschwommen (Abb. 5, S. 9, rechts) (ebd.).

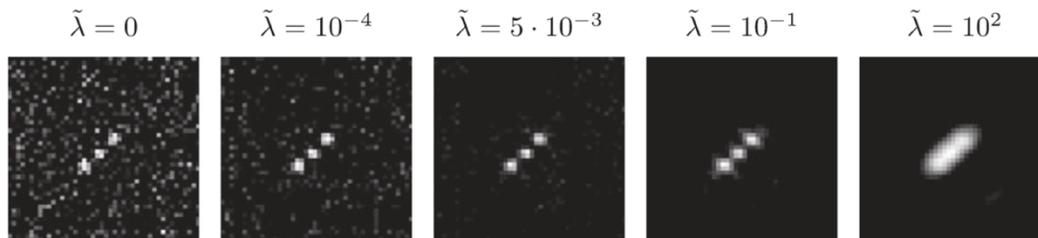


Abbildung 5 Einfluss des relativen Regularisierungsparameters λ auf das MPI-Bild

Ein niedriger relativer Regularisierungsparameter λ hat ein scharf abgegrenztes Tracersignal zur Folge. Das Hintergrundrauschen ist jedoch hoch. Mit steigendem λ (von links nach rechts) nimmt das Hintergrundrauschen ab. Das Ergebnis wird jedoch zunehmend geglättet und das Tracersignal erscheint verschwommen (Knopp et al. 2017).

Nachteil der Rekonstruktion mittels Systemfunktion ist, dass es für jede Messung mit veränderten Messparametern oder anderem Tracer einer erneuten Kalibrierungsmessung bedarf. Weiterhin ist der Zeitaufwand für die Vermessung aller Voxel innerhalb des FOV hoch. So benötigt beispielhaft eine Kalibrierungsmessung, wie für die Rekonstruktion der Messungen in der vorliegenden Arbeit erfolgt, für eine Probe von $3 \times 3 \times 2 \text{ mm}^3$ an 20 700 Positionen im Raum inklusive Leermessungen ca. 15 Stunden. Vorteilhaft ist die generische Berücksichtigung der Tracereigenschaften sowie der Feldimperfectionen des jeweiligen Scanners (Knopp und Buzug 2012, S. 124).

1.1.5. Partikeleigenschaften

Das letztlich abgebildete MPI-Signal hängt unmittelbar vom verwendeten Tracer ab. Es kann zwischen unspezifischen Tracern wie den vormals in der Leberbildgebung als Magnetresonanztomographie-Kontrastmittel zugelassenen SPIONs (z.B. Ferucarbotran, Resovist®, Bayer Schering Pharma, Berlin, Deutschland) und spezifisch für das MPI entwickelten Tracern (z.B. LS-1) (Ferguson et al. 2015) unterschieden werden. Die Entwicklung von spezifischen Tracern für das MPI hat unter anderem die Steigerung der MPI-Signalintensität gegenüber dem Hintergrundrauschen zum Ziel. Weiterhin wird gezielt an langzirkulierenden Tracern für Angiographien oder Tracern für Zellmarkierungen geforscht. Relevant hierfür sind unter anderem die Anisotropie und Monodispersität der Eisenoxidkerne, der Eisenoxidkerndurchmesser, die Partikelbeschichtung, die Partikelladung sowie der hydrodynamische Partikeldurchmesser.

Die für das MPI verwendeten Partikel sollten möglichst niedrige Anisotropie und hohe Monodispersität aufweisen. Niedrige Anisotropie resultiert in einem höheren MPI-Signal (Weizenecker et al. 2012). Monodisperse MPI-Partikel bedingen steigende Ortsauflösung und Signalintensität (Khandhar et al. 2013).

Der ideale Partikelkerndurchmesser für eine Anregung mit 25 kHz wird auf 20 bis 30 nm geschätzt (Gleich und Weizenecker 2005, Ferguson et al. 2012). Bei unspezifischen Tracern, wie Ferucarbotran, erreicht lediglich ein geringer Anteil der Eisenoxidkerne von ca. 3 % der Suspension durch Agglomeration den erforderlichen Durchmesser (Gleich und Weizenecker 2005). Eisenoxidkerne von spezifischen MPI-Tracern weisen regelhaft einen Durchmesser von 20 - 30 nm auf. Größere Partikeldurchmesser sind vorteilhaft, da das magnetische Moment proportional mit der dritten Potenz des Eisenkerndurchmessers der Partikel wächst und die Ortsauflösung kubisch mit dem Eisenkerndurchmesser zunimmt (Rahmer et al. 2009, Knopp und Buzug 2012, S. 63). Mit dem Partikeldurchmesser steigt jedoch auch die Relaxationszeit, was bei höheren Anregungsfeldfrequenzen zu Hystereseeffekten und dem Verlust des Superparamagnetismus führt (Knopp und Buzug 2012, S. 22, (Panagiotopoulos et al. 2015).

Um die Biokompatibilität der SPIONs zu gewährleisten und unerwünschte Aggregationen der Eisenoxidkerne zu vermeiden, werden diese beschichtet (Issa et al. 2013). Zur Beschichtung werden Polymerkohlenhydrate, zumeist Dextrane, oder vereinzelt auch Phospholipidmizellen verwendet (Panagiotopoulos et al. 2015). Die Art der Beschichtung steuert das biophysikalische und pharmokinetische Verhalten der SPIONs. So wird an funktionalisierten SPIONs, beispielsweise für die MPI-Bildgebung von Tumorzellen, geforscht, die spezifische Bindungsstellen für den darzustellenden Zelltyp aufweisen (Arami et al. 2017).

Einhergehend mit der Partikelbeschichtung ist die Ladung der Partikel. Diese hat Einfluss auf die Pharmakokinetik. So zirkulieren neutrale, z.B. mit Dextranen beschichtete Partikel am längsten. Positiv geladene Partikel hingegen werden rascher als neutral oder negativ geladene Partikel vom mononukleär-phagozytären System und retikuloendothelialen System (RES) phagozytiert und abgebaut (Albanese et al. 2012).

Aus dem Durchmesser der Eisenoxidkerne, der Art der Beschichtung und der Hydratationshülle in wässriger Lösung ergibt sich der hydrodynamische Partikeldurchmesser, der die Pharmakokinetik maßgeblich beeinflusst. Partikel mit hydrodynamischem Durchmesser von 15 – 50 nm zirkulieren am längsten im Blut, da sie oberhalb der glomerulären Filtrationsschwelle und unterhalb der Phagozytoseschwelle des mononukleär-phagozytären Systems und des RES in Leber, Milz und Knochenmark liegen (Sarin 2010).

1.1.6. Vorteile und Limitationen des MPI

Vorteilhaft am MPI ist die abhängig vom Scannertyp hohe zeitliche Auflösung, die eine Akquise von bis zu 46 Bildvolumen pro Sekunde erlaubt (Panagiotopoulos et al. 2015). Sie steigt mit zunehmender Anregungsfeldfrequenz. Selbst nach mehrfachen Mittelungen der Rohdaten zur Steigerung der Signalintensität ermöglicht das MPI somit die Darstellung tracerhaltiger rasch bewegter Volumina wie des Blutflusses in Echtzeit (Knopp und Weber 2015). Entsprechend ist das MPI eine vielversprechende Technik für Angiographien.

Unterschiedliche Tracer können im MPI anhand ihrer Phasen und Amplituden im Spektrum der harmonischen Frequenzen voneinander getrennt und farblich kodiert abgebildet werden (Rauwerdink et al. 2010, Rahmer et al. 2015). Auch können dieselben Tracer abhängig davon, ob diese sich frei beweglich in einer Suspension oder in einem Feststoff gebunden befinden, über ihre unterschiedliche Frequenzspektren voneinander differenziert werden. Dies erlaubt die getrennte Darstellung von mit SPION markierten angiographischen Instrumenten und SPION-haltigem Blut, wie in Phantommodellen demonstriert wurde (Salamon et al. 2016). Diese Technik wird als Spektrales MPI bezeichnet.

Ebenfalls vorteilhaft am MPI ist, dass ausschließlich die eingebrachten Tracer zum Signal beitragen. Das MPI-Signal besteht entsprechend unabhängig von der Objektiefe in gleichbleibender Intensität. Für die unspezifischen, auf beschichteten Eisenoxidkernen beruhenden Tracer, wie Ferucarbotran, das bereits für die klinische Bildgebung in der MRT verwendet wurde, sind ferner bislang keine schweren allergischen Reaktionen (Onishi et al. 2009), Kontrastmittelnephropathien (ebd.) oder Fälle von nephrogener systemischer Fibrose berichtet worden. Hypothetisch kann somit ein gegenüber den iod- oder gadoliniumhaltigen Kontrastmitteln risikoärmeres Nebenwirkungsprofil auch der MPI spezifischen, ebenfalls auf Eisenoxidkernen beruhenden, Tracern angenommen werden.

Ein weiterer Vorteil des MPI ist die potentiell hohe Sensitivität der Technik. Entsprechend theoretischer Berechnungen sollte die Detektion von bis zu 20 nmol/l möglich sein (Gleich und Weizenecker 2005). Zum Vergleich, die empfohlene Dosierung von Ferucarbotran in unverdünnter Konzentration von $c(\text{Fe}) = 0,5 \text{ mmol/ml}$ lag für MRT-Untersuchungen von Erwachsenen ab 60 kg bei 1,4 ml (Bayer Schering Pharma 2007). Dies entspricht bezogen auf 5 l Blutvolumen ca. einer Konzentration von $c(\text{Fe}) = 35 \text{ } \mu\text{mol/l}$. Aktuell gelingt es, bei Verwendung einer zusätzlichen Gradiometerspule, im MPI Eisenkonzentrationen von bis zu 156 $\mu\text{g/l}$ beziehungsweise 2,8 $\mu\text{mol/l}$ *in vitro* zu detektieren (Graeser et al. 2017). *In vivo* liegt die Detektionsgrenze eines bewegten Bolus im Blut, eine zusätzliche Gradiometerspule vorausgesetzt, bei 0,514 $\mu\text{g}/10\mu\text{l}$ entsprechend 920 $\mu\text{mol/l}$ im Mausexperiment (Graeser et al. 2017). Zur Steigerung der Sensitivität kann zudem auf Kosten der Messzeit aus mehrfachen Einzelmessungen das Mittel bestimmt werden, die

Selektionsfeldgradientenstärke gesenkt oder die Anregungsfeldfrequenz erhöht werden (Knopp und Buzug 2012, S. 70).

Ebenfalls vorteilhaft am MPI ist die Proportionalität der gemessenen Signalamplitude zur Eisenmenge der SPIONs, da dies potenziell die quantitative Bestimmung der Eisenkonzentration im FOV ermöglicht (Paysen et al. 2017). Voraussetzung ist die Durchführung einer initialen Kalibrierungsmessung mit bekannter Eisenkonzentration und die Verwendung derselben Magnetfeldstärken sowie Anregungsfeldfrequenzen wie in den darauffolgenden Messungen zur Erzeugung von Bilddaten. Überdies sollten keine erheblichen Signalintensitätsdifferenzen in unmittelbarer Nachbarschaft vorliegen, da schwächere MPI-Signale in Gegenwart stärkerer MPI-Signale während der Rekonstruktion benachteiligt werden können (Kaul et al. 2019).

Als gewebsstiefenunabhängige, sensitive und potenziell quantitative Bildgebungsmethode kann das MPI auch für Zelltracking und die Bestimmung der Zellanzahl von mit Tracern markierten Stammzellen dienen (Zheng et al. 2016, Arami et al. 2017, Nejadnik et al. 2018). Dies ist für die Stammzelltherapieforschung und das Monitoring von Stammzelltherapien relevant, da die Therapiewirkung davon abhängt, dass eine möglichst hohe Anzahl an Stammzellen ihren Wirkungsort erreicht. Auch Tumore und Metastasen könnten zukünftig bei weiterer Steigerung der *in vivo* Sensitivität über an maligne Zellen bindende Tracer im MPI tiefenunabhängig detektiert werden. Dies wurde im Tiermodell bereits beispielhaft demonstriert (Arami et al. 2017). Des Weiteren bietet die auf Magnetismus beruhende Signalgenerierung den Vorteil, dass weder Messobjekte noch Anwender Röntgen- oder radioaktiven Strahlen ausgesetzt sind.

Eine für die medizinische Bildgebung relevante Limitation im MPI ist aktuell die räumliche Auflösung. Theoretisch sollte diese für einen Partikeldurchmesser von 30 nm und eine Gradientenstärke von $6 \mu_0\text{T/m}$ unter 0,5 mm liegen (Gleich und Weizenecker 2005, Knopp und Buzug 2012, S. 63). Sie ist abhängig vom Scannertyp sowie den verwendeten Tracern und wächst proportional mit dem Selektionsfeldgradienten und kubisch mit dem Partikeldurchmesser (ebd., S. 63). Die tatsächliche gemessene Auflösung für den in der vorliegenden Arbeit verwendeten MPI-Scanner beträgt für eine Selektionsfeldgradientenstärke von $1,5 \mu_0\text{T/m}$, eine Anregungsfeldamplitude von $14 \text{ mT}\mu_0$ und mit Ferucarbotran als Tracer jedoch maximal 2 mm (Szwargulski und Knopp 2017).

Eine weitere Limitation des MPI ist die mit dem Selektionsfeldgradienten zusammenhängende Größe des FOV (Gleich et al. 2010). Wird der Selektionsfeldgradient beispielsweise zur Steigerung der räumlichen Auflösung erhöht, verkleinert sich das FOV konsekutiv (s. 1.1.2. Ortskodierung, S. 5). Die Verwendung von Fokusfeldern zur

Vergrößerung des FOV resultiert in niedrigerer zeitlicher Auflösung (s. 1.1.3. Erweiterung des Messvolumens, S. 7).

Unabhängig vom FOV ist die Größe der mit dem MPI vermessbaren Objekte bedingt durch den Scanneraufbau und die Spulenanordnung der aktuell verfügbaren Geräte limitiert (Panagiotopoulos et al. 2015). Wird wie in der vorliegenden Arbeit ein MPI-Scanner mit Bohrkern verwendet, begrenzt der Bohrkern Durchmesser, der durch die Spulenanordnung in y- und z-Ebene entsteht, die Größe der Messobjekte (s. Abb. 1, S. 1). So betrug der Bohrkern Durchmesser im verwendeten MPI-Scanner 12 cm. Entsprechend ist innerhalb eines solchen Bohrkerns lediglich die Lagerung von Kleintieren möglich. Es existieren auch MPI-Scanner, bei denen sämtliche Spulen in z-Ebene im Raum angeordnet sind und die Größe des Messobjektes entsprechend in x- und y-Richtung beliebig groß gewählt werden kann (Hong et al. 2014). In z-Ebene beträgt der Abstand zwischen den Spulen ein solchen MPI-Scanners jedoch lediglich 2 mm (ebd.). Eine weitere Variante, die Single-sided MPI-Scanner, bei denen die Applikation sämtlicher Magnetfelder von einer Seite aus erfolgt, sind wiederum durch rasch abnehmende örtliche Auflösung mit zunehmendem Abstand von den Magnetfeldspulen charakterisiert (Panagiotopoulos et al. 2015, Sattel et al. 2009). Sie sind somit ebenfalls nicht zum Scannen von Objekten größerer Tiefe jenseits des Kleintiermaßstabes geeignet.

Darüber hinaus sind weltweit keine spezifisch für das MPI entwickelten und für die humane Anwendung zugelassenen Tracer vorhanden. Da bisher nur präklinische, ebenfalls nicht für humane Messungen zugelassene, MPI-Scanner existieren, ist dies jedoch als nachrangige Limitation zu werten. Eine eingeschränkte Beurteilbarkeit des Leberparenchyms aufgrund hepatisch eingelagerten Eisens wie bei repetitiven Messungen mit Ferucarbotran aus der MRT-Bildgebung bekannt, stellt für das MPI keine inhärente Einschränkung dar. So existieren unter den spezifisch für das MPI entwickelten Tracern auch solche, die abhängig von ihrer Konfiguration, Größe und Ladung primär in anderen Organen wie der Milz phagozytiert werden und im langfristigen Verlauf nach 70 Tagen im Tierexperiment nur noch dort nachweisbar waren (Keselman et al. 2017). Bei repetitiven Messungen mit SPIONs ist jedoch von einem insgesamt erhöhtem Anteil an im Körper eingelagertem Eisen auszugehen, welches im langfristigen Verlauf organotoxisch und neoplastisch wirken kann (Knekt et al. 1994, Kohgo et al. 2008).

1.2. Angiographische Modalitäten im Vergleich

Die Digitale Subtraktionsangiographie (DSA) gilt aufgrund ihrer hohen zeitlichen Auflösung von bis zu 50 Bildern pro Sekunde (Toennies et al. 1997) und ihrer räumlichen Auflösung von weniger als 0,1 mm (Figueiredo et al. 2012) weiterhin als Goldstandard. Jedoch werden mit der DSA in der Regel nur zweidimensionale Projektionsradiographien generiert. Die

Erzeugung von 3-D oder 4-D Rotationsangiographien ist möglich, da hierfür jedoch der Flachdetektor vorübergehend beziehungsweise kontinuierlich um den Patienten rotiert, ist der Zugang zum Patienten währenddessen eingeschränkt (Mistretta et al. 2010, Sandoval-Garcia et al. 2016). Entsprechend wird insbesondere die 4-D Rotationsangiographie primär diagnostisch und nicht während der Durchführung einer Intervention genutzt.

Die CT-Angiographie (CTA) als Schnittbildgebung erreicht abhängig von der verwendeten Kollimatorgröße in konventionellen CT-Scannern örtliche Auflösungen von bis zu 0,5 mm (Klingebiel et al. 2008). Für ultrahochauflösende humane CT-Scanner ist eine örtliche Auflösung von bis zu 0,2 mm beschrieben (Motoyama et al. 2018). Im Gegensatz zur DSA sind mit der CTA jedoch keine dynamischen Aufnahmen während der Durchführung einer Intervention möglich. Beide Techniken setzen den Patienten Röntgenstrahlen sowie potenziell allergenen iodhaltigen Kontrastmitteln aus (Bottinor et al. 2013).

Die MR-Angiographie (MRA) als ebenfalls dreidimensionale und überdies strahlenfreie Alternative besitzt mit einer Ortsauflösung von aktuell unter 1 mm ebenfalls einen festen klinischen Stellenwert (Grist et al. 2012). Mittels MRA sind beispielsweise über Time-of-Flight-Sequenzen, Phasenkontrast-Angiographien oder arterielles Spin Labeling zudem auch kontrastmittelfreie Angiographien möglich (Wheaton und Miyazaki 2012). Die Bildqualität unterliegt jedoch Einschränkungen durch Bewegungsartefakte, insbesondere für Sequenzen hoher örtlicher Auflösung und langer Akquisitionszeiten (Havsteen et al. 2017).

Wie erläutert sind MPI-Angiographien, abhängig vom Scannertyp und den entsprechend einstellbaren Magnetfeldparametern, mit hoher zeitlicher Auflösung möglich (s. 1.1.6. Vorteile und Limitationen des MPI, S. 11). Da die MPI Signalstärke proportional zur Eisenmenge der SPIONs ist, erlaubt die MPI-Angiographie neben der Darstellung der Tracerbiodistribution potentiell auch die Bestimmung der Tracermenge in der jeweiligen Messposition. Bei lang zirkulierenden Tracern kann über die MPI-Signalintensität somit auf die Menge des Blutvolumens am betrachteten Ort geschlossen werden. Dabei kann die Perfusionsfraktion pro Voxel als Maß der Durchblutungsintensität verwendet werden (Kaul et al. 2017). Entsprechend könnte das MPI zukünftig für Aussagen über die Durchblutungscharakteristik von Tumoren und zur Identifikation von Stenosen verwendet werden (Knopp et al. 2017). Bisherige Studien zur MPI-Angiographie demonstrierten unter anderem bereits die Stenosendarstellung und -dilatation am Plastikphantom (Herz et al. 2018). Im murinen Modell wurden überdies auch ischämische Infarkte einer kompletten Hirnhemisphäre (Ludewig et al. 2017) sowie die Lungendurchblutung (Zhou et al. 2017) mittels MPI-Angiographie erfolgreich abgebildet.

Wie beschrieben sind MPI-Angiographien jedoch noch durch die limitierte örtliche Auflösung eingeschränkt (s. 1.1.6. Vorteile und Limitationen des MPI, S. 11). Dies gilt insbesondere bei der Verwendung von zeitlich hochauflösenden MPI-Scannern, da für die Erzeugung von

Echtzeitangiographien weniger Mittelungen der Messergebnisse, durchgeführt werden können, wodurch das SNR schlechter ist (Knopp und Buzug 2012, S. 70). Weil es sich überdies bei den zeitlich hochauflösenden, für Angiographien geeigneten MPI-Scannern ausschließlich um Kleintierscanner handelt, wurden aufgrund des geringen Organmaßstabs und der eingeschränkten Ortsauflösung, bisher noch keine einzelnen Gefäße innerhalb eines Organs mittels MPI-Angiographie dargestellt. Neben den Kleintierscannern ist kürzlich die Vorstellung eines MPI-Scannerprototyps zur humanen Kopfbildgebung erfolgt (Graeser et al. 2019). Erste veröffentlichte Messergebnisse dieses Scanners erfolgten am *in vitro* Modell (ebd.). Entsprechend liegen zum aktuellen Zeitpunkt auch keine Messergebnisse für MPI-Angiographien an Organen menschlichen Maßstabes vor.

1.3. Extrakorporale Organperfusion

1.3.1. Organkonservierung

Für die Organkonservierung zum Zweck der extrakorporalen Organperfusion ist die Dauer der Ischämie entscheidend. Es wird unterschieden in warme und kalte Ischämiezeit. Die warme Ischämiezeit bezeichnet den Zeitraum zwischen Kreislaufstillstand und Kühlung des Organes auf 4° Grad durch Spülung mit kalter Präservationslösung. Die kalte Ischämiezeit beschreibt den Zeitraum ab Spülung und Lagerung des Organes in kalter Präservationslösung bis zum erneuten Erwärmen des Organes auf 37° Grad (Halazun et al. 2007).

Die biochemischen Konsequenzen einer Organischämie sind durch den vom Sauerstoff abhängigen Prozess der Zellatmung bedingt. Ohne Zellatmung kann die Produktion des Energiesubstrats Adenosintriphosphat (ATP) nicht aufrechterhalten werden und das in der Zelle verfügbare ATP wird innerhalb von Sekunden über Adenosindiphosphat zu Adenosinmonophosphat (AMP) verstoffwechselt. Der Abbau des im AMP enthaltenen Adenosins erfolgt unter Bildung von Superoxidradikalen und Wasserstoffperoxid zu Xanthin (Löffler et al. 1988, S. 516). Diese Reaktion wird durch vermehrte Aktivierung der Xanthinoxidase als Schlüsselenzym unter anaeroben Bedingungen zusätzlich begünstigt (Schmidt R.F. et al. 2010, S. 775). Die reaktiven Sauerstoffspezies führen über Kettenreaktionen mit den Zellmembranphospholipiden zur Membrandestabilisierung (ebd.) und zur Zytokinausschüttung (Closa und Folch-Puy 2004). Die Gefäßpermeabilität steigt, was ein Gewebsödem bedingt. Zudem wird die Ödembildung über den Anstieg der physiologisch niedrigen intrazellulären Natriumkonzentration durch unter ATP-Mangel inaktive, energieabhängige Transporter weiter begünstigt (Hick et al. 2013, S. 217). Das entstehende Ödem verursacht einen steigenden Perfusionswiderstand (Claesson-Welsh 2015).

Zur Organkonservierung kann der Organmetabolismus durch Spülung der Organe mit 4° Grad kalter Perfusionslösung verlangsamt werden. Die Geschwindigkeit der Temperaturabsenkung im Organ korreliert dabei mit der Rate des Zellüberlebens (Savioz et al. 1999). Gekühlte Organe können anschließend kalt statisch gelagert oder kontinuierlich maschinell kalt perfundiert werden (Guibert et al. 2011). So gelingt der Organerhalt beispielsweise von Transplantatnieren für 24 – 36 h (Guibert et al. 2011). Nach aktueller Empfehlung für die Transplantationsmedizin gelten Histidin-Tryptophan-Ketoglutarat-Lösung (HTK-Lösung) und University of Wisconsin-Lösung (UW-Lösung) als gleichwertig für den Erhalt von Leichenspenderorganen (Rodriguez Faba et al. 2018). HTK-Lösung enthält Histidin als Puffer, Tryptophan zur Stabilisierung der Zellmembrane und Ketoglutarat als Energiesubstrat (Agarwal et al. 2006, Franz Köhler Chemie GmbH 2014). UW-Lösung enthält Raffinose-Pentahydrat und Laktobionsäure als osmotisch aktive Substanzen, um zelluläre Schwellungen zu verhindern und Adenosin als Energielieferant (Bridge to Life Ltd.). Für die Spülung von Lebendspenderorganen bei unmittelbarer Retransplantation werden kristalloide Lösungen als ausreichend gewertet (Rodriguez Faba et al. 2018).

1.3.2. *Ex vivo* Organperfusionsmodelle

Ex vivo Organperfusionsmodelle variieren stark entsprechend ihres Zweckes. So sind die Organe in der Transplantationsmedizin und für zugehörige Forschungsprojekte in ihrer vollständigen Funktionalität zu erhalten. Für radiologische Forschungszwecke wird der Fokus hingegen auf die Organperfusion gelegt. Der Zellmetabolismus ist nur insoweit relevant, als dass Gewebsödeme mit konsekutiver Perfusionseinschränkung vermieden werden. Porcine Organe bieten sich aufgrund der den humanen ähnelnden Maßstäben und der vergleichbaren Morphologie an. So wurden *ex vivo* Organperfusionsmodelle für radiologische Forschungszwecke bereits für porcine Herzen (Pelgrim et al. 2017), Lungen (Renne et al. 2018), Lebern (Thompson et al. 2011) und Nieren (Buchs et al. 2014) beschrieben. Verwendet wurden sowohl Organe von Versuchs- (Buchs et al. 2014, Renne et al. 2018, Thompson et al. 2011) als auch von Schlachthoftieren (Pelgrim et al. 2017, Haberland et al. 2009). Vor Schlachtung oder während der Organkonservierung erfolgte in einigen Studien die Injektion von Heparin zur Vermeidung von Thrombosen (Thompson et al. 2011, Pelgrim et al. 2015, Buchs et al. 2014). Blutreste wurden, soweit beschrieben, mittels physiologischer Kochsalzlösung (Thompson et al. 2011, Haberland et al. 2009, Buchs et al. 2014) oder Perfusionslösung aus der Transplantationsmedizin (Renne et al. 2018, Pelgrim et al. 2015) ausgespült. Nebst einer Studie, in der Organe nach einer warmen Ischämiezeit von bis zu 90 min verwendet wurden (Buchs et al. 2014), erfolgte soweit angegeben die Verwendung von kalt statisch gelagerten Organen (Haberland et al. 2009, Pelgrim et al.

2015). In einigen Studien wurden die Organe mit Formalin fixiert (Haberland et al. 2009, Thompson et al. 2011) und im Anschluss mit destilliertem Wasser (Haberland et al. 2009) oder Kochsalzlösung (Thompson et al. 2011) perfundiert. Nicht fixierte Organe wurden mit Perfusionslösungen aus der Transplantationsmedizin (Buchs et al. 2014), allogenen Blut (Pelgrim et al. 2015) oder einer Mischung aus beidem (Renne et al. 2018, Pelgrim et al. 2017) perfundiert. Unter den beschriebenen Modellen finden sich sowohl für die CT (Haberland et al. 2009, Thompson et al. 2011, Renne et al. 2018, Pelgrim et al. 2015) als auch für die MRT (Buchs et al. 2014, Renne et al. 2018) kompatible Modelle. Teils beschränken sich die Publikationen auf die Etablierung von Modellen, die für weiterführende radiologische Studien geeignet wären (Haberland et al. 2009, Thompson et al. 2011, Buchs et al. 2014), teils wurden die entwickelten Modelle auch zur Eruiierung konkreter radiologischer Forschungshypothesen verwendet (Pelgrim et al. 2017, Renne et al. 2018). So konnten an porcinen *ex vivo* Herzen vom Stenosegrad der Coronarien abhängige Parameter der myokardialen Perfusionsbildgebung erhoben werden (Pelgrim et al. 2017) und die Perfusion sowie Ventilation in *ex vivo* Lungen nach Aspiration eruiert werden (Renne et al. 2018).

1.4. Hypothese und Zielsetzung

Als Zielsetzung der vorliegenden Arbeit wurde die Entwicklung eines multimodal kompatiblen *ex vivo* Perfusionssystems für porcine Nieren definiert. Hiermit sollte die Hypothese geprüft werden, dass mit den verfügbaren MPI-Kleintierscannern trotz limitierter örtlicher Auflösung die Darstellung einzelner Gefäße innerhalb von Organen menschlichen Maßstabes möglich ist. Zur Validierung der Messergebnisse und Statuserhebung von MPI-Angiographien in Organen menschlichen Maßstabes sollten die generierten MPI-Daten mit denen einer etablierten dreidimensionalen angiographischen Bildgebungstechnik, der kontrastmittelgestützten MRA, verglichen werden.

Das *ex vivo* Perfusionssystem sollte für porcine Nieren ausgelegt sein, da diese im Maßstab mit humanen Nieren vergleichbar sind und über eine stark ausgeprägte Gefäßversorgung verfügen (Dalal und Sehdev 2019). Neben dem MPI sollte das *ex vivo* Perfusionssystem auch zur MRT und zur DSA kompatibel sein. Hierbei sollte die DSA als angiographische Technik mit der höchsten Ortsauflösung dazu verwendet werden, detaillierte Informationen über den Zustand des Gefäßsystems der porcinen Nieren unter der *ex vivo* Perfusion zu erhalten. So sollte die Funktionalität des entwickelten Perfusionssystems eingeschätzt werden. Zur weiteren Analyse und Validierung der dreidimensionalen MPI-Angiographien sollte die MRA als ebenfalls dreidimensionale Technik genutzt werden.

2. MATERIAL UND METHODEN

2.1. Versicherung der Befolgung guter wissenschaftlicher Praxis

Im Rahmen der gesamten Arbeit wurde entsprechend des Memorandums zur „Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ der Deutschen Forschungsgemeinschaft vorgegangen (Forschungsgemeinschaft 2013).

Es wird darauf verwiesen, dass Auszüge der im Folgenden vorgestellten Versuche, Messungen und Ergebnisse bereits publiziert sind (Molwitz et al. 2019).

2.2. Organgewinnung und Präparation

Es wurden insgesamt $n = 44$ Nieren einer Hybridkreuzung aus Deutscher Landrasse und Deutschem Edelschwein verwendet. Die Tiere stammten aus dem Schlacht- und Zerlegebetrieb Fülcher Fleisch KG. Das Schlachtgewicht lag zwischen 40 kg und 50 kg. Der Ablauf der Organgewinnung und Präparation ist in Abbildung 6 (S. 20) dargestellt.

Aufgrund von Hygienevorschriften wurde das Retroperitoneum mit Teilen der peritonealen Organe und Gefäße en bloc entnommen. Die Nieren wurden im Retroperitoneum aufgesucht und stumpf aus der Capsula adiposa renis freipräpariert. Es erfolgte die Präparation der V. und A. renalis auf ganzer Länge. Die V. testicularis beziehungsweise V. ovarica wurden an der Einmündung zur V. renalis ligiert. Die A. und V. renalis wurden unmittelbar angrenzend an der Aorta und Vena cava mit chirurgischen Klemmen und Scheren abgesetzt. Nach Abklemmen der Gefäße wurden die Nieren samt Ureteren entnommen.

Als Exklusionskriterien definiert waren: sichtbare Pathologien wie multiple Zysten, Organe mit akzessorischen Polararterien sowie Organe, deren A. und V. renalis weniger als 2 cm von der Aorta abdominalis bis zur ersten Gefäßaufzweigung maßen. Dies stellte sicher, dass der Anschluss der Gefäße an das Perfusionssystem möglich war.

Die entnommenen Nieren wurden zunächst arteriell kanüliert. Verwendet wurden Heidelberger Verlängerungsschläuche (B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) eines Innendurchmessers von 1,2 mm, deren Luer-Lock einseitig abgetrennt wurde. Initial erfolgte zur Thromboseprophylaxe die Injektion von 2 500 IE Heparin (Rotexmedica GmbH Arzneimittelwerk, Trittau, Deutschland). Im Anschluss wurden die Organe mit 250 – 500 ml auf Eis gekühlter physiologischer Kochsalzlösung (4 – 8 °C) gespült, bis nur noch klare Flüssigkeit aus der Vene austrat. Zur schonenden Perfusion wurde der niedrigste ausreichende Spüldruck gewählt. Dieser wurde mittels Druckmanschette (Smith Medical, Dublin, Ohio, USA) erzeugt. Die warme Ischämiezeit vom Zeitpunkt der Tötung bis zur

Spülung mit 4 - 8° Grad kalter physiologischer Kochsalzlösung lag im Durchschnitt bei 30 min. Das initiale Gewicht sämtlicher Organe wurde erfasst, um ein möglicherweise unter den Versuchen entstehendes Gewebsödem zu objektivieren. Im Anschluss wurden die Organe in einen Gefrierbeutel (EDEKA Zentrale AG & Co. KG, Hamburg, Deutschland) gegeben, der mit 4 - 8° kalter physiologischer Kochsalzlösung gefüllt war und sich in einem zweiten gleichermaßen befüllten Gefrierbeutel befand. Die Lagerung und der Transport erfolgte in einer mit Eis gefüllten Styroporbox. Die beiden mit physiologischer Kochsalzlösung gefüllten Beutel, die die Organe umschlossen, verhinderten einen direkten Kontakt der Organe zum Eis und konsekutive Erfrierungsschäden.

Im UKE wurden die V. renalis und der Ureter der Organe kanüliert. Verwendet wurden ebenfalls die Infusionsschläuche eines Innendurchmessers von 1,2 mm. Der venös einliegende Anteil wurde mehrfach perforiert, um den Abfluss zu erleichtern und den intravenösen Druck zu senken.

Um die Bilddaten später miteinander koregistrieren und fusionieren zu können, wurden an allen Organen, die in der MRT und im MPI dargestellt wurden, drei in beiden Techniken sichtbare Markierungen extern angebracht. Diese Markierungen bestanden aus Glaskapillaren (Hilgenberg GmbH, Malsfeld, Deutschland) eines Innendurchmessers von 2,1 mm, die mit Ferucarbotran einer Konzentration von $c(\text{Fe}) = 25 \text{ mmol/l}$ gefüllt waren. Zur Steigerung des MRT-Kontrastes wurden die Glaskapillaren zusätzlich mit nassem Papier umwickelt und in Eppendorfgefäßen (Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland) eines Volumens von $V = 1,5 \text{ ml}$ mittels Histoacrylkleber (B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) auf den Organen befestigt. Die Fixierung der ersten Markierung erfolgte 2,5 cm vom lateralen Rand der Nieren auf Höhe des arteriellen Eintrittes in das Organ. Die zweite Markierung wurde horizontal zu diesem befestigt. Die dritte Markierung wurde auf der anderen Seite des Organs um die Breite eines Eppendorfgefäßes versetzt zur ersten Markierung parallel befestigt (s. Abb. 6, S. 20).

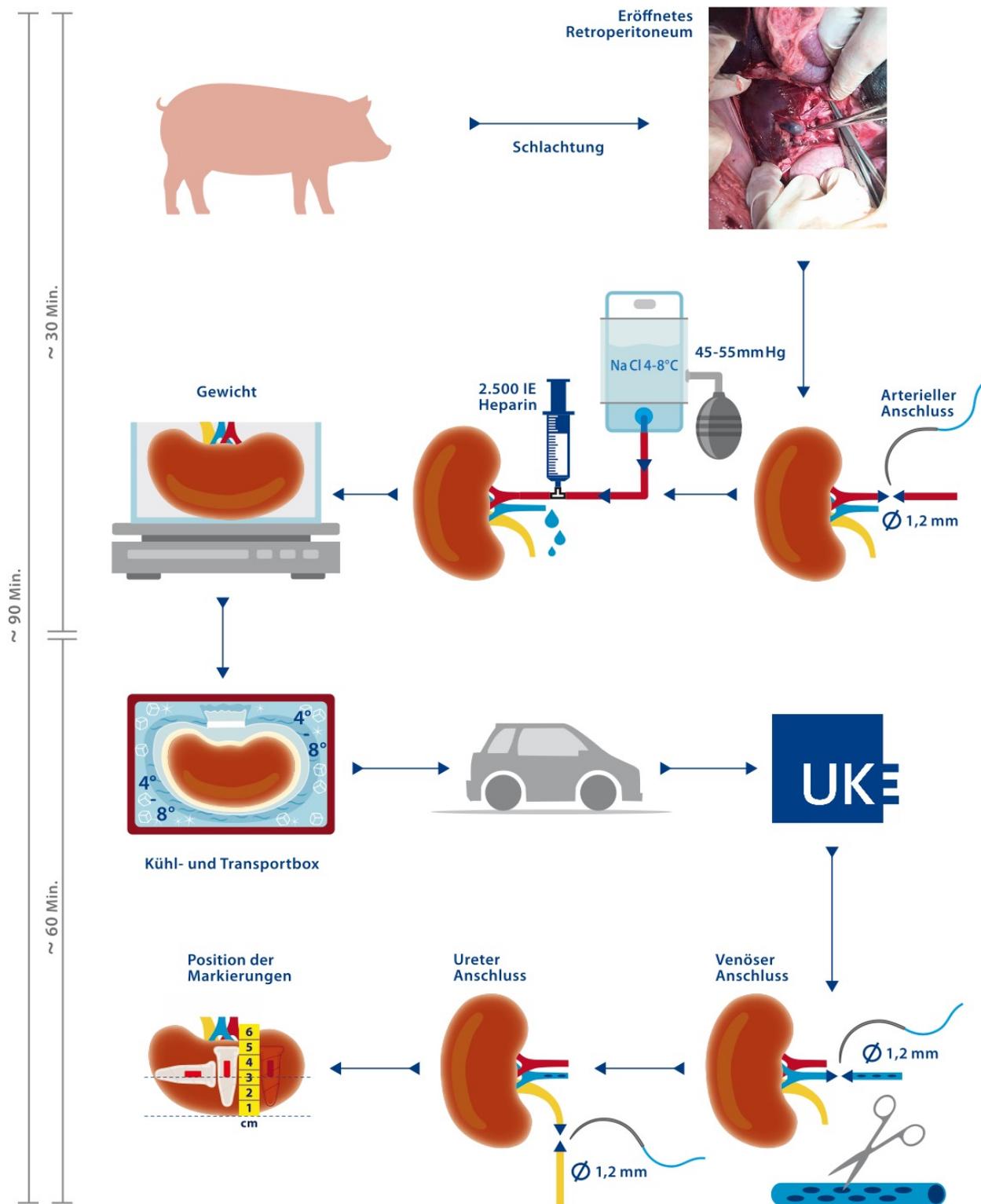


Abbildung 6 Graphische Darstellung der Organgewinnung und Präparation

Die Niere wurde aus dem eröffneten Retroperitoneum entnommen, die Arterie mit einem Infusionsschlauch eines Innendurchmessers von 1,2 mm kanüliert und mit gekühlter Kochsalzlösung sowie Heparin gespült. Gewicht sowie Maße des Organs wurden erhoben. Das Organ wurde in einer mit Eis und auf 4 – 8 °C gekühlter physiologischer Kochsalzlösung gefüllter Styroporbox in das Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf (UKE) transportiert. Dort erfolgte die venöse Kanülierung mit

einem mehrfach perforierten Infusionsschlauch von ebenfalls 1,2 mm Innendurchmesser, um den venösen Abfluss zu erleichtern. Nach Kanülierung des Ureters wurden drei in der MRT und im MPI sichtbare Markierungen in jeweils identischer Position von außen auf dem Organ befestigt.

2.3. Perfusionssystem

Das verwendete Perfusionssystem ist graphisch in Abbildung 7 (S. 22) dargestellt. Während der Bildgebung wurden für das Perfusionssystem zwei Spritzenpumpen (World Precision Instruments, Sarasota, USA) verwendet, die jeweils ein maximales Volumen von 60 ml pro Spritze (B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) fassten und eine maximale Flussrate von 35 ml/min ermöglichten. Die Spritzen waren über Infusionsschläuchen (B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) eines Innendurchmessers von 3 mm und einen Drei-Wege-Hahn (B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) miteinander und mit dem restlichen Perfusionssystem verbunden. Dies ermöglichte das Nachfüllen jeweils einer der Spritzen ohne Unterbrechung der *ex vivo* Perfusion. Weitere Infusionsschläuche von 3 mm Innendurchmesser verbanden die Spritzenpumpen mit dem arteriell einliegenden Infusionsschlauch. Über einen zusätzlichen Drei-Wege-Hahn konnte eine Spritze (B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) zur Injektion von Kontrastmittel und Tracer angeschlossen werden. Auch an die bereits kanülierte Vene und an den kanülierten Ureter wurde jeweils ein Infusionsschlauch von 3 mm Innendurchmesser angeschlossen. Aus Vene und Ureter austretende Flüssigkeit wurde in zwei handelsüblichen geschlossenen Behältnissen von $V = 500$ ml aufgefangen. Die Menge des venösen Abflusses konnte so mit dem arteriellen Zufluss abgeglichen werden. Dies ermöglichte die Kontrolle des Systems, wenn sich das Organ nicht einsehbar im Scanner befand. Während der Evaluationsphase des Perfusionssystems wurde über einen weiteren Drei-Wege-Hahn und Infusionsschlauch ein Blutdruckmonitor (Eagle 4000 patient monitor, GE Healthcare, General Electric, Boston, USA) mit Druckmesssonde aus Polyethylen (VYGON GmbH & Co.KG, Aachen, Deutschland) an das Perfusionssystem angeschlossen.

Die Organe wurden im Durchschnitt 90 - 180 min nach der Schlachtung mit dem Perfusionssystem verbunden. Die zeitliche Diskrepanz entstand dadurch, dass die Messungen jeweils für zwei Nieren nacheinander erfolgten.

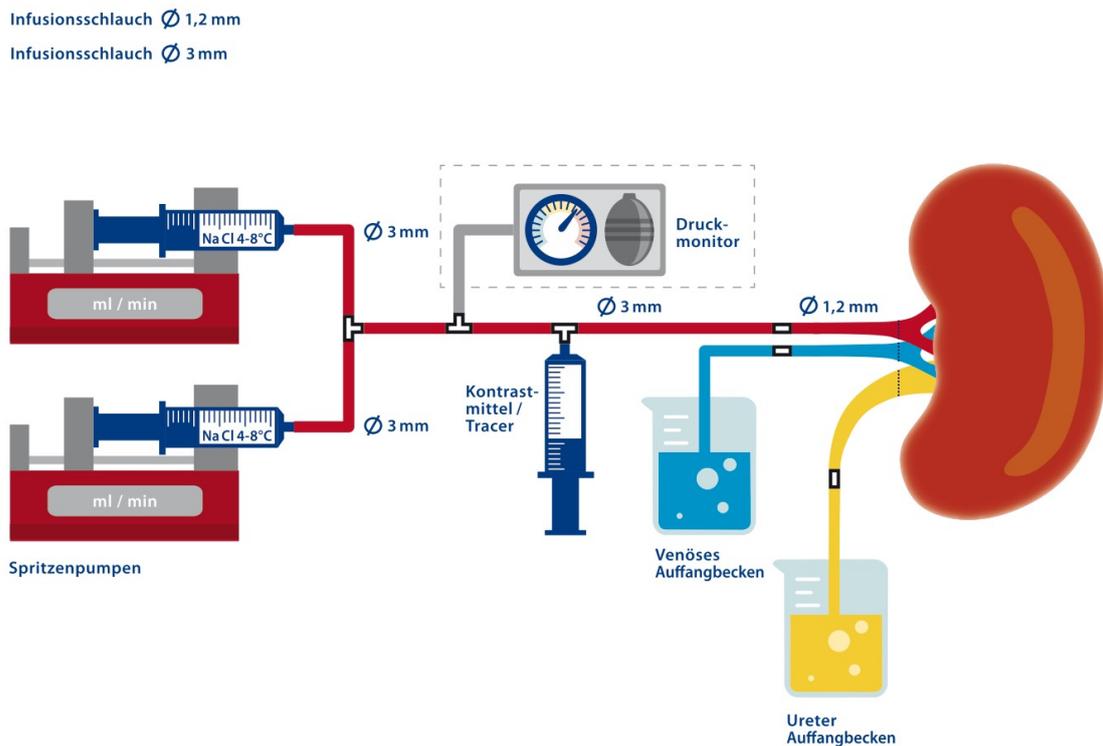


Abbildung 7 Aufbau des ex vivo Organperfusionssystems

Gekühlte physiologische Kochsalzlösung (4 - 8 °C) wurde über zwei Spritzenpumpen und Infusionsschläuche von 3 mm Innendurchmesser in das System gepumpt. Arterie, Vene und Ureter waren mit Infusionsschläuchen eines Innendurchmessers von 1,2 mm kanüliert. Die Verbindung zwischen den Infusionsschläuchen erfolgte über Luer Lock. Ein über Drei-Wege-Hähne angeschlossener Blutdruckmonitor gestattete die Messung des Drucks im System. Dieser wurde ausschließlich in der Evaluationsphase des Perfusionssmodells verwendet, um maximal tolerierte Flussraten und Perfusionsdrücke zu erheben. Eine über einen weiteren Drei-Wege-Hahn integrierte Spritze ermöglichte die Injektion von Kontrastmittel und Tracer.

2.4. Evaluation der ex vivo Perfusion

Vor Beginn der Bildgebung wurden das entwickelte Perfusionssystem und die ex vivo Organperfusion in n = 10 Organen evaluiert (s. Abb. 8, S. 24, gelb hervorgehoben). Dafür wurde zunächst in allen Organen der minimal notwendige Perfusionsdruck zur initialen Spülung der Nieren nach Organentnahme und arterieller Kanülierung erhoben. Die Generierung des Druckes erfolgte über eine Druckmanschette (Smiths Medical, Dublin, Ohio, USA) und wurde, beginnend bei 20 mmHg, um jeweils 10 mmHg gesteigert.

Ein durch die ex vivo Perfusion über die Zeit entstehendes Ödem als möglicher Indikator für eine Perfusionseinschränkung wurde in sechs der zehn Organe untersucht (s. Abb. 8, S. 24, gelb hervorgehoben). Dafür wurden n = 4 der sechs Nieren über drei Stunden mit einer Flussrate von 100 ml/min perfundiert. Das Organgewicht vor und nach der Perfusion wurde notiert. Eine Gewichtszunahme der Organe unter der Perfusion wurde als Zeichen eines Gewebsödems gewertet. Die Flussraten wurden durch eine Rollerpumpe (Stöckert-Instrumente GmbH, München, Deutschland) generiert, die höhere Flussraten als die später

verwendeten Spritzenpumpen erlaubte. Da sich unter der Flussrate von 100 ml/min nach drei Stunden eine durchschnittlichen Verdoppelung des Organgewichts (s. 3.3. *Ex vivo* Perfusion, S. 31) als Zeichen für ein erhebliches Ödem zeigte, wurden n = 2 weitere Organe über drei Stunden lediglich mit einer Flussrate von 5 ml/min perfundiert. Auch für diese Nieren wurde das Organgewicht vor und nach Abschluss der *ex vivo* Perfusion notiert.

Im Anschluss wurden die maximal tolerierte Flussrate sowie der korrespondierende maximal tolerierte Perfusionsdruck in vier Organen untersucht (s. Abb. 8, S. 24, gelb hervorgehoben). Für die Messung des Perfusionsdrucks wurde der Blutdruckmonitor und die Druckmesssonde wie beschrieben (s. 2.3. Perfusionssystem, S. 21) in das *ex vivo* Perfusionssystem integriert. Die Flussrate wurde in Schritten von jeweils 40 ml/min alle zwei Minuten gesteigert, bis äußerlich sichtbare Schäden am Parenchym oder an den an- und abfließenden Gefäßen entstanden.

Die Kühlung der Organe erfolgte während der Evaluationsphase des *ex vivo* Perfusionssystems durch von außen an die Organe angelagerte Gefrierbeutel mit 4 – 8 °C kalter physiologischer Kochsalzlösung. Während der späteren Bildgebung wurde der Druckmonitor nicht mehr verwendet, da die für die Angiographien gewählten Flussraten deutlich unter den Flussraten lagen, bei denen es zu Schäden durch hohe Perfusionsdrücke kam (s. 3.3. *Ex vivo* Perfusion, S. 31).

2.5. Versuchsaufbau und Etablierung

Die Organe wurden jeweils wasserdicht in einem Gefrierbeutel auf einer Rattenliege gelagert. Diese konnte fest mit dem MRT- und MPI-Tisch verbunden werden. Der Gefäßhilus der Nieren befand sich oben, um Kompressionen der Gefäße zu vermeiden. In den beiden probeweise in den Scanner eingebrachten und dort perfundierten Nieren trat unmittelbar nach Beginn der Perfusion ein Riss in der V. renalis auf (s. Abb. 8, S. 24, blau hervorgehoben). Um die zarten venösen Gefäße außerhalb des Organs zu stabilisieren, wurden die venös einliegenden Infusionsschläuche in der Folge bis an das Nierenparenchym heran gelegt. Überdies wurden die venös einliegenden Anteile der Infusionsschläuche im Folgenden an den Seiten mehrfach eröffnet, um den venösen Druck zu senken und den Abfluss zu erleichtern (s. Abb. 6, S. 20).

Aufgrund der eingeschränkten räumlichen Verhältnisse innerhalb des MRT- und MPI-Kleintierscanners erfolgte die Kühlung der Organe während der Bildgebung ausschließlich durch die 4 - 8 °C kalte, zur Perfusion verwendete physiologische Kochsalzlösung. Eventuell austretende Flüssigkeit konnte über eine integrierte Absaugspritze entfernt werden, ohne dass das Organ aus dem Scanner entfernt werden musste.

Die Bildgebung erfolgte an insgesamt neun Nieren (s. Abb. 8, S. 24, grün hervorgehoben). Dabei wurde der Versuchsaufbau (Abb. 7, S. 22) zwischen den Bildgebungsmodalitäten im

Ganzen transportiert, um die Bedingungen soweit möglich konstant zu halten. In der MRT kam eine spezifische Sende- und Empfangsspule für Ratten zum Einsatz.

Nach Abschluss sowohl der Versuche als auch der Bildgebung wurde das finale Gewicht der Organe vermerkt. Im Fall von Perfusionseinschränkungen während der Bildgebung, wurden die Organe im Anschluss seziiert.

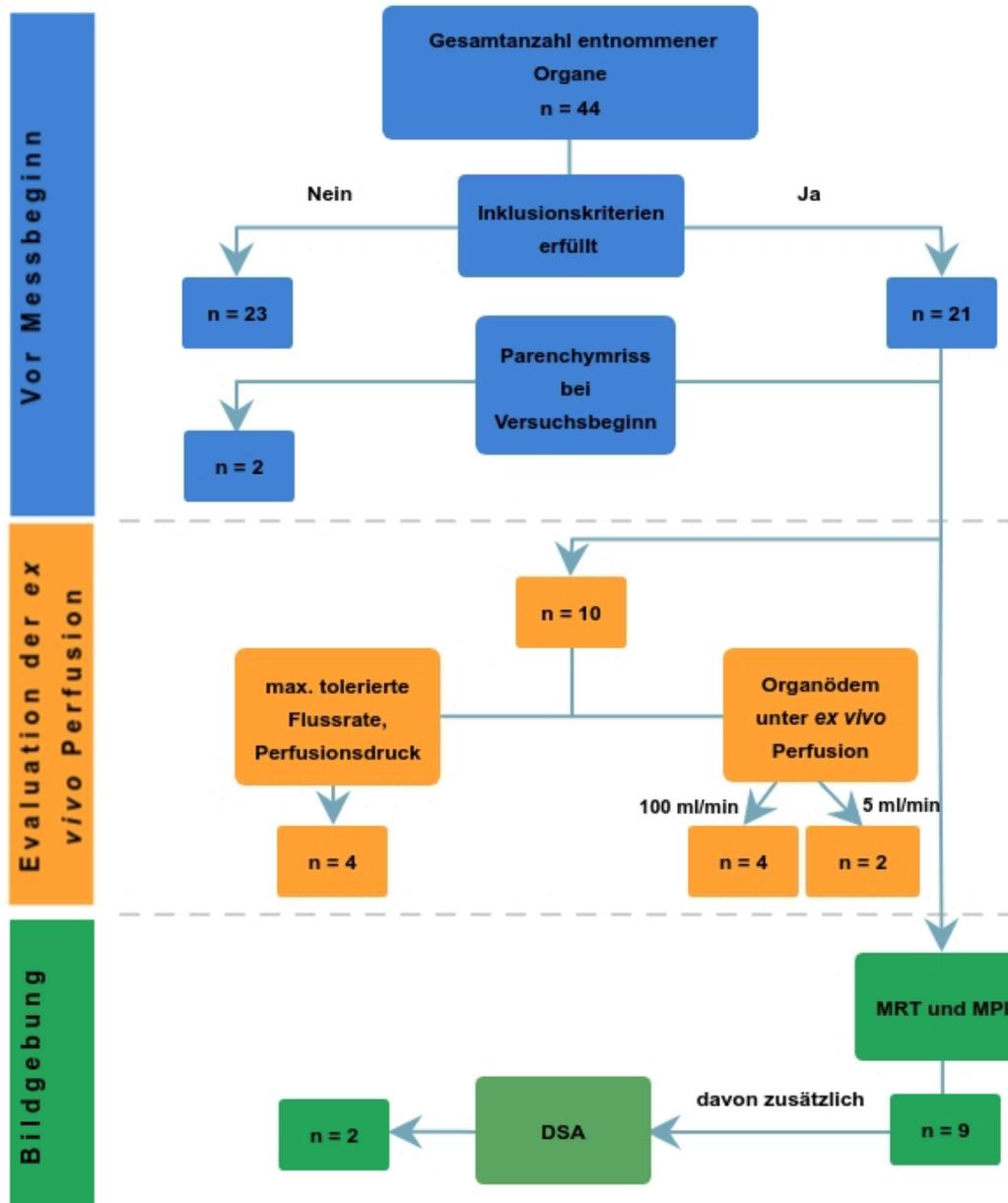


Abbildung 8 Übersicht aller verwendeten Organe

Entnommen wurden vor Beginn der Versuche (blau) $n = 44$ Nieren. Von diesen fielen $n = 23$ unter die definierten Exklusionskriterien. Von den verwendeten $n = 21$ Organen, kam es während des probeweisen Versuchsaufbaus zu Beginn der Perfusion zu Einrissen der V. renalis in $n = 2$ Nieren. Die Evaluation *ex vivo* Perfusion (gelb) erfolgte in $n = 10$ Organen. Davon wurden $n = 4$ Nieren zur Messung der maximal tolerierten Flussrate und des maximal tolerierten Drucks verwendet. Ein unter der *ex vivo* Perfusion entstehendes Organödem wurde mit Flussraten von 100 ml/min in $n = 4$ Nieren und mit Flussraten von 5 ml/min in $n = 2$ Nieren untersucht. Für die Bildgebung (grün) wurden $n = 9$ Organe in der MRT und im MPI dargestellt. Für zwei dieser neun Organe wurden überdies auch Angiographien in der DSA angefertigt.

2.6. Multimodale Angiographien

2.6.1. DSA

Von den insgesamt $n = 9$ Organen für die MR- und MPI-Angiographien erstellt wurden, wurden $n = 2$ Nieren zusätzlich auch mittels DSA abgebildet (s. Abb. 8, S. 24, grün hervorgehoben). Ziel der exemplarischen zusätzlichen Darstellung in der DSA war die möglichst hochauflösende Abbildung der Gefäßstruktur. Mögliche Schäden am Gefäßsystem in Folge der Schlachtung, der Spülung mit physiologischer Kochsalzlösung und dem Transport sollten so abgeschätzt werden. Verwendet wurde ein Allura FD20 Angiographiegerät (Philips Healthcare, Best, Netherlands). Als Kontrastmittel dienten 10 ml Iomeprol (Imeron 300[®], Bracco Imaging Deutschland GmbH, Konstanz, Deutschland) einer Konzentration $c(I) = 2,36 \text{ mmol/l}$. Die Injektion des Kontrastmittels sowie die Perfusion mit physiologischer Kochsalzlösung erfolgten mit 5 ml/min. Diese unphysiologisch niedrige Flussrate wurde aufgrund der Ergebnisse aus der Evaluationsphase des Perfusionssystems gewählt, um ein Zellödem sowie konsekutive Perfusionseinschränkungen möglichst niedrig zu halten (s. 3.3. *Ex vivo* Perfusion, S. 31).

2.6.2. MRA

In der MRT wurden alle neun für die Angiographien verwendeten Nieren dargestellt (s. Abb. 8, S. 24, grün hervorgehoben). Verwendet wurde ein 7 Tesla Kleintier-MRT (Clinscan 70/30, Bruker BioSpin, Ettlingen, Deutschland). Die verwendeten Sequenzen sind in Tabelle 1 (S. 30) aufgeführt. Zunächst erfolgte die Messung mit einer T2-gewichteten Turbo-Spin-Echo-Sequenz (TSE-Sequenz), um anatomische Informationen über die Organe zu gewinnen. Die T2-gewichteten Bilder dienten auch der Fusion mit den MPI-Bildern, da letztere nur Strukturen mit enthaltenem Tracer abbilden und keine weiteren anatomischen Informationen liefern. Zudem wurde über die T2-gewichteten Bilder die Position der einliegenden Infusionsschläuche in Arterie, Vene und Ureter überprüft. Im Anschluss wurden T1-gewichtete dreidimensionale dynamisch kontrastverstärkte Sequenzen (DCE) generiert, aus denen MRA Bilder berechnet wurden. Dies diente der dreidimensionalen Darstellung der Perfusion in der MRT und dem späteren Vergleich mit den MPI-Angiographien. Als Kontrastmittel wurde Gadodiamid (Omniscan[®], GE Healthcare, Buckinghamshire, Great Britain) in einer Konzentration von $c(\text{Gd}) = 500 \text{ mmol/l}$ verwendet. Da in der Bild- und Datenauswertung die Anzahl der in der MRT sichtbaren, perfundierten Gefäße erhoben werden sollte (s. 3.5.1. Numerische MRA- und MPI-Gefäßanalyse, S. 34), wurde eine hohe räumliche Auflösung von $0,8 \times 0,8 \times 1 \text{ mm}^3$ für die DCE gewählt. Die sich daraus ergebende zeitliche Auflösung betrug 12,4 s. Um den Ein- und Ausstrom des Kontrastmittels trotz dieser

niedrigen zeitlichen Auflösung vollständig darzustellen, wurde die Flussrate in der DCE mit 2,5 ml/min niedriger als in der DSA und im MPI gewählt.

2.6.3. MPI-Angiographien

Die neun in der MRT dargestellten Nieren wurden im Anschluss mittels MPI-Angiographie abgebildet (s. Abb. 8, S. 24, grün hervorgehoben). Verwendet wurde ein MPI Kleintier-Scanner (Bruker BioSpin, Ettlingen, Deutschland). Um die MPI-Angiographie in Organen menschlicher Größe für mehrere verfügbare Tracer zu evaluieren, wurden zwei verschiedene Tracer, MM4 (Perimag[®], Micromod, Rostock, Deutschland) und Ferucarbotran (Resovist[®], Bayer Schering Pharma AG, Berlin, Deutschland), verwendet. Bei beiden handelt es sich um nicht spezifisch für das MPI entwickelte, jedoch käuflich erhältliche Tracer. So sollte untersucht werden, ob eine Differenz in der Gefäßdarstellung zwischen beiden Tracern vorhanden ist. Dafür wurden vier der Nieren mit 1 ml MM4 einer Konzentration von $c(\text{Fe}) = 152,2 \text{ mmol/l}$ und fünf der Nieren mit 0,5 ml Ferucarbotran einer Konzentration von $c(\text{Fe}) = 500 \text{ mmol/l}$ abgebildet. Die Anregungsfeldamplitude betrug $14 \text{ mT}\mu_0$. Die Bildgenerierungsrate des verwendeten Scanners betrug 46 Volumen pro Sekunde. Zur Verbesserung des SNR wurden die generierten Bilder 46-fach gemittelt. Somit ergab sich eine zeitliche Auflösung von 1 Volumen pro Sekunde. Wie in der DSA wurden Flussraten von 5 ml/min verwendet.

Als Selektionsfeldgradient wurde $0,7 \mu_0\text{T/m}$ gewählt. Dies resultierte in einem FOV von $80 \times 80 \times 40 \text{ mm}^3$ in x-, y-, z-Richtung sowie mit den verwendeten Tracern in einer räumlichen Auflösung von 8 – 10 mm Halbwertsbreite (Croft et al. 2016, Szwargulski und Knopp 2017). Die Halbwertsbreite bezeichnet dabei die halbe Breite der Punktspreizfunktion der MPI-Signale und ist ein Maß für die Ortsauflösung. Wird die Halbwertsbreite unterschritten lassen sich die Punktspreizfunktionen und damit die Messsignale nicht mehr voneinander trennen.

Auf einen höheren Selektionsfeldgradienten und eine konsekutiv höhere örtliche Auflösung wurde verzichtet, um das FOV nicht weiter zu reduzieren. Ein Fokusfeld zur Erweiterung des Messvolumens wurde nicht verwendet, da dieses über die Messung mehrerer Patches zu einer geringeren zeitlichen Auflösung geführt hätte (s. 1.1.3. Erweiterung des Messvolumens, S. 7), was die korrekte Erfassung des Tracerdurchflusses durch die Organgefäße erschwert hätte.

Die Rekonstruktion erfolgte nach dem Ansatz der auf einer Kalibrierungsmessung beruhenden Systemfunktion, die sowohl für unverdünntes MM4 als auch für unverdünntes Ferucarbotran bestimmt wurde. Die Probengröße in der Kalibrierungsmessung betrug $3 \times 3 \times 2 \text{ mm}^3$. Die Rekonstruktionsparameter wurden nach visueller Beurteilung sämtlicher Messungen ausgewählt und anschließend auf alle Daten gleichermaßen angewandt. Der

relative Regularisierungsparameter betrug $\lambda = 0.1$ und das $\text{SNR} = 2$. Es erfolgten vier Iterationen entsprechend des Kaczmarz-Algorithmus. Als Rekonstruktionsumgebung wurde eine der Arbeitsgruppe eigene Implementation (Knopp et al. 2019) in der Programmiersprache Julia (Bezanson et al. 2017) verwendet.

2.6.4. Optimierung der MRT- und MPI-Messungen

Um die räumliche Auflösung in den T2-gewichteten Sequenzen zu verbessern, erfolgte nach der initialen Messung des ersten Organs die Umstellung des Protokolls von T2*-gewichteten Gradientenechosequenzen (GE-Sequenzen) auf T2-gewichtete TSE-Sequenzen (s. Abb. 9, S. 27), die in der Folge für dieses und alle weiteren Organe verwendet wurden.

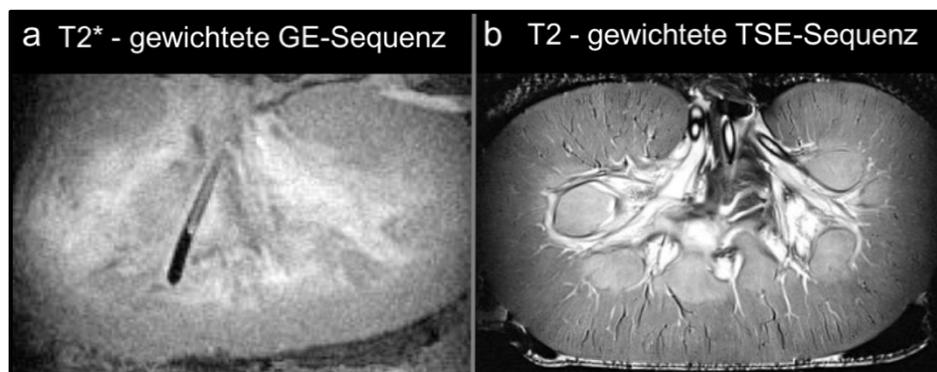


Abbildung 9 Nierenabbildung in T2*-gewichteter GE-Sequenz sowie T2-gewichteter TSE-Sequenz

Nach initialer Abbildung in T2*-gewichteter GE-Sequenz wurde zur detailreicheren Darstellung auf die Verwendung einer T2-gewichteten TSE-Sequenz umgestellt.

Vor Beginn der Messungen an den Organen wurde die Sichtbarkeit der hergestellten Markierungen in der MRT und im MPI geprüft. Dafür wurden diese an einem Styropornierenphantom (s. Abb. 10, S. 28) in identischer Position wie später an den Organen (s. 2.2. Organgewinnung und Präparation, S. 18) angebracht.

Um den an die Markierungen angrenzenden zentralen Anteil der Organe mittig im größtenbegrenzten MPI-FOV einzustellen, wurde die Höhe der MPI-Tischposition und der Tischvorschub mit Hilfe desselben Phantoms festgelegt (Abb. 10, S. 28).



Abbildung 10 Einstellung der MPI-Tischposition und des MPI-Tischvorschubs am Styroporphantom

Abgebildet ist ein Nierenstyroporphantom innerhalb der für die Messungen verwendeten Rattenliege. An diesem wurden die für die späteren Messungen verwendeten Markierungen befestigt, um ihre Sichtbarkeit in der MRT und im MPI zu prüfen. Die Tischhöhe sowie Tischvorschub für die späteren Messungen wurden anhand des Phantoms so eingestellt, dass der an die Markierungen angrenzende zentrale Organanteil mittig im MPI-FOV platziert war.

2.7. Datenverarbeitung

Für die Datenverarbeitung wurde die Bildverarbeitungssoftware ImageJ verwendet (National Institutes of Health, USA) und um ein arbeitsgruppeneigenes Plug-In (qMapit) ergänzt (Kaul 2014). Das Hintergrundrauschen im MPI wurde vom Messsignal subtrahiert und das Signal normalisiert. Da die Fusion der T2-MRT-Daten mit den MR- und MPI-Angiographiedaten geplant war und die T2-gewichtete MRT-Sequenz die höchste örtliche Auflösung aufwies (s. Tabelle 1, S. 30), wurden alle weiteren Datensätze auf die Auflösung der T2-gewichteten MRT-Daten interpoliert. Im Anschluss erfolgte die Fusion der T2-gewichteten MRT- mit den MRA-Daten sowie der T2-gewichteten-MRT- mit den MPI-Daten mit Hilfe der in allen Techniken sichtbaren Markierungen. Weiterhin wurden Maximumintensitätsprojektionen der DSA, MRA und MPI-Daten erstellt. Aus diesen wurden für alle drei Modalitäten Ankunftszeitkarten wie in der Literatur beschrieben (Kaul et al. 2018) berechnet.

Die bildmorphologische Darstellung der Gefäße in der DSA, der MRA und im MPI wurde miteinander verglichen.

2.8. Bild- und Datenanalysen

2.8.1. Numerische MRA- und MPI-Gefäßanalyse

Die sichtbaren Gefäße in allen MR- und MPI-Angiographien wurden ausgezählt, um die Konsequenzen der differenten örtlichen Auflösung beider Techniken am praktischen Beispiel zu evaluieren. Die Auszählung erfolgte unabhängig voneinander durch zwei Radiologen. Nur

von beiden Radiologen gleichermaßen identifizierte Gefäße wurden für die Auswertung berücksichtigt. Als sichtbares Gefäß wurde ein klar abgrenzbares, scharf kontrastiertes Areal mit Kontrastmittel- beziehungsweise Tracerdurchfluss definiert. Jeder Gefäßabschnitt, der einer Gefäßaufzweigung folgte, wurde getrennt gezählt. Da das FOV im MPI kleiner war als in der MRA, wurden in beiden Techniken nur die Gefäße gezählt, die innerhalb des Areals der Nieren lagen, welches sich innerhalb des MPI-FOV befand. Um dieses vom MPI-FOV abgedeckte Areal des Organs zu identifizieren, dienten die fusionierten T2-gewichteten MRT-MPI-Bilder.

Da die MRA als etablierte Technik den Goldstandard in den Vergleichen darstellte, wurden die in der MRA sichtbaren Gefäße als Gesamtanzahl der erfolgreich *ex vivo* perfundierten Organgefäße angesehen. Die Anzahl der gezählten Gefäße im MPI wurde dazu ins Verhältnis gesetzt. Um die beiden verwendeten MPI-Tracer MM4 und Ferucarbotran bezüglich ihrer Gefäßauflösung zu vergleichen, wurde die sichtbare Gefäßanzahl zusätzlich auch getrennt für die Gruppe der mit MM4 und die Gruppe der mit Ferucarbotran perfundierten Nieren erhoben. Die Ergebnisse dieser Auszählung wurden ebenfalls zur jeweiligen Gefäßanzahl in der MRA ins Verhältnis gesetzt.

2.8.2. Kalkulierte Eisenpartikelkonzentration

Unter der Annahme, dass das MPI-Signal quantitativ zur Eisenmenge der SPIONs im FFP ist (s. 1.1.6. Vorteile und Limitationen des MPI, S. 11), sollte die MPI-Signalstärke Rückschlüsse auf die Tracermenge im Blutfluss und damit indirekt auf die Durchblutungsintensität erlauben (Knopp et al. 2017). In den *ex vivo* perfundierten Nieren wäre von einem Abfall der Signalintensität und SPION bedingten Eisenmenge von den zentralen, große Gefäße enthaltenden Voxeln zu peripheren, kleinere Gefäße und Gewebe enthaltenden Voxeln auszugehen. Um dies zu prüfen wurden mehrere Messregionen (ROIs) entlang des Verlaufs eines Gefäßes einer mit Ferucarbotran als MPI-Tracer perfundierten Niere definiert. Das MPI-Signal in diesen ROIs wurde ins Verhältnis zur Stärke des MPI-Signals der drei von außen auf dem Organ angebrachten Markierungen gesetzt. Die Konzentration der Ferucarbotransuspension in den Markierungen lag bekanntermaßen bei $c(\text{Fe}) = 25 \text{ mmol/l}$. Einen quantitativen Zusammenhang angenommen, wurde über das Verhältnis der Markierungssignalstärke zur ROI-Signalstärke und die bekannte Konzentration in den Markierungen, die Konzentration in den ROIs kalkuliert.

Tabelle 1 Messparameter DSA, MRT und MPI

DSA	Röhrensprungung / kV	Röhrenstrom / mAs			Dim	FOV / mm	Matrix	Schichten	Schichtdicke / mm	Mittelungen	Voxel / mm ²	Zeitliche Auflösung / s	
	63	1,5 – 3,5			2-D	380	1024 x 1024	1		1	0,37 x 0,37	0,167	
MRT	Sequenztyp	TR / ms	TE / ms	FA / °	Dim	FOV / mm	Matrix	Schichten	Schichtdicke / mm	Mittelungen	Voxel / mm ³	Zeitliche Auflösung / s	
	TSE	6000	49	180	2-D	100	384 x 272	80	0,6	2	0,26 x 0,26 x 0,6	-	
	Dynamische CE-GE	180	1,21	20	3-D	100	128 x 88	40	1	1	0,78 x 0,78 x 1	12,4	
MPI	SF Gradient / $\mu_0 T/m$	AF Amplitude / $mT\mu_0$			Dim	AF FOV / mm ³	SF FOV / mm ³	SF Matrix	Schichten	Schichtdicke / mm	Mittelungen	Voxel / mm ³	Zeitliche Auflösung / s
	0,7	14			3-D	80 x 80 x 40	90 x 90 x 46	30 x 30 x 23	30, 30, 23	3, 3, 2	10	3 x 3 x 2	0,215

Dim = Dimensionen, FOV = Field of view, TSE = Turbo-Spin-Echo-Sequenz, Dynamische CE-GE = Dynamische kontrastmittelverstärkte Gradientenechosequenz, TR = Time of repetition, TE = Time of echo, FA = Flip angle, SF Gradient = Selektionsfeldgradient, AF Amplitude = Anregungsfeldamplitude, AF FOV = Field of view der durch die drei Anregungsfelder abgetasteten Messbereichs im MPI, SF FOV = Field of view der Messung der Systemfunktion, SF Matrix = Matrix der Systemfunktion. Die für das MPI angegebene Schichtanzahl, Schichtdicke und Voxelgröße beziehen sich auf die Messung der Systemfunktion. Die weiteren Messungen erfolgten kontinuierlich entlang der Lissajoustrajektorie ohne festgelegte Schichtdicke oder -anzahl.

3. ERGEBNISSE

3.1. Publikation

Basierend auf den für die vorliegende Arbeit durchgeführten Versuchen, Messungen und Ergebnissen (3.4. – 3.6.) erfolgte die Publikation in einer wissenschaftlichen Fachzeitschrift mit Peer-Review Verfahren (Molwitz et al. 2019).

3.2. Organgewinnung

Unter die definierten Exklusionskriterien fielen 23 der 44 entnommenen Organe. In der Mehrheit der Fälle lag dies in der arteriellen Gefäßversorgung begründet. So wiesen neun der Nieren eine A. renalis von weniger als 2 cm Länge auf. Dabei handelte es sich in jedem Fall um linksseitig im Retroperitoneum gelegene Nieren. Physiologischerweise ist die linke A. renalis, aufgrund der links paravertebral verlaufenden Aorta, kürzer als die rechtsseitige (Fritsch et al. 2005). In sechs weiteren Organen zweigte sich die A. renalis weniger als 2 cm nach Abgang aus der Aorta in mehrere Arterien auf oder es bestanden akzessorische Nierenarterien. Zwei Organe wiesen multiple Zysten auf. Sechs Nieren waren durch Parenchymschnitte beschädigt, die während der Ausweidung nach der Schlachtung entstanden waren.

3.3. Ex vivo Perfusion

Für die zehn Nieren, die für die Evaluation des *ex vivo* Perfusionssystems verwendet wurden (s. Abb. 8, S. 24, gelb hervorgehoben), ergab sich ein minimal notwendiger Perfusionsdruck zwischen 45 – 55 mmHg zur initialen Spülung nach der Schlachtung. Bei kontinuierlicher Perfusion mit 100 ml/min zeigte sich nach drei Stunden eine zunehmende diffuse Leckage aus dem Organparenchym. Das Gewicht der betreffenden vier Organe (s. Abb. 8, S. 24, gelb hervorgehoben) hatte sich zu diesem Zeitpunkt im Durchschnitt verdoppelt. Die beiden Organe, die daraufhin mit 5 ml/min perfundiert wurden (s. Abb. 8, S. 24, gelb hervorgehoben), um Gewichtszunahme und Leckage bei niedriger Flussrate zu untersuchen, zeigten nach drei Stunden eine Gewichtszunahme von 9 % beziehungsweise 16 %. Hierauf beruhte die gewählte maximale Flussrate von 5 ml/min für die Angiographien (s. 2.6. Multimodale Angiographien, S. 25). Die Gewichtszunahme der neun Organe, für die Angiographien durchgeführt wurden (s. Abb. 8, S. 24, grün hervorgehoben), lag nach Abschluss der Messungen zwischen 18 % und 27 %. Für Flussraten von 100 ml/min lag der Ureterausfluss bei 40 ml/min bis 50 ml/min. Bei Flussraten von 5 ml/min ließ sich kein Flüssigkeitsaustritt aus dem Ureter beobachten.

Die maximal tolerierte Flussrate betrug weniger als 130 ml/min mit einem korrespondierenden Perfusionsdruck von weniger als 55 mmHg. So riss in zwei der vier Nieren, an denen dies erhoben wurde (s. Abb. 8, S. 24, gelb hervorgehoben), das Organparenchym bei Steigerung der Flussrate von 120 ml/min auf 160 ml/min bei ca. 130 ml/min. In einem weiteren der Organe riss das Parenchym bei einer Flussrate von 240 ml/min beziehungsweise 85 mmHg. Beim vierten Organ zeigte sich eine spritzende Leckage der zuführenden A. renalis an der Nahtstelle zum Infusionsschlauch bei 360 ml/min beziehungsweise 130 mmHg.

3.4. Multimodale Angiographien

3.4.1. DSA

Die Darstellung der Gefäßstruktur und Perfusion gelang für beide in der DSA untersuchten Organe. Der Einstrom des Kontrastmittels in das Organ zu Beginn der *ex vivo* Perfusion zeigte die zunehmende Kontrastierung der Gefäße von zentral nach peripher (Abb. 11 a – c, S. 32). Neben den Aa. interlobares (Abb. 11 a, S. 32, Pfeile) und Aa. interlobularis wurden auch die Kortexkapillaren in hoher Auflösung abgebildet. Im Bereich der medullären Kapillaren (Abb. 11 c, S. 32, Sterne) wurde die Auflösungsgrenze der DSA erreicht. Die entsprechende Kapillarregion erschien partiell verschwommen. Einige Kortexregionen (Abb. 11 b und c, S. 32, Pfeilspitzen) zeigten sich minderperfundierte.

Der Ein- sowie beginnende Ausstrom des Kontrastmittels ist farblich kodiert als Ankunftszeitkarte abgebildet (Abb. 11 d, S. 32). Diese stellt den Einfluss des Kontrastmittels beginnend ca. 9 s nach Beginn der Messungen dar.

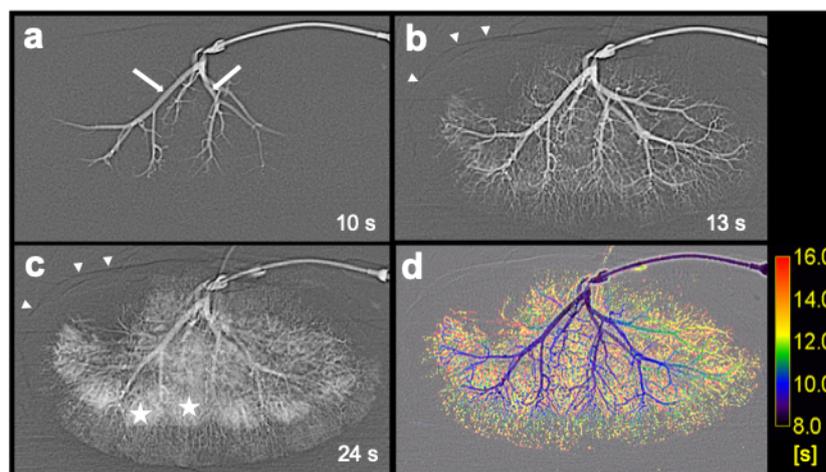


Abbildung 11 DSA sowie Ankunftszeitkarte einer Niere

(a) Beginn des Kontrastmitteleinstroms in die Interlobararterien (Pfeile). (b) Zunehmende Kontrastierung auch der Interlobulararterien und Kortexkapillaren. (c) Kontrastmittelnachweis auch in den medullären Kapillaren (Sterne). Es ließ sich in (b) und (c) eine minderperfundierte Kortexregion (Pfeilspitzen) abgrenzen. (d) Farblich kodierte Darstellung der Ankunftszeit des Kontrastmittelbolus mit Beginn des Einstroms ca. 9 s nach Messbeginn.

3.4.2. MRA

Auch mit der T2-gewichteten MRT und MRA konnten Gefäßstruktur und *ex vivo* Perfusion sämtlicher untersuchter Nieren (n = 9) dargestellt werden. Beispielhaft abgebildet (Abb. 12, S. 33) ist eines der Organe, das auch in der DSA vermessen wurde (s. Abb. 11, S. 32). Im Gegensatz zur DSA erschienen die Gefäße in der MRA weniger scharf begrenzt. Es waren lediglich Interlobar- und Interlobulararterien klar voneinander abgrenzbar. Die medullären Kapillaren erschienen in der MRA als verschwommene hyperintense Signalzonen (Abb. 12 b, S. 33, Sterne). Im Bereich des Kortex ließ sich in der MRA kaum Perfusionssignal abgrenzen (Abb. 12 c, S. 33, Pfeilspitzen). Die T2-gewichtete TSE-Sequenz (Abb. 12 d, S. 33) demonstrierte die Anatomie der Niere und stellte die Position von Gefäßen, Medulla und Kortex dar. In der Fusion der T2-gewichteten Daten mit der MRA ließen sich die perfundierten Areale eindeutig der entsprechenden Anatomie zuordnen (Abb. 12 e, S. 33).

Die Ankunftszeit des Kontrastmittelbolus ist farblich kodiert abgebildet (Abb. 12 f, S. 33). Der Boluseinstrom begann ca. 220 s nach Messbeginn.

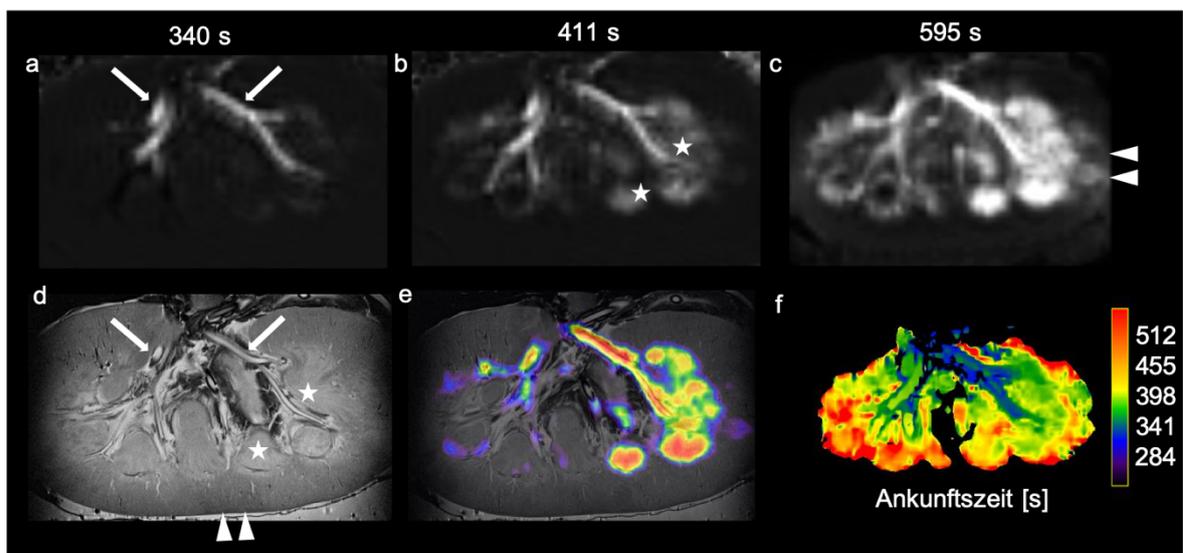


Abbildung 12 MRA, T2-gewichtete MRT, MRT-MRA-Fusionsbild sowie Ankunftszeitkarte

Ex vivo Organperfusion in der MRA zu drei verschiedenen Zeitpunkten (a), (b) und (c). Es zeigte sich die initiale Kontrastierung der Aa. interlobares (Pfeile) sowie die zunehmende Kontrastierung der medullären Kapillaren (Sterne). Der Nierenkortex kontrastierte sich kaum (c, Pfeilspitzen). (d) Hoch aufgelöste anatomische Darstellung der Niere in der T2-gewichteten MRT mit markierten Interlobararterien (Pfeile), Nierenmark (Sterne) sowie Nierenkortex (Pfeilspitzen). (e) Fusioniertes Bild der T2-gewichteten Sequenz mit dem farblich abgebildeten Perfusionssignal aus der MRA. Die Korrelation des Perfusionssignals zu den entsprechenden anatomischen Bereichen wurde deutlich. (f) Ankunftszeitkarte mit farblich kodierter Darstellung der Ankunftszeit des Kontrastmittelbolus. Der Einstrom begann ca. 220 s nach Messbeginn.

3.4.3. MPI-Angiographien

Auch mit dem MPI gelang die Darstellung der Organperfusion sowie die Auflösung einzelner Gefäße (Abb. 13 a, S. 34, Pfeile) innerhalb der Organe.

Erschienen die Gefäße bereits in der MRA weniger scharf begrenzt, so wurden sie im MPI nochmals breiter und unschärfer abgebildet. Über den medullären Kapillaren ließ sich lediglich partiell Perfusionssignal nachweisen (Abb. 13 b, S. 34, Sterne). Vorhandenes Perfusionssignal im medullären Kapillarsystem erschien dabei ebenso wie in der MRA unscharf. Im Bereich des Nierenkortex (Abb. 13 c, S. 34, Pfeilspitzen) zeigte sich allenfalls minimales Tracersignal. Aufgrund des limitierten MPI-FOV (Abb. 13 c, S. 34, roter Kasten) waren Anteile des Nierenkortex zudem nicht miterfasst. Der farblich kodierte zeitliche Einstrom des Kontrastmittelbolus verdeutlichte die Perfusion von zentral nach peripher im MPI (Abb. 13 d, S. 34). Der Tracereinstrom begann ca. 10 s nach Messbeginn.

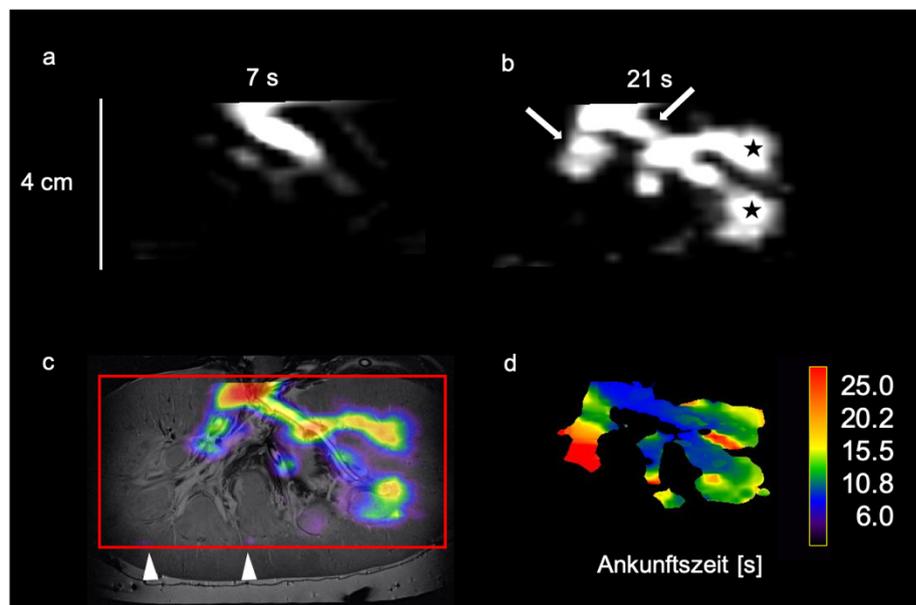


Abbildung 13 MPI-Angiographie, MPI-MRT-Fusionsbild und Ankunftszeitkarte

In den MPI-Bildern (a) und (b) ist der Tracereinstrom zu zwei verschiedenen Zeitpunkten dargestellt. Das vertikale Maß von 4 cm verdeutlicht die Höhe des MPI-FOV. (c) Mit der T2-gewichteten MRT fusioniertes MPI-Signal. Das MPI-FOV ist durch den roten Kasten markiert. In Zusammenschau von (b) und (c) lässt sich ein MPI-Signal in den Aa. interlobares (Pfeile) und im Nierenmark (Sterne) nachweisen. Kein eindeutiger Nachweis eines MPI-Signals im Nierenkortex (Pfeilspitzen). (d) Die Ankunftszeitkarte zeigt den Tracereinstrom ca. 10 s nach Messbeginn sowie den Verlauf von zentral nach peripher über die Zeit.

3.5. Bild- und Datenanalysen

3.5.1. Numerische MRA- und MPI-Gefäßanalyse

Die Anzahl der von beiden Radiologen gleichermaßen identifizierten Gefäße betrug für sämtliche in der MRA und im MPI dargestellten Organe $n = 171$ in der MRA und $n = 47$ im

MPI. Die absolute Anzahl an gezählten Gefäßen je Technik und Organ ist in Abbildung 14 (S. 35) dargestellt. Die Anzahl der detektierten Gefäße variierte in der MRA zwischen den Organen stärker als im MPI. Der Median betrug 20 in der MRA und 5 im MPI. Im Schnitt ließen sich 33 % aller in der MRA detektierten Gefäße auch im MPI abgrenzen. Bei getrennter Betrachtung der mit MM4 und Ferucarbotran als Tracer durchgeführten MPI-Angiographien, ließen sich mit MM4 34 % aller in der MRA perfundierten Gefäße abgrenzen und mit Ferucarbotran 31 %.

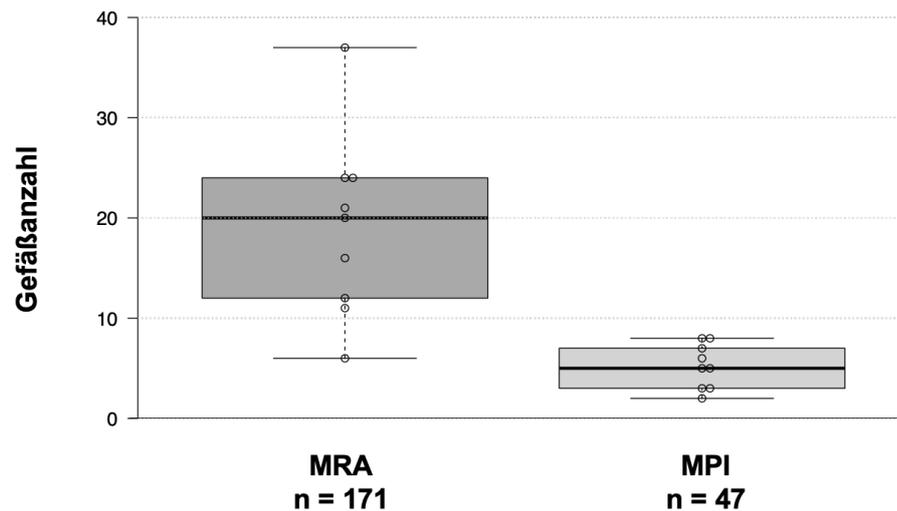


Abbildung 14 Visuell ermittelte Anzahl an Gefäßen in der MRA und im MPI

Aufgetragen sind die jeweils von beiden Auswertern gleichermaßen identifizierten Gefäße je Organ in der MRA und im MPI. Der Median ist als horizontale Linie eingetragen.

3.5.2. Kalkulierte Eisenpartikelkonzentration

Die Konzentration des Ferucarbotrans vor Injektion in das Perfusionssystem betrug $c(\text{Fe}) = 500 \text{ mmol/l}$. Den beschriebenen quantitativen Zusammenhang angenommen (s. 2.8.2. Kalkulierte Eisenpartikelkonzentration, S. 29) ergab die Auswertung der Eisenkonzentration in den definierten Regionen (ROIs) im Verlauf eines Gefäßes (Abb. 15 b, S. 36, Kreise) zentral eine maximale Eisenkonzentration von $c(\text{Fe}) = 126 \text{ mmol/l}$. Im Verlauf zeigte sich die kalkulierte Konzentration abnehmend von $c(\text{Fe}) = 99 \text{ mmol/l}$ auf $c(\text{Fe}) = 63 \text{ mmol/l}$. Peripher, am Übergang der kortikalen in die medullären Kapillarsysteme, wo kaum noch sichtbares MPI-Signal nachweisbar war, betrug die berechnete Eisenkonzentration $c(\text{Fe}) = 31 \text{ mmol/l}$. Sämtliche Konzentrationen lagen oberhalb der Eisenkonzentration der extern angebrachten Markierungen von $c(\text{Fe}) = 25 \text{ mmol/l}$ (Abb. 15 c, S. 36, horizontale Linie).

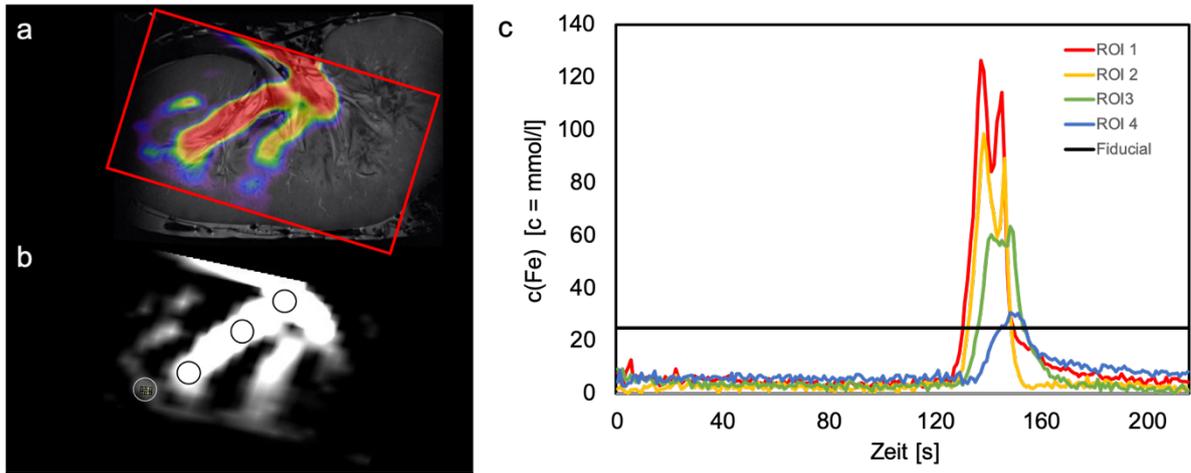


Abbildung 15 Kalkulierte Eisenkonzentration im Gefäßverlauf von zentral nach peripher

(a) Fusion der T2-gewichteten MRT- und MPI-Daten einer Niere mit markierten MPI-FOV (roter Rahmen). (b) Darstellung der Messregionen (Kreise) im Verlauf eines Gefäßes von zentral nach peripher. (c) Kalkulierte Eisenkonzentration in den Messregionen über den zeitlichen Verlauf des Experiments. Als Vergleichswert ist die bekannte Konzentration der von außen auf das Organ angebrachten Markierungen von $c(\text{Fe}) = 25 \text{ mmol/l}$ (horizontale Linie) aufgetragen.

3.6. Gefäßverschluss im MPI

In einem Organ entstand zu Beginn der Messungen ein in der MRA und im MPI sichtbares, einseitiges Perfusionsdefizit (Abb. 16, c und d, S. 36). Es ließ sich kein Perfusionssignal für die das Areal versorgende A. interlobares (Abb. 16, c und d, S. 36, Pfeile) nachweisen. Die zugehörige Kortexregion zeigte sich in der T2-gewichteten MRT hypointens (Abb. 16, c und d, S. 36, Pfeilspitzen). Die im Anschluss an die Messungen erfolgte Sektion zeigte thrombotisches Material in der entsprechenden Interlobararterie.

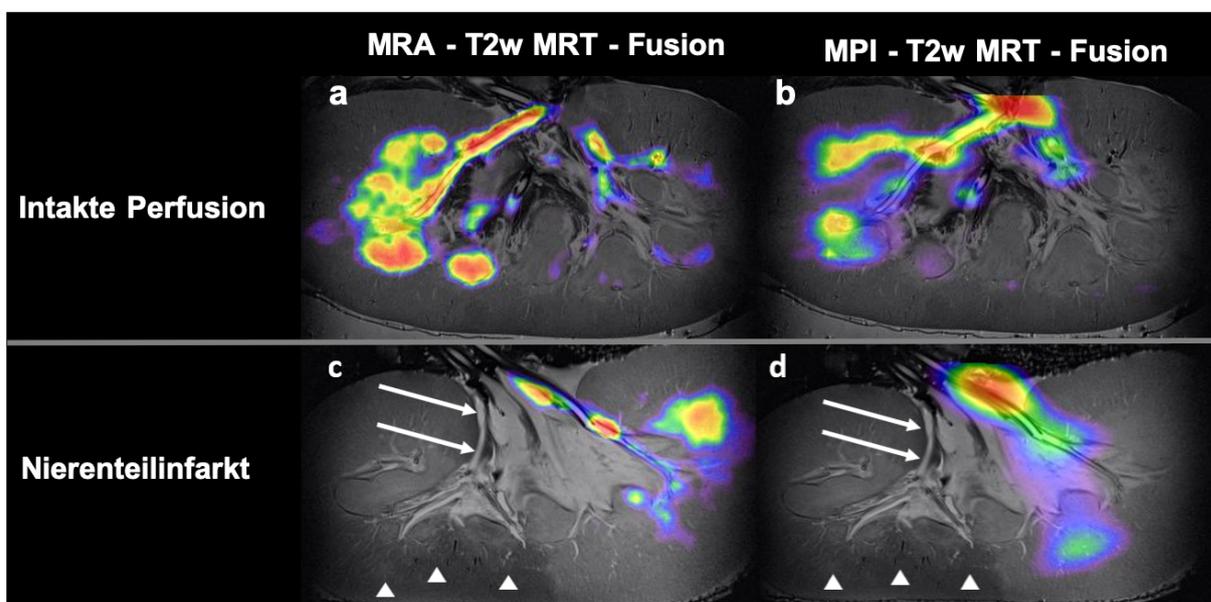


Abbildung 16 Niere ohne Gefäßverschluss sowie Niere mit Verschluss einer Interlobararterie

Links ist die Fusion der T2-gewichteten MRT (T2w MRT) mit der MRA dargestellt, rechts die Fusion der T2-gewichteten MRT mit dem MPI. (a) und (b) Nachweisbares Perfusionssignal über den Interlobararterien und peripher. (c) und (d) Über einer Interlobararterie (weiße Pfeile) sowie peripher dieser lässt sich kein Perfusionssignal beobachten. Das zugehörige Kortexareal stellt sich in der T2-gewichteten Sequenz hypointens dar (Pfeilspitzen).

4. DISKUSSION

4.1. *Ex vivo* Perfusionssystem

Das entwickelte *ex vivo* Perfusionssystem für Schweinenieren zeigte sich geeignet multimodale Angiographien in der DSA, der MRA und im MPI durchzuführen.

Als Hauptvorteil des *ex vivo* Perfusionssystems ist dabei die Möglichkeit anzusehen, dass Organe menschlicher Größe in Kleintierscannern dargestellt werden können. Bei der Verwendung von *ex vivo* perfundierten Organen ist es überdies von Nutzen, Messungen außerhalb physiologischer Grenzwerte bei niedrigen Flussraten und niedrigem Blutdruck durchführen zu können. Dies ermöglicht beispielsweise die Evaluation von bewegungsempfindlichen neuen Bildgebungsmodalitäten oder Sequenzen. Ein weiterer Vorteil ist, dass repetitive Messungen, ohne den Kreislauf, eine Narkose oder die Strahlenexposition von Versuchstieren berücksichtigen zu müssen, möglich sind. Bei der Verwendung von Schlachthoforganen kann darüber hinaus auf Tierversuche verzichtet werden. Entsprechend werden keine Tierversuchsanträge benötigt. Dies ermöglicht kostengünstige Messungen ohne lange organisationsbedingte Vorlaufzeiten. Auch können die Messungen von im Umgang mit Versuchstieren ungeschultem Personal durchgeführt werden.

Die Haupteinschränkung des Systems bestand in der limitierten maximal tolerierten Flussrate, die deutlich unterhalb des physiologischen renalen Blutflusses von 500 bis 550 ml/min lag (Guerci et al. 2017). Weiterhin war der zeitliche Rahmen einer stabilen Perfusion auf drei Stunden beschränkt. Es ist anzunehmen, dass dies auf der Spülung, Kühlung und Perfusion mit physiologischer Kochsalzlösung beruhte, da diese im Vergleich zum Blut durch eine niedrigere Osmolarität und einen niedrigeren kolloidosmotischen Druck charakterisiert ist. Weiterhin enthält physiologische Kochsalzlösung keine Puffersubstanzen oder Energiesubstrate, um die Zellen unter ischämischen Bedingungen zu protegieren. Beides begünstigt Organödeme, wie in der vorliegenden Arbeit durch die Gewichtszunahme der Nieren beobachtet. Ödeme bedingen wiederum steigenden Perfusionswiderstand und niedrigere tolerierte Flussraten (Claesson-Welsh 2015). Für zukünftige Studien kann die Verwendung von HTK- oder UW-Lösung, wie für Leichenspenderorgane in der Transplantationsmedizin empfohlen, erwogen werden (s. 1.3.1. Organkonservierung, S. 15) (Rodriguez Faba et al. 2018). Diese verfügen über Puffersubstanzen und Energiesubstrate sowie konsekutiv höhere Osmolarität (Franz Köhler Chemie GmbH 2014, Bridge to Life Ltd.), wodurch die Entstehung von Organödemem vermindert wird. Die Verwendung von oxygeniertem und dialysiertem Blut stellt eine weitere Alternative dar. In radiologischen Studien wurde dies bisher jedoch nur verwendet, wenn die Zielsetzung der Studie die Darstellung metabolischer Reaktionen im *ex vivo* Organ betraf (Renne et al. 2018) und der physiologische Stoffwechsel erhalten werden musste. Für *ex vivo* Angiographien mit dem

Ziel der Gefäßdarstellung zur Evaluation neuer Bildgebungsmethoden, wie in der vorliegenden Arbeit, erscheint die Verwendung von oxygeniertem und dialysiertem Blut unverhältnismäßig kostenintensiv und aufwendig. Sollten Versuche von über drei Stunden Messdauer notwendig sein, kann die Fixierung der Organe in Formalin erwogen werden. So sind für die Bildgebung an fixierten Organen reproduzierbare Ergebnisse über ein Jahr nach Organentnahme in der Literatur beschrieben (Haberland et al. 2009).

In der Planung weiterer Studien zu berücksichtigen, ist überdies die deutliche Varianz der renalen Gefäßversorgung, die sich auch in den entnommenen Nieren zeigte. Entsprechend hoch ist die einzukalkulierende Anzahl an notwendigen Nephrektomien zur Gewinnung einer ausreichenden Anzahl an Versuchsorganen.

4.2. Multimodale Angiographien

Mit der vorliegenden Arbeit wurde erstmals demonstriert, dass die Darstellung von Organgefäßen innerhalb von *ex vivo* perfundierten Schweinenieren, beispielhaft für Organe menschlicher Größe, nicht nur in etablierten Techniken wie der DSA und der MRA sondern auch mittels MPI-Angiographie möglich ist. Da bislang im *in vivo* Kleintiermodell maximal einzelne zuführende Organgefäße mittels MPI-Angiographie abgebildet werden konnten (Kaul et al. 2017), ist dies ein Schritt hin zur Evaluation der humanen Anwendung von MPI-Angiographien.

Für sämtliche, insbesondere die MPI-Angiographien, limitierend, ist jedoch das partiell bereits in der DSA sowie progredient auch in der MRA und im MPI nicht abgebildete kortikale Perfusionssignal. Als ursächlich kann eine progrediente Minderperfusion der Organe über die Zeit, in erster Linie durch ein progredientes Gewebsödem, angenommen werden. Weiterhin bedingt die Voxelgröße im MPI von $3 \times 3 \times 2 \text{ mm}^3$ eine Schwächung des kapillaren Perfusionssignals über Partialvolumeneffekte durch das umgebende keinen Tracer enthaltene Gewebe. In der MRA ist der Einfluss des durch die Voxelgröße von $0,78 \times 0,78 \times 1 \text{ mm}^3$ bedingten Partialvolumeneffekts auf die kortikale Signalintensität als geringer zu werten. Dies liegt neben der geringeren Voxelgröße darin begründet, dass das verwendete MRT-Kontrastmittel Gadodiamid im Gegensatz zu den MPI-Tracern MM4 und Ferucarbotran in das Interstitium diffundiert, dieses also auch zur Signalgebung beiträgt (Aime und Caravan 2009). Das schwache periphere Signal im MPI könnte überdies auch durch eine Signalgewichtung während Rekonstruktion beeinflusst sein. So werden Voxel mit schwachem MPI-Signal gegenüber Voxeln mit starkem MPI-Signal im Rekonstruktionsprozess bei Verwendung des Kaczmarz-Algorithmus benachteiligt (s. 1.1.6. Vorteile und Limitationen des MPI, S. 11) (Kaul et al. 2019). Im rekonstruierten Bild würde ein möglicherweise vorhandenes schwaches kortikales Signal gegenüber dem Signal

der Voxel, die große Gefäße oder die auch in der DSA und der MRA stark perfundierten, medullären Kapillaren enthalten, eingeschränkt abgebildet.

Die Diskrepanz in der Gefäßanzahl zwischen MRA und MPI wird primär durch die gegenüber der MRA deutlich abfallende Ortsauflösung des MPI von 8 - 10 mm bedingt sein. Auch die im Vergleich zur DSA verschwommene Darstellung der Kapillarsysteme in der MRA ist in erster Linie durch die im Vergleich niedrigere Ortsauflösung der MRA von 1 mm gegenüber < 1 mm in der DSA bedingt. Zusätzlich könnten Signalabschwächungen durch Partialvolumeneffekte und Signalgewichtung in der Rekonstruktion zu einer geringeren Anzahl an nachweisbaren Gefäßen im MPI beitragen.

Bezogen auf die Kalkulation der Eisenkonzentration über die MPI-Signalstärke ist der Effekt einer möglichen Signalgewichtung während der Rekonstruktion ebenfalls zu diskutieren. Die Benachteiligung schwacher MPI-Signale in Nachbarschaft von starken MPI-Signalen betreffe auch die *ex vivo* perfundierten Nieren, die unterschiedlichen Signalintensitäten zentral und peripher aufweisen. Das rekonstruierte MPI-Signal wäre in diesem Fall nicht verlässlich quantitativ zur tatsächlichen Eisenkonzentration in den Messregionen. Die kalkulierten Eisenkonzentration sind entsprechend weniger als absolute Werte vielmehr als orientierende Angaben einzuschätzen.

In der Zusammenschau verdeutlichen die Ergebnisse, weshalb die DSA unverändert als Goldstandard der Angiographie gilt, die MRA als geeignete Alternative für nicht invasive dreidimensionale Angiographien und die MPI-Angiographie als prinzipiell vielversprechende sich jedoch noch in Entwicklung befindliche, präklinische Methode.

4.3. Limitationen

Als Limitation der Studienplanung ist die Anzahl der gescannten Organe von n = 9 zu nennen. Die Validität der Ergebnisse stiege bei einer höheren Anzahl an Messorganen. Für die durchgeführte Auszählung der sichtbaren Gefäße in der MRA und im MPI war eine statistische Analyse der Ergebnisse für die vorliegende Versuchsanzahl und bei nicht normalverteilten Daten nicht möglich. Dies galt entsprechend insbesondere auch für die Untergruppen der mit MM4 und mit Ferucarbotran perfundierten Organe.

Der Fokus in der Studienplanung lag auf den beiden dreidimensionalen und somit unmittelbar vergleichbaren Angiographieverfahren MRA und MPI. Die DSA als lediglich zweidimensionale, jedoch hochauflösende Bildgebung trug ergänzende Informationen zum Gefäßsystem, insbesondere auf Kapillarniveau bei. Nachdem sich in den beiden in der DSA gescannten Organen ein intaktes Gefäßsystem nach Schlachtung, Lagerung und unter der *ex vivo* Perfusion gezeigt hatte, wurde auf die Abbildung weiterer Organe in der DSA verzichtet, um die mit steigenden Zellödemen einhergehende Dauer der Perfusionszeit nicht zu verlängern.

Die in der MRA gegenüber der DSA und dem MPI niedriger gewählte Flussrate, ist ebenfalls als Einschränkung der Vergleichbarkeit zu betrachten. Hintergrund war die gewünschte hohe örtliche und konsekutiv niedrige zeitliche Auflösung von 12,4 s in der MRA, in der dennoch der Ein- und Ausstrom des Kontrastmittels in Gänze dargestellt werden sollte. Für weitere Studien beispielsweise zur genaueren Analyse von Flussprofilen oder Flussraten sollte die Flussrate jedoch in allen untersuchten Modalitäten identisch gewählt werden. Je nach Zielsetzung wäre die Flussrate im MPI und in der DSA niedriger zu wählen oder die zeitliche Auflösung in der MRA, gegebenenfalls auch auf Kosten eines Verlusts an örtlicher Auflösung, anzupassen.

Bei den käuflich erhältlichen und entsprechend in der vorliegenden Arbeit verwendeten MPI-Tracern Ferucarbotran und MM4 handelt es sich um für die MRT beziehungsweise nicht spezifisch für das MPI entwickelte Kontrastmittel. Bei der Verwendung von aktuell noch nicht käuflich erhältlichen, spezifisch für das MPI entwickelten Tracern, wäre eine um das zwei- bis sechsfache höhere örtliche Auflösung gegenüber Ferucarbotran zu erwarten (Ferguson et al. 2013, Ziemian et al. 2018).

Die Abbildung des Gefäßverschlusses in einem Organ ist als exemplarisch zu werten.

Die fehlende histopathologische Aufarbeitung der Organe ist ebenfalls als Einschränkung der Methodik zu nennen. Auf diese wurde verzichtet, da kein unmittelbarer Einfluss auf die Zielsetzung der Studie, die Abbildung der Organperfusion im *ex vivo* Modell im MPI im Vergleich zu etablierten angiographischen Methoden, bestand. Die Quantifizierung eines Organödems unter der *ex vivo* Perfusion sowie die Identifizierung von ischämischen Organarealen könnte jedoch durch eine histopathologische Aufarbeitung zusätzlich validiert werden.

4.4. Schlussfolgerungen

Das entwickelte *ex vivo* Perfusionssystem für Schweinenieren ist für Messungen in der DSA, in der MRA und im MPI geeignet. Weiterentwicklungspotential des Perfusionssystems besteht darin, zukünftig auch physiologische Flussraten *ex vivo* aufrecht zu erhalten und die kortikale kapillare Nierenperfusion über die Messungen hinweg zu erhalten.

Trotz der bestehenden Einschränkungen des Modells, kann dieses dazu verwendet werden, die Perfusion in Organen menschlichen Maßstabs in Kleintierscannern abzubilden. Dies ist insbesondere relevant solange keine MPI-Scanner mit geeigneter Dimensionierung für *in vivo* Angiographien von Lebewesen humanen Maßstabs zur Verfügung stehen. Somit kann das vorgestellte Perfusionssystem dazu dienen, das Potential von humanen MPI-Angiographien abzuschätzen. Die Ergebnisse der MPI-Angiographien können aufgrund der intermodalen Kompatibilität des Systems mittels MRA verifiziert werden.

Die Gefäßdarstellung im MPI ist für Organe im Maßstab der *ex vivo* perfundierten Schweinenieren trotz limitierter örtlicher Auflösung möglich. Zudem lassen sich unterschiedliche MPI-Tracer anhand der Organe und des vorgestellten Perfusionsmodells evaluieren.

Dass sich im Vergleich zu etablierten Bildgebungsmethoden wie der DSA und der MRA im MPI deutlich weniger Gefäße abgrenzen ließen, verdeutlicht jedoch die Notwendigkeit der Weiterentwicklung des MPI und der verwendeten Tracer vor der Translation in die humane Anwendung in der Klinik. So sollten insbesondere die Ortsauflösung, das Messvolumen und die Sensitivität gesteigert werden. Auch die Rekonstruktionsalgorithmen müssen weiterentwickelt werden, um zukünftig auch Areale mit geringerem Tracersignal adäquat abzubilden und die Verlässlichkeit quantitativer Analysen zu gewährleisten. Gelänge es, diese aktuellen Limitationen zu überwinden, verspricht das MPI mit seiner dreidimensionalen hohen zeitlichen Auflösung und der prinzipiellen Möglichkeit zur Eisenquantifizierung der SPIONs, die diagnostische und interventionelle, minimalinvasive Angiographie voranzutreiben.

4.5. Wissenschaftlicher Ausblick

Mit der vorliegenden Arbeit wurde die Basis für weiterführende Studien zur Evaluation von MPI-Angiographien in Organen menschlichen Maßstabes gelegt. Dies betrifft MPI-Tracer, die Abbildung von Gefäßverschlüssen und Stenosen sowie über die erfolgten Versuche hinausgehende Forschungsthemen wie die Erweiterung des MPI-FOV oder angiographische Interventionen im MPI.

So können im Perfusionsmodell wie demonstriert unterschiedliche MPI-Tracer evaluiert werden. Neu entwickelte spezifische MPI-Tracer, die üblicherweise initial im MPS und *in vitro* getestet werden (Ferguson et al. 2013, Ziemian et al. 2018), könnten somit auch *ex vivo* im Organmodell erprobt werden. Dies bietet gegenüber *in vitro* Gefäßphantomen eine realistische Gefäßarchitektur und gegenüber *in vivo* Messungen die Möglichkeit zu unlimitierter Tracerdosierung und exakter Reproduktion der Messungen.

Die Darstellung von Gefäßverschlüssen und die Rekanalisation von Gefäßen, die bisher lediglich am *in vitro* Gefäßphantom erfolgte (Salamon et al. 2016, Herz et al. 2018), stellt ein weiteres Einsatzgebiet des *ex vivo* Perfusionsmodells dar. Ein künstlich generierter Stenosegrad könnte – Rekonstruktionsalgorithmen ohne Signalgewichtung unterschiedlicher MPI-Konzentrationen vorausgesetzt – mit der MPI-Signalstärke korreliert werden (s. 3.5.2. Kalkulierte Eisenpartikelkonzentration, S. 35). Bei bekanntem Stenosegrad könnte so geprüft werden, ob die als mögliches Anwendungsgebiet des MPI genannte Stenosequantifizierung anhand der Stärke des MPI-Signals praktisch umzusetzen ist (Knopp

et al. 2017). Aufgrund der intermodalen Kompatibilität des Modells könnte ferner geprüft werden, ob Stenosen im MPI im Vergleich zur DSA oder zur MRA korrekt ein-, über- oder unterschätzt werden. So ist in Hinblick auf andere Modalitäten beispielsweise für die DCE-Sequenz eine tendenzielle Überschätzung des Stenosegrades gegenüber der DSA für moderate Stenosen beschrieben (Townsend et al. 2003, Nonent et al. 2011).

Bezogen auf die durch den Selektionsfeldgradienten beeinflusste, eingeschränkte Ortsauflösung im MPI und die limitierte Größe des MPI-FOV, kann das *ex vivo* Perfusionssystem dazu dienen, die Verwendung von Fokusfeldern und des Multipatchmodus für Angiographien zu evaluieren. Im Multipatchmodus werden mehrere kleine Patches des Gesamt-FOV nacheinander jeweils mit hohem Selektionsfeldgradienten vermessen. Insgesamt kann somit ein größeres FOV mit höherer Ortsauflösung abgebildet werden (s. 1.1.3. Erweiterung des Messvolumens, S. 7). Jedoch sinkt mit der Anzahl der Patches die zeitliche Auflösung. Mit Hilfe des *ex vivo* Organmodells könnte eine geeignete Balance zwischen zeitlicher Auflösung und Größe des FOV eruiert werden, um den Tracerdurchfluss in allen relevanten Gefäßarealen eines Organs menschlichen Maßstabs in Echtzeit abzubilden.

Weiterhin sind auch Versuche zur Evaluation interventioneller Angiographien im MPI am *ex vivo* Perfusionsphantom denkbar. So wurde für Interventionen im MPI die Technik des Spektralen MPI beschrieben (Rahmer et al. 2015). Im Spektralen MPI wird das Tracersignal im Blutpool und das Signal der mit Tracer beschichteten angiographischen Instrumente farblich differenziert dargestellt (s. 1.1.6. Vorteile und Limitationen des MPI, S.11). Die Verwendung des Spektralen MPI für interventionelle Angiographien ist aktuell jedoch ausschließlich am *in vitro* Gefäßphantom exemplarisch demonstriert worden (Rahmer et al. 2015, Haegele et al. 2016, Rahmer et al. 2017). Dies könnte am *ex vivo* Organmodell, als einem der natürlichen Morphologie ähnelndem Modell, weiter untersucht werden. Ebenfalls bisher lediglich am *in vitro* Phantom demonstriert wurde die Steuerung magnetischen Materials, wie von Interventionskathetern, durch die MPI-Magnetfelder (Rahmer et al. 2017). Ob dies im tatsächlichen Gefäßsystem einsetzbar ist und Vorteile wie beispielsweise eine Verkürzung der Eingriffszeit oder erleichterte Kanülierung bei steilen Gefäßwinkeln für die MPI-Angiographie bietet, könnte am Organmodell realistischer und repetitiv eruiert werden.

5. ZUSAMMENFASSUNG

Einleitung: Das MPI ist eine strahlenfreie Bildgebungsmethode, die aufgrund hoher zeitlicher Auflösung und dreidimensionaler Abbildung des Untersuchungsvolumens als vielversprechend für Angiographien und endovaskuläre Interventionen gilt. Bisher wurden jedoch noch keine Gefäße innerhalb eines Organs mittels MPI dargestellt. Dies liegt daran, dass die Ortsauflösung der vorhandenen, für Angiographien geeigneten, präklinischen MPI-Scanner für Kleintierorgangefäße zu gering ist und die Scanner zu klein für Tiere größeren Maßstabes oder Menschen sind.

Zielsetzung: Ziel der vorliegenden Arbeit war es, ein multimodales, für die DSA, für die MRT und für das MPI kompatibles Perfusionssystem zur *ex vivo* Perfusion von Schweinenieren zu entwickeln, um mit den vorhandenen MPI-Scannern Angiographien innerhalb eines Organs menschlicher Größe durchzuführen. Die MPI-Angiographien sollte mit der MRA als etablierter ebenfalls dreidimensionaler angiographischer Bildgebungstechnik verglichen werden.

Material und Methoden: Es wurde ein für alle Techniken kompatibles *ex vivo* Perfusionssystem für Schweinenieren entwickelt und anhand von zehn Nieren evaluiert. Neun weitere Nieren wurden mittels der beiden dreidimensionalen Bildgebungsmodalitäten MRA und MPI abgebildet. Zwei dieser Nieren wurden zusätzlich auch in der DSA dargestellt, um exemplarisch den Erhalt des Gefäßsystems unter der *ex vivo* Perfusion zu prüfen. Im MPI wurden zwei unterschiedliche Tracer evaluiert. Die Anzahl an sichtbaren Organgefäßen in der MR- im Vergleich zur MPI-Angiographie wurde von zwei Beobachtern bestimmt. Die zum MPI-Signal potenziell quantitative Eisenkonzentration der MPI-Tracer innerhalb des Verlaufs eines Organgefäßes wurde kalkuliert.

Ergebnisse: Das entwickelte Modell erlaubte die stabile *ex vivo* Perfusion von Schweinenieren für bis zu drei Stunden. Mittels DSA konnte demonstriert werden, dass sich das Gefäßsystem unter der *ex vivo* Perfusion weitestgehend erhalten zeigte. Neben der DSA und der MRA gelang erstmals auch im MPI die Abbildung einzelner Organgefäße. Dabei bildete das MPI in etwa ein Drittel der in der MRA sichtbaren Gefäße ab. Es zeigte sich keine relevante Differenz in der Gefäßdarstellung zwischen beiden evaluierten MPI-Tracern. Die Quantifizierung der Eisendistribution im Organ sowie die Darstellung eines akzidentellen Gefäßverschlusses im MPI war prinzipiell möglich.

Schlussfolgerung: Das vorgestellte *ex vivo* Organperfusionssystem erlaubt die Untersuchung von Schweinenieren als Beispiel für Organe humaner Größe im MPI trotz bestehender Restriktionen der für Angiographien geeigneten, verfügbaren MPI-Scanner. Dadurch kann das Potential des MPI für humane Angiographien evaluiert werden. Konkret sind unter anderem die Evaluation von MPI-Tracern, die prinzipielle Eisenquantifizierung der

injizierten Tracer und die Darstellung von Gefäßverschlüssen innerhalb eines Organs im MPI möglich.

Introduction: MPI is a promising radiation-free imaging technique for angiography and endovascular interventions due to its ability to produce three-dimensional, high temporal resolution images. At this time, however, MPI is not being used to image the vasculature of specific organs. This is due to the fact that the only MPI scanners currently available are employed in the pre-clinical setting, in conjunction with small-animal models; the spatial resolution of such scanners is not yet sufficient for larger animal or human models.

Purpose: To develop an *ex vivo* perfusion system compatible to the available MPI scanners, DSA, and MRA on a porcine kidney model, as an organ system similar in size to its human counterpart, and to compare the results of the MPI to MRA, as established three-dimensional angiographic imaging technique.

Material and Method: A DSA, MRA and MPI compatible *ex vivo* perfusion system was developed for porcine kidneys and evaluated in ten kidneys. Following preliminary evaluation of the perfusion system, nine further kidneys were imaged with both MRA and MPI as three-dimensional imaging methods. Two of these were also imaged with DSA, as high spatial resolution imaging method, to verify the presence of intact renal capillary systems during *ex vivo* perfusion. For MPI, two different tracers were evaluated. The number of visible organ vessels in MRA and MPI were determined by two observers and the two techniques were compared. As the MPI signal is potentially able to quantify the iron concentration of the injected MPI tracers, the iron concentration within an organ vessel was calculated.

Results: The developed perfusion system allowed for the stable *ex vivo* perfusion of porcine kidneys for up to three hours. The overall intact capillary structure of the *ex vivo*-perfused kidneys was demonstrated by DSA. Imaging of organ vessels was not only feasible with DSA and MRA, but also with MPI. The comparison of both three-dimensional imaging techniques found that MPI was able to capture approximately one third of the organ vessels visualized by MRA. There was no relevant difference between the MPI tracers with regards to the number of displayed vessels. Quantification of iron distribution was also feasible. Furthermore, vascular occlusion, accidentally occurring in one organ, could be depicted by MPI.

Conclusion: An *ex vivo* organ perfusion system is presented that allows for the examination of porcine kidney vessel perfusion with the use of the currently available small-animal MPI scanners. Due to their similarity in size to human kidneys, the potential for MPI-based angiography in patients can thus be evaluated. This includes in particular the evaluation of MPI tracers, the quantification of organ iron concentration, as well as the imaging of vascular occlusions.

6. ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

A.	Arteria, lateinisch für Arterie
Aa.	Arteriae, lateinisch für Arterien
AMP	Adenosinmonophosphat
ATP	Adenosintriphosphat
DCE	Dynamische kontrastmittelverstärkte Sequenz
DSA	Digitale Subtraktionsangiographie
f^E	Anregungsfeldfrequenz
FFP	Feldfreier Punkt
FOV	Field of view = Messfeld
HTK-Lösung	Histidin-Tryptophan-Ketoglutarat Präservationslösung
ebd.	ebendort, als Verweis auf die vorherige Quellenangabe
MPS	Magnetisches Partikelspektrometer
MRA	Magnetresonanzangiographie
MRT	Magnetresonanztomographie
PNS	Periphere Nervenstimulation
RES	Retikuloendotheliales System
ROI	Region of Interest, englisch für Messregion
s.	siehe
S.	Seite
SAR	Spezifische Absorptionsrate
SNR	Signal-to-noise ratio, englisch für Signal-Rausch-Verhältnis
$mT\mu_0$	Mikrotesla
μ_0T/m	Mikrotesla pro Meter
TSE-Sequenz	Turbo-Spin-Echo-Sequenz
T^R	Repetitionszeit
UW-Lösung	University of Wisconsin Präservationslösung

7. ABBILDUNGS- UND TABELLENVERZEICHNIS

Abbildung 1	Verwendeter MPI-Scanner, Koordinatensystem der Magnetfelder und Spulenaufbau.....	1
Abbildung 2	Partikelmagnetisierung und induziertes Signal.....	3
Abbildung 3	Lissajous-Trajektorie in 2-D und 3-D.....	5
Abbildung 4	Selektionsfeldspulenpaar und FFP.....	6
Abbildung 5	Einfluss des relativen Regularisierungsparameters λ auf das MPI-Bild....	9
Abbildung 6	Graphische Darstellung der Organgewinnung und Präparation.....	20
Abbildung 7	Aufbau des <i>ex vivo</i> Perfusionssystems.....	22
Abbildung 8	Übersicht aller verwendeten Organe.....	24
Abbildung 9	Nierenabbildung in T2*-gewichteter GE-Sequenz sowie T2-gewichteter TSE-Sequenz.....	27
Abbildung 10	Einstellung der MPI-Tischposition und des MPI-Tischvorschubs am Styroporphantom.....	28
Abbildung 11	DSA sowie Ankunftszeitkarte einer Niere.....	32
Abbildung 12	MRA, T2-gewichtete MRT, MRT-MRA-Fusionsbildung sowie Ankunftszeitkarte.....	33
Abbildung 13	MPI-Angiographie, MPI-MRT-Fusionsbild und Ankunftszeitkarte.....	34
Abbildung 14	Visuell ermittelte Anzahl von Gefäßen in der MRA und im MPI.....	35
Abbildung 15	Eisenkonzentration im Gefäßverlauf von zentral nach peripher.....	36
Abbildung 16	Niere ohne Gefäßverschluss sowie Niere mit Verschluss in einer Interlobararterie.....	36
Tabelle 1	Messparameter DSA, MRA und MPI.....	30

8. LITERATURVERZEICHNIS

Agarwal A, Murdock P, Fridell JA (2006) Comparison of histidine-tryptophan ketoglutarate solution and University of Wisconsin solution in prolonged cold preservation of kidney allografts. *Transplantation* 81(3):480-482.

Aime S, Caravan P (2009) Biodistribution of gadolinium-based contrast agents, including gadolinium deposition. *J Magn Reson Imaging* 30(6):1259-67.

Albanese A, Tang PS, Chan WC (2012) The effect of nanoparticle size, shape, and surface chemistry on biological systems. *Annu Rev Biomed Eng* 14:1-16.

Arami H, Teeman E, Troksa A, Bradshaw H, Saatchi K, Tomitaka A, Gambhir SS, Hafeli UO, Liggitt D, Krishnan KM (2017) Tomographic magnetic particle imaging of cancer targeted nanoparticles. *Nanoscale* 9(47):18723-18730.

Bayer Schering Pharma(2007) Fachinformation (Zusammenfassung der Merkmale des Arzneimittels (SPC)). Leverkusen [Online] <http://www.pharmazie.com/graphic/A/42/1-24242.pdf>: [Stand 06.05.2016].

Bezanson J, Edelman A, Karpinski S, Shah VB (2017) Julia: A Fresh Approach to Numerical Computing. *SIAM Review* 59(1):65-98.

Bottinor W, Polkampally P, Jovin I (2013) Adverse reactions to iodinated contrast media. *Int J Angiol* 22(3):149-154.

Bridge to Life Ltd.Gebrauchsanleitung Belzer UW® Lösung zur Kaltlagerung. London [Online] <https://bridgetolife.eu/wp-content/uploads/deutsch-belzer-uw-cold-storage-solution-instructions-04-16-18.pdf>: [Stand 15.04.2019].

Buchs JB, Buehler L, Moll S, Ruttimann R, Nastasi A, Kasten J, Morel P, Lazeyras F (2014) DCD pigs' kidneys analyzed by MRI to assess ex vivo their viability. *Transplantation* 97(2):148-153.

Claesson-Welsh L (2015) Vascular permeability--the essentials. *Ups J Med Sci* 120(3):135-143.

Closa D, Folch-Puy E (2004) Oxygen free radicals and the systemic inflammatory response. *IUBMB Life* 56(4):185-191.

Croft LR, Goodwill PW, Konkle JJ, Arami H, Price DA, Li AX, Saritas EU, Conolly SM (2016) Low drive field amplitude for improved image resolution in magnetic particle imaging. *Med Phys* 43(1):424-435.

Dalal R, Sehdev JS StatPearls Publishing (2019) Physiology, Renal, Blood Flow and Filtration. Treasure Island [Online] <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29489242>: [Stand 15.04.2019].

Faraday M (1832) Experimental Researches in Electricity. *Phil. Trans. R. Soc. Lond.*:125-162.

Ferguson RM, Khandhar AP, Arami H, Hua L, Hovorka O, Krishnan KM (2013) Tailoring the magnetic and pharmacokinetic properties of iron oxide magnetic particle imaging tracers. *Biomed Tech (Berl)* 58(6):493-507.

Ferguson RM, Khandhar AP, Kemp SJ, Arami H, Saritas EU, Croft LR, Konkle J, Goodwill PW, Halkola A, Rahmer J, Borgert J, Conolly SM, Krishnan KM (2015) Magnetic particle imaging with tailored iron oxide nanoparticle tracers. *IEEE Trans Med Imaging* 34(5):1077-1084.

Ferguson RM, Khandhar AP, Krishnan KM (2012) Tracer design for magnetic particle imaging (invited). *J Appl Phys* 111(7):1-5.

Figueiredo G, Brockmann C, Boll H, Heilmann M, Schambach SJ, Fiebig T, Kramer M, Groden C, Brockmann MA (2012) Comparison of digital subtraction angiography, micro-computed tomography angiography and magnetic resonance angiography in the assessment of the cerebrovascular system in live mice. *Clin Neuroradiol* 22(1):21-8.

Forschungsgemeinschaft D WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA (2013) Vorschläge zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis. Weinheim [Online] https://www.dfg.de/download/pdf/dfg_im_profil/reden_stellungnahmen/download/empfehlung_wiss_praxis_1310.pdf: [Stand 01.06.2019 2019].

Franz Köhler Chemie GmbH(2014) CUSTODIOL®-Perfusionslösung Packungsbeilage. Wien [Online] <http://www.pharmazie.com/graphic/A/42/1-20642.pdf>: [Stand 28.06.2016].

Fritsch H, Kühnel W, Leonardt H, Spitzer G, Spitzer S. (2005) Taschenatlas der Anatomie: Innere Organe, 9. Auflage, Band 2, Georg Thieme Verlag, Stuttgart:451.

Gleich B, Weizenecker J (2005) Tomographic imaging using the nonlinear response of magnetic particles. *Nature* 435(7046):1214-1217.

Gleich B, Weizenecker J, Timminger H, Bontus C (2010) Fast MPI Demonstrator with Enlarged Field of View. Int. Society for Magnetic Resonance in Medicine, 01.-07.05.2010 Stockholm, 18:218.

Goodwill PW, Conolly SM (2010) The X-space formulation of the magnetic particle imaging process: 1-D signal, resolution, bandwidth, SNR, SAR, and magnetostimulation. IEEE Trans Med Imaging 29(11):1851-1859.

Goodwill PW, Croft LR, Konkle JJ, Lu K, Saritas EU, Zheng B, Conolly SM (2013) A 7 T/M 3D X-space MPI mouse and rat scanner. IWMPPI, 23.03.-24.03.2013 Berkeley. IEEE

Graeser M, Knopp T, Szwargulski P, Friedrich T, Von Gladiss A, Kaul M, Krishnan KM, Ittrich H, Adam G, Buzug TM (2017) Towards Picogram Detection of Superparamagnetic Iron-Oxide Particles Using a Gradiometric Receive Coil. Sci Rep 7(1):1-13.

Graeser M, Thieben F, Szwargulski P, Werner F, Gdaniec N, Boberg M, Griese F, Moddel M, Ludewig P, Van De Ven D, Weber OM, Woywode O, Gleich B, Knopp T (2019) Human-sized magnetic particle imaging for brain applications. Nat Commun 10(1):1936.

Grimsehl E, Schallreuter W, Gradewald R. (1988) Grimsehl Lehrbuch der Physik - Elektrizitätslehre, 21. Auflage, Band 2, Springer Fachmedien Wiesbaden GmbH, Leipzig:348.

Grist TM, Mistretta CA, Strother CM, Turski PA (2012) Time-resolved angiography: Past, present, and future. J Magn Reson Imaging 36(6):1273-86.

Gruttner M, Knopp T, Franke J, Heidenreich M, Rahmer J, Halkola A, Kaethner C, Borgert J, Buzug TM (2013) On the formulation of the image reconstruction problem in magnetic particle imaging. Biomed Tech (Berl) 58(6):583-591.

Guerci P, Ergin B, Ince C (2017) The macro- and microcirculation of the kidney. Best Pract Res Clin Anaesthesiol 31(3):315-329.

Guibert EE, Petrenko AY, Balaban CL, Somov AY, Rodriguez JV, Fuller BJ (2011) Organ Preservation: Current Concepts and New Strategies for the Next Decade. Transfus Med Hemother 38(2):125-142.

Haberland U, Cordes J, Lell M, Abolmaali N, Klotz E (2009) A biological phantom for contrast-media-based perfusion studies with CT. Invest Radiol 44(10):676-682.

Haegeler J, Vaalma S, Panagiotopoulos N, Barkhausen J, Vogt FM, Borgert J, Rahmer J (2016) Multi-color magnetic particle imaging for cardiovascular interventions. Phys Med Biol 61(16):415-426.

- Halazun KJ, Al-Mukhtar A, Aldouri A, Willis S, Ahmad N (2007) Warm ischemia in transplantation: search for a consensus definition. *Transplant Proc* 39(5):1329-31.
- Havsteen I, Ohlhues A, Madsen KH, Nybing JD, Christensen H, Christensen A (2017) Are Movement Artifacts in Magnetic Resonance Imaging a Real Problem?-A Narrative Review. *Front Neurol* 8:1-8.
- Herz S, Vogel P, Dietrich P, Kampf T, Ruckert MA, Kickuth R, Behr VC, Bley TA (2018) Magnetic Particle Imaging Guided Real-Time Percutaneous Transluminal Angioplasty in a Phantom Model. *Cardiovasc Intervent Radiol* 41(7):1100-1105.
- Hick C, Hick A, Jockenhövel F, Merker R. (2013) *Kurzlehrbuch Physiologie*, 7. Auflage, Elsevier GmbH, München:515.
- Hong H, Lim J, Choi CJ, Shin SW, Krause HJ (2014) Magnetic particle imaging with a planar frequency mixing magnetic detection scanner. *Rev Sci Instrum* 85(1):013705.
- Issa B, Obaidat IM, Albiss BA, Haik Y (2013) Magnetic nanoparticles: surface effects and properties related to biomedicine applications. *Int J Mol Sci* 14(11):21266-21305.
- Kaul MG (2014) DicomSort'n>Select und qMapIt, ImageJ-plugins, für eine quantitative multi-parametrische Analyse von DICOM Daten. 95. Deutscher Röntgenkongress, 28.05.-31.05.2014 Hamburg. *Fortschr Röntgenstr*, 186(S01):1.
- Kaul MG, Mummert T, Jung C, Salamon J, Khandhar AP, Ferguson RM, Kemp SJ, Ittrich H, Krishnan KM, Adam G, Knopp T (2017) In vitro and in vivo comparison of a tailored magnetic particle imaging blood pool tracer with Resovist. *Phys Med Biol* 62(9):3454-3469.
- Kaul MG, Mummert T, Salamon J, Jung C, Graeser M, Knopp T, Adam G, Ittrich H (2019) Sub-second bolus injection for increasing local sensitivity during the first pass of magnetic particle imaging. *IWMPI*, 17.03.-19.03.2019 New York. *IEEE*:1-2.
- Kaul MG, Salamon J, Knopp T, Ittrich H, Adam G, Weller H, Jung C (2018) Magnetic particle imaging for in vivo blood flow velocity measurements in mice. *Phys Med Biol* 63(6):1-12.
- Keselman P, Yu EY, Zhou XY, Goodwill PW, Chandrasekharan P, Ferguson RM, Khandhar AP, Kemp SJ, Krishnan KM, Zheng B, Conolly SM (2017) Tracking short-term biodistribution and long-term clearance of SPIO tracers in magnetic particle imaging. *Phys Med Biol* 62(9):3440-3453.
- Khandhar AP, Ferguson RM, Arami H, Krishnan KM (2013) Monodisperse magnetite nanoparticle tracers for in vivo magnetic particle imaging. *Biomaterials* 34(15):3837-3845.

- Klingebl R, Kentenich M, Bauknecht HC, Masuhr F, Siebert E, Busch M, Bohner G (2008) Comparative evaluation of 64-slice CT angiography and digital subtraction angiography in assessing the cervicocranial vasculature. *Vasc Health Risk Manag* 4(4):901-907.
- Knekt P, Reunanen A, Takkunen H, Aromaa A, Heliovaara M, Hakulinen T (1994) Body iron stores and risk of cancer. *Int J Cancer* 56(3):379-82.
- Knopp T, Biederer S, Sattel T, Weizenecker J, Gleich B, Borgert J, Buzug TM (2009) Trajectory analysis for magnetic particle imaging. *Phys Med Biol* 54(2):385-97.
- Knopp T, Buzug TM. (2012) *Magnetic Particle Imaging: An Introduction to Imaging Principles and Scanner Instrumentation*, Springer-Verlag GmbH, Heidelberg:204.
- Knopp T, Gdaniec N, Moddel M (2017) Magnetic particle imaging: from proof of principle to preclinical applications. *Phys Med Biol* 62(14):124-178.
- Knopp T, Szwargulski P, Griese F, Grosser M, Boberg M, Möddel M (2019) MPIReco.jl: Julia Package for Image Reconstruction in MPI. *International Journal on Magnetic Particle Imaging* 5(1)
- Knopp T, Weber A (2015) Local System Matrix Compression for Efficient Reconstruction in Magnetic Particle Imaging. *Advances in Mathematical Physics* 2015:1-7.
- Kohgo Y, Ikuta K, Ohtake T, Torimoto Y, Kato J (2008) Body iron metabolism and pathophysiology of iron overload. *Int J Hematol* 88(1):7-15.
- Kolhatkar AG, Jamison AC, Litvinov D, Willson RC, Lee TR (2013) Tuning the magnetic properties of nanoparticles. *Int J Mol Sci* 14(8):15977-16009.
- Löffler G, Petrides PE, Weiss L. (1988) *Physiologische Chemie*, 4. Auflage, Springer-Verlag GmbH, Heidelberg:1086.
- Ludewig P, Gdaniec N, Sedlacik J, Forkert ND, Szwargulski P, Graeser M, Adam G, Kaul MG, Krishnan KM, Ferguson RM, Khandhar AP, Walczak P, Fiehler J, Thomalla G, Gerloff C, Knopp T, Magnus T (2017) Magnetic Particle Imaging for Real-Time Perfusion Imaging in Acute Stroke. *ACS Nano* 11(10):10480-10488.
- Mistretta CA, Oberstar E, Davis B, Brodsky E, Strother CM (2010) 4D-DSA and 4D fluoroscopy: preliminary implementation. *SPIE Medical Imaging*, San Diego, California, US. *Medical Imaging 2010: Physics of Medical Imaging*, 7622

Molwitz I, Ittrich H, Knopp T, Mummert T, Salamon J, Jung C, Adam G, Kaul MG (2019) First magnetic particle imaging angiography in human sized organs by employing a multimodal *ex vivo* pig kidney perfusion system. *Physiol Meas*

Mortimer CE, Müller U. (2010) *Chemie: Das Basiswissen der Chemie* 10. Auflage, Georg Thieme Verlag KG, Stuttgart:779.

Motoyama S, Ito H, Sarai M, Nagahara Y, Miyajima K, Matsumoto R, Doi Y, Kataoka Y, Takahashi H, Ozaki Y, Toyama H, Katada K (2018) Ultra-High-Resolution Computed Tomography Angiography for Assessment of Coronary Artery Stenosis. *Circ J* 82(7):1844-1851.

Nejadnik H, Pandit P, Lenkov O, Lahiji AP, Yerneni K, Daldrup-Link HE (2018) Ferumoxitol Can Be Used for Quantitative Magnetic Particle Imaging of Transplanted Stem Cells. *Mol Imaging Biol. Keiner Ausgabe zugeordnet*:1-7.

Nonent M, Ben Salem D, Serfaty JM, Buthion V, Pasco-Papon A, Rotaru C, Bressollette L, Papon X, Pachai C, Fortrat JO, Gouny P, Badra A, Berge J, Le Bras Y, Cottier JP, Gauvrit JY, Douek P (2011) Overestimation of moderate carotid stenosis assessed by both Doppler US and contrast enhanced 3D-MR angiography in the CARMEDAS study. *J Neuroradiol* 38(3):148-155.

Onishi H, Murakami T, Kim T, Hori M, Hirohashi S, Matsuki M, Narumi Y, Imai Y, Sakurai K, Nakamura H (2009) Safety of ferucarbotran in MR imaging of the liver: a pre- and postexamination questionnaire-based multicenter investigation. *J Magn Reson Imaging* 29(1):106-11.

Panagiotopoulos N, Duschka RL, Ahlborg M, Bringout G, Debbeler C, Graeser M, Kaethner C, Ludtke-Buzug K, Medimagh H, Stelzner J, Buzug TM, Barkhausen J, Vogt FM, Haegele J (2015) Magnetic particle imaging: current developments and future directions. *Int J Nanomedicine* 10:3097-3114.

Paysen H, Wells J, Kosch O, Steinhoff U (2017) Towards quantitative magnetic particle imaging: A comparison with magnetic particle spectroscopy. *AIP Advances* 8(5):1-5.

Pelgrim GJ, Das M, Haberland U, Slump C, Handayani A, Van Tuijl S, Stijnen M, Klotz E, Oudkerk M, Wildberger JE, Vliegenthart R (2015) Development of an Ex Vivo, Beating Heart Model for CT Myocardial Perfusion. *Biomed Res Int* 2015:1-8.

Pelgrim GJ, Das M, Van Tuijl S, Van Assen M, Prinzen FW, Stijnen M, Oudkerk M, Wildberger JE, Vliegenthart R (2017) Validation of myocardial perfusion quantification by dynamic CT in an ex-vivo porcine heart model. *Int J Cardiovasc Imaging* 33(11):1821-1830.

- Rahmer J, Halkola A, Gleich B, Schmale I, Borgert J (2015) First experimental evidence of the feasibility of multi-color magnetic particle imaging. *Phys Med Biol* 60(5):1775-1791.
- Rahmer J, Weizenecker J, Gleich B, Borgert J (2009) Signal encoding in magnetic particle imaging: properties of the system function. *BMC Med Imaging* 9(4):1-21.
- Rahmer J, Wirtz D, Bontus C, Borgert J, Gleich B (2017) Interactive Magnetic Catheter Steering With 3-D Real-Time Feedback Using Multi-Color Magnetic Particle Imaging. *IEEE Trans Med Imaging* 36(7):1449-1456.
- Rauwerdink AM, Giustini AJ, Weaver JB (2010) Simultaneous quantification of multiple magnetic nanoparticles. *Nanotechnology* 21(45):1-5.
- Renne J, Gutberlet M, Voskrebenezov A, Kern A, Kaireit T, Hinrichs J, Zardo P, Warnecke G, Kruger M, Braubach P, Jonigk D, Haverich A, Wacker F, Vogel-Claussen J, Zinne N (2018) Multiparametric MRI for organ quality assessment in a porcine Ex-Vivo lung perfusion system. *PLoS One* 13(12):1-16.
- Rodriguez Faba O, Boissier R, Budde K, Figueiredo A, Taylor CF, Hevia V, Lledo Garcia E, Regele H, Zakri RH, Olsburgh J, Breda A (2018) European Association of Urology Guidelines on Renal Transplantation: Update 2018. *Eur Urol Focus* 4(2):208-215.
- Salamon J, Hofmann M, Jung C, Kaul MG, Werner F, Them K, Reimer R, Nielsen P, Vom Scheidt A, Adam G, Knopp T, Ittrich H (2016) Magnetic Particle / Magnetic Resonance Imaging: In-Vitro MPI-Guided Real Time Catheter Tracking and 4D Angioplasty Using a Road Map and Blood Pool Tracer Approach. *PLoS One* 11(6):1-14.
- Sandoval-Garcia C, Royalty K, Yang P, Niemann D, Ahmed A, Aagaard-Kienitz B, Baskaya MK, Schafer S, Strother C (2016) 4D DSA a new technique for arteriovenous malformation evaluation: a feasibility study. *J Neurointerv Surg* 8(3):300-4.
- Sarin H (2010) Physiologic upper limits of pore size of different blood capillary types and another perspective on the dual pore theory of microvascular permeability. *J Angiogenes Res* 2(14):1-19.
- Saritas EU, Goodwill PW, Zhang GZ, Conolly SM (2013) Magnetostimulation limits in magnetic particle imaging. *IEEE Trans Med Imaging* 32(9):1600-1610.
- Sattel TF, Knopp T, Biederer S, Gleich B, Weizenecker J, Borgert J, Buzug TM (2009) Single-sided device for magnetic particle imaging. *J Appl Phys* 42(2):1-5.

Savioz D, Jeanjacquot A, Savioz M, Ludwig C, Chilcott M, Bolle JF, Graf JD, Nastasi A, Morel P (1999) Optimization of the kinetics of cooling of kidneys: a pig model. *Eur Surg Res* 31(1):3-8.

Schmale I, Gleich B, Schmidt JD, Rahmer J, Bontus C, Eckart R, David B, Heinrich M, Mende O, Woywode O, Jokram J, Borgert J (2013) Human PNS and SAR study in the frequency range from 24 to 162 kHz. *IWMPI*, 23.03.-24.03.2013 Berkeley. *IEEE*:1.

Schmidt R.F., Lang F., M. H. (2010) *Physiologie des Menschen: mit Pathophysiologie*, Springer-Verlag GmbH, Heidelberg:979.

Szwargulski P, Knopp T (2017) Influence of the Receive Channel Number on the Spatial Resolution in Magnetic Particle Imaging. *International Journal on Magnetic Particle Imaging* 3(1):1-7.

Thompson SM, Ramirez-Giraldo JC, Knudsen B, Grande JP, Christner JA, Xu M, Woodrum DA, Mccollough CH, Callstrom MR (2011) Porcine ex vivo liver phantom for dynamic contrast-enhanced computed tomography: development and initial results. *Invest Radiol* 46(9):586-593.

Toennies KD, Oishi S, Koster D, Gerhard S (1997) Accuracy of distance measurements in biplane angiography. *SPIE: Medical Imaging*, 07.05.1997 Newport Beach, CA 3031:12.

Townsend TC, Saloner D, Pan XM, Rapp JH (2003) Contrast material-enhanced MRA overestimates severity of carotid stenosis, compared with 3D time-of-flight MRA. *J Vasc Surg* 38(1):36-40.

Vogel P, Rückert M, Jakob PM, Behr VC (2015) MPI—Initial Experiments With an Ultrahigh Resolution MPI. *IEEE Trans Magn.* 51(2):1-4.

Weizenecker J, Borgert J, Gleich B (2007) A simulation study on the resolution and sensitivity of magnetic particle imaging. *Phys Med Biol* 52(21):6363-6374.

Weizenecker J, Gleich B, Rahmer J, Borgert J (2012) Micro-magnetic simulation study on the magnetic particle imaging performance of anisotropic mono-domain particles. *Phys Med Biol* 57(22):7317-7327.

Weizenecker J, Gleich B, Rahmer J, Dahnke H, Borgert J (2009) Three-dimensional real-time in vivo magnetic particle imaging. *Phys Med Biol* 54(5):L1-L10.

Wheaton AJ, Miyazaki M (2012) Non-contrast enhanced MR angiography: physical principles. *J Magn Reson Imaging* 36(2):286-304.

Zheng B, Von See MP, Yu E, Gunel B, Lu K, Vazin T, Schaffer DV, Goodwill PW, Conolly SM (2016) Quantitative Magnetic Particle Imaging Monitors the Transplantation, Biodistribution, and Clearance of Stem Cells In Vivo. *Theranostics* 6(3):291-301.

Zhou XY, Jeffris KE, Yu EY, Zheng B, Goodwill PW, Nahid P, Conolly SM (2017) First in vivo magnetic particle imaging of lung perfusion in rats. *Phys Med Biol* 62(9):3510-3522.

Ziemian S, Lowa N, Kosch O, Bajj D, Wiekhorst F, Schutz G (2018) Optimization of Iron Oxide Tracer Synthesis for Magnetic Particle Imaging. *Nanomaterials (Basel)* 8(4):1-13.

9. DANKSAGUNG

Herrn Prof. Dr. Gerhard Adam danke ich herzlich für die freundliche Integration in die MPI-Forschungsgruppe, die Beratung in der Gestaltung der Publikation sowie die Bereitstellung sämtlicher Ressourcen.

Herrn Professor Dr. Ittrich danke ich sehr für seine raschen Rückmeldungen, positiven Anregungen und die Unterstützung in der Erstellung der Publikation und Promotionsschrift.

Mein Dank gilt insbesondere auch Herrn Dr. Michael Kaul für die Ideengebung des Promotionsthemas, die Einarbeitung am MRT und am MPI und die kontinuierliche Betreuung während des Projektes.

In dieser Hinsicht danke ich auch Herrn PD Dr. Salamon für die Betreuung der Promotion.

Mein herzlicher Dank gilt der MPI-Forschungsgruppe!

Namentlich möchte ich insbesondere Herrn Professor Dr. Knopp für die rasche und fundierte technische und IT-Unterstützung sowie sein motivierendes Feedback danken.

Außerdem danke ich Herrn Szwargulski für die gemeinsamen Gespräche zu den technischen Hintergründen und die Revision der Promotionsschrift.

Herrn Mummert danke ich für die praktische Unterstützung während der Messungen.

Frau Bettina Kroeger von bk4design danke ich herzlich für die gemeinsame Erstellung der Abbildungen 6 und 7.

Von Herzen danke ich auch meiner Familie und meinen Freunden für ihren Rat, ihr Verständnis und ihre Unterstützung, insbesondere meiner Tante Frau Kristina Liehr und meiner Mutter Frau Dr. Claudia Liehr-Molwitz für die kritische Revision der Promotionsschrift.

10. LEBENSLAUF

Der Lebenslauf wurde aus datenschutzrechtlichen Gründen entfernt.

11. EIDESSTATTLICHE ERKLÄRUNG

Ich versichere ausdrücklich, dass ich die Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe verfasst, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen einzeln nach Ausgabe (Auflage und Jahr des Erscheinens), Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe.

Ferner versichere ich, dass ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe.

Ich erkläre mich einverstanden, dass meine Dissertation vom Dekanat der Medizinischen Fakultät mit einer gängigen Software zur Erkennung von Plagiaten überprüft werden kann.

Unterschrift:

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'J. Mohr', is written over a horizontal dotted line.