

Radiologische Klinik  
Abteilung für Diagnostische und Interventionelle Radiologie  
Direktor Univ.-Prof. Dr. med. A. Bücken, M.Sc.  
Fachbereich 2 (Klinische Medizin)  
der Universität des Saarlandes  
Homburg / Saar

Etablierung unterschiedlicher Untersuchungstechniken für die  
Magnetresonanztomographie der Leber bei 9,4 Tesla  
am Tiermodell der Ratte

**DISSERTATION ZUR ERLANGUNG DES GRADES  
EINES DOKTORS DER MEDIZIN**  
der medizinischen Fakultät der  
Universität des Saarlandes  
2013

vorgelegt von  
Kathrin Matthes  
geb.: 11.12.1986 in Rüsselsheim

***Meiner Familie in Liebe gewidmet***

## 1. Inhaltsverzeichnis

<b>1. Inhaltsverzeichnis</b>	<b>1</b>
<b>2. Abkürzungsverzeichnis</b>	<b>4</b>
<b>3. Zusammenfassung</b>	<b>6</b>
<b>4. Abstract</b>	<b>8</b>
<b>5. Einleitung</b>	<b>10</b>
5.1. Fragestellung	10
5.2. Grundlagen der Magnetresonanztomographie	11
5.2.1. T1-Relaxationszeit	12
5.2.2. T2-Relaxationszeit	13
5.2.3. T2*-Relaxationszeit	14
5.2.4. Gewebespezifische Relaxationsparameter und deren Messung	14
5.2.5. Ultrahochfeld Magnetresonanztomographie	15
5.3. MR-Bildgebung der Leber	17
5.3.1. Lebergewebe	17
5.3.2. Tumoren der Leber	18
5.3.3. Kontrastmitteluntersuchungen der Leber	20
<b>6. Material und Methodik</b>	<b>23</b>
6.1. Experimentelle Magnetresonanztomographie	23
6.1.1. MR-Tomograph und Software	23
6.1.2. Untersuchungsaufbau	24
6.2. Relevanz des Versuchstieralters	25
6.2.1. Versuchstiere	25
6.2.2. Narkoseführung	25
6.2.2.1. Narkoseeinleitung	25
6.2.2.2. Aufrechterhaltung der Narkose	25
6.2.3. Messung der Relaxationszeiten T1, T2 und T2*	26

6.2.4. Vergleich von PT-FLASH und RSG-FLASH	27
6.2.5. Auswertung der Bilddaten	29
6.2.5.1. Messung der Relaxationszeiten T1,T2 und T2*	29
6.2.5.2. Vergleich von PT-FLASH und RSG-FLASH	34
6.2.6. Statistische Auswertung	36
6.2.6.1. Vergleich von Relaxationszeiten	36
6.2.6.2. Vergleich von PT-FLASH und RSG-FLASH	36
6.3. Tumoruntersuchungen am Tiermodell	37
6.3.1. Versuchstiere	37
6.3.2. Narkoseführung	37
6.3.3. Tumormodell	37
6.3.3.1. Zellkultivierung	38
6.3.3.2. Operative Tumorzellimplantation	39
6.3.4. Messung der Relaxationszeiten T1,T2 und T2*	40
6.3.5. Kontrastmitteluntersuchungen: Vergleich von PT-FLASH und RSG- FLASH	41
6.3.6. Auswertung der Bilddaten	44
6.3.6.1. Messung der Relaxationszeiten T1,T2 und T2*	44
6.3.6.2. Kontrastmitteluntersuchungen: Vergleich von PT-FLASH und RSG-FLASH	46
6.3.7. Qualitativer Vergleich der PT-FLASH und RSG-FLASH Sequenz mittels verblindeter Auswertung	48
6.3.8. Statistische Auswertung	49
6.3.8.1. Vergleich von Relaxationszeiten	49
6.3.8.2. Kontrastmitteluntersuchungen: Vergleich von PT-FLASH und RSG-FLASH	49
6.3.9. Histologie	50
<b>7. Ergebnisse</b>	<b>51</b>
7.1. Relevanz des Versuchstieralters	51
7.1.1. Vergleich von Relaxationszeiten	51
7.1.2. Vergleich von PT-FLASH und RSG-FLASH	56
7.1.2.1 Signal-zu-Rausch-Verhältnis (SNR)	56
7.1.2.2. Akquisitionszeiten	58

7.2. Tumoruntersuchungen am Tiermodell	60
7.2.1. Vergleich von Relaxationszeiten	60
7.2.2. Vergleich von PT-FLASH und RSG-FLASH	66
7.2.2.1. Signal-zu-Rausch-Verhältnis (SNR)	66
7.2.2.2. Kontrast-zu-Rausch-Verhältnis (CNR)	70
7.2.2.3. „Lesion Enhancement“ (LE)	71
7.2.2.4. Akquisitionszeiten	73
7.2.2.5. Qualitativer Vergleich von PT-FLASH und RSG-FLASH	75
7.2.2.6. Histologie	76
<b>8. Diskussion</b>	<b>77</b>
<b>9. Literaturverzeichnis</b>	<b>86</b>
<b>10. Aus der Arbeit hervorgegangene Publikationen</b>	<b>98</b>
<b>11. Danksagung</b>	<b>99</b>
<b>12. Lebenslauf</b>	<b>100</b>

### 2. Abkürzungsverzeichnis

BW	= body weight = Körpergewicht
cm	= Zentimeter
CNR	= Contrast-to-Noise-Ratio = Kontrast-zu-Rausch-Verhältnis
CT	= Computertomographie
EKG	= Elektrokardiogramm
FA	= flip angle = Flipwinkel
FLASH	= Fast Low Angle Shot
FOV	= Field Of View
FSE	= Fast Spin Echo
Gd	= Gadolinium
Gd-BOPTA	= Gadobenat-Dimeglumin
Gd-BT-DO3A	= Gadobutrol
Gd-DOTA	= Gadoterat-Meglumin
Gd-DTPA	= Gadopentetat-Dimeglumin
Gd-DTPA-BMA	= Gadodiamid
Gd-DTPA-BMEA	= Gadoversetamid
Gd-EOB-DTPA	= Gadolinium-Ethoxybenzyl-Diethylen-Triamin-Pentaessigsäure
Gd-HP-DO3A	= Gadoteridol
GRE	= Gradientecho
HE	= Hämatoxylin-Eosin Färbung
HF-Impuls	= Hochfrequenzimpuls
kg	= Kilogramm
KG	= Körpergewicht
KM	= Kontrastmittel
LE	= Lesion Enhancement = Kontrastmittelaufnahme
mg	= Milligramm
ml	= Milliliter
mmol	= Millimol
Mn-DPDP	= Mangafodipir Trisodium
MRT	= Magnetresonanztomographie
ms	= Millisekunde
µm	= Mikrometer

PT	= prospektiv getriggert = prospectively triggered
RARE	= Rapid Acquisition with Relaxation Enhancement
sec	= Sekunde
SD	= standard deviation = Standardabweichung
SI	= Signalintensität
RF	= Radiofrequency
ROI	= Region of Interest
RSG	= retrospektives Selbstgating = retrospectively self-gated
SNR	= Signal-to-Noise-Ratio = Signal-zu-Rausch-Verhältnis
T	= Tesla
T1w	= T1-gewichtet
T2w	= T2-gewichtet
TA	= Akquisitionszeit
TE	= Echozeit
TR	= Repetitionszeit
TSE	= Turbo Spin Echo

### 3. Zusammenfassung

Lebermetastasen stellen mit ca. 90% die häufigsten malignen Läsionen innerhalb der Leber dar, sodass eine frühzeitige Erkennung, die Bewertung der Invasivität des Wachstums, die Veränderungen des umliegenden Gewebes und das Therapieansprechen in der modernen Leberbildgebung eine entscheidende Rolle spielen. Ein Hauptproblem stellen hierbei Bewegungsartefakte dar, die im Wesentlichen durch die Atmung verursacht werden und einen erheblichen Einfluss auf die Bildqualität nehmen können. Dies ist insbesondere für tierexperimentelle Studien von Bedeutung.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit ist die Etablierung der experimentellen MR-Bildgebung der Leber bei 9,4 T am Tiermodell der Ratte, zur Bestimmung von Relaxationszeiten verschiedener Gewebe und deren Veränderung mit dem Alter, zur Darstellung von experimentell induzierten Tumoren der Leber und letztlich der Vergleich von verschiedenen Akquisitionstechniken zur Kompensation von ateminduzierten Bewegungsartefakten.

Es wurden zehn 27-28 Monate alte und zehn sechs bis acht Wochen alte WAG-Rij Ratten bei 9,4 T untersucht und hinsichtlich der Relaxationszeiten verschiedener Gewebe miteinander verglichen. Zusätzlich wurden prospektiv getriggerte FLASH Sequenzen (PT-FLASH) und FLASH Sequenzen mit retrospektivem Selbstgating (RSG-FLASH) zur Akquisition T1-gewichteter Aufnahmen miteinander verglichen. Zudem wurden zehn jungen Versuchstieren Zellen eines Kolonkarzinoms in den linken Leberlappen injiziert und nach zwölf Tagen gewebespezifischen Relaxationszeiten bestimmt. Des Weiteren wurden PT-FLASH und RSG-FLASH Sequenzen für die native und kontrastmittelverstärkte T1-gewichtete Bildgebung quantitativ hinsichtlich Signal-zu-Rausch Verhältnis (SNR), Kontrast-zu-Rausch Verhältnis (CNR) und der Kontrastmittelaufnahme (lesion enhancement, LE) als auch qualitativ in einer verblindeten Auswertung miteinander verglichen.

Eine statistische Auswertung erfolgte mittels t-Test sowie Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test.

Hier konnte ein signifikanter Unterschied der T1-, T2-, und T2\*-Relaxationszeit der Leber zwischen jungen und alten Versuchstieren festgestellt werden, wohingegen das Versuchstieralter keinen Einfluss auf die Relaxationszeiten der Muskulatur hat.

Im Vergleich von PT-FLASH und RSG-FLASH zeigte sich kein signifikanter Unterschied in Bezug auf SNR, CNR, LE sowie der qualitativen Bewertung der beiden Techniken. Jedoch zeigte die RSG-FLASH Sequenz eine konstante und signifikant kürzere Messzeit als die PT-FLASH Sequenz, die zudem eine hohe Variabilität der Akquisitionszeit aufwies.

Die Ergebnisse dieser Arbeit erlauben die Schlussfolgerung, dass bei magnetresonanztomographischen Versuchsreihen der Leber im Rattenmodell das Versuchstieralter berücksichtigt werden muss, da sich sonst Fehler bei der auf gewebespezifischen Relaxationszeiten oder Signalintensitäten basierenden Analysen ergeben können. Für atemgetriggerte T1-gewichtete Aufnahmen ist die mittels retrospektivem Selbstgating akquirierte FLASH Sequenz besser geeignet, da sie mit kurzer und konstanter Messzeit durchgeführt werden kann, was ein entscheidendes Gütekriterium, insbesondere für dynamische kontrastmittelverstärkte Untersuchungen ist.

**4. Abstract**

Liver metastases are the most common malignant lesions of the liver accounting for up to 90% of all malignant hepatic lesions. Early detection, assessment of invasiveness, changes in the surrounding tissue and response to therapy are playing an important role in advanced liver imaging. A major problem in this regard is the occurrence of motion artifacts, mainly caused by respiration, which can have a significant impact on image quality. This is of special importance in preclinical animal studies.

The aim of this study is to establish experimental MR imaging of the liver at 9.4 T in a rat model including determination of tissue specific relaxation times, their change with age, to depict experimentally induced liver tumors and to compare different acquisition techniques to compensate for motion artifacts based on respiration.

We examined ten 27-28 month-old and ten six to eight weeks old WAG-Rij rats using a 9.4 Tesla animal scanner and compared the relaxation times of different tissues. In addition, we compared prospectively triggered FLASH (PT-FLASH) and retrospectively self-gated FLASH (RSG-FLASH) sequences for the acquisition of T1-weighted sequences.

Ten young rats received an intraparenchymal injection of a colon cancer cell suspension into the left hepatic lobe in order to induce hepatic metastases. After twelve days we assessed the tissue-specific relaxation times and compared PT-FLASH und RSG-FLASH sequences quantitatively for unenhanced and contrast enhanced T1-weighted images in regard to signal-to-noise ratio (SNR), contrast-to-noise ratio (CNR) and lesion enhancement (LE). In addition, a qualitative evaluation of both acquisition techniques was performed by a blinded reading.

Statistical analysis included t-tests and Wilcoxon matched-pairs signed rank tests.

There were significant differences between young and old animals in regard to T1-, T2-, and T2\* relaxation times of liver tissue. In distinction, the age of the animals does not have an impact on relaxation times of the muscle.

When comparing PT-FLASH and RSG-FLASH, there was no significant difference in SNR, CNR, and LE. Regarding image quality both sequences performed equally well.

However, RSG-FLASH demonstrated a significantly shorter and consistent acquisition time as compared with PT-FLASH sequence, which in addition showed a marked variation of acquisition time.

In conclusion, the age of animals has a significant influence on tissue specific relaxation times of the liver. This needs to be respected in preclinical MRI studies as this may yield bias in evaluations based on signal intensity measurements. For the acquisition of T1-weighted images we favor RSG-FLASH sequences providing a significantly shorter and consistent acquisition time, which is an important factor especially for dynamic contrast enhanced imaging.

## 5. Einleitung

### 5.1. Fragestellung

Die Erkennung und die Behandlung von Fernmetastasen nehmen in der heutigen Krebsforschung einen wichtigen Stellenwert ein, wobei nicht nur die Analyse der Tumorgenetik im Vordergrund steht, sondern auch die Untersuchung der Mechanismen der Invasivität des Tumorwachstums sowie auch mikroskopische Veränderungen im Tumor umgebenden Gewebe [Lavilla-Alonso et al., 2011].

Moderne bildgebende Verfahren erlauben eine frühzeitigere Erkennung von Malignomen innerhalb der Leber und ermöglichen es nicht-invasiv das Ansprechen des Tumors auf spezifische Therapien zu bewerten [Edrei et al., 2011].

Besonders nach der Durchführung einer neoadjuvanten Chemotherapie spielt die Bildgebung zur erneuten Bewertung von Tumoren und einer möglichen Resektabilität eine große Rolle [Van Kessel et al., 2010]. Des Weiteren wird durch die MR-Bildgebung bei höheren Feldstärken und die damit einhergehende Möglichkeit einer erhöhten räumlichen Auflösung die Detektion auch von kleinsten Läsionen immer weiter optimiert und damit die Sensitivität des bildgebenden Verfahrens zunehmend verbessert [Kulemann et al., 2011].

Das Ziel der Vorliegenden Arbeit ist die Etablierung der experimentellen MR-Bildgebung der Leber bei 9,4 T am Tiermodell der Ratte mit den folgenden Schwerpunkten:

1. Bestimmung von Relaxationszeiten verschiedener Gewebe und deren Abhängigkeit vom Alter der Versuchstiere.
2. Darstellung von experimentell induzierten Tumoren der Leber im Vergleich zu normalem Lebergewebe mittels Ultrahochfeld-MRT.
3. Vergleich verschiedener Untersuchungstechniken (prospektive Atem-Triggerung (PT) mit retrospektivem Selbstgating (RSG)) im Bezug auf Akquisitionszeit, Signal-zu-Rausch-Verhältnis und Kontrast-zu-Rausch-Verhältnis bei nativen und kontrastmittelverstärkten T1-gewichteten Sequenzen.

## 5.2. Grundlagen der Magnetresonanztomographie

Atome bestehen im Kern unter anderem aus positiv geladenen Protonen, die sich samt ihrer Ladung um ihre eigene Achse bewegen, was auch als Spin bezeichnet wird.

Diese Bewegung von elektrischer Ladung erzeugt ein Magnetfeld, sodass jedes Proton als ein einzelner kleiner Magnet betrachtet werden kann, der als magnetischer Dipol oder Vektor der Stärke  $M_0$  bezeichnet wird.

Das Grundprinzip der Magnetresonanztomographie beruht auf dem Effekt, dass sich Wasserstoffprotonen im menschlichen Körper nach Einbringen in ein externes Magnetfeld entlang der Magnetfeldlinien ausrichten. Durch das Einstrahlen von elektromagnetischen Hochfrequenzimpulsen ist es möglich, Energie an die Protonen zu übertragen, welche beim Ausschalten des Impulses wieder freigesetzt wird.

Da Wasserstoffionen  $[H^+]$  einen großen Anteil der Atome im menschlichen Körper darstellen, werden hauptsächlich diese Atome zur Untersuchung im Magnetresonanztomographen verwendet.

Die Richtung der Magnetfeldlinien des externen Magnetfeldes lassen sich in einem dreidimensionalen Koordinatensystem mit der z-Richtung beschreiben.

Zusätzlich zu dieser Ausrichtung rotieren die Protonen mit einer Eigenfrequenz, die zu der Stärke des Magnetfeldes proportional ist und sich durch die sogenannte Larmor-Gleichung berechnen lässt.

$$\omega_0 = \gamma \times B_0$$

$\omega_0$  = Präzessionsfrequenz [MHz]

$\gamma$  = gyromagnetisches Verhältnis [für Protonen 42,5 MHz/T]

$B_0$  = Stärke des externen Magnetfeldes [T=Tesla]

Weisen die Magnetvektoren zweier einzelner Protonen in genau entgegengesetzte Richtungen, heben sie sich gegenseitig auf und induzieren in einer außen angelegten Spule kein Signal. Beim Einbringen in ein externes Magnetfeld mit der Feldstärke  $B_0$  können sich die Protonen/kleinen magnetischen Dipole entweder parallel oder antiparallel zum Magnethauptfeld ausrichten, wobei diese beiden Formen der Ausrichtung auf unterschiedlichen Energieniveaus liegen. Prinzipiell richten sich immer mehr Protonen parallel als antiparallel aus, da es sich hierbei um

das günstigere Energieniveau handelt. Dies führt zu einer Addition der Magnetvektoren in z-Richtung, die man als Längsmagnetisierung bezeichnet.

Strahlt man einen Hochfrequenzimpuls mit derselben Frequenz wie die der Protonen ein (siehe Lamorgleichung oben), so können die Protonen einen Teil dieser Energie aufnehmen, was man als Resonanz bezeichnet. Dies führt dazu, dass einige Protonen auf ein höheres Energieniveau gebracht werden, sodass die Longitudinalmagnetisierung (entlang der z-Achse) abnimmt. Die Protonen werden durch die aufgenommene Energie aus der z-Achse in die x-y-Ebene umgelenkt, was zu einer Zunahme der Transversalmagnetisierung (in der x-y-Ebene) führt. Die Transversalmagnetisierung lässt sich als Vektor in der x-y-Ebene beschreiben, der sich mit derselben Präzessionsfrequenz wie die der Protonen bewegt und so als bewegtes Magnetfeld einen elektrischen Strom induziert. Anders gesagt, können Protonen, die sich in der x-y-Ebene befinden ein Signal in einer außen angelegten Spule induzieren und dieses kann zur Bildgebung genutzt werden.

Durch ortsabhängige Änderungen des externen Magnetfeldes werden unterschiedliche Frequenzen der Präzession in den Protonen induziert, wodurch es sekundär beim Auslesen des Signals möglich wird, die entsprechende Lokalisation der Protonen räumlich zuzuordnen.

### 5.2.1. T1-Relaxationszeit

Die T1-Zeit gibt die Zeit an, die die longitudinale Magnetisierung benötigt um nach einem 90°-Impuls wieder ca. 63% des Ausgangswertes zu erreichen. Die T1-Zeit ist dabei sowohl vom Gewebetyp als auch von der angewendeten Magnetfeldstärke abhängig.

Ein Hochfrequenzimpuls überträgt hierbei Energie auf die Protonen, die wiederum Energie an das sie umgebende Molekülgitter abgeben, wenn sie nach der Anregung auf ein niedrigeres Energieniveau zurückfallen. Aus diesem Grund bezeichnet man die Longitudinalrelaxation auch als Spin-Gitter-Relaxation.

Wasser bzw. Flüssigkeiten weisen eine lange T1-Zeit auf. Da die Wassermoleküle sehr klein sind und zudem eine hohe Eigenbewegung aufweisen, können die angeregten Protonen nur langsam ihre Energie abgeben, was wiederum dazu führt, dass die Protonen auch nur langsam ein niedrigeres Energieniveau erreichen.

Fettgewebe weist hingegen eine kurze T1-Zeit auf. Aufgrund der Größe und des Aufbaus von Fettsäuren ist die Eigenbewegung deutlich geringer und die Energie der angeregten Protonen kann viel schneller an das Gitter abgegeben werden.

### 5.2.2. T2-Relaxationszeit

Die T2-Zeit beschreibt die Zeit nach der die Transversalmagnetisierung auf ungefähr 37% ihres Ausgangswertes zurückgekehrt ist.

Diese transversale Relaxationszeit lässt sich auch als Spin-Spin-Relaxationszeit beschreiben.

Nachdem der Hochfrequenzimpuls abgeschaltet wurde, geraten die Protonen zunehmend außer Phase. Dies beruht sowohl auf Inhomogenitäten des externen Magnetfeldes als auch auf Inhomogenitäten des internen Magnetfeldes im Gewebe selbst. Die zunehmende Dephasierung der Protonenpräzession bedingt, dass die resultierenden Vektoren nicht mehr in dieselbe Richtung weisen und es somit zur Abnahme der von außen messbaren transversalen Magnetisierung kommt.

Durch die schnelle Eigenbewegung der Wassermoleküle kommt es auch zur schnellen Änderung der lokalen Magnetfelder. Diese Änderungen erfolgen so schnell, dass sie sich gegenseitig auslöschen, sodass Wasser eine geringe Inhomogenität des lokalen Magnetfeldes aufweist. Durch diese geringe Inhomogenität bleiben die Protonen auch länger in Phase und die transversale Relaxationszeit ist dementsprechend lang, d.h. Wasser weist eine lange T2-Relaxationszeit auf.

Größere Moleküle, wie z.B. Fett, zeigen durch starke Schwankungen der lokalen Magnetfelder eine größere Inhomogenität auf, sodass die Dephasierung der Protonen schnell von Statten geht; daraus resultiert, dass die T2-Relaxationszeit für Fettgewebe relativ kurz ist.

### 5.2.3. T2\*-Relaxationszeit

Die T2\*-Relaxationszeit beschreibt die Abnahme der transversalen Magnetisierung bedingt durch die Inhomogenitäten des externen Magnetfeldes und ist kürzer als die T2-Relaxationszeit. Diese Inhomogenitäten entstehen sowohl durch das MRT-System selbst als auch durch die zu untersuchende Person im MR-Tomographen und treten besonders an Grenzflächen wie z.B. zwischen Luft und Gewebe auf.

Das Abklingen der Magnetisierung mit der T2\*-Relaxationszeit wird auch als „Freier Induktionszerfall“ oder „Free Induction Decay (FID)“ bezeichnet, wobei die Signalintensität stetig abnimmt.

### 5.2.4. Gewebespezifische Relaxationsparameter und deren Messung

Die Signalintensität an einem bestimmten Punkt eines Bildes hängt von den Eigenschaften des dortigen Gewebes ab. Hierbei sind besonders die Protonenkonzentration, die T1-Relaxationszeit sowie die T2-Relaxationszeit von Bedeutung.

Des Weiteren ist die Signalintensität eines Gewebes im MRT-Bild entscheidend abhängig von den Sequenzparametern Echozeit (TE) und Repetitionszeit (TR). TE entspricht dabei der Zeit zwischen dem Einstrahlen eines Radiofrequenzimpulses und dem Auslesen der vom Gewebe abgegebenen Energie, dem sogenannten Echo. TR entspricht dabei der Zeit zwischen zwei aufeinander folgenden Anregungen durch einen Radiofrequenzimpuls.

Allgemein lässt sich sagen, dass TR das Ausmaß der T1-Wichtung bestimmt, wo hingegen TE entscheidend für die T2-Wichtung einer Sequenz verantwortlich ist.

Um unterschiedliche Gewebe anhand ihrer T1-Relaxationszeit zu beurteilen, verwendet man T1-gewichtete Sequenzen mit kurzer TR- und TE, wo hingegen man zur Erzeugung T2-gewichteter Bilder eine lange TR sowie lange TE verwendet.

Dabei ist jedoch zu bedenken, dass sich die T1-Relaxationszeit von unterschiedlichen Geweben mit zunehmender Feldstärke erhöhen und sich dadurch bei vergleichbaren Sequenzparametern bei höheren Feldstärken auch unterschiedlich darstellen als bei Aufnahmen, die bei klinischen Feldstärken von beispielsweise 1,5 Tesla akquiriert wurden.

Hinsichtlich T2-gewichteter Aufnahmen ist zu beachten, dass die für diese Wichtung notwendigen langen TR- und TE-Zeiten ( $TR \geq 2000$  ms,  $TE \geq 80$  ms) auch die Scanzeit erhöhen. Deshalb werden T2-gewichtete Sequenzen häufig als Mehrschicht-Sequenzen durchgeführt.

### 5.2.5. Ultrahochfeld Magnetresonanztomographie

Seit der Einführung der Magnetresonanztomographie in den klinischen Alltag vor über 25 Jahren, lag lange Zeit die Feldstärke der standardmäßig verwendeten Magnetresonanztomographen zwischen 0,5 und 1,5 Tesla. Seit 2002 werden schließlich auch klinische Untersuchungen an Patienten bei Magnetfeldstärken über 2,0 T durchgeführt [Springer et al., 2010].

Magnetresonanztomographen mit Feldstärken von bis zu 4,7 T für tierexperimentelle Studien wurden in der ersten Hälfte der achtziger Jahre entwickelt und werden auch noch heute verwendet. Mittlerweile werden in diesem Sektor MR-Tomographen mit Feldstärken zwischen 2,4 T und 11,8 T und darüber angeboten und vertrieben [Marzola et al., 2003].

Ein wichtiges Qualitätsmerkmal für eine mittels MRT erzeugte Aufnahme und damit auch ein geeigneter Parameter zum Vergleich verschiedener MRT-Untersuchungstechniken, ist das Signal-zu-Rausch-Verhältnis (signal-to-noise ratio, SNR) [Lerski, de Certaines, 1993].

Das SNR ist definiert als der Quotient des mittleren Signals innerhalb eines bestimmten Areal, auch als Region-of-Interest (ROI) bezeichnet, und dessen korrespondierender Standardabweichung [Firbank et al., 1999].

Oberhalb von 0,5 T ist das SNR proportional zur Larmofrequenz und zur Magnetfeldstärke, d.h. mit einer Verdopplung der Magnetfeldstärke verdoppelt sich auch das SNR. Das SNR ist außerdem proportional zur Quadratwurzel der Anzahl der Akquisitionen, d.h. um das SNR um den Faktor 2 zu steigern ist eine Erhöhung der Akquisitionen um den Faktor 4 notwendig [Marzola et al., 2003].

Dies heißt im Umkehrschluss, dass ebenso die Messzeit um den Faktor 4 steigt, um eine Erhöhung der SNR um den Faktor 2 zu erreichen [Springer et al., 2010].

Das bei höheren Magnetfeldstärken zur Verfügung stehende, verbesserte SNR erlaubt es dabei, Sequenzen mit kürzeren Messzeiten, einer höheren örtlichen

Auflösung oder einer Kombination aus beidem zu akquirieren ohne gleichzeitig Einbußen bei der Bildqualität zu erleiden [Runge et al., 2009].

Eine Erhöhung der Feldstärke zeigt außerdem auch Auswirkungen auf die Relaxationszeiten der verschiedenen Gewebe. Hier ist es so, dass die Longitudinalrelaxation oder T1-Relaxationszeit mit steigender Feldstärke bei den meisten Geweben zunimmt, wo hingegen die Transversalrelaxation oder T2-Relaxationszeit von einer Erhöhung der Feldstärke nicht signifikant beeinflusst wird [Springer et al., 2010].

### 5.3. MR-Bildgebung der Leber

#### 5.3.1. Lebergewebe

Bei der Bildgebung in der Humanmedizin haben sich Magnetresonanztomographen mit einer Feldstärke von 1,5 Tesla und der Möglichkeit zum Einsatz von Parallelbildgebungstechniken etabliert. Dies ermöglicht es, MR-Untersuchungen in Atemanhaltetechnik in akzeptabler Akquisitionszeit, insbesondere der Organe des Thorax und Abdomens, durchzuführen.

Bewährt haben sich dabei insbesondere native und kontrastverstärkte T1-gewichtete Gradient-Echo-(GRE) Sequenzen und T2-gewichtete Turbo-Spin-Echo-(TSE) Techniken [Layer, Bohrer, 2007].

Native T1-gewichtete Sequenzen geben primär Informationen über einen abnorm gesteigerten Flüssigkeitsanteil der Leber oder vermehrtes fibröses Gewebe, welches sich durch eine niedrigere Signalintensität als normales Lebergewebe auszeichnet. Außerdem dienen sie der Diagnostik von subakuten Blutungen sowie Flüssigkeitsansammlungen mit hohen Proteinkonzentrationen, was in beiden Fällen zu hohen Signalintensitäten führt.

T2-gewichtete Sequenzen dienen der weiteren Charakterisierung von Läsionen und weisen hierbei auf hohe Flüssigkeitsanteile hin, welche mit benignen Zysten, Hämangiomen, Gallengangshamartomen aber auch mit hypervaskulären Metastasen einhergehen können [Schneider et al., 2005].

Bei der Leberbildgebung am Tiermodell der Ratte ist jedoch zu bedenken, dass es aufgrund der geringen Größe der anatomischen Strukturen zu deutlichen Einbußen der Bildqualität kommt, wenn die Untersuchung bei einer Feldstärke von 1,5 Tesla durchgeführt wird. Zudem sind bei dieser Feldstärke lange Untersuchungszeiten notwendig, um überhaupt eine akzeptable Bildqualität zu erreichen.

Aus diesem Grund werden MRT-Untersuchungen im Kleintiermodell, wie beispielsweise an der Ratte oder der Maus überwiegend mittels Ultrahochfeld-MR-Tomographen durchgeführt, die mit einer Feldstärke zwischen 4,7 und 17 Tesla arbeiten [Degrassi et al., 2007, Jost et al., 2007, Leenders et al., 2003].

Besonders bei der Darstellung der Morphologie weisen diese Ultrahochfeld-MR-Tomographen eine hohe räumliche Auflösung auf, welche in Tierstudien bis zu 50 x

50  $\mu\text{m}^2$  Pixelgröße beträgt. Hinzu kommt ein hoher Weichgewebekontrast und eine hohe Sensitivität für Veränderungen in Gewebeparametern [Marzola et al., 2003]. Aufgrund der Lage der Leber im Körper der Ratte kommt es ähnlich wie beim Menschen häufig zu Bewegungsartefakten, insbesondere durch die Atembewegung des Tieres [Gambarota et al., 2004]. Dies erfordert besondere Anforderungen an den Versuchsaufbau, wobei entweder spezielle Triggertechniken für die Sequenzakquisition oder gar eine Intubationsnarkose der Tiere erforderlich wird, was jedoch den technischen Aufwand solcher tierexperimenteller Studien deutlich erhöht.

### 5.3.2. Tumoren der Leber

In der radiologischen Diagnostik in westlichen Ländern sind ca. 90% aller malignen herdförmigen Leberläsionen Metastasen und sind somit wesentlich häufiger als primäre Lebertumoren [Layer, Bohrer, 2007].

Nach den regionalen Lymphknoten ist die Leber der zweithäufigste Ort der Metastasierung von Krebsformen, welche von epithelialen Zellen ausgehen [Schima et al., 2005].

Die Metastasierung erfolgt insbesondere bei den gastrointestinalen Tumoren durch die Absiedelung über die Pfortader [Layer, Bohrer, 2007].

Diese Metastasen gehen zu 30% vom kolorektalen Karzinom, zu 20% vom Magenkarzinom und bei Frauen zu 15-20% vom Mammakarzinom bzw. beim Mann zu 15-20% vom Bronchialkarzinom aus.

Bei Diagnosestellung des kolorektalen Karzinoms weisen bereits 15-20% der Patienten Lebermetastasen auf und weitere 20% werden im weiteren Krankheitsverlauf nach der Behandlung des Primärtumors Lebermetastasen entwickeln [Ruers et al., 2002].

Studien welche auf Ergebnissen von Autopsien beruhen, zeigten, dass sogar bis zu 70% der Patienten mit kolorektalem Karzinom Lebermetastasen in der Autopsie aufwiesen [Schima et al., 2005].

Die Magnetresonanztomographie bietet eine gute Möglichkeit zur weiteren Charakterisierung von unklaren fokalen Leberläsionen, welche zuvor bei Ultraschall- oder Computertomographie-Untersuchungen detektiert wurden [Koh et al., 2008].

In der Diagnostik fokaler Leberläsionen stellen der sichere Nachweis oder der Ausschluss von Lebermetastasen im Rahmen einer malignen Grunderkrankung das wesentliche Ziel dar [Gaa et al., 2005]. Dies ist von Bedeutung, da bei einem Drittel der an einem kolorektalen Karzinom verstorbenen Patienten die Leber der einzige Metastasierungsort war [Song et al., 2005]. Vor allem bei Metastasen kolorektaler Tumoren spielt neben der Bestimmung der genauen Anzahl und Größe der Metastasen sowie dem Zustand der Leber auch die exakte topographische Zuordnung zu den Lebergefäßen bzw. Lebersegmenten eine wichtige Rolle bei der weiteren Therapieentscheidung [Gaa et al., 2005].

Metastasen variieren in Größe und Konsistenz und ihr Erscheinungsbild ist abhängig von ihrem Primärtumor sowie der Art der Metastasierung. Metastasen von Adenokarzinomen des Kolons zeigen oftmals Kalzifikationen und weisen eine schleimige Schnittfläche auf. Stark expandierende und oftmals riesige Metastasen zeigen oftmals auch zentrale verflüssigende Nekrosen, welche, ebenso wie auch ein den Tumor umgebendes Ödem, eine erhöhte Signalintensität in T2-gewichteten Sequenzen aufweisen [Schneider et al., 2005].

Native Sequenzen bilden einen wichtigen Teil der Untersuchung und sind essentiell zur Charakterisierung von Läsionen und Verfettungen der Leber. Die Signalintensität von Leberläsionen in nativen T1- und T2-gewichteten Sequenzen gibt Hinweise auf die Art und Zusammensetzung der Läsion. So können T1-gewichtete Sequenzen beispielsweise Aufschluss über einen makroskopischen Fettanteil geben, während T2-gewichtete Sequenzen der Bestimmung von Flüssigkeitsanteilen dienen. Dies stellt ein unverzichtbares Unterscheidungsmerkmal zwischen soliden und nicht-soliden Tumoren dar [Ward 2006].

Metastasen von Adenokarzinomen wie die des kolorektalen Karzinoms können oftmals auch ein Zielscheibenphänomen aufweisen. Hierbei handelt es sich um eine zentrale hypointense Region welche durch eine Koagulationsnekrose hervorgerufen wird, welche von einer weniger hypointensen Region umgeben ist, die den Wachstumszonen des Tumors entsprechen [Schneider et al., 2005].

### 5.3.3. Kontrastmitteluntersuchungen der Leber

Verstärkung von Bildkontrasten durch die Verwendung von MRT-Kontrastmitteln beruht auf der Beeinflussung der T1- und T2-Relaxationszeiten.

Die folgende Tabelle gibt einen Überblick über die verschiedenen Arten der zur Zeit bei MRT-Untersuchungen verwendeten Kontrastmittel:

<b>Nicht-spezifische extrazelluläre Kontrastmittel</b>	<b>Wirkmechanismus</b>
Gd-DTPA (Magnevist®)	T1-Verkürzung
Gd-HP-DO3A (ProHance®)	T1-Verkürzung
Gd-DTPA-BMA (Omniscan®)	T1-Verkürzung
Gd-DTPA-BMEA (OptiMARK®)	T1-Verkürzung
Gd-DOTA (Dotarem®)	T1-Verkürzung
Gd-BT-DO3A (Gadovist®)	T1-Verkürzung
<b>Hepatozytenspezifische Kontrastmittel</b>	<b>Wirkmechanismus</b>
Mn-DPDP (Teslascan®)	T1-Verkürzung
<b>Kombinierte Kontrastmittel</b>	<b>Wirkmechanismus</b>
Gd-BOPTA (MultiHance®)	T1-Verkürzung
Gd-EOB-DTPA (Primovist®)	T1-Verkürzung

**Tabelle 1:** Übersicht über Kontrastmittel zur MRT-Untersuchung der Leber [Schneider et al., 2005].

Die MRT mit leberspezifischen Kontrastmitteln wird mittlerweile als wichtigstes präoperatives Verfahren in der Diagnostik von Lebertumoren angesehen [Layer, Delorme, 2007]. Gadolinium hat paramagnetische Eigenschaften, welche die T1-Relaxation in einem viel größeren Ausmaß als die T2-Relaxation verkürzt, was zu einer Erhöhung der Signalintensität des Gewebes in T1-gewichteten Sequenzen führt [Ba-Ssalamah et al., 2004].

Extrazelluläre Kontrastmittel bieten die Möglichkeit Leberläsionen zu detektieren und von normalem gesunden Lebergewebe anhand von unterschiedlichem Perfusionsverhalten im zeitlichen Verlauf nach Gabe des Kontrastmittels abzugrenzen.

Der Einsatz von Gd-DTPA hat hierbei gezeigt, dass durch die Verwendung dieses Kontrastmittels signifikant mehr hepatische Läsionen erkannt werden als bei der Bildgebung mit nativen MRT-Sequenzen [Unger et al., 1989]. Verbesserte T2-gewichtete Sequenzen machen heute auch häufig das Erkennen von Läsionen ohne Kontrastmittel möglich, sodass sich deren Einsatzgebiet mit der Zeit verändert hat.

Extrazelluläre, nicht-spezifische Kontrastmittel werden gewöhnlich für die Charakterisierung von Lebertumoren verwendet und führen nicht zu einer verbesserten Erkennbarkeit von Lebermetastasen, mit Ausnahme von hypervaskularisierten Metastasen neuroendokriner Tumoren, Nierenzellkarzinomen oder Melanomen [Gaa et al., 2005].

Heutzutage werden 25-30% aller MRT-Untersuchungen mit Gadolinium-haltigen Kontrastmitteln durchgeführt, wobei Gd-DTPA bereits 1984 als Kontrastmittel für die Magnetresonanztomographie in Betracht gezogen wurde [Weinmann et al., 1984] und als erstes Kontrastmittel 1988 eine Zulassung zur klinischen Anwendung beim Menschen erhielt und kommerzialisiert wurde [Korkusuz et al., 2012].

Bei dem in dieser Arbeit verwendeten Kontrastmittel Gd-DTPA handelt es sich um ein sogenanntes extrazelluläres Kontrastmittel, das von den Leberzellen nicht selektiv aufgenommen und fast ausschließlich renal wieder ausgeschieden wird [Uggeri et al., 1995]. Ungefähr 50% der verabreichten Gd-DTPA-Dosis tritt dabei in einem „first-pass“ von den Kapillargefäßen in das Interstitium über, d.h. innerhalb eines Kreislaufzykluses ist 50% des Gd-DTPA vom intravasalen Kompartiment in das flüssige extrazelluläre Kompartiment übergetreten [Schmiedl et al., 1987]. Nach der Rezirkulation wird das Kontrastmittel dann, dem Konzentrationsgradienten folgend, wieder über das Gefäßsystem abtransportiert. Da in pathologisch veränderten Gewebearealen wie z.B. Tumoren oder Entzündungsherden der Extravasalraum durch Ödembildung vergrößert sein kann, kommt es hier zu einer vermehrten Ansammlung und Retention des applizierten Kontrastmittels, was zu einer Signalsteigerung pathologischer Veränderungen führt [Fries et al., 2009].

Diagnostik und Therapie von Patienten mit hepatischen Metastasen oder kolorektalem Karzinom befinden sich in einem schnellen Wandel. Jedoch ist die Beurteilung all dieser neuen Techniken und Chemotherapeutika immer noch unsicher, eingeschränkt und oftmals schwierig [Paschos et al., 2008].

Unter den bildgebenden Verfahren bietet die Magnetresonanztomographie die Möglichkeit zur Darstellung von Metastasen mittels verschiedener Kontrastmittel und Sequenzen und hat die Vorteile von detaillierter anatomischer Darstellung mit hohem Weichteilkontrast ohne die Verwendung von Röntgenstrahlung [McCann et al., 2011]. Hochauflösende Magnetresonanztomographie macht es möglich über Veränderungen in der Signalintensität Rückschlüsse auf die Mikrostruktur von Metastasen zuzulassen. Hochauflösende T2- und T1-gewichtete Bilder bieten die Möglichkeit Leberläsionen besser zu charakterisieren, jedoch sind auch zukünftig noch weiterführende Studien notwendig [Milot et al., 2010].

Hinsichtlich präklinischer, tierexperimenteller Studien zur Erforschung neuartiger Therapiekonzepte hat die MRT den Vorteil im Rahmen von Longitudinalstudien die Tumorentwicklung und ein entsprechendes Therapieansprechen nicht-invasiv darzustellen. Hierbei sind insbesondere die Ultrahochfeld-MR-Tomographen mit der Möglichkeit hochaufgelöste Aufnahmen zu akquirieren, den normalen klinischen MR-Tomographen überlegen.

### 6. Material und Methodik

#### 6.1. Experimentelle Magnetresonanztomographie

##### 6.1.1. MR-Tomograph und Software

Alle durchgeführten magnetresonanztomographischen Untersuchungen wurden bei einer Feldstärke von 9,4 Tesla durchgeführt. Bei dem verwendeten Magnetresonanztomographen handelt es sich um ein Gerät vom Typ BioSpec 94/20 der Firma Bruker (Ettlingen, Deutschland).

Der MR-Tomograph wurde mit der Bediensoftware ParaVision 5.1 betrieben. Zudem wurde die Software IntraGate® zur Bearbeitung und Rekonstruktion von Bilddaten verwendet.



**Abbildung 1:** Experimentelles MRT-Gerät.

### 6.1.2 Untersuchungsaufbau

Die MRT-Untersuchungen wurden mittels einer 16-Kanal Volumenspule durchgeführt, welche gleichzeitig das Aussenden und den Empfang von MR-Signalen an 16 verschiedenen Kanälen ermöglicht.

Die Lagerung der Tiere erfolgte in Bauchlage mit Auflage einer Decke, um die Unterkühlung der Tiere zu vermeiden.

Um die Atemfrequenz der Tiere zu messen, wurde ein selbstklebender Drucksensor (Graseby infant respiration sensor, Smith Medical Germany, Grasbrunn, Deutschland) zwischen der lateralen Abdominalwand der Tiere und der Lagerungsschale angebracht. Zusätzlich wurde die Herzfrequenz der Versuchstiere über an den Vorderpfoten angebrachte EKG-Elektroden abgeleitet (3M Red Dot neonatal monitoring electrodes, 3M Health Care, St. Paul, MN, USA).

Die durch die externen Sensoren gemessenen Vitalparameter wurden an einen externen Computer transferiert und mittels entsprechender Software (PC-SAM32, Sa Instruments Inc., Stony Brook, NY, USA) aufgezeichnet und überwacht.

### 6.2. Relevanz des Versuchstieralters

#### 6.2.1. Versuchstiere

Bei den in dieser Arbeit verwendeten Tieren handelte es sich um weibliche Ratten der Art WAG-Rij (**W**istar **A**lbino **G**laxo rats from **R**ijswik).

Die Unterbringung der Ratten vor und nach den magnetresonanztomographischen Untersuchungen erfolgte am Institut für Klinisch-Experimentelle Chirurgie am Universitätsklinikum des Saarlandes in Homburg, wo die Tiere zu allen Zeiten freien Zugang zu Wasser und Nahrung hatten.

Für die Untersuchung der Altersabhängigkeit der Geweberelaxationszeiten standen zwei Gruppen á zehn Versuchstiere zur Verfügung. Dabei hatten zehn Versuchstiere bei der Durchführung der Messungen ein Alter von 27-28 Monaten und ein Gewicht zwischen 200-250 g. An weiteren zehn Tieren wurden dieselben Messungen im Alter von sieben bis acht Wochen durchgeführt, wobei die Ratten ein Gewicht zwischen 134-175 g aufwiesen.

#### 6.2.2. Narkoseführung

Die magnetresonanztomographische Untersuchung sämtlicher Versuchstiere erfolgte in Vollnarkose mit einem Gemisch aus Isofluran und Sauerstoff.

##### 6.2.2.1. Narkoseeinleitung

Die Einleitung der Narkose erfolgte in einer Kunststoffkammer mit einem Gemisch aus 2,5% Isofluran und 97,5% Sauerstoff, mit einer Flussrate von 3,0 l/min.

##### 6.2.2.2. Aufrechterhaltung der Narkose

Die Aufrechterhaltung der Narkose während der Untersuchung im Magnetresonanztomographen wurde mit einer Mischung aus 1,0-2,0% Isofluran und 98-99% Sauerstoff, mit einer Flussrate von 1,0 l/min über eine Gesichtsmaske durchgeführt. Die Dosierung des Isoflurans wurde hierbei so vorgenommen, dass die Atemfrequenz der Tiere zwischen 25 und 40 Atemzügen pro Minute lag.

### 6.2.3. Messung der Relaxationszeiten T1, T2 und T2\*

Die Bestimmung der T1- und T2-Relaxationszeiten erfolgte durch eine RARE-Sequenz (Rapid Acquisition with Relaxation Enhancement), welche auch als TSE (turbo-spin-echo) oder FSE (fast-spin-echo) bezeichnet werden kann. Dabei wurde eine Einzelschicht in axialer Orientierung mit einer Schichtdicke von 1 mm akquiriert. Die Repetitionszeit (TR) betrug hierbei 3000 ms, die Echozeiten wurden kontinuierlich gesteigert (TE = 7,5 / 22,5 / 37,5 / 52,5 ms). Der Anregungswinkel (FA) betrug 129°.

Die Bestimmung der T2-Relaxationszeiten erfolgte noch einmal gesondert mit einer Multi-Slice-Multi-Echo-Sequenz (MSME) ebenfalls mit einer einzelnen axialen Schicht von 1 mm Dicke. Diese Schicht lag an exakt derselben anatomischen Position wie zuvor bei der RARE-Sequenz.

Die TR betrug hierbei 5000 ms, die Echozeiten (TE) wurden von 10 ms bis 200 ms jeweils in Schritten von 10 ms gesteigert. Der Anregungswinkel (FA) betrug bei allen Experimenten 180°.

Die Messung der T2\*-Relaxationszeiten erfolgte mit einer Multi-Gradient-Echo-Sequenz (MGE) mit einer einzelnen axialen Schicht von 1 mm Dicke. Auch in dieser Schicht wurde dieselbe Position wie in den beiden vorherigen Messesequenzen eingestellt.

Die TR betrug in dieser Messung 1000 ms, die Echozeiten (TE) 3,0 ms, 7,5 ms, 12,0 ms, 16,5 ms, 21,0 ms, 25,5 ms, 30,0 ms, 34,5 ms, 39,0 ms, 43,5 ms, 48,0 ms und 52,5 ms und der Anregungswinkel (FA) 30,0°.

Sequenz	RARE	MSME	MGE
<b>TR</b>	3000,0 ms	5000,0 ms	1000,0 ms
<b>TE</b>	7,5 ms, 22,5 ms, 37,5 ms, 52,5 ms	10 ms, 20 ms, 30 ms, 40 ms, 50 ms, 60 ms, 70,0 ms, 80,0 ms, 90,0 ms, 100,0 ms, 110,0 ms, 120,0 ms, 130,0 ms, 140,0 ms, 150,0 ms, 160,0 ms, 170,0 ms, 180,0 ms, 190,0 ms, 200,0 ms	3,0 ms, 7,5 ms, 12,0 ms, 16,5 ms, 21,0 ms, 25,5 ms, 30,0 ms, 34,5 ms, 39,0 ms, 43,5 ms, 48,0 ms, 52,5 ms
<b>FA</b>	129°	180°	30°
<b>FOV</b>	5,0 x 5,0 cm	5,0 x 5,0 cm	5,0 x 5,0 cm
<b>Matrix</b>	128 <sup>2</sup>	128 <sup>2</sup>	128 <sup>2</sup>
<b>Schichtdicke</b>	1,0 mm	1,0 mm	1,0 mm
<b>Anzahl der Schichten</b>	1	1	1

**Tabelle 2:** Parameter zur Messung der Relaxationszeiten für junge und alte Versuchstiere.

### 6.2.4. Vergleich von PT-FLASH und RSG-FLASH

Zum Vergleich zweier unterschiedlicher Trigger-Techniken zur Kompensation von Atemartefakten wurden jeweils T1-gewichtete Sequenzen mit gleichen Sequenzparametern an identischen Lokalisationen durchgeführt. Die Durchführung der T1-gewichteten Messung erfolgte dabei insgesamt vier Mal; es wurde je zweimal eine prospektiv getriggerte Untersuchung (PT-FLASH) und je zweimal eine Sequenz mittels retrospektivem Selbstgating (RSG-FLASH) durchgeführt. Dies ist notwendig, um die gewonnenen Bilddaten hinsichtlich des Signal-zu-Rausch-Verhältnisses zu evaluieren.

Es wurde außerdem bei jeder der vier Messungen die Gesamtakquisitionszeit inklusive Triggerung erfasst, wobei die RSG-FLASH Sequenz eine konstante Messzeit aufwies.

Die Durchführung der getriggerten Messungen erfolgte unter Verwendung der extern abgeleiteten Vitalparameter der Versuchstiere. Dabei wurde der Start der Sequenzakquisition mit einer Zeitverzögerung von 200 ms durch die Spitze des

Inspirationssignals getriggert und in der Expirationsphase durchgeführt.

Die Sequenz hatte eine TR von 60 ms sowie eine TE von 2,6 ms. Der Anregungswinkel betrug  $45^\circ$ , das FOV  $5,0 \times 5,0$  cm bei einer Matrix von  $256^2$ .

Die Akquisition der RSG-FLASH Sequenz erfolgte mit identischen Einstellungen wie zuvor bei der atemgetriggerten Messung. Die Besonderheit besteht hierbei darin, dass zur Kompensation der Atemartefakte kein externes Triggermodul notwendig ist. Das erste bei dieser Sequenz erzeugte Echo wird zur Akquisition eines Navigators verwendet. Hierbei handelt es sich um eine Sättigerschicht von drei Millimetern Schichtdicke, die vier Millimeter oberhalb der Messschichten positioniert wurde.

Während der Atemexkursion der Versuchstiere kommt es in der Schicht durch Bewegungen zu Änderungen der Signalintensität, die dazu verwendet werden kann, physiologische Daten des Atemzyklus und des Herzschlages zu akquirieren. Alle weiteren Echos der Sequenz stehen zur Berechnung des K-Raumes zur Verfügung. Bei der Bildrekonstruktion werden jedoch nur Daten des Expirationsintervalls verwendet. Die bei der kontinuierlichen Sequenzakquisition anfallenden Daten während der Inspiration werden verworfen und tragen nicht zur Bildrekonstruktion bei.

Sequenz	PT-FLASH	RSG-FLASH
<b>TR</b>	60 ms	60 ms
<b>TE</b>	2,6 ms	2,6 ms
<b>FA</b>	$45^\circ$	$45^\circ$
<b>FOV</b>	$5,0 \times 5,0$ cm	$5,0 \times 5,0$ cm
<b>Matrix</b>	$256^2$	$256^2$
<b>Pixelgröße</b>	$195 \times 195 \mu\text{m}^2$	$195 \times 195 \mu\text{m}^2$
<b>Schichtdicke</b>	1,0 mm	1,0 mm
<b>Anzahl der Schichten</b>	5	5
<b>Schichtabstand</b>	1,0 mm	1,0 mm

**Tabelle 3:** Sequenzeinstellung von PT-FLASH und RSG-FLASH.

6.2.5. Auswertung der Bilddaten

6.2.5.1. Messung der Relaxationszeiten T1, T2 und T2\*

Für die Bestimmung der T1- und T2-Relaxationszeiten wurden in der axialen Schicht sieben Messareale (region-of-interest, ROI) platziert. Jeweils vier in der Leber, zwei im paravertebralen Muskel und eine im Fettgewebe.

Hierbei wurde die folgende Nummerierung verwendet:

	Alte Tiere	Junge Tiere
ROI_1	Lebergewebe	Lebergewebe
ROI_2	Lebergewebe	Lebergewebe
ROI_3	Lebergewebe	Lebergewebe
ROI_4	Lebergewebe	Lebergewebe
ROI_5	Paravertebraler Muskel	Paravertebraler Muskel
ROI_6	Paravertebraler Muskel	Paravertebraler Muskel
ROI_7	Subkutanes Fettgewebe	Subkutanes Fettgewebe

**Tabelle 4:** Nummerierung der ROIs zur Relaxationszeitmessung bei jungen und alten Versuchstieren.

Für eine zweite Bestimmung der T2-Relaxationszeit wurden die ROI aus der RARE-Sequenz in die MSME-Sequenz kopiert, sodass die T2-Relaxationszeitbestimmung an identischen anatomischen Regionen erfolgen konnte.

Die Berechnung der T2\*-Relaxationszeit erfolgte ebenfalls an den zuvor beschriebenen Regionen, die zuvor erneut von der RARE-Sequenz in die MGE-Sequenz hinein kopiert wurden.

Die Berechnung aller Relaxationszeiten erfolgte mit Hilfe eines Analyseprogramms (ISA-Unterprogramm von ParaVision 5.1.), welches in der Bildanzeige des Programms ParaVision 5.1. integriert ist. Das Programm verwendete hierzu einen Algorithmus zur Anpassung der Kurvenfunktion an die Messwerte, der auf dem Levenberg-Marquardt-Algorithmus basiert, der eine Methode zur Lösung nicht-linearer kleinste-Quadrate Regressionsprobleme darstellt [Marquardt, 1963].

Die Berechnung der T1-Relaxationszeit erfolgte nach der Formel

$$y = A + Cx \left(1 - e^{-\frac{t}{T1}}\right)$$

die Berechnung der T2 und T2\*-Relaxationszeit nach der Formel

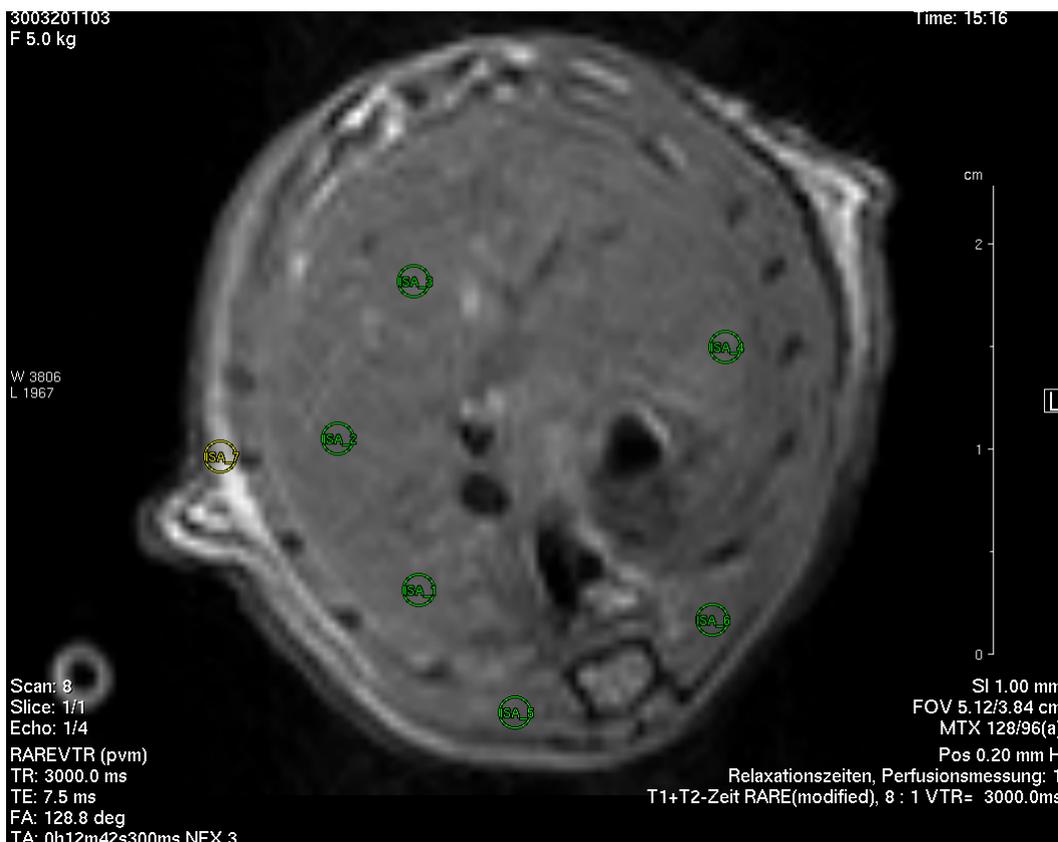
$$y = A + Cx e^{-\frac{t}{T2}}$$

Der y-Wert entsprach hierbei dem in den einzelnen Pixel gemessenen Signalintensitätswert (SI).

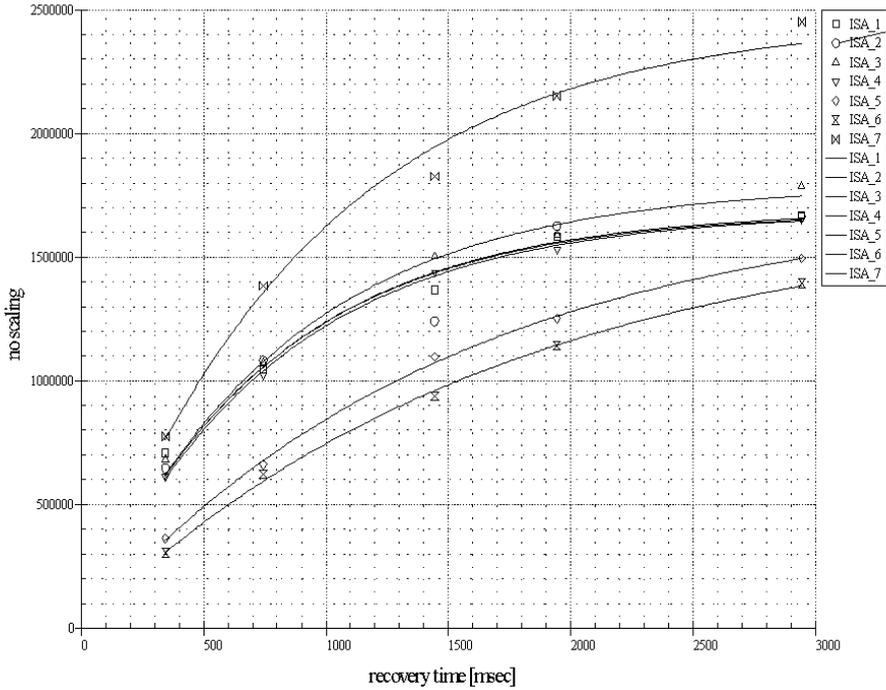
Der t-Wert stellte in der T1-Berechnung die Zeit dar, wohingegen der t-Wert in der Berechnung der T2- und der T2\*- Relaxationszeit die Echozeit (TE) zur Akquisition der Bilddaten darstellte.

Die Variablen A und C dienen in beiden Gleichungen zur Optimierung der Regression.

RARE-Sequenz:

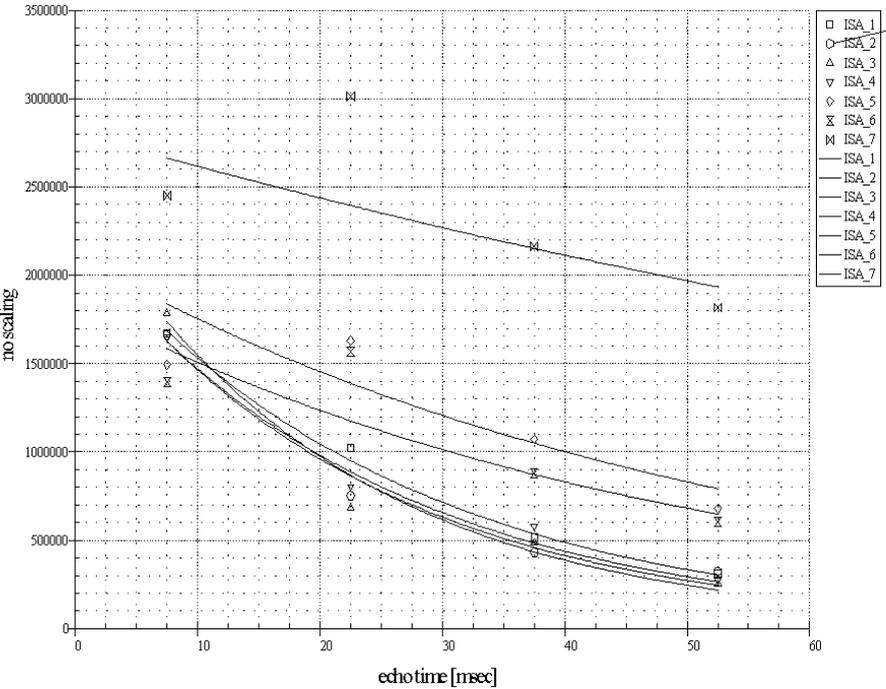


**Abbildung 2:** Platzierung der ROIs in der RARE-Sequenz.



T1 saturation recovery (std dev weighted)

Abbildung 3: T1-Signalkurve in der RARE-Sequenz.



T2 relaxation:  $y=A+C*\exp(-t/T2)$  (std dev weighted)

Abbildung 4: T2-Signalkurve in der RARE-Sequenz.

MSME-Sequenz:

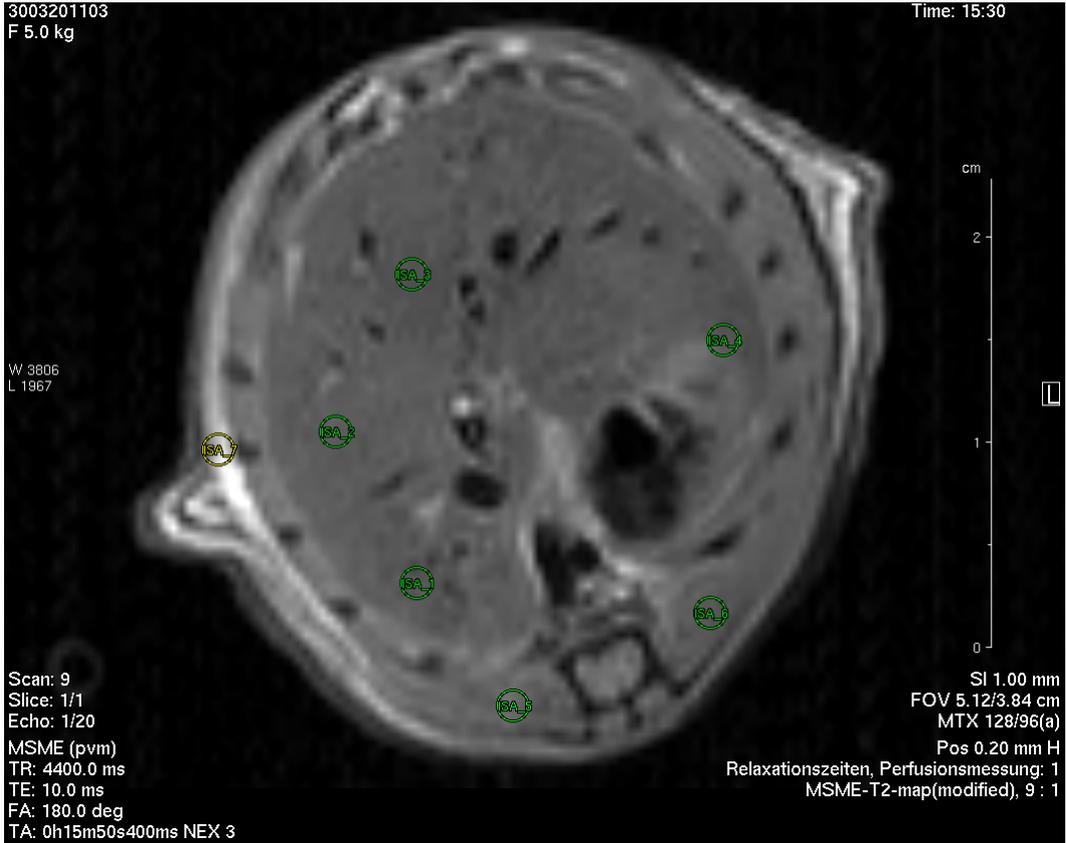
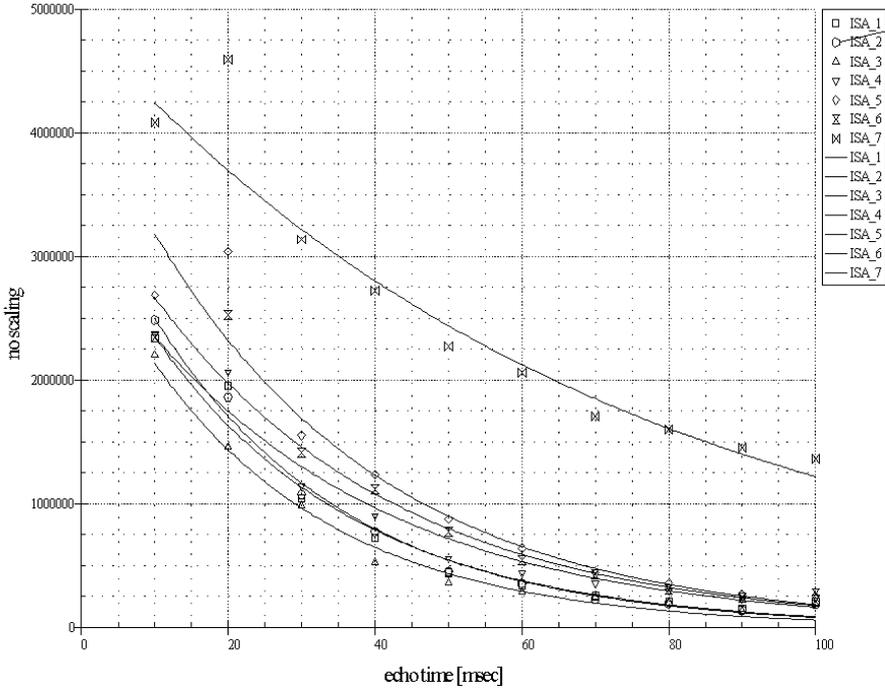


Abbildung 5: Platzierung der ROIs in der MSME-Sequenz.



T2 relaxation:  $y=A+C*\exp(-t/T2)$  (std dev weighted)

Abbildung 6: T2-Signalkurve in der MSME-Sequenz.

MGE-Sequenz:

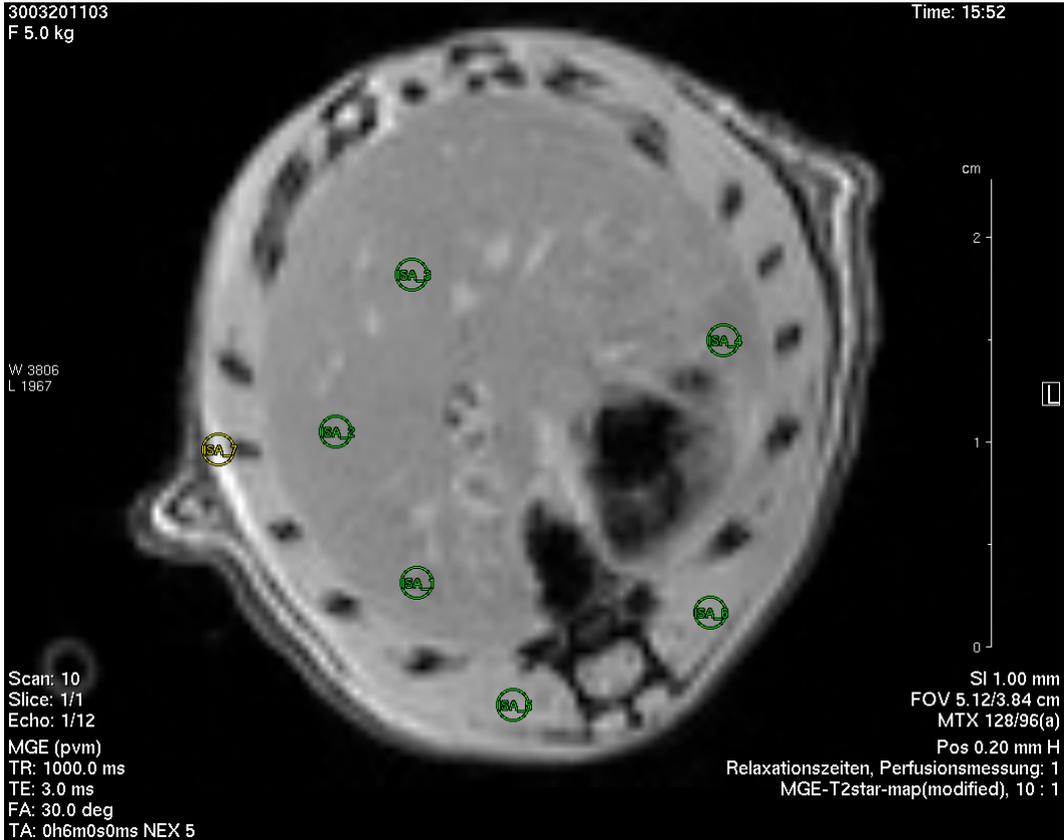
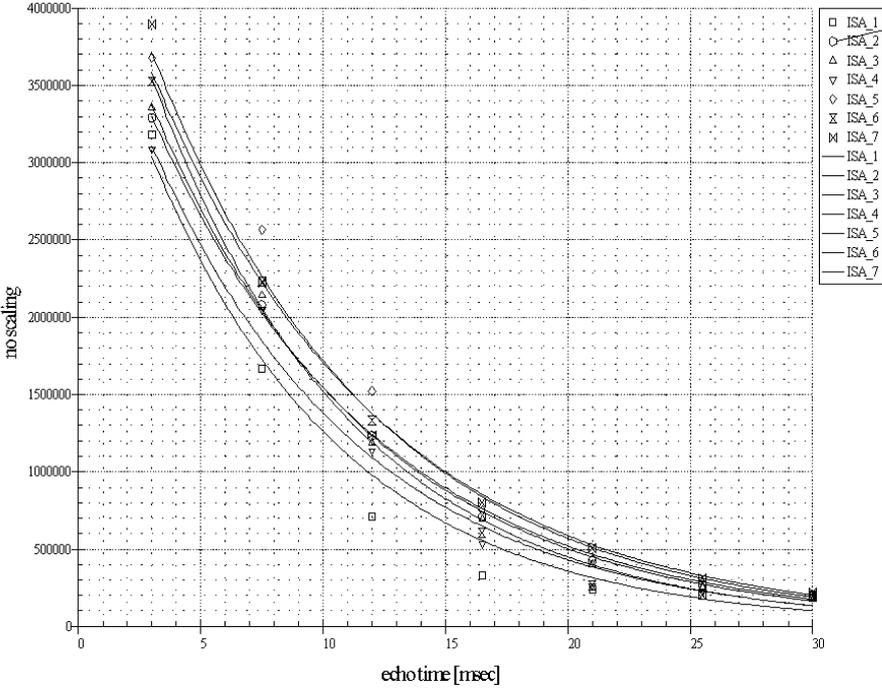


Abbildung 7: Platzierung der ROIs in der MGE-Sequenz.



T2 relaxation:  $y=A+C*\exp(-t/T2)$  (std dev weighted)

Abbildung 8: T2\*-Signalkurve in der MGE-Sequenz.

### 6.2.5.2. Vergleich von PT-FLASH und RSG-FLASH

Die mittels PT-FLASH sowie RSG-FLASH akquirierten T1-gewichteten Sequenzen wurden hinsichtlich ihrer Akquisitionszeit sowie des Signal-zu-Rausch-Verhältnisses (SNR) ausgewertet und miteinander verglichen. Hierzu wurden die Akquisitionszeiten aller Sequenzen erfasst, wobei die RSG-FLASH primär eine konstante Akquisitionszeit aufwies.

In allen Messungen wurden ROIs (Region-of-Interest) an identischen anatomischen Positionen festgelegt: je zwei im Fettgewebe, zwei im paravertebralen Muskelgewebe, zwei im Lebergewebe und bei den Tieren mit Metastasen zusätzlich je zwei im Tumorgewebe. Die Nummerierung der ROIs erfolgte hierbei wie folgt:

**ROI\_1**= Lebergewebe

**ROI\_2**= Lebergewebe

**ROI\_3**= paravertebraler Muskel

**ROI\_4**= paravertebraler Muskel

**ROI\_5**= subkutanes Fettgewebe

**ROI\_6**= subkutanes Fettgewebe

Die Bestimmung der Signal-zu-Rausch-Verhältnisse (signal-to-noise ratio, SNR) erfolgte nach der Subtraktionsmethode [Firbank et al., 1999], wobei die Datensätze von jeweils zwei nacheinander durchgeführten identischen Sequenzen subtrahiert wurden. Aus der gemittelten Signalintensität aus jeweils zwei identischen ROI der beiden Sequenzen sowie der Standardabweichung der korrespondierenden ROI im Subtraktionsdatensatzes, welche dem Hintergrundrauschen entspricht, ließen sich dann die Signal-zu-Rausch-Verhältnisse nach folgender Formel berechnen [Firbank et al., 1999].

$$SNR = \frac{\sqrt{2} \times SI_{mean}}{SD_{subtr}}$$

**SNR** = Signal-to-noise ratio

**SI<sub>mean</sub>** = gemittelte Signalintensität aus zwei identischen Scans

**SD<sub>subtr</sub>**= Standardabweichung im Subtraktionsdatensatz, entspricht dem Hintergrundrauschen

PT-FLASH:

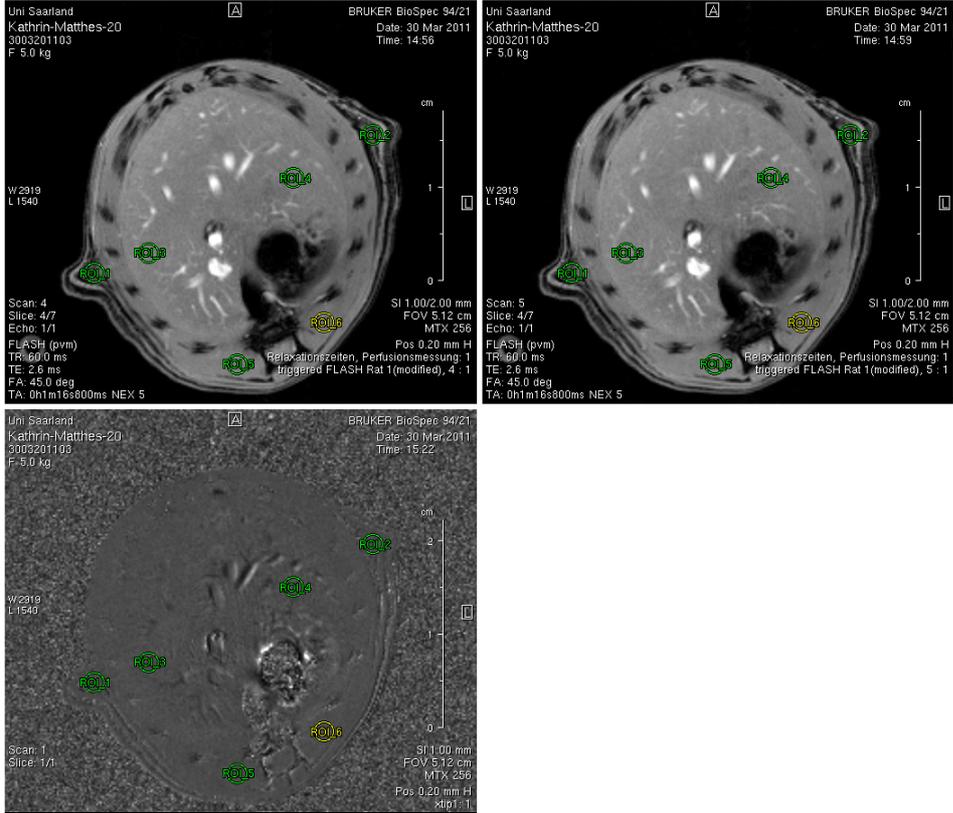


Abbildung 9: Subtraktionsbild der PT-FLASH.

RSG-FLASH:

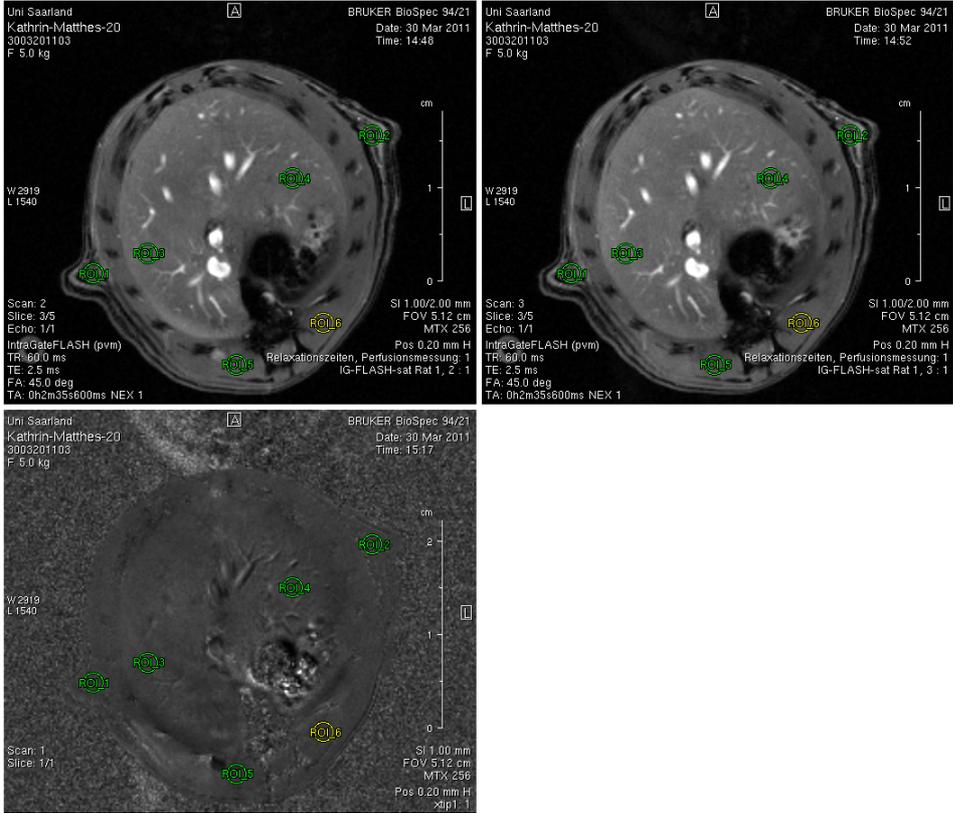


Abbildung 10: Subtraktionsbild der RSG-FLASH.

### 6.2.6. Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung wurde mit dem Programm GraphPad Prism® (GraphPad Software, Inc., La Jolla, CA, USA) durchgeführt. Alle ermittelten Ergebnisse wurden als Mittelwert +/- Standardabweichung dargestellt.

Hierzu wurde bei allen ermittelten Werten zunächst ein D'Agostino & Pearsons Test durchgeführt, um das Vorliegen einer Normalverteilung zu ermitteln.

Bei allen im Folgenden beschriebenen Tests wurde ein Wert von  $p < 0,05$  als signifikant angesehen.

#### 6.2.6.1. Vergleich von Relaxationszeiten

Die ermittelten Relaxationszeiten der Sequenzen RARE, MSME und MGE wurden zum Vergleich von verschiedenen Geweben zwischen alten und jungen Tieren herangezogen. Beim Vergleich der zehn alten mit den zehn jungen Tieren wurden jeweils die Mittelwerte der oben beschriebenen ROIs aus der einen Gruppe mit den Mittelwerten der ROIs aus der anderen Gruppe verglichen.

Es wurde hierzu ein ungepaarter t-Test oder bei nicht-normalverteilten Werten ein Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test durchgeführt.

#### 6.2.6.2. Vergleich von PT-FLASH und RSG-FLASH

Die beiden oben genannten Sequenzen wurden hinsichtlich ihrer Akquisitionszeit und der SNR in verschiedenen Geweben miteinander verglichen.

Die wie oben beschrieben errechneten SNR-Werte der beiden Sequenzen wurden sowohl in der Gruppe der jungen als auch in der Gruppe der alten Tiere miteinander verglichen. Hierbei wurden jeweils die SNR-Werte einer ROI einer Gruppe aus der PT-FLASH Sequenz mit den SNR-Werten der korrespondierenden ROI der RSG-FLASH Sequenz verglichen.

Beim Vergleich der Akquisitionszeiten wurde zunächst ein Mittelwert aus den Akquisitionszeiten der doppelt durchgeführten PT-FLASH errechnet, während die RSG-FLASH konstante Messzeiten aufwies.

Im Anschluss erfolgte ein Vergleich der Akquisitionszeiten der beiden Sequenzen in der Gruppe der alten Tiere sowie in der Gruppe der jungen Tiere.

Nach der Prüfung auf Normalverteilung wurde entweder ein gepaarter t-Test oder bei nicht normal-verteilten Werten ein Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test durchgeführt.

### 6.3. Tumoruntersuchungen am Tiermodell

#### 6.3.1. Versuchstiere

Auch bei dieser Versuchsgruppe wurden wie in 6.2.1. beschrieben weibliche Ratten der Art WAG-Rij (**W**istar **A**lbino **G**laxo rats from **R**ijswik) im Alter von acht bis neun Wochen verwendet.

#### 6.3.2. Narkoseführung

Die Narkoseeinleitung- sowie die -aufrechterhaltung erfolgten identisch zu den in 6.2.2. beschriebenen Vorgängen sowohl während der magnetresonanztomographischen Messungen als auch während der Durchführung der Tumorzellimplantation.

#### 6.3.3. Tumormodell

Im Alter von acht bis neun Wochen wurden den zuvor ohne Tumor untersuchten Ratten Zellen des rattenspezifischen Kolonkarzinoms CC531 implantiert. (Cell Lines Service and Tumor- Cellbank, CLS, Heidelberg, Deutschland)

Die subkapsuläre oder intraparenchymale Implantation von Tumorzellen direkt in die Leber ist hierbei eine häufig angewandte Methode zur Erzeugung von Lebermetastasen [De Jong et al., 2009].

Diese Zellen erweisen sich als besonders geeignet, da die intrahepatische Impfung von CC531 Tumorzellen oder Tumorfragmenten in WAG/Rij Ratten in bis zu 100% der Implantationen zu einem Tumorwachstum nach zwei Wochen führt [van Duijnhoven et al., 2005].

Die magnetresonanztomographischen Messungen der Tiere erfolgten am zwölften Tag nach Implantation der Zellen.

### 6.3.3.1. Zellkultivierung

Nach einer Kryokonservierung in 1,8 ml Kryogefäßen (Nunc, Roskilde, DK) bei  $-180^{\circ}\text{C}$  in flüssigem Stickstoff wurden die Zellen in  $37^{\circ}\text{C}$  warmem Wasser aufgetaut, um weiter kultiviert zu werden.

Es wurde eine Zentrifugation der Zellen von zwei mal fünf Minuten bei 1600 U/min (400xg) vorgenommen (Universal 30 F, Hettich, Tuttlingen, Deutschland).

Hierzu wurden die Zellen nach Desinfektion der Gefäßoberfläche mit 70% Isopropanol in 50 ml Zentrifugenröhrchen (Roth, Karlsruhe, Deutschland) transferiert, welche ein FCS-haltiges Kulturmedium enthielten (Foetal calf serum, FCS, Gold, PAA, Cölbe, Deutschland).

Im Anschluss an die Zentrifugation wurden die Zellen in Petrischalen ausgesät (Cellstar, 100/20 mm, Greiner Bio-One, Frickenhausen, Deutschland). Die anschließende Kultivierung erfolgte in einer 5%-igen humiden  $\text{CO}_2$ -Atmosphäre in RPMI 1640 Medium (PAA) bei  $37^{\circ}\text{C}$ , wobei das Medium an jedem zweiten Tag ausgetauscht wurde. Beim Vorliegen einer Konfluenz von etwa 70-80% wurden die Zellen dann zur Vermehrung passagiert.

Zur Auslösung aus den Kulturgefäßen wurden den Zellen eine 0,02%-ige Trypsin/EDTA-Lösung (0,5g/l, 0.2g/l, Virolex, PAA) sowie das Enzym Accutase (PAA) zugegeben.

Die Enzymwirkung wurde mit FCS-haltigem Kulturmedium neutralisiert, nachdem zuvor eine fünfminütige Inkubation bei  $37^{\circ}\text{C}$  erfolgt war.

Im Anschluss wurde der Ansatz fünf Minuten bei 1600 U/min zentrifugiert. Danach erfolgte eine Waschung und eine zweimalige PBS-Behandlung (Phosphat buffered solution, PAA) des Sediments.

Für die Verwendung im Experiment wurden die Zellen erneut zentrifugiert und danach im Verhältnis 1:2 ausgedünnt und erneut kultiviert bis zu einer erneuten Konfluenz von 70-80%.

In der darauf folgenden Passagierung wurden die Zellen dann 1:4 bis 1:5 ausgedünnt, um dann anschließend in einer Neubauer-Zählkammer gezählt zu werden. Die Zählkammer wurde auf eine Zellzahl von  $5 \times 10^5$  Zellen/20  $\mu\text{l}$  PBS eingestellt und es wurde ein inverses Lichtmikroskop (Leica DMIL, Solms, Deutschland) mit einer 100-fachen Gesamtvergrößerung (Objektiv Leica C Plan 10x/0.22, PH1, Okular Leica 10x/18) verwendet.

### 6.3.3.2. Operative Tumorzellimplantation

Die Implantation der Tumorzellen erfolgte in Vollnarkose mit einer Mischung aus 1,0-2,0% Isofluran und 98-99% Sauerstoff, mit einer Flussrate von 1,0 l/min über eine Gesichtsmaske. Zusätzlich wurde den Tieren Carprofen zur Schmerztherapie subkutan injiziert.

Die Tiere wurden in Rückenlage auf einer Wärmeplatte mit ca. 40°C gelagert und es wurde zur Vorbereitung der Operation eine Rasur des Bauchfells durchgeführt.

Nach medianer Laparotomie und Eröffnung des Peritoneums wurde der linke Leberlappen mobilisiert und aus der Bauchhöhle luxiert.

Anschließend wurde eine Tumorzellsuspension mit  $5 \times 10^5$  Tumorzellen mittels einer feinen 27 G Nadel (Omnicon F, Braun, Melsungen, Deutschland) subkapsulär in den linken Leberlappen injiziert. Die Punktionsstelle wurde anschließend für 2 Minuten mit einem Tupfer komprimiert, um eine Blutung zu verhindern und zusätzlich eine intraperitoneale Aussaat der injizierten Tumorzellen zu verhindern. Die Laparotomie wurde im Anschluss mittels fortlaufender Naht (Vicryl 4-0, Ethicon, Johnson & Johnson Medical GmbH, Norderstedt, Deutschland) verschlossen.

**6.3.4. Messung der Relaxationszeiten T1,T2 und T2\***

Die magnetresonanztomographischen Messungen der Tiere erfolgten am zwölften Tag nach Implantation der Zellen. Zum Zeitpunkt dieser Messungen hatten die Tiere ein Gewicht zwischen 134-175 g.

Die Messungen der Relaxationszeiten erfolgte identisch zu dem in 6.2.3. beschrieben Ablauf und mit identischen Messparametern.

Sequenz	RARE	MSME	MGE
<b>TR</b>	3000 ms	5000 ms	1000 ms
<b>TE</b>	7,5 ms, 22,5 ms, 37,5 ms, 52,5 ms	10,0 ms, 20,0 ms, 30,0 ms, 40,0 ms, 50,0 ms, 60,0 ms, 70,0 ms, 80,0 ms, 90,0 ms, 100,0 ms, 110,0 ms, 120,0 ms, 130,0 ms, 140,0 ms, 150,0 ms, 160,0 ms, 170,0 ms, 180,0 ms, 190,0 ms, 200,0 ms	3,0 ms, 7,5 ms, 12,0 ms, 16,5 ms, 21,0 ms, 25,5 ms, 30,0 ms, 34,5 ms, 39,0 ms, 43,5 ms, 48,0 ms, 52,5 ms
<b>FA</b>	129°	180°	30°
<b>FOV</b>	5,0 x 5,0 cm	5,0 x 5,0 cm	5,0 x 5,0 cm
<b>Matrix</b>	128 <sup>2</sup>	128 <sup>2</sup>	128 <sup>2</sup>
<b>Schichtdicke</b>	1,0 mm	1,0 mm	1,0 mm
<b>Anzahl der Schichten</b>	1	1	1

**Tabelle 5:** Parameter zur Messung der Relaxationszeiten im Tumormodell.

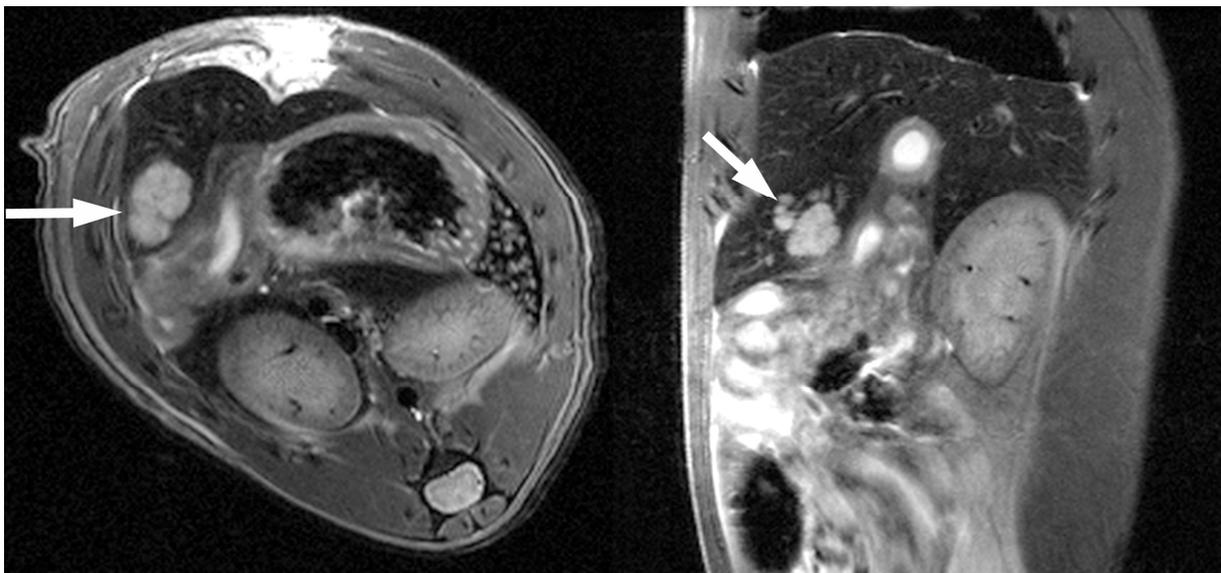
### 6.3.5. Kontrastmitteluntersuchungen: Vergleich von PT-FLASH und RSG- FLASH

Die in der darauffolgenden Messung an den Tieren durchgeführten Kontrastmitteluntersuchungen erfolgten ausschließlich mit dem nicht-leber-spezifischen extrazellulären Kontrastmittel Gd-DTPA zum weiteren Vergleich der beiden Sequenzen PT-FLASH und RSG-FLASH.

Die MRT-Untersuchung wurde jeweils mit einer T2-gewichteten TSE-Sequenz in axialer und sagittaler Ausrichtung begonnen, um den Tumor im linken Leberlappen des Tieres zu lokalisieren.

Sequenz	RARE
TR	917 ms
TE	27 ms
FA	90°
FOV	5,0 x 5,0 cm
Matrix	256 <sup>2</sup>
Pixelgröße	195x195 µm <sup>2</sup>
Schichtdicke	1,0 mm
Anzahl der Schichten	3
Schichtabstand	1,0 mm

**Tabelle 6:** Parameter der RARE-Sequenz zur Tumorlokalisierung.



**Abbildung 11:** Tumorlokalisierung in der RARE-Sequenz.

Danach erfolgte die Akquirierung axialer T1-gewichteter Bilder mittels PT-FLASH und RSG-FLASH analog zu der in 6.2.4. beschriebenen Vorgehensweise.

Für die Kontrastmitteluntersuchungen wurden beide Sequenzen in ihren Messparametern noch weiter optimiert und es wurde zur besseren Vergleichbarkeit bei der Dosierung des Inhalationsnarkotikums darauf geachtet, eine konstante Atemfrequenz von etwa 30 Atemzügen pro Minute einzuhalten.

Bei der Durchführung der RSG-FLASH wurde die Sättigerschicht diesmal zwei Millimeter oberhalb der Messschicht platziert und ihre Dicke betrug dabei zwei Millimeter.

Hierzu wurden zunächst beide Sequenzen an identischen anatomischen Positionen und ohne Kontrastmittel mit den folgenden Einstellungen je zweimal durchgeführt:

Sequenz	PT-FLASH	RSG-FLASH
<b>TR</b>	45 ms	45 ms
<b>TE</b>	2,5 ms	2,5 ms
<b>FA</b>	25°	25°
<b>FOV</b>	5,0 x 5,0 cm	5,0 x 5,0 cm
<b>Matrix</b>	256 <sup>2</sup>	256 <sup>2</sup>
<b>Pixelgröße</b>	195 x 195 µm	195 x 195 µm
<b>Schichtdicke</b>	1,0 mm	1,0 mm
<b>Anzahl der Schichten</b>	3	3
<b>Schichtabstand</b>	1,0 mm	1,0 mm

**Tabelle 7:** Sequenzeinstellung von PT-FLASH und RSG-FLASH im Tumormodell.

Im Anschluss erfolgte die Injektion von 0,2 mmol/kg Körpergewicht (KG) des Kontrastmittels Gd-DTPA mittels einer 27 G Kanüle (Venofix® A, B.Braun, Melsungen, Deutschland) in die Schwanzvene der Ratte.

Bis zu einer Zeit von zwölf Minuten nach der Kontrastmittelgabe erfolgten nun Messungen in regelmäßigen Abständen an vier aufeinanderfolgenden Zeitpunkten.

An jedem dieser vier Zeitpunkte wurden nacheinander sowohl die PT-FLASH als auch die RSG-FLASH durchgeführt um dann miteinander verglichen werden zu können.

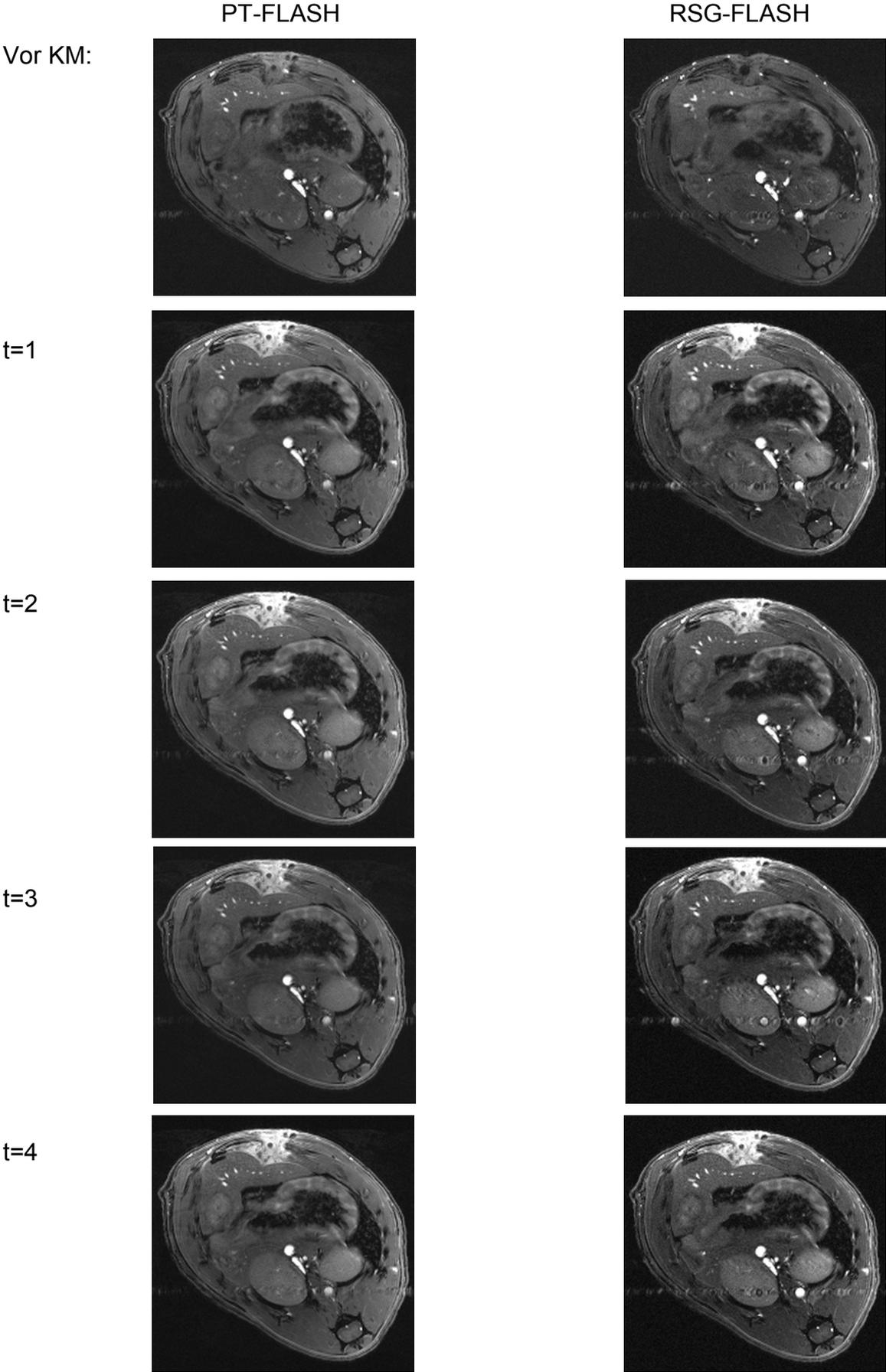


Abbildung 12: Vergleich von PT-FLASH und RSG-FLASH mit Kontrastmittel.

**6.3.6. Auswertung der Bilddaten**

**6.3.6.1. Messung der Relaxationszeiten T1,T2 und T2\***

Für die Bestimmung der T1- und T2-Zeiten wurden in der axialen Schicht neun ROI platziert. Jeweils vier in der Leber, zwei im paravertebralen Muskel und eine im Fettgewebe, sowie zwei ROI in den Lebermetastasen.

Hierbei wurde die folgende Nummerierung verwendet:

	<b>Tiere mit Tumor</b>
<b>ROI_1</b>	Lebergewebe
<b>ROI_2</b>	Lebergewebe
<b>ROI_3</b>	Lebergewebe
<b>ROI_4</b>	Lebergewebe
<b>ROI_5</b>	Tumorgewebe
<b>ROI_6</b>	Tumorgewebe
<b>ROI_7</b>	Paravertebraler Muskel
<b>ROI_8</b>	Paravertebraler Muskel
<b>ROI_9</b>	Subkutanes Fettgewebe

**Tabelle 8:** Nummerierung der ROI zur Relaxationszeitmessung im Tumormodell.

Für eine zweite Bestimmung der T2-Relaxationszeit wurden die ROI aus der RARE-Sequenz in die MSME-Sequenz kopiert, sodass die Evaluation an identischen anatomischen Punkten erfolgen konnte.

Die Berechnung der T2\*-Relaxationszeit erfolgte ebenfalls an den zuvor beschriebenen Punkten, die zuvor erneut von der RARE-Sequenz in die MGE-Sequenz hinein kopiert wurden.

Die Berechnung der Relaxationsparameter erfolgte wie in 6.2.5.1. beschrieben mittels des Levenberg-Marquardt-Algorithmus.

RARE-Sequenz:

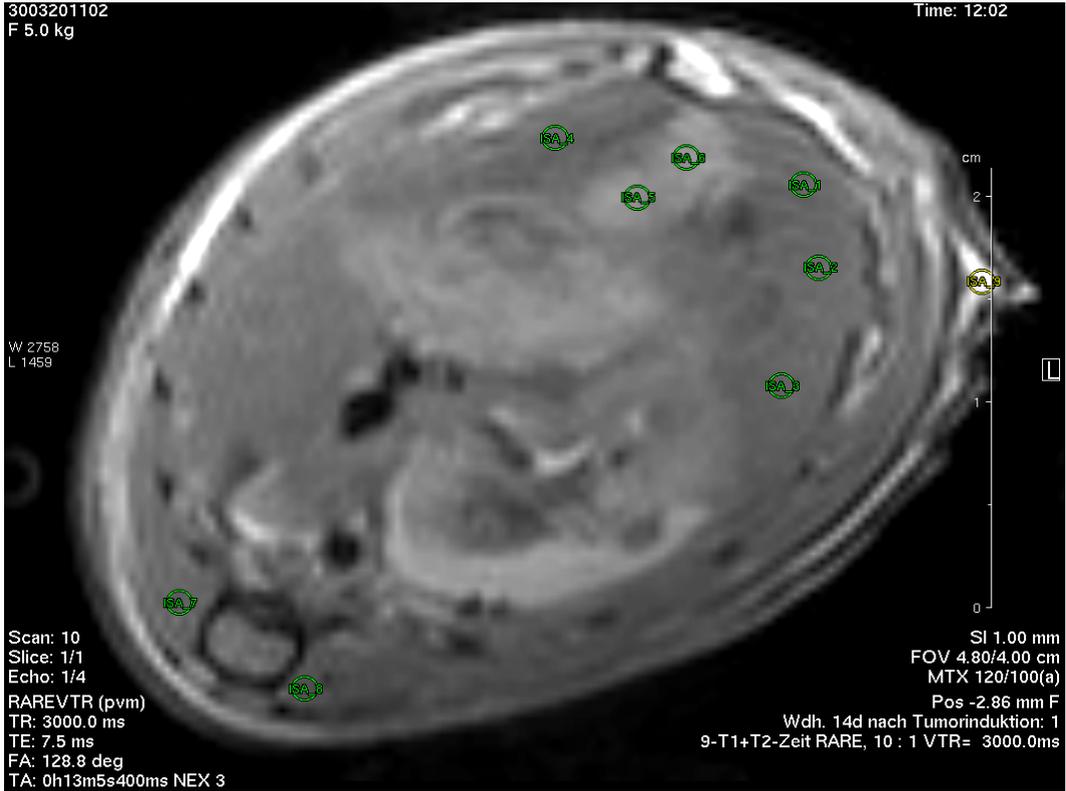


Abbildung 13: Platzierung der ROI in der RARE-Sequenz im Tumormodell.

MSME-Sequenz:

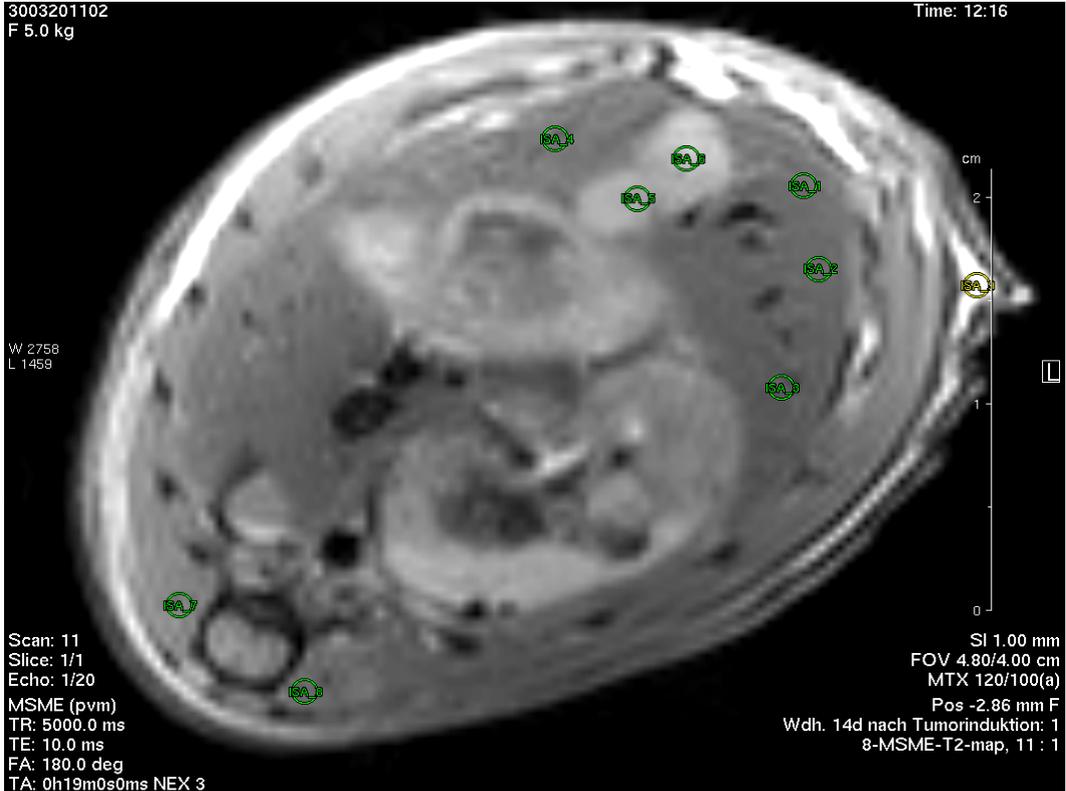


Abbildung 14: Platzierung der ROIs in der MSME-Sequenz im Tumormodell.

MGE-Sequenz:

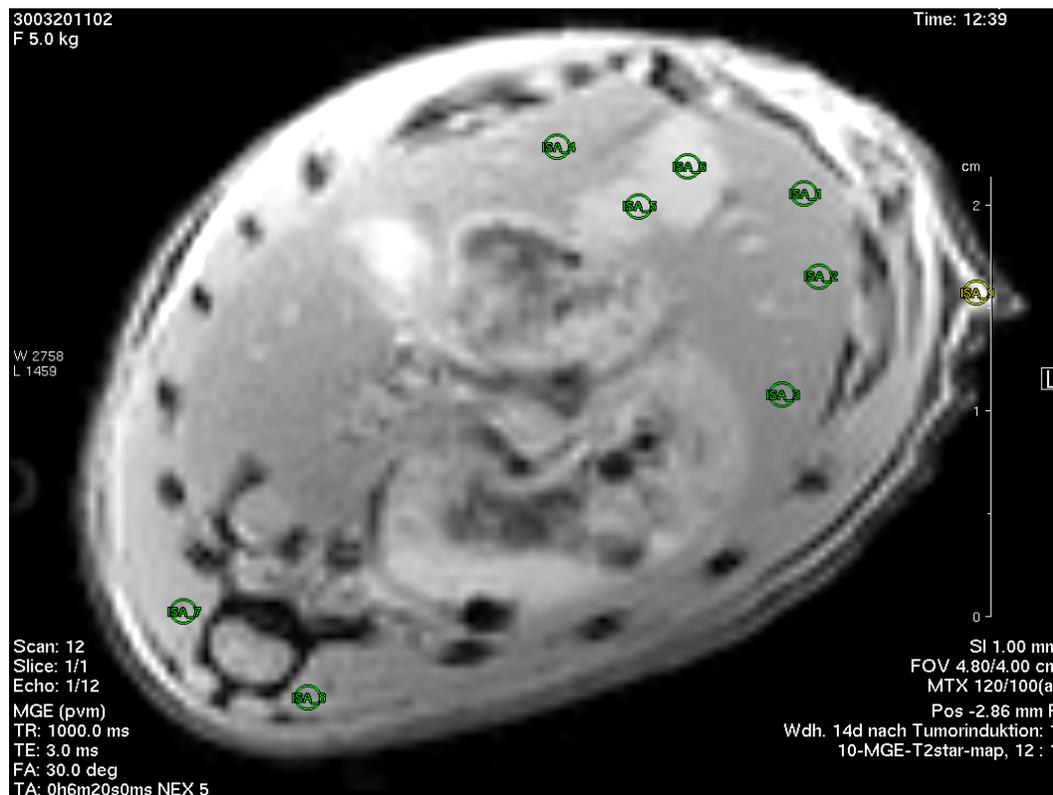


Abbildung 15: Platzierung der ROIs in der MGE-Sequenz im Tumormodell.

### 6.3.6.2. Kontrastmitteluntersuchungen: Vergleich von PT-FLASH und RSG-FLASH

Es erfolgte die Platzierung von ROI an identischen anatomischen Positionen sowohl im Tumorgewebe als auch im normalen Lebergewebe in allen durchgeführten Sequenzen mit den folgenden Nummerierungen:

	Tiere mit Tumor
ROI_1	Lebergewebe
ROI_2	Lebergewebe
ROI_3	Tumorgewebe
ROI_4	Tumorgewebe
ROI_5	Paravertebraler Muskel
ROI_6	Paravertebraler Muskel
ROI_7	Subkutanes Fettgewebe
ROI_8	Subkutanes Fettgewebe

Tabelle 9: Platzierung der ROI in der PT-FLASH und RSG-FLASH im Tumormodell.

Aus den jeweils doppelt durchgeführten nicht kontrastmittelverstärkten Untersuchungen wurde nun zunächst mittels der Subtraktionsmethode, welche in 6.2.5.2 beschrieben wurde, das Hintergrundrauschen bestimmt. Es wurde außerdem bei beiden Sequenzen und bei allen Messungen die Akquisitionszeit erfasst.

Nachfolgend wurden nun die Akquisitionszeiten, das Signal-zu-Rausch-Verhältnis (SNR) im Lebergewebe und im Tumorgewebe, das Kontrast-zu-Rausch-Verhältnis (CNR) von Tumorgewebe und normalem Lebergewebe, sowie das „Lesion Enhancement“ zu verschiedenen Zeitpunkten und in beiden Sequenzen im Tumor mittels der nachfolgenden Formeln bestimmt [Firbank et al., 1999, Frericks et al., 2009].

$$SNR_{liver,t} = \frac{\sqrt{2} \times SI_{liver,t}}{SD_{subtr}}$$

$$SNR_{tumor,t} = \frac{\sqrt{2} \times SI_{tumor,t}}{SD_{subtr}}$$

$$CNR_t = \frac{\sqrt{2}(SI_{tumor,post,t} - SI_{liver,post,t})}{SD_{subtr,mean}}$$

$$LE = \frac{\sqrt{2}(SI_{tumor,post,t} - SI_{liver,prä})}{SD_{subtr}}$$

**SI<sub>tumor</sub>** = Signalintensität des Tumors zu entsprechendem Zeitpunkt t, prä- und post Kontrastmittelinjektion

**SI<sub>liver</sub>** = Signalintensität der Leber zu entsprechendem Zeitpunkt t, prä- und post Kontrastmittelinjektion

**SD<sub>subtr</sub>** = Standardabweichung im Subtraktionsdatensatz, entspricht dem Hintergrundrauschen

### 6.3.7. Qualitativer Vergleich der PT-FLASH und RSG-FLASH mittels verblindeter Auswertung

Im Anschluss wurde zum weiteren Vergleich der beiden Sequenzen eine qualitative Auswertung mit zwei unabhängigen und auf dem Gebiet der MR-Bildgebung der Leber erfahrenen Radiologen durchgeführt.

Es erfolgte eine verblindete Auswertung des Bilddatensatzes, wobei von beiden Auswertern jeweils die Bildqualität der entsprechenden Untersuchungstechniken mittels einer Ordinalskala von 1 bis 5 (1= „am besten“, 5= „am schlechtesten“) anhand der folgenden sieben Fragen bewerten sollte.

1. Vorliegen von Bewegungsartefakten
2. Einfluss der Bewegungsartefakte auf die Darstellung des Tumors
3. Vorliegen von Pulsationsartefakten
4. Einfluss der Pulsationsartefakte auf die Darstellung des Tumors
5. Differenzierbarkeit zwischen Lebergefäßen und Lebergewebe
6. Differenzierbarkeit zwischen Tumorgewebe und normalem Lebergewebe
7. Generelle Eignung der Sequenz für die MR-Bildgebung der Leber

### 6.3.8. Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung erfolgte analog zum Abschnitt 6.2.6.

#### 6.3.8.1. Vergleich von Relaxationszeiten

Die ermittelten Relaxationszeiten der Sequenzen RARE, MSME und MGE wurden zum Vergleich von Tumorgewebe mit normalem Lebergewebe herangezogen.

Es wurde hierzu ein gepaarter t-Test oder bei nicht-normalverteilten Werten ein Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test durchgeführt.

Der Vergleich zwischen Tumorgewebe und normalem Lebergewebe erfolgte innerhalb der Gruppe der zehn jungen tumorimplantierten Tiere zehn Tage nach Implantation der Tumorzellen.

Hierzu wurden die Werte der vier ROI der Leber sowie die Werte der zwei ROI innerhalb des Tumors gemittelt und mittels eines gepaarten t-Tests bzw. bei nicht-Normalverteilung mittels Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test miteinander verglichen.

#### 6.3.8.2. Kontrastmitteluntersuchungen: Vergleich von PT-FLASH und RSG-FLASH

Die beiden oben genannten Sequenzen wurden hinsichtlich ihrer Akquisitionszeit und der SNR in verschiedenen Geweben miteinander verglichen.

Beim Vergleich der Akquisitionszeiten wurde zunächst wieder ein Mittelwert aus den Akquisitionszeiten der doppelt durchgeführten PT-FLASH errechnet, wohingegen bei der RSG-FLASH eine konstante Akquisitionszeit bestand. Dies erfolgte sowohl vor Kontrastmittelgabe als auch zu vier Zeitpunkten nach Kontrastmittelgabe.

Nach der Prüfung auf Normalverteilung wurde entweder ein gepaarter t-Test oder bei nicht normal-verteilten Werten ein Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test durchgeführt.

Es wurden außerdem jeweils die SNR-Werte von Lebergewebe, die SNR-Werte von Tumorgewebe, die CNR-Werte von Leber zu Tumor und die LE-Werte im Tumorgewebe der beiden Sequenzen miteinander verglichen.

Der Vergleich erfolgte anhand einer Messung vor Kontrastmittelgabe sowie an vier Messungen nach der Gabe von Gd-DTPA.

Nach der Prüfung auf Normalverteilung wurde auch hier entweder ein gepaarter t-Test oder bei nicht normal-verteilten Werten ein Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test durchgeführt.

Die qualitative Bewertung beider Auswerter wurde ebenfalls bezüglich eines signifikanten Unterschieds zwischen den beiden Sequenzen ausgewertet. Hierzu wurde ebenfalls der Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test verwendet.

### 6.3.9. Histologie

Abschließend wurden alle Tiere mittels CO<sup>2</sup>-Euthanasie getötet und die Lebern wurden über eine mediane Laparotomie entnommen und in 4%-iger Formalinlösung asserviert.

Zur pathologischen Untersuchung wurden Gewebeschnitte fixiert und anschließend mit Hämatoxylin-Eosin gefärbt.

Anschließend wurden die Gewebeschnitte hinsichtlich des Vorhandenseins fokaler Lebermetastasen analysiert.

## 7. Ergebnisse

### 7.1. Relevanz des Versuchstieralters

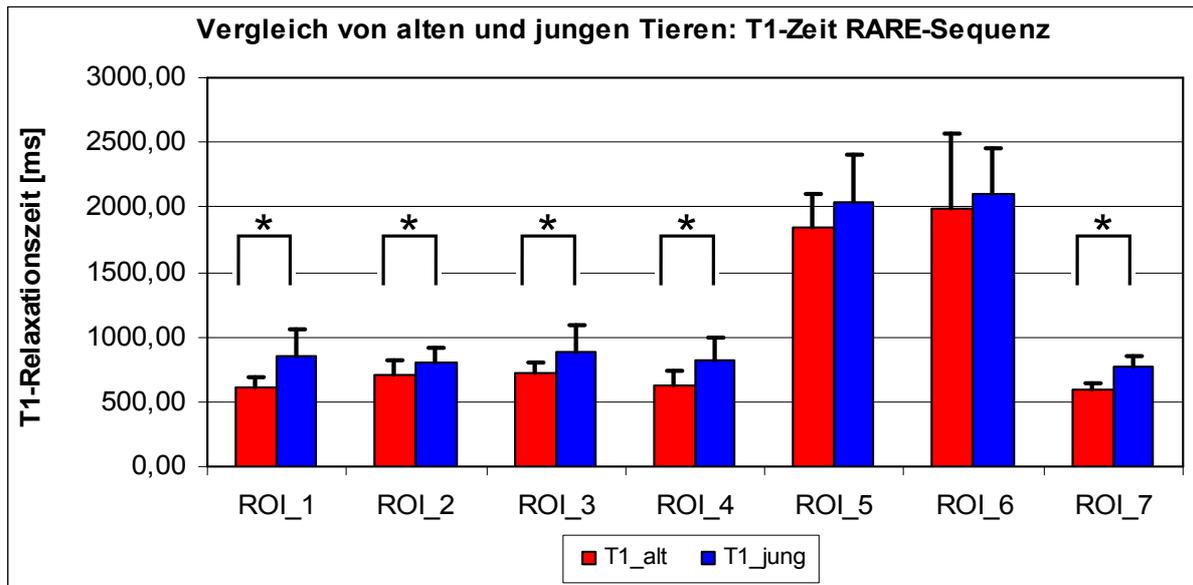
#### 7.1.1. Vergleich von Relaxationszeiten

T1-Relaxationszeiten:

Der Vergleich der mittels unterschiedlicher Sequenztechniken bestimmten Relaxationszeiten ergab signifikant höhere T1-Relaxationszeiten für das Leberparenchym und das subkutane Fettgewebe der jungen Tiere (ROI\_1 bis ROI\_4 und ROI\_7) wohingegen sich für die paravertebrale Muskulatur keine signifikanten Unterschiede bezüglich der T1-Relaxationszeiten feststellen ließen (ROI\_5 und ROI\_6).

<b>T1-Relaxationszeit_RARE</b>	<b>Mean (Tier 1-10 alt) + SD</b>	<b>Mean (Tier 1-10 jung) +SD</b>	<b>p-Wert</b>
<b>ROI_1</b>	617,072 (+/- 75,194)	856,879 (+/- 197,381)	<b>0,0021</b>
<b>ROI_2</b>	701,285 (+/- 112,871)	806,983 (+/- 104,734)	<b>0,0436</b>
<b>ROI_3</b>	717,298 (+/- 85,062)	886,400 (+/- 198,229)	<b>0,0233</b>
<b>ROI_4</b>	618,046 (+/- 121,525)	824,928 (+/- 171,829)	<b>0,0061</b>
<b>ROI_5</b>	1851,634 (+/- 249,843)	2039,480 (+/-373,669)	<b>0,2029</b>
<b>ROI_6</b>	1982,415 (+/- 579,856)	2108,851 (+/-347,779)	<b>0,5617</b>
<b>ROI_7</b>	598,782 (+/- 38,478)	774,043 (+/-73,407)	<b>&lt;0,0001</b>

**Tabelle 10:** Mittels RARE-Sequenz ermittelte T1-Relaxationszeiten in unterschiedlichen Lokalisationen (ROI\_1 bis ROI\_4: Lebergewebe / ROI\_5 und ROI\_6: paravertebrale Muskel / ROI\_7: subkutanes Fettgewebe) für junge und alte Versuchstiere.



**Abbildung 16:** T1-Relaxationszeiten (mittels RARE-Sequenz ermittelt) von Lebergewebe (ROI\_1 bis ROI\_4), Muskulatur (ROI\_5 und ROI\_6) sowie des subkutanen Fettgewebes (ROI\_7) junger (rot) und alter Versuchstiere (blau).

Die ermittelten T1-Relaxationszeiten von Lebergewebe und subkutanem Fettgewebe waren signifikant höher für die jungen Tiere, während kein signifikanter Unterschied der T1-Relaxationszeiten der paravertebralen Muskulatur zwischen beiden Gruppen bestand (ROI\_5 und ROI\_6).

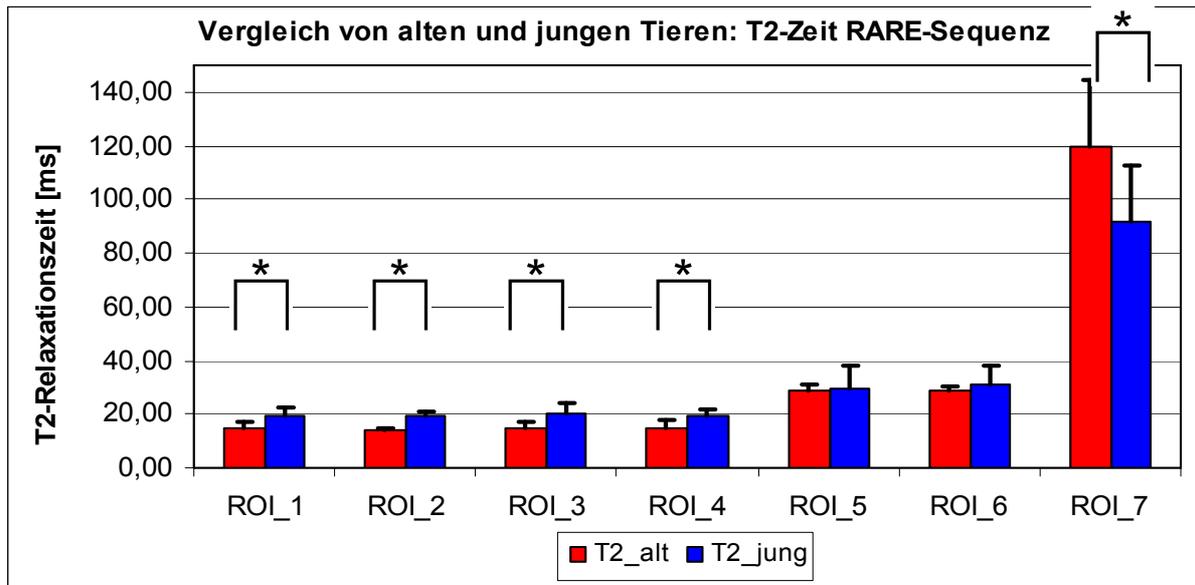
T2-Relaxationszeiten:

Die mittels RARE-Sequenz ermittelten T2-Relaxationszeiten ergaben signifikant höhere Werte für das Lebergewebe der jungen Tiere (ROI\_1 bis ROI\_4).

Die T2-Relaxationszeiten der paravertebralen Muskulatur zeigten keine signifikanten Unterschiede (ROI\_5 und ROI\_6), während die des subkutanen Fettgewebes der jungen Tiere (ROI\_7) signifikant erniedrigt waren.

T2-Relaxationszeit_RARE	Mean (Tier 1-10 alt) + SD	Mean (Tier 1-10 jung) +SD	p-Wert
ROI_1	14,719 (+/- 2,439)	19,782 (+/- 2,801)	<b>0,0011</b>
ROI_2	13,729 (+/- 1,379)	19,235 (+/- 1,878)	<b>&lt;0,0001</b>
ROI_3	15,140 (+/- 2,223)	20,363 (+/- 4,028)	<b>0,0005</b>
ROI_4	15,131 (+/- 2,648)	19,246 (+/- 2,250)	<b>0,0011</b>
ROI_5	28,732 (+/- 2,191)	29,655 (+/- 8,617)	<b>0,3445</b>
ROI_6	28,445 (+/- 2,188)	30,799 (+/- 7,494)	<b>0,7959</b>
ROI_7	119,350 (+/- 25,408)	91,734 (+/- 20,656)	<b>0,0355</b>

**Tabelle 11:** Mittels RARE-Sequenz ermittelte T2-Relaxationszeiten in unterschiedlichen Lokalisationen (ROI\_1 bis ROI\_4: Lebergewebe / ROI\_5 und ROI\_6: paravertebraler Muskel / ROI\_7: subkutanes Fettgewebe) für junge und alte Versuchstiere.



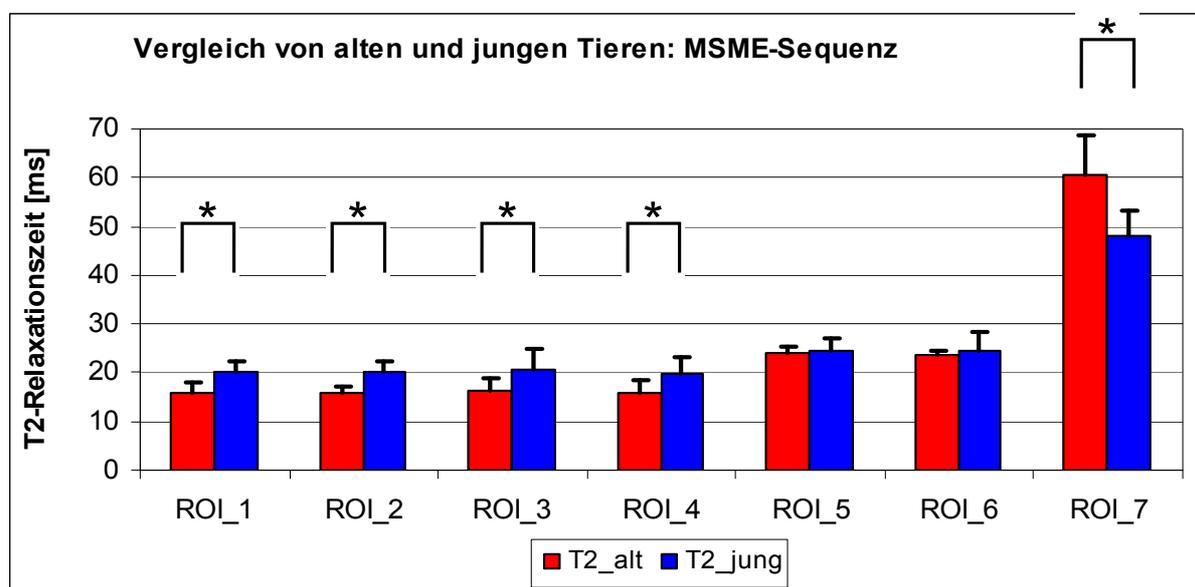
**Abbildung 17:** T2-Relaxationszeiten (mittels RARE-Sequenz ermittelt) von Lebergewebe (ROI\_1 bis ROI\_4), Muskulatur (ROI\_5 und ROI\_6) sowie des subkutanen Fettgewebes (ROI\_7) junger (rot) und alter Versuchstiere (blau).

Die ermittelten T2-Relaxationszeiten von Lebergewebe waren signifikant höher für die jungen Tiere, während kein signifikanter Unterschied der T2-Relaxationszeiten der paravertebralen Muskulatur zwischen beiden Gruppen bestand (ROI\_5 und ROI\_6). Die T2-Relaxationszeiten des Fettgewebes (ROI\_7) zeigten bei den jungen Tieren jedoch eine signifikante Erniedrigung.

Wie auch in der RARE-Sequenz zeigten die mittels MSME-Sequenz ermittelten T2-Relaxationszeiten signifikant höhere Werte für das Lebergewebe der jungen Tiere (ROI\_1 bis ROI\_4). Analog zeigte sich kein signifikanter Unterschied der Werte der paravertebralen Muskulatur (ROI\_5 und ROI\_6), wohingegen das subkutane Fettgewebe der jungen Tiere (ROI\_7) eine signifikant niedrigere T2-Relaxationszeit aufwies.

T2-Relaxationszeit_MSME	Mean (Tier 1-10 alt) + SD	Mean (Tier 1-10 jung) +SD	p-Wert
ROI_1	15,93 (+/- 2,09)	20,28 (+/- 1,97)	<b>0,0007</b>
ROI_2	15,75 (+/- 1,24)	19,97 (+/- 2,50)	<b>0,0001</b>
ROI_3	16,31 (+/- 2,63)	20,50 (+/- 4,52)	<b>0,0081</b>
ROI_4	16,09 (+/- 2,53)	16,69 (+/- 3,71)	<b>0,0115</b>
ROI_5	24,21 (+/- 1,25)	24,31 (+/- 2,78)	<b>0,3150</b>
ROI_6	23,53 (+/- 0,98)	24,64 (+/- 3,54)	<b>0,7959</b>
ROI_7	60,68 (+/- 7,99)	47,95 (+/- 5,49)	<b>0,0005</b>

**Tabelle 12:** Mittels MSME-Sequenz ermittelte T2-Relaxationszeiten in unterschiedlichen Lokalisationen (ROI\_1 bis ROI\_4: Lebergewebe / ROI\_5 und ROI\_6: paravertebraler Muskel / ROI\_7: subkutanes Fettgewebe) für junge und alte Versuchstiere



**Abbildung 18:** T2-Relaxationszeiten (mittels MSME-Sequenz ermittelt) von Lebergewebe (ROI\_1 bis ROI\_4), Muskulatur (ROI\_5 und ROI\_6) sowie des subkutanen Fettgewebes (ROI\_7) junger (rot) und alter Versuchstiere (blau).

Die ermittelten T2-Relaxationszeiten von Lebergewebe waren signifikant höher für die jungen Tiere, während kein signifikanter Unterschied der T2-Relaxationszeiten der paravertebralen Muskulatur zwischen beiden Gruppen bestand (ROI\_5 und ROI\_6). Die T2-Relaxationszeiten des Fettgewebes (ROI\_7) zeigten bei den jungen Tieren jedoch eine signifikante Erniedrigung.

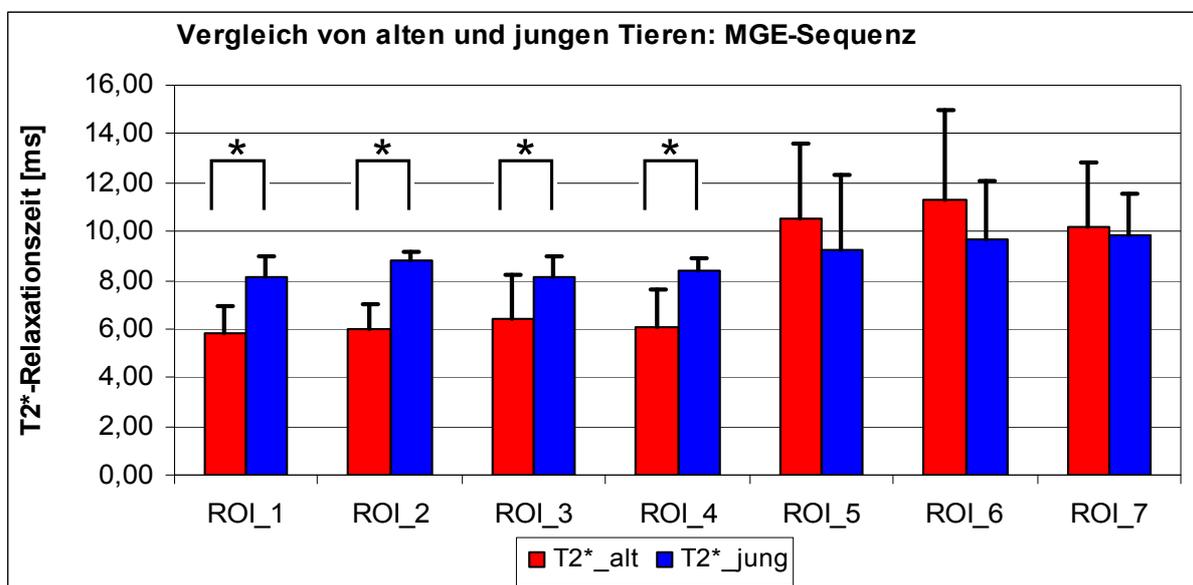
T2\*-Relaxationszeiten:

Die mittels MGE-Sequenz ermittelten T2\*-Relaxationszeiten zeigten signifikant höhere Werte für das Leberparenchym der jungen Tiere (ROI\_1 bis ROI\_4).

Es ergab sich kein signifikanter Unterschied bezüglich der T2\*-Relaxationszeiten für Muskulatur (ROI\_5 und ROI\_6) und subkutanes Fettgewebe (ROI\_7).

T2*-Relaxationszeit_MGE	Mean (Tier 1-10 alt) + SD	Mean (Tier 1-10 jung) +SD	p-Wert
ROI_1	5,85 (+/- 1,08)	8,13 (+/- 0,86)	<0,0001
ROI_2	5,99 (+/- 1,04)	8,77 (+/- 0,42)	<0,0001
ROI_3	6,39 (+/- 1,82)	8,16 (+/- 0,81)	0,0116
ROI_4	6,06 (+/- 1,59)	8,43 (+/- 0,44)	0,0002
ROI_5	10,51 (+/- 3,06)	9,25 (+/- 3,07)	0,3527
ROI_6	11,33 (+/- 3,67)	9,63 (+/- 2,40)	0,2370
ROI_7	10,17 (+/- 2,69)	9,82 (+/- 1,75)	0,7388

**Tabelle 13:** Mittels MGE-Sequenz ermittelte T2\*-Relaxationszeiten in unterschiedlichen Lokalisationen (ROI\_1 bis ROI\_4: Lebergewebe / ROI\_5 und ROI\_6: paravertebraler Muskel / ROI\_7: subkutanes Fettgewebe) für junge und alte Versuchstiere.



**Abbildung 19:** T2\*-Relaxationszeiten (mittels MSME-Sequenz ermittelt) von Lebergewebe (ROI\_1 bis ROI\_4), Muskulatur (ROI\_5 und ROI\_6) sowie des subkutanen Fettgewebes (ROI\_7) junger (rot) und alter Versuchstiere (blau).

Die ermittelten T2\*-Relaxationszeiten von Lebergewebe waren signifikant höher für die jungen Tiere, während kein signifikanter Unterschied der T2\*-Relaxationszeiten der paravertebralen Muskulatur und des subkutanen Fettgewebes zwischen beiden Gruppen bestand (ROI\_5, ROI\_6 und ROI\_7).

## 7.1.2. Vergleich von PT-FLASH und RSG-FLASH

### 7.1.2.1 Signal-zu-Rausch-Verhältnis (SNR)

Im Vergleich der Signal-zu-Rausch-Verhältnisse der beiden unterschiedlichen Sequenztechniken zur Akquisition T1-gewichteter Aufnahmen zeigte sich sowohl bei den alten Tieren als auch bei den jungen Tieren kein signifikanter Unterschied in allen miteinander verglichenen Gewebearealen.

Alte Tiere und junge Tiere:

**ROI\_1**= Lebergewebe

**ROI\_4**= paravertebraler Muskel

**ROI\_2**= Lebergewebe

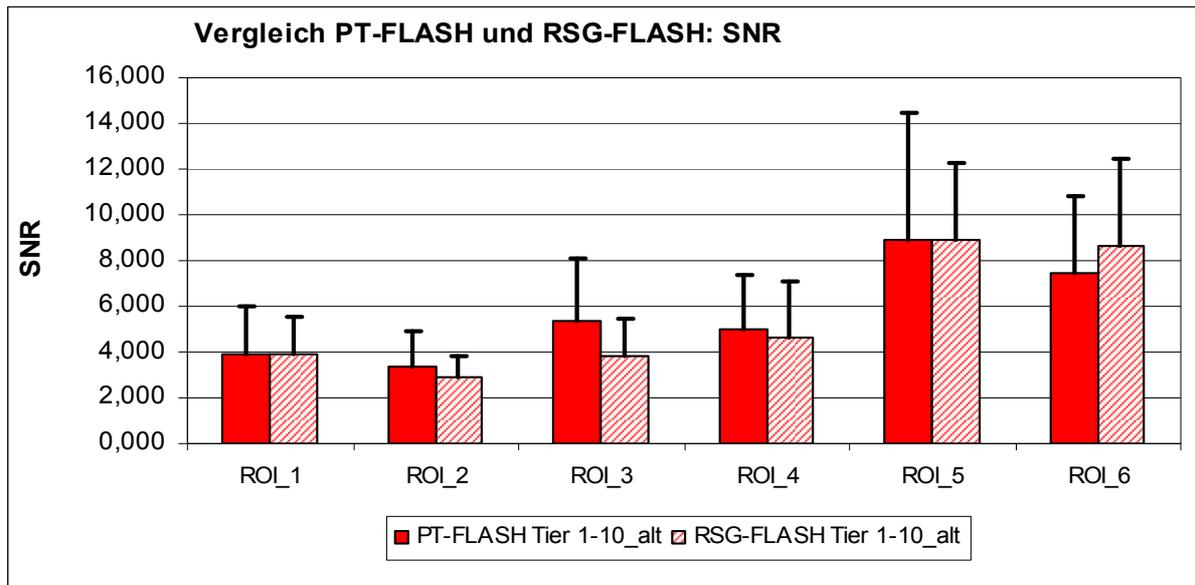
**ROI\_5**= subkutanes Fettgewebe

**ROI\_3**= paravertebraler Muskel

**ROI\_6**= subkutanes Fettgewebe

	<b>PT- FLASH</b> (Mean Tier1-10_alt)+SD	<b>RSG- FLASH</b> (Mean Tier1-10_alt)+SD	<b>p-Wert</b>
<b>SNR ROI_1</b>	3,924 (+/- 2,062)	3,910 (+/- 1,622)	<b>0,9754</b>
<b>SNR ROI_2</b>	3,392 (+/- 1,522)	2,895 (+/- 0,959)	<b>0,1696</b>
<b>SNR ROI_3</b>	5,318 (+/- 2,746)	3,854 (+/- 1,620)	<b>0,0522</b>
<b>SNR ROI_4</b>	4,962 (+/- 2,434)	4,680 (+/- 2,405)	<b>0,5644</b>
<b>SNR ROI_5</b>	8,909 (+/- 5,588)	8,864 (+/- 3,384)	<b>0,0805</b>
<b>SNR ROI_6</b>	7,424 (+/- 3,364)	8,658 (+/- 3,787)	<b>0,9739</b>

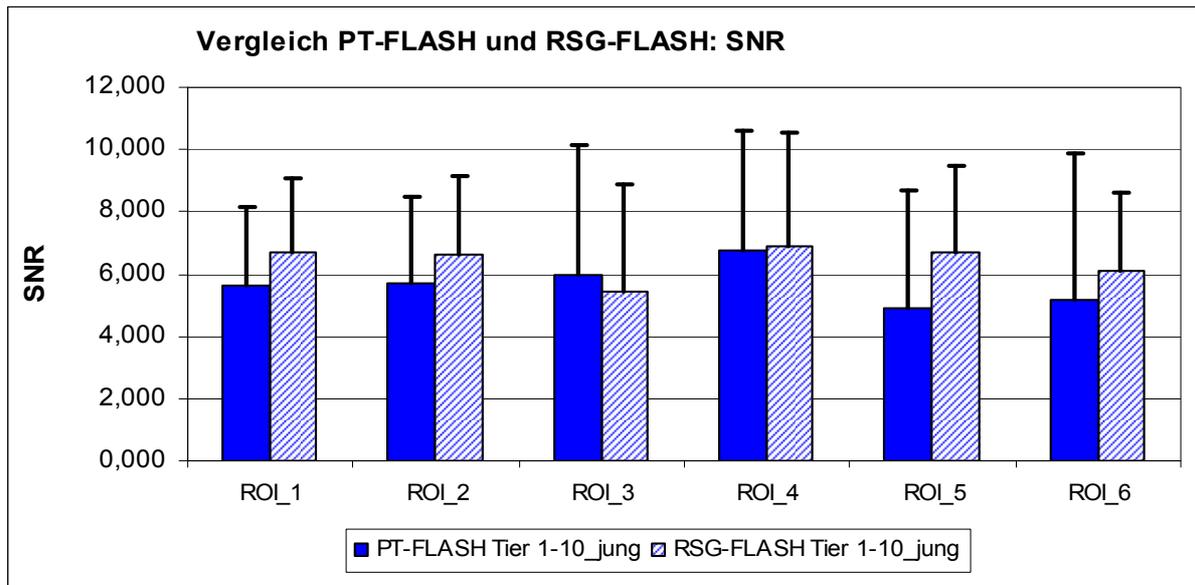
**Tabelle 14:** Mittels PT-FLASH und RSG-FLASH ermittelte SNRs in unterschiedlichen Lokalisationen (ROI\_1, ROI\_2: Lebergewebe / ROI\_3 und ROI\_4: paravertebraler Muskel / ROI\_5 und ROI\_6: subkutanes Fettgewebe) für alte Versuchstiere.



**Abbildung 20:** SNRs in unterschiedlichen Lokalisationen (ROI\_1 und ROI\_2: Lebergewebe / ROI\_3 und ROI\_4: paravertebraler Muskel / ROI\_5 und ROI\_6: subkutanes Fettgewebe) für alte Versuchstiere. In keiner der Gewebearten zeigte sich ein signifikanter Unterschied der SNRs.

	PT-FLASH (Mean Tier 1-10_jung) + SD	RSG-FLASH (Mean Tier 1-10_jung)+ SD	p-Wert
<b>SNR ROI_1</b>	4,930 (+/- 3,760)	6,711 (+/- 2,744)	<b>0,1055</b>
<b>SNR ROI_2</b>	5,153 (+/- 4,746)	6,088 (+/- 2,504)	<b>0,0840</b>
<b>SNR ROI_3</b>	5,641 (+/- 2,512)	6,709 (+/- 2,392)	<b>0,3223</b>
<b>SNR ROI_4</b>	5,705 (+/- 2,802)	6,598 (+/- 2,548)	<b>0,4297</b>
<b>SNR ROI_5</b>	5,941 (+/- 4,217)	5,460 (+/- 3,448)	<b>1,0000</b>
<b>SNR ROI_6</b>	6,735 (+/- 3,888)	6,908 (+/- 3,640)	<b>0,8555</b>

**Tabelle 15:** Mittels PT-FLASH und RSG-FLASH ermittelte SNRs in unterschiedlichen Lokalisationen (ROI\_1, ROI\_2: Lebergewebe / ROI\_3 und ROI\_4: paravertebraler Muskel / ROI\_5 und ROI\_6: subkutanes Fettgewebe) für junge Versuchstiere.



**Abbildung 21:** SNRs in unterschiedlichen Lokalisationen (ROI\_1 und ROI\_2: Lebergewebe / ROI\_3 und ROI\_4: paravertebraler Muskel / ROI\_5 und ROI\_6: subkutanes Fettgewebe) für junge Versuchstiere. In keiner der Gewebearten zeigte sich ein signifikanter Unterschied der SNRs.

#### 7.2.1.2. Akquisitionszeiten

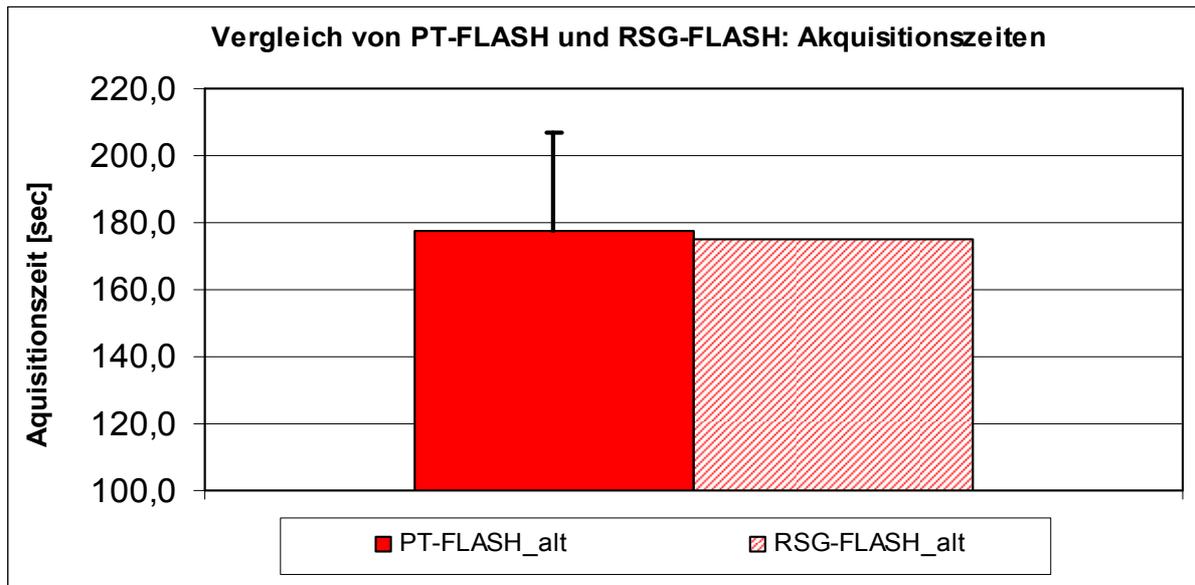
Auch im Vergleich der Akquisitionszeiten zeigte sich sowohl bei den alten als auch bei den jungen Tieren kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Sequenzen.

PT- FLASH	Tmean [sec] + SD	RSG-FLASH	Tmean [sec] + SD	p-Wert
Mean (Tier 1-10 alt)	177,70 (+/- 29,08)	Mean (Tier 1-10 alt)	174,80 (+/- 0)	<b>0,7060</b>

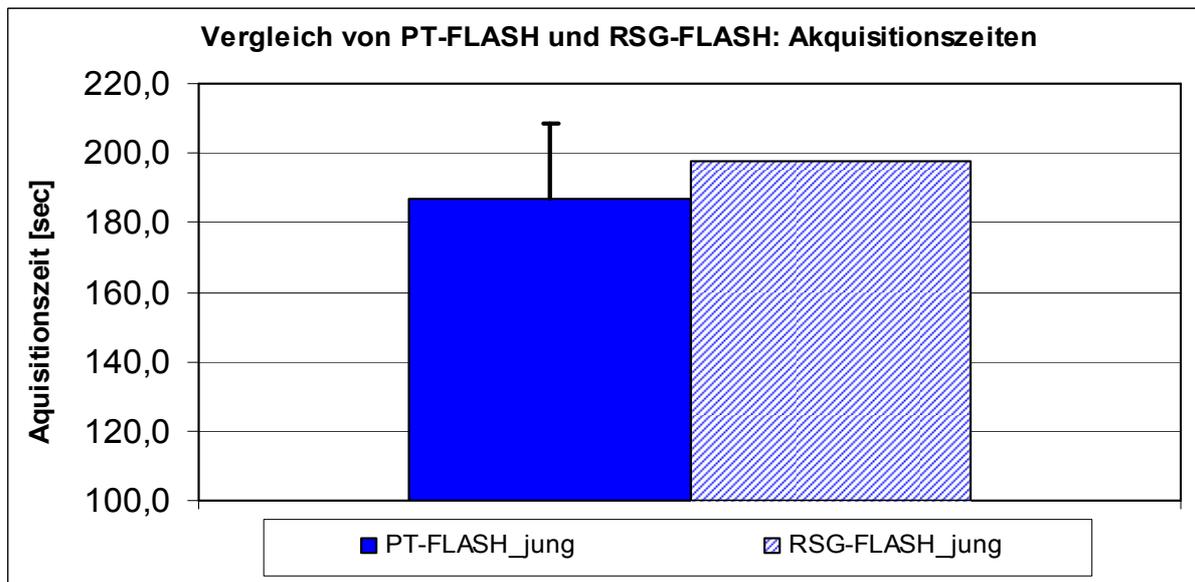
**Tabelle 16:** Akquisitionszeiten der PT-FLASH und RSG-FLASH für alte Versuchstiere.

PT- FLASH	Tmean [sec] + SD	RSG-FLASH	Tmean [sec] + SD	p-Wert
Mean (Tier 1-10 jung)	187,00 (+/- 21,75)	Mean (Tier 1-10 jung)	197,50 (+/- 0)	<b>0,1987</b>

**Tabelle 17:** Akquisitionszeiten der PT-FLASH und RSG-FLASH für junge Versuchstiere.



**Abbildung 22:** Akquisitionszeiten der PT-FLASH und RSG-FLASH für alte Versuchstiere. Es zeigte sich kein signifikanter Unterschied in den Akquisitionszeiten der beiden Sequenzen. Da die RSG-FLASH Sequenz eine konstante Akquisitionszeit aufwies, wurde hier keine Standardabweichung abgebildet.



**Abbildung 23:** Akquisitionszeiten der PT-FLASH und RSG-FLASH für junge Versuchstiere. Es zeigte sich kein signifikanter Unterschied in den Akquisitionszeiten der beiden Sequenzen. Da die RSG-FLASH Sequenz eine konstante Akquisitionszeit aufwies, wurde hier keine Standardabweichung abgebildet.

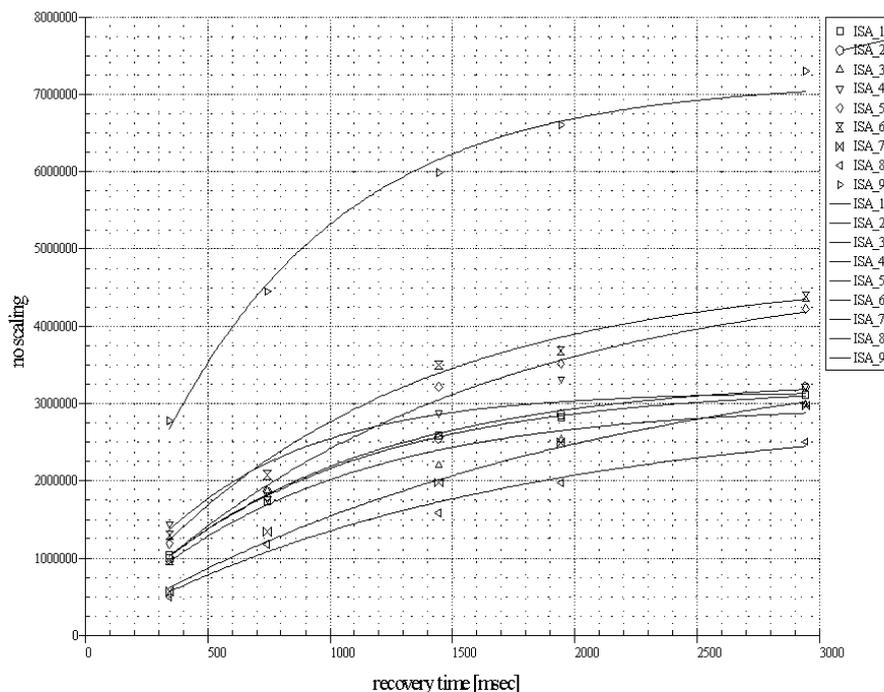
## 7.2. Tumoruntersuchungen am Tiermodell

### 7.2.1. Vergleich von Relaxationszeiten

Beim Vergleich der Relaxationszeiten wurden auch hier jeweils die T1-Relaxationszeiten der RARE-Sequenz, die T2-Relaxationszeiten der RARE-Sequenz und der MSME-Sequenz sowie die T2\*-Relaxationszeiten der MGE-Sequenz betrachtet. Bei dem Vergleich der T1-Relaxationszeiten der RARE-Sequenz zeigten sich in den ROIs im Tumorgewebe (ROI\_5 und ROI\_6) signifikant höhere Werte als in den ROIs im Lebergewebe (ROI\_1 bis ROI\_4).

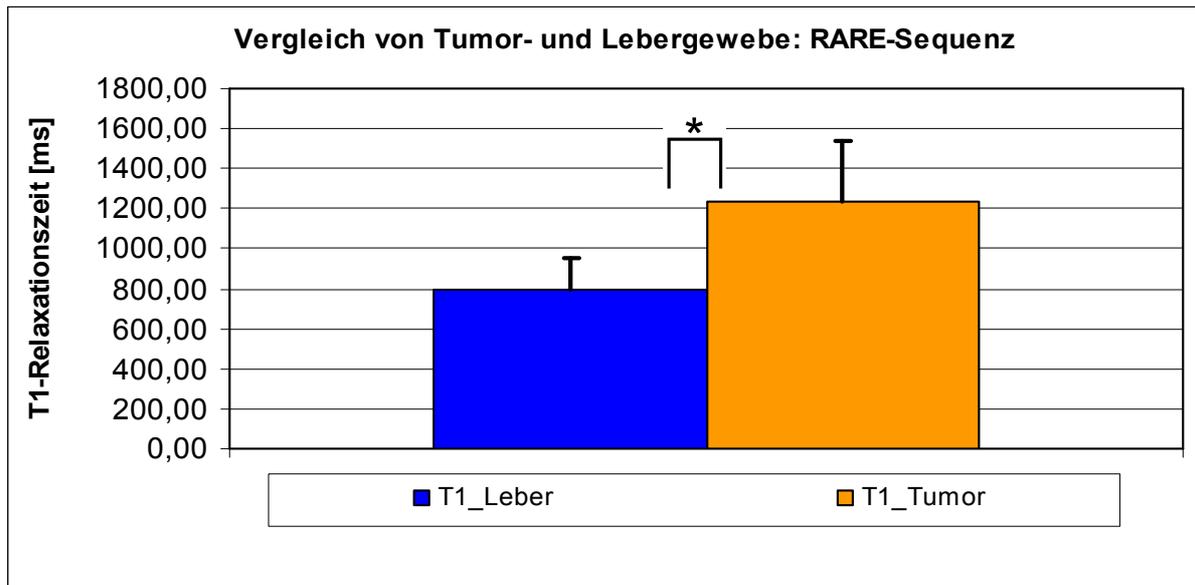
RARE	Leber (mean: ROI_1-ROI_4) Mean (Tier 1-10 jung_Tumor) +SD	Tumor (mean: ROI_5-ROI_6) Mean (Tier 1-10 jung_Tumor) +SD	p-Wert
T1_Relaxationszeit_ RARE	800,10 (+/- 151,00)	1238,86 (+/- 296,93)	<0,0001

**Tabelle 18:** Mittels RARE-Sequenz ermittelte T1-Relaxationszeiten in unterschiedlichen Lokalisationen (ROI\_1 bis ROI\_4: Lebergewebe / ROI\_5 und ROI\_6: Tumorgewebe) für Versuchstiere mit Tumor.



T1 saturation recovery (std dev weighted)

**Abbildung 24:** T1-Signalkurve in der RARE-Sequenz im Tumormodell.

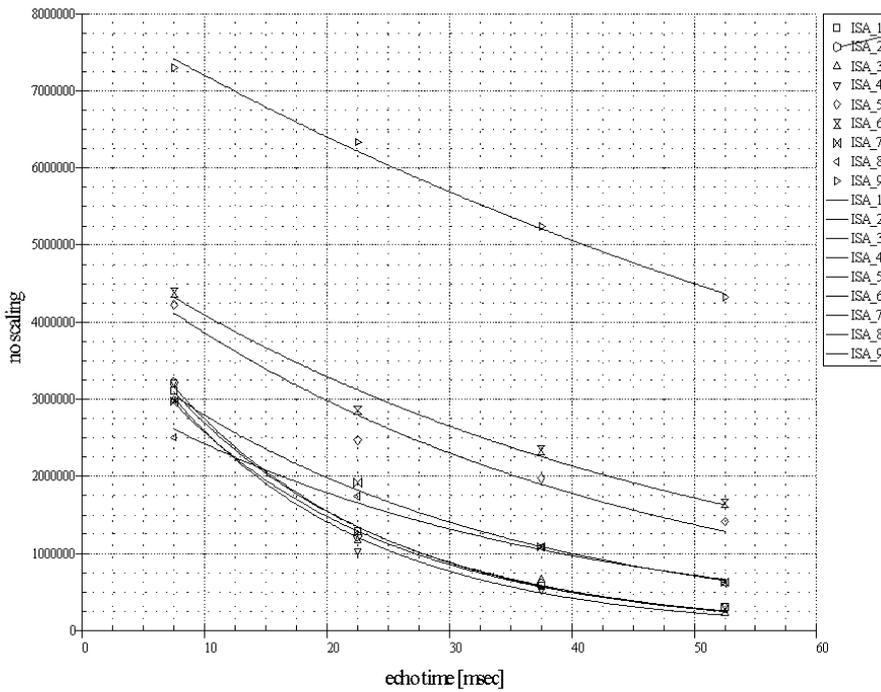


**Abbildung 25:** T1-Relaxationszeiten (mittels RARE-Sequenz ermittelt) von Lebergewebe (ROI\_1 bis ROI\_4) und Tumorgewebe (ROI\_5 und ROI\_6) von Versuchstieren mit Tumor. Die ermittelten T1-Relaxationszeiten des Tumorgewebes zeigten signifikant höhere Werte als die des Lebergewebes.

Des Weiteren waren die T2-Relaxationszeiten der RARE-Sequenz im Tumorgewebe auch signifikant höher als im Lebergewebe. Ebenso waren die T2-Relaxationszeiten der MSME-Sequenz im Tumorgewebe signifikant höher als im Lebergewebe.

RARE	Leber (mean: ROI_1-ROI_4) Mean (Tier 1-10 jung_Tumor) +SD	Tumor (mean: ROI_5-ROI_6) Mean (Tier 1-10 jung_Tumor) +SD	p-Wert
T2_Relaxationszeit_ RARE	21,54 (+/- 4,91)	61,31 (+/- 28,46)	<b>0,0006</b>

**Tabelle 19:** Mittels RARE-Sequenz ermittelte T2-Relaxationszeiten in unterschiedlichen Lokalisationen (ROI\_1 bis ROI\_4: Lebergewebe / ROI\_5 und ROI\_6: Tumorgewebe) für Versuchstiere mit Tumor.



T2 relaxation:  $y=A+C*\exp(-t/T2)$  (std dev weighted)

Abbildung 26: T2-Signalkurve in der RARE-Sequenz im Tumormodell.

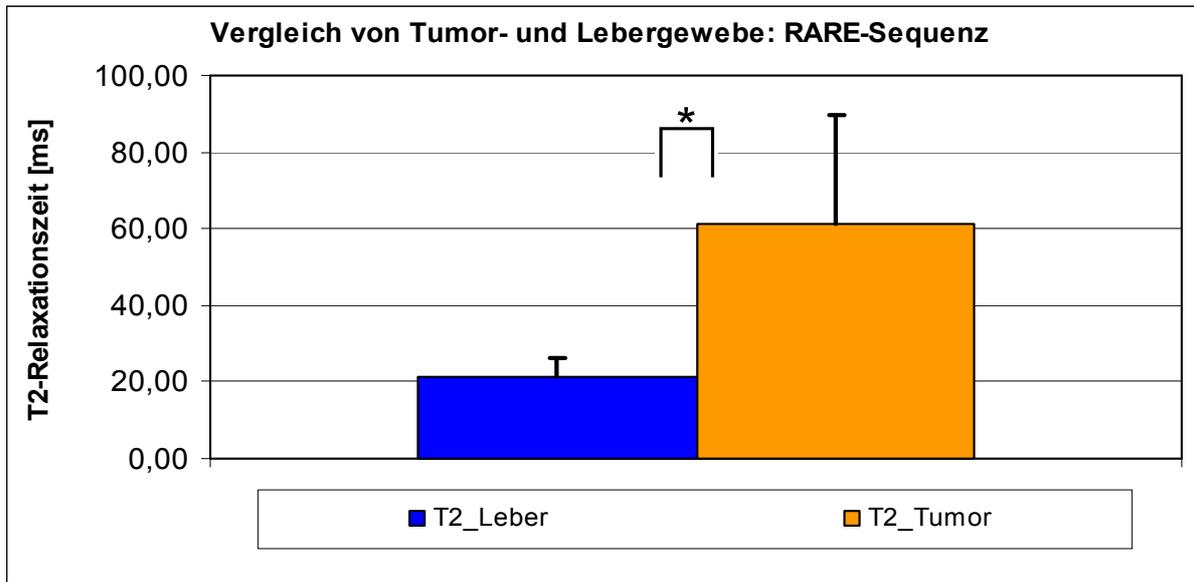
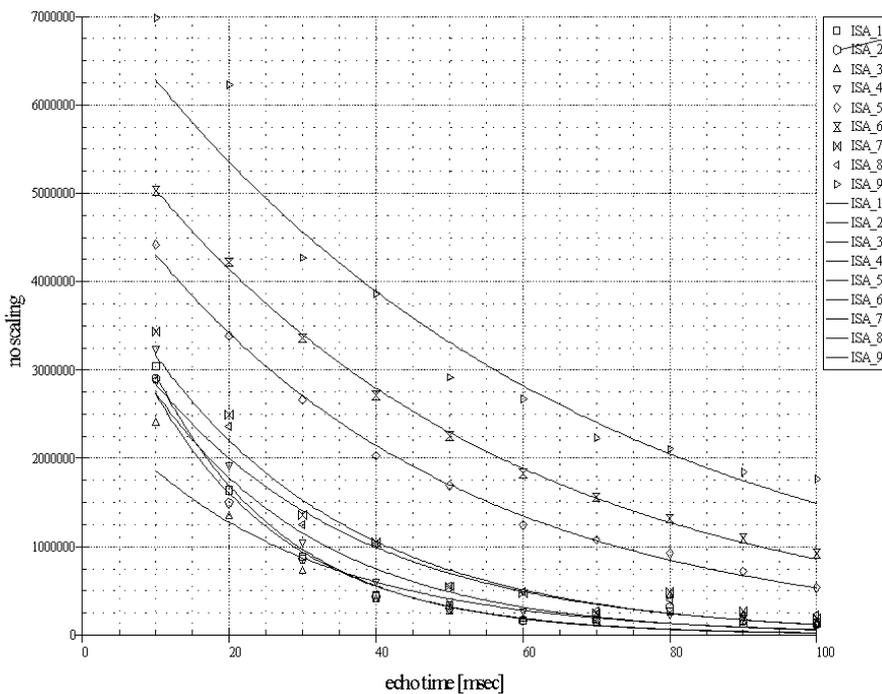


Abbildung 27: T2-Relaxationszeiten (mittels RARE-Sequenz ermittelt) von Lebergewebe (ROI\_1 bis ROI\_4) und Tumorgewebe (ROI\_5 und ROI\_6) von Versuchstieren mit Tumor. Die ermittelten T2-Relaxationszeiten des Tumorgewebes zeigten signifikant höhere Werte als die des Lebergewebes.

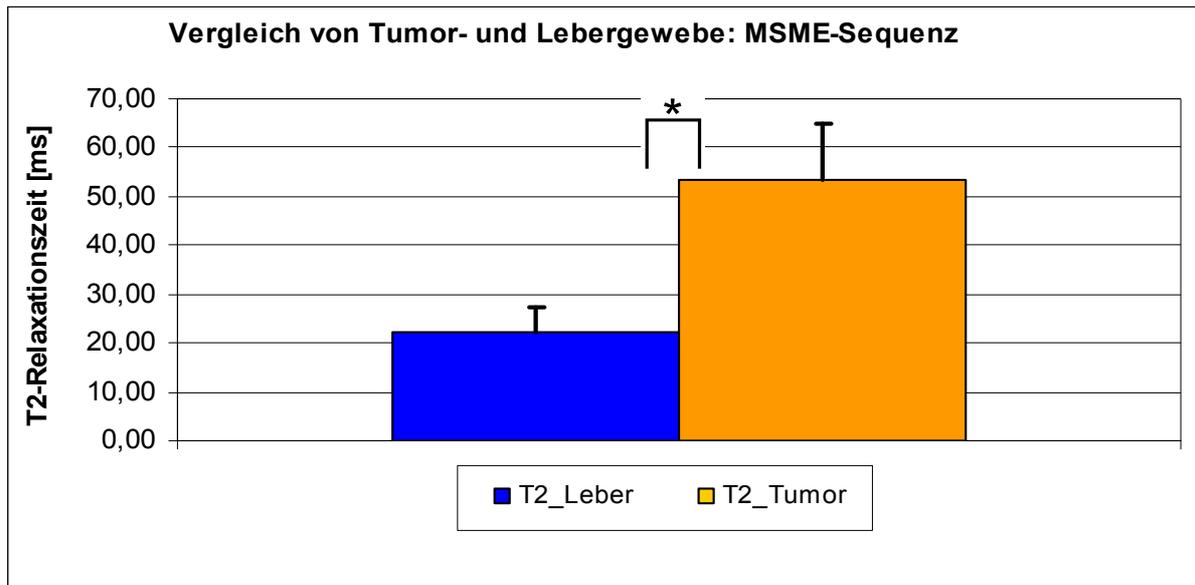
MSME	Leber (mean: ROI_1-ROI_4) Mean (Tier 1-10 jung_Tumor) +SD	Tumor (ROI_5-ROI_6) Mean (Tier 1-10 jung_Tumor) +SD	p-Wert
T2_Relaxationszeit_ MSME	22,38 (+/- 4,98)	53,48 (+/- 11,46)	<0,0001

**Tabelle 20:** Mittels MSME-Sequenz ermittelte T2-Relaxationszeiten in unterschiedlichen Lokalisationen (ROI\_1 bis ROI\_4: Lebergewebe / ROI\_5 und ROI\_6: Tumorgewebe) für Versuchstiere mit Tumor.



T2 relaxation:  $y=A+C*\exp(-t/T2)$  (std dev weighted)

**Abbildung 28:** T2-Singalkurve in der MSME-Sequenz im Tumormodell.

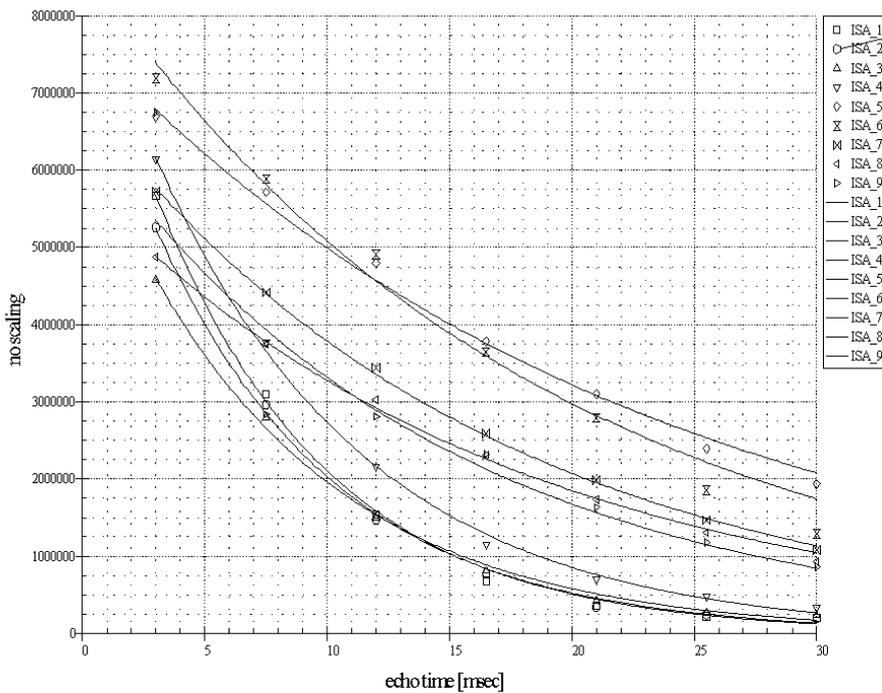


**Abbildung 29:** T2-Relaxationszeiten (mittels MSME-Sequenz ermittelt) von Lebergewebe (ROI\_1 bis ROI\_4) und Tumorgewebe (ROI\_5 und ROI\_6) von Versuchstieren mit Tumor. Die ermittelten T2-Relaxationszeiten des Tumorgewebes zeigten signifikant höhere Werte als die des Lebergewebes.

Auch die T2\*-Relaxationszeiten der T2\*-MGE-Sequenz zeigten signifikant höhere Werte für die Relaxationszeiten des Tumorgewebes als für das Lebergewebe.

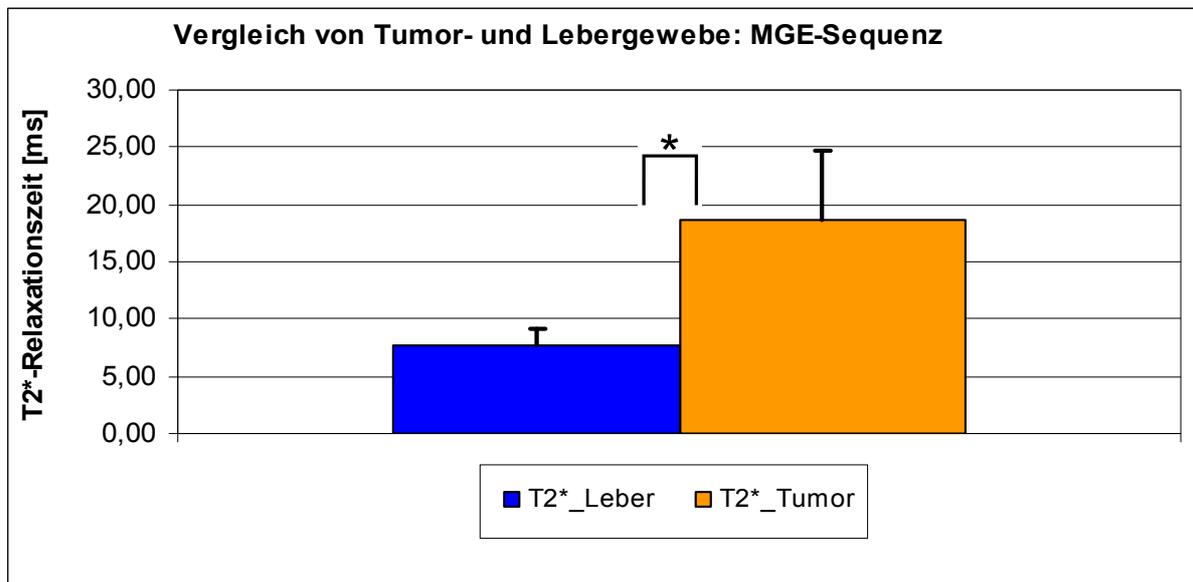
MGE	Leber (mean: ROI_1-ROI_4) Mean (Tier 1-10 jung_Tumor) +SD	Tumor (ROI_5-ROI_6) Mean (Tier 1-10 jung_Tumor) +SD	p-Wert
T2*_Relaxationszeit_ MGE	7,77 (+/- 1,43)	18,60 (+/- 6,16)	<0,0001

**Tabelle 21:** Mittels MGE-Sequenz ermittelte T2\*-Relaxationszeiten in unterschiedlichen Lokalisationen (ROI\_1 bis ROI\_4: Lebergewebe / ROI\_5 und ROI\_6: Tumorgewebe) für Versuchstiere mit Tumor.



T2 relaxation:  $y=A+C*\exp(-t/T2)$  (std dev weighted)

**Abbildung 30:** T2\*-Signalkurve in der MGE-Sequenz im Tumormodell.



**Abbildung 31:** T2\*-Relaxationszeiten (mittels MGE-Sequenz ermittelt) von Lebergewebe (ROI\_1 bis ROI\_4) und Tumorgewebe (ROI\_5 und ROI\_6) von Versuchstieren mit Tumor. Die ermittelten T2\*-Relaxationszeiten des Tumorgewebes zeigten signifikant höhere Werte als die des Lebergewebes.

## 7.2.2. Vergleich von PT-FLASH und RSG-FLASH

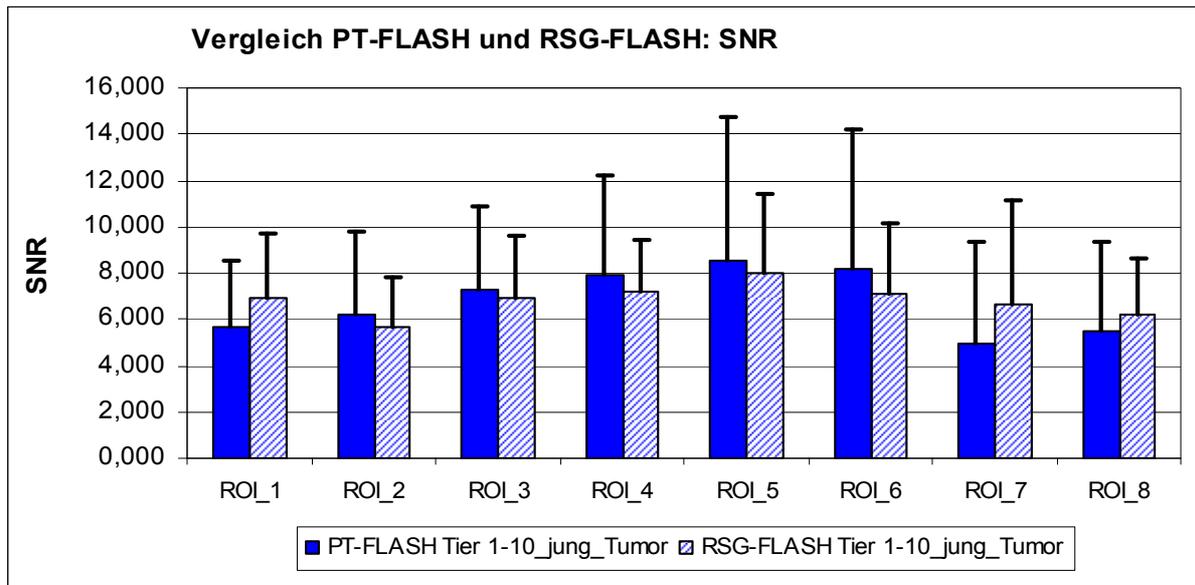
### 7.2.2.1. Signal-zu-Rausch-Verhältnis (SNR)

Im Vergleich der Signal-zu-Rausch-Verhältnisse der beiden Sequenzen zeigte sich nach Implantation der Tumorzellen, kein signifikanter Unterschied in allen miteinander verglichenen ROIs in den unterschiedlichen Geweben.

ROI\_1, ROI\_2: Lebergewebe  
 ROI\_3, ROI\_4: Tumorgewebe  
 ROI\_5, ROI\_6: paravertebraler Muskel  
 ROI\_7, ROI\_8: subkutanes Fettgewebe

	<b>PT-FLASH</b> (Mean Tier 1-10_jung_Tumor) +SD	<b>RSG-FLASH</b> (Mean Tier 1-10_jung_Tumor) +SD	<b>p-Wert</b>
<b>SNR ROI_1</b>	5,669 (+/- 2,833)	6,962 (+/-2,778)	<b>0,3750</b>
<b>SNR ROI_2</b>	6,212 (+/- 3,597)	5,627 (+/-2,170)	<b>0,6655</b>
<b>SNR ROI_3</b>	7,251 (+/- 3,630)	6,963 (+/-2,648)	<b>0,7156</b>
<b>SNR ROI_4</b>	7,880 (+/- 4,313)	7,171 (+/-2,292)	<b>0,4443</b>
<b>SNR ROI_5</b>	8,519 (+/- 6,237)	8,024 (+/-3,391)	<b>0,7378</b>
<b>SNR ROI_6</b>	8,205 (+/- 6,026)	7,113 (+/-3,078)	<b>0,5688</b>
<b>SNR ROI_7</b>	4,971 (+/- 4,349)	6,608 (+/-4,533)	<b>0,3223</b>
<b>SNR ROI_8</b>	5,515 (+/- 3,811)	6,169 (+/-2,487)	<b>0,5577</b>

**Tabelle 22:** Mittels PT-FLASH und RSG-FLASH ermittelte SNRs in unterschiedlichen Lokalisationen (ROI\_1 und ROI\_2: Lebergewebe / ROI\_3 und ROI\_4: Tumorgewebe / ROI\_5 und ROI\_6 paravertebraler Muskel / ROI\_7 und ROI\_8: subkutanes Fettgewebe) für Versuchstiere mit Tumor.

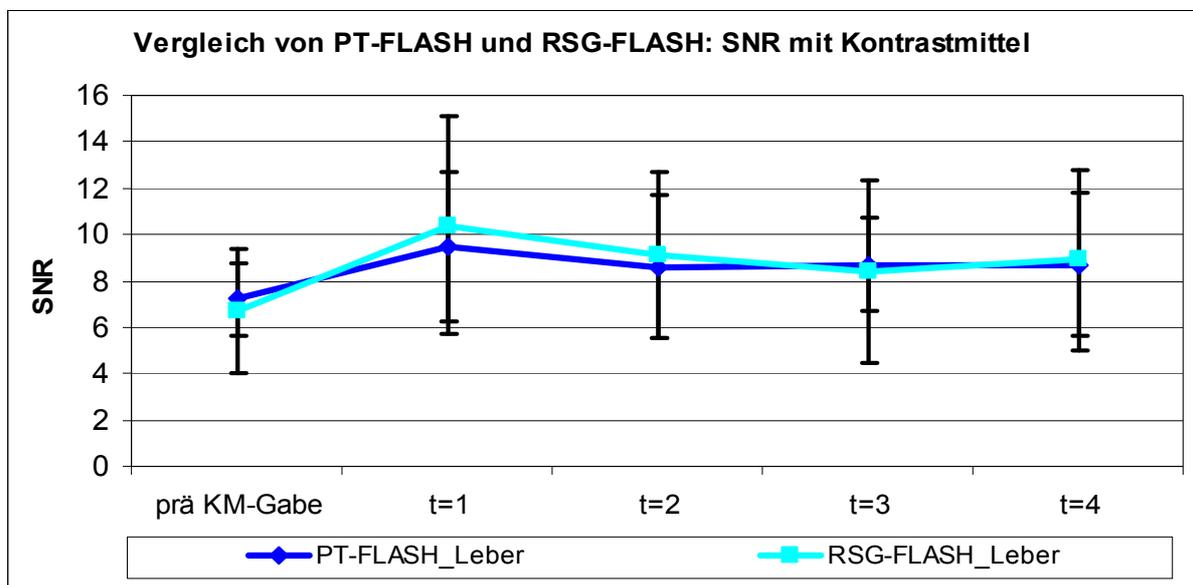


**Abbildung 32:** SNRs in unterschiedlichen Lokalisationen (ROI\_1 und ROI\_2: Lebergewebe / ROI\_3 und ROI\_4: Tumorgewebe / ROI\_5 und ROI\_6 paravertebraler Muskel / ROI\_7 und ROI\_8: subkutanes Fettgewebe) für Versuchstiere mit Tumor. In keiner der Gewebearten zeigte sich ein signifikanter Unterschied der SNRs.

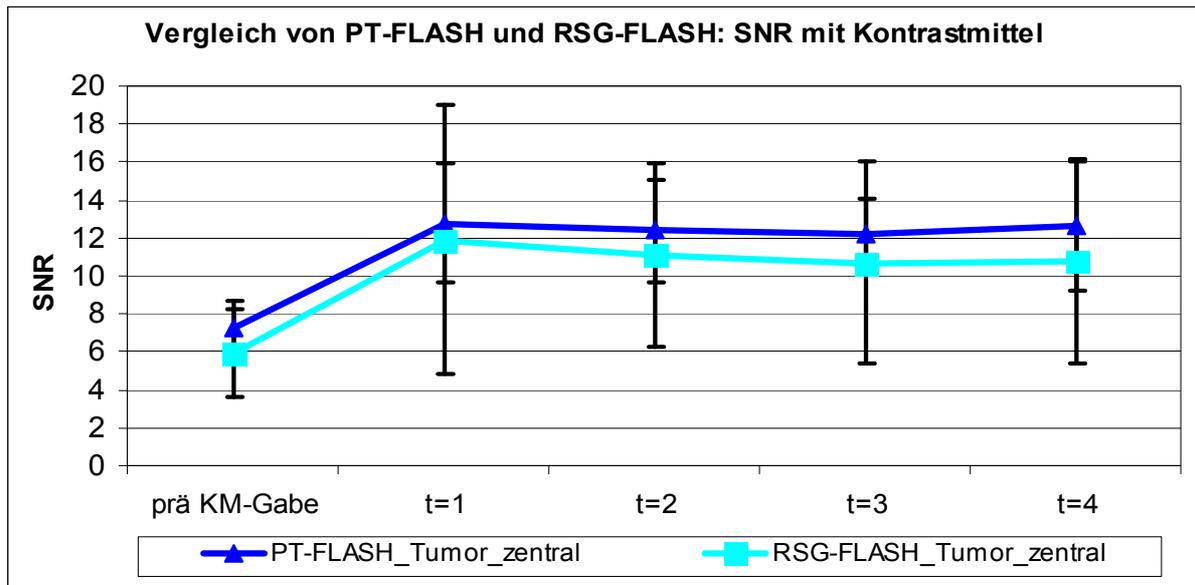
Beim Vergleich der Signal-zu-Rausch-Verhältnisse im Tumormodell mit optimierten Messparametern vor und nach der Applikation von Kontrastmittel zeigte sich sowohl in der Leber also auch im zentralen sowie im peripheren Bereich des Tumors kein signifikanter Unterschied zu keinem Zeitpunkt der Untersuchung.

SNR		prä KM	t=1	t=2	t=3	t=4
Leber	PT-FLASH	7,2 (+/- 1,6)	9,5 (+/- 3,2)	8,6 (+/- 3,1)	8,7 (+/- 2,0)	8,7 (+/- 3,1)
	RSG-FLASH	6,7 (+/- 2,7)	10,4 (+/-4,7)	9,1 (+/- 3,6)	8,4 (+/- 3,9)	8,9 (+/- 3,9)
	p-Wert	<b>0,49</b>	<b>0,56</b>	<b>0,92</b>	<b>0,77</b>	<b>0,91</b>
Tumor zentral	PT-FLASH	7,2 (+/- 1,5)	12,8 (+/- 3,1)	12,4 (+/- 2,7)	12,2 (+/- 1,9)	12,6 (+/- 3,4)
	RSG-FLASH	5,9 (+/- 2,3)	11,9 (+/- 7,1)	11,1 (+/- 4,8)	10,7 (+/- 5,3)	10,8 (+/- 5,4)
	p-Wert	<b>0,17</b>	<b>0,16</b>	<b>0,16</b>	<b>0,23</b>	<b>0,08</b>
Tumor peripher	PT-FLASH	7,7 (+/- 2,1)	13,8 (+/- 3,6)	12,9 (+/- 4,0)	12,0 (+/- 3,1)	12,6 (+/- 4,5)
	RSG-FLASH	6,7 (+/- 2,3)	13,4 (+/- 4,2)	11,7 (+/- 3,7)	11,0 (+/- 3,6)	11,0 (+/- 3,7)
	p-Wert	<b>0,42</b>	<b>0,85</b>	<b>0,55</b>	<b>0,56</b>	<b>0,43</b>

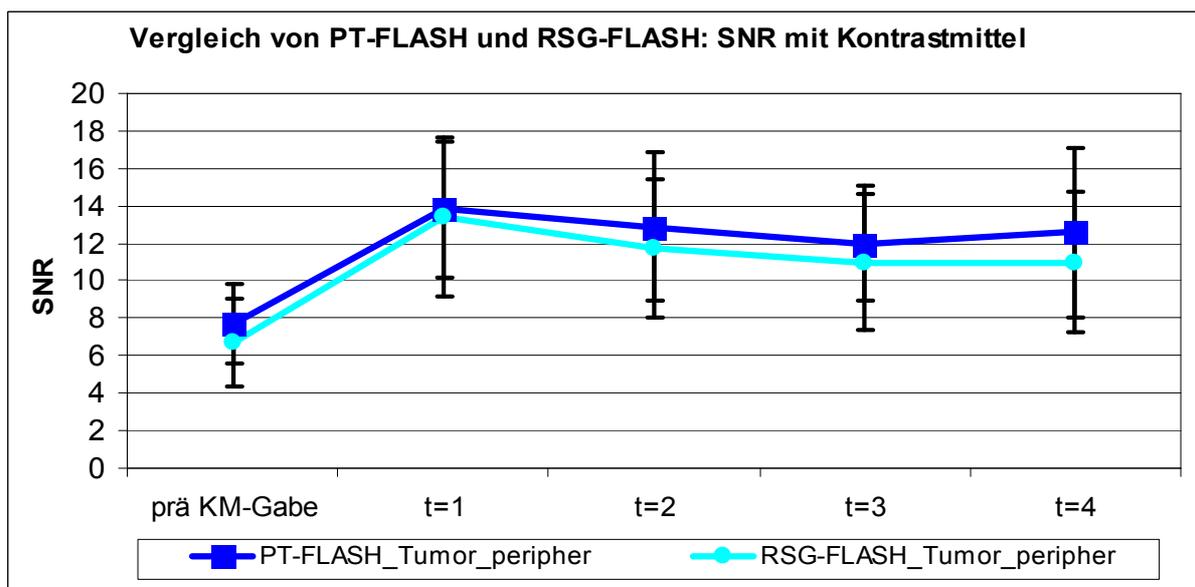
**Tabelle 23:** Mittels PT-FLASH und RSG-FLASH ermittelte SNRs in den Lokalisationen Lebergewebe, Tumor zentral und Tumor peripher für Versuchstiere mit Tumor.



**Abbildung 33:** SNRs im Lebergewebe. Es zeigte sich zu keiner Zeit ein signifikanter Unterschied der SNRs.



**Abbildung 34:** SNRs im zentralen Tumorgewebe. Es zeigte sich zu keiner Zeit ein signifikanter Unterschied der SNRs.



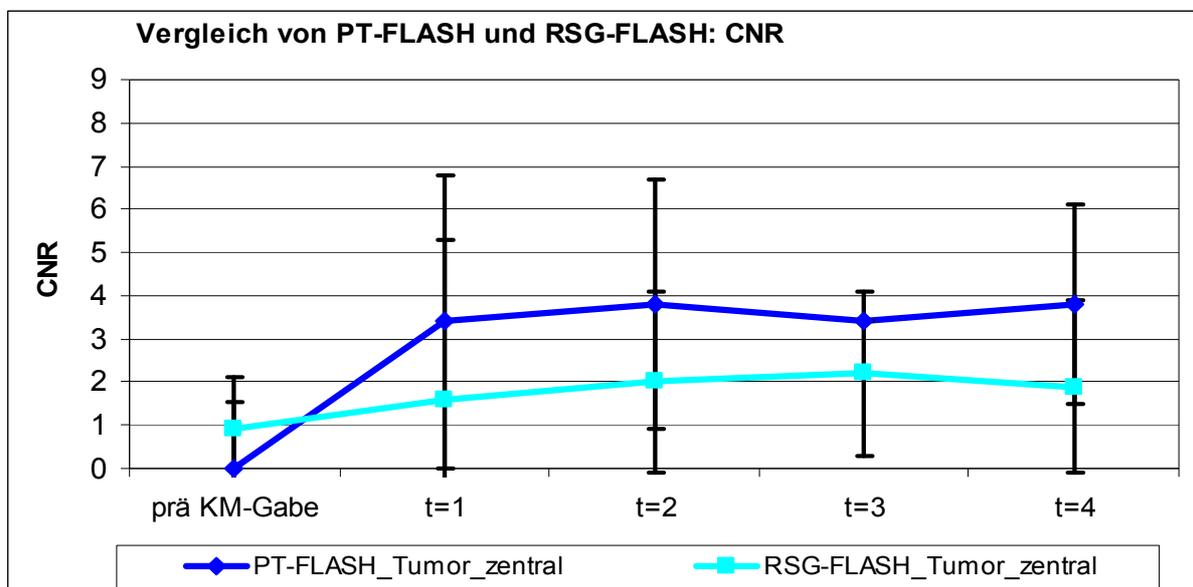
**Abbildung 35:** SNRs im peripheren Tumorgewebe. Es zeigte sich zu keiner Zeit ein signifikanter Unterschied der SNRs.

### 7.2.2.2. Kontrast-zu-Rausch-Verhältnis (CNR)

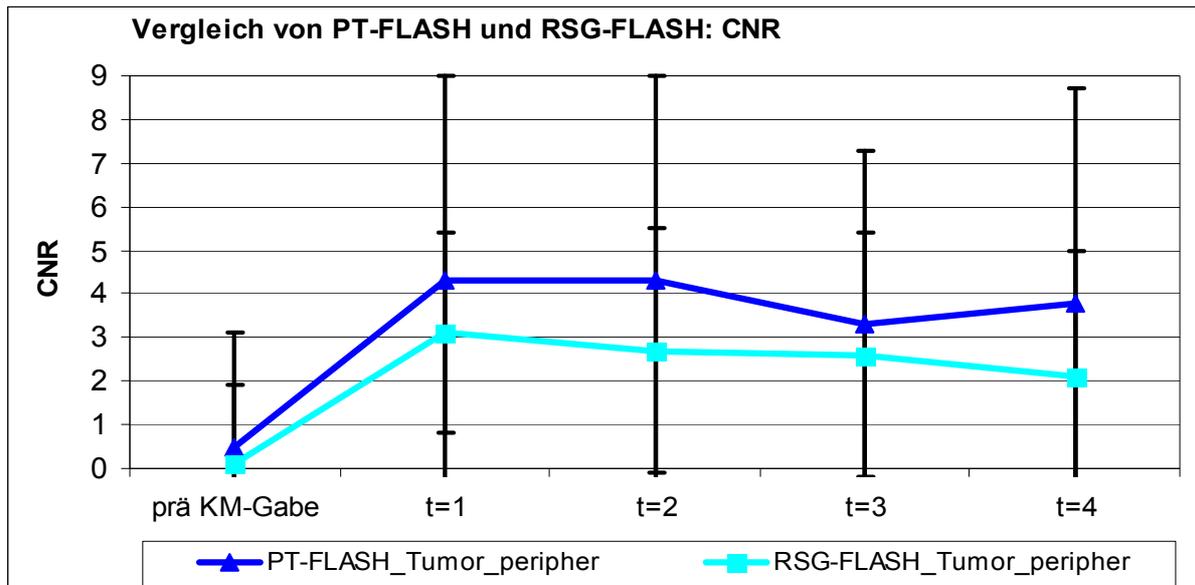
Auch im Vergleich des Kontrast-zu-Rausch-Verhältnisses im Tumormodell vor und nach der Applikation von Kontrastmittel zeigte sich sowohl im zentralen als auch im peripheren Bereich des Tumors zu keinem Zeitpunkt der Untersuchung ein signifikanter Unterschied.

CNR		prä KM	t=1	t=2	t=3	t=4
Tumor zentral	PT-FLASH	0,02 (+/- 1,5)	3,4 (+/- 3,4)	3,8 (+/- 2,9)	3,4 (+/- 2,0)	3,8 (+/- 2,3)
	RSG-FLASH	0,9 (+/- 1,2)	1,6 (+/- 3,7)	2,0 (+/- 2,1)	2,2 (+/- 1,9)	1,9 (+/- 2,0)
	p-Wert	<b>0,1</b>	<b>0,26</b>	<b>0,13</b>	<b>0,20</b>	<b>0,13</b>
Tumor peripher	PT-FLASH	0,5 (+/- 2,6)	4,3 (+/- 4,7)	4,3 (+/- 4,7)	3,3 (+/- 4,0)	3,8 (+/- 4,9)
	RSG-FLASH	0,1 (+/- 1,8)	3,1 (+/- 2,3)	2,7 (+/- 2,8)	2,6 (+/- 2,8)	2,1 (+/- 2,9)
	p-Wert	<b>0,61</b>	<b>0,47</b>	<b>0,49</b>	<b>0,63</b>	<b>0,20</b>

**Tabelle 24:** Mittels PT-FLASH und RSG-FLASH ermittelte CNRs in den Lokalisationen Tumor zentral und Tumor peripher für Versuchstiere mit Tumor.



**Abbildung 36:** CNRs im zentralen Tumorgewebe. Es zeigte sich zu keiner Zeit ein signifikanter Unterschied der CNRs.



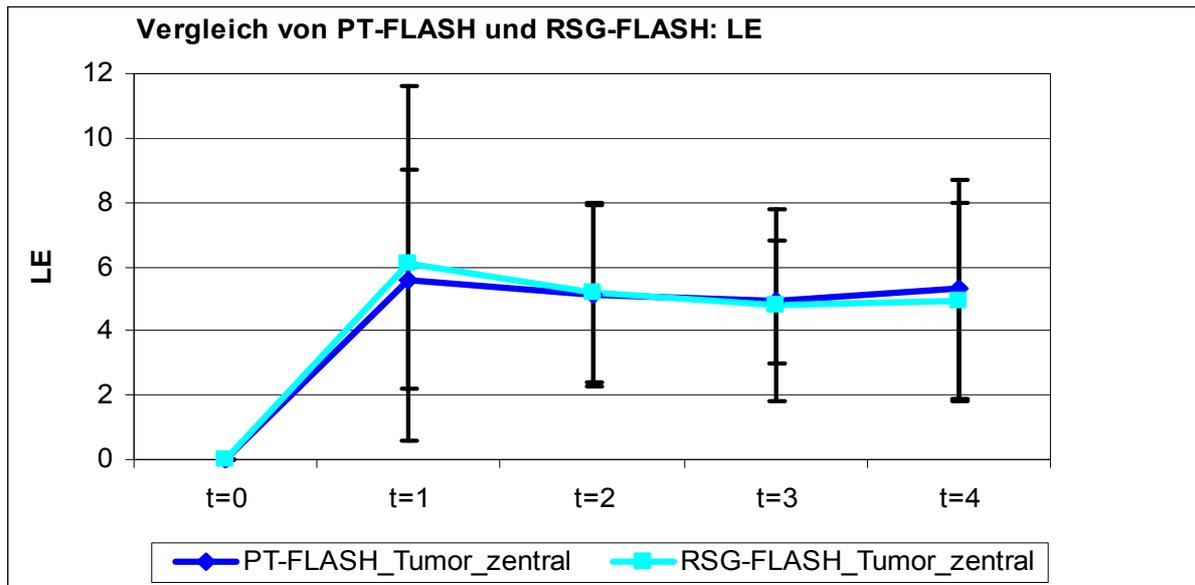
**Abbildung 37:** CNRs im peripheren Tumorgewebe. Es zeigte sich zu keiner Zeit ein signifikanter Unterschied der CNRs.

### 7.2.2.3. „Lesion Enhancement“ (LE)

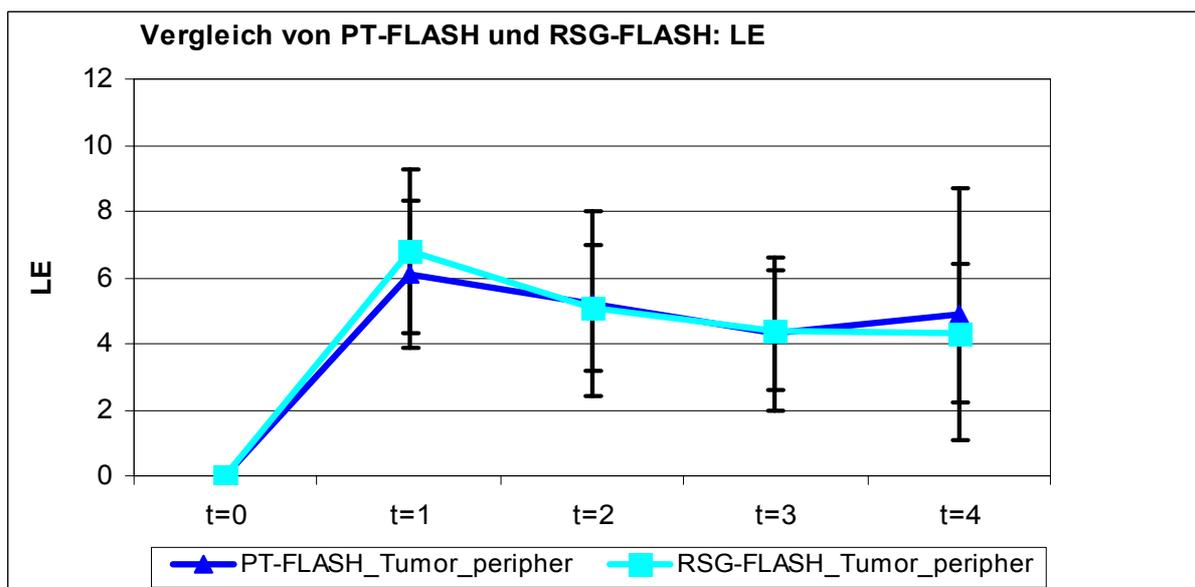
Der Vergleich des „Lesion Enhancements“ im Tumormodell nach Kontrastmittelapplikation zeigte ebenfalls sowohl im zentralen als auch im peripheren Bereich des Tumors zu keinem Zeitpunkt der Untersuchung einen signifikanten Unterschied.

LE		Prä KM	t=1	T=2	t=3	t=4
Tumor zentral	PT-FLASH	0	5,6 (+/- 3,4)	5,1 (+/- 2,8)	4,9 (+/- 1,9)	5,3 (+/- 3,4)
	RSG-FLASH	0	6,1 (+/- 5,5)	5,2 (+/- 2,8)	4,8 (+/- 3,0)	4,9 (+/- 3,1)
	p-Wert		<b>0,77</b>	<b>0,94</b>	<b>0,85</b>	<b>0,38</b>
Tumor peripher	PT-FLASH	0	6,1 (+/- 2,2)	5,2 (+/- 2,8)	4,3 (+/- 2,3)	4,9 (+/- 3,8)
	RSG-FLASH	0	6,8 (+/- 2,5)	5,1 (+/- 1,9)	4,4 (+/- 1,8)	4,3 (+/- 2,1)
	p-Wert		<b>0,40</b>	<b>0,85</b>	<b>0,96</b>	<b>0,61</b>

**Tabelle 25:** Mittels PT-FLASH und RSG-FLASH ermitteltes LE in den Lokalisationen Tumor zentral und Tumor peripher für Versuchstiere mit Tumor.



**Abbildung 38:** LE im zentralen Tumorgewebe. Es zeigte sich zu keiner Zeit ein signifikanter Unterschied des LE.



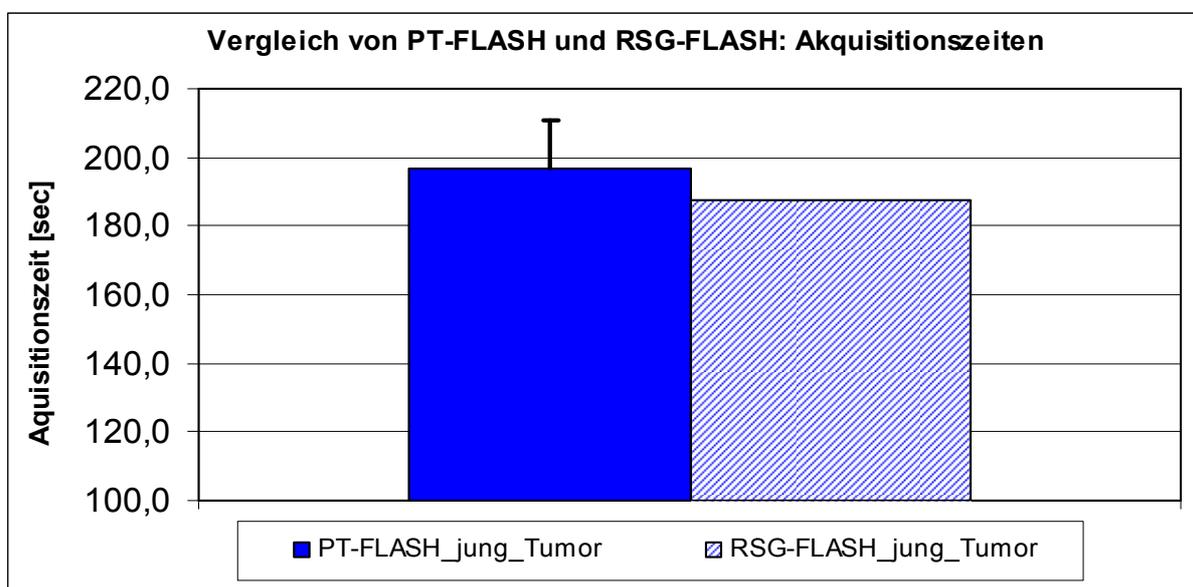
**Abbildung 39:** LE im peripheren Tumorgewebe. Es zeigte sich zu keiner Zeit ein signifikanter Unterschied des LE.

#### 7.2.2.4. Akquisitionszeiten

Die Akquisitionszeit der nativen Messungen zeigte auch bei den Tumortieren keinen signifikanten Unterschied.

PT- FLASH	Tmean [sec] + SD	RSG-FLASH	Tmean [sec] + SD	p-Wert
Mean (Tier 1-10 jung_Tumor)	197,00 (+/- 14,04)	Mean (Tier 1-10 jung _Tumor)	187,60 (+/- 0)	<b>0,0840</b>

**Tabelle 26:** Akquisitionszeiten der PT-FLASH und RSG-FLASH für Tiere mit Tumor ohne Kontrastmittel.



**Abbildung 40:** Akquisitionszeiten der PT-FLASH und RSG-FLASH für Versuchstiere mit Tumor ohne Kontrastmittel. Es zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen den Akquisitionszeiten der beiden Sequenzen. Da die RSG-FLASH Sequenz eine konstante Akquisitionszeit aufwies, wurde hier keine Standardabweichung abgebildet.

Der Vergleich der Akquisitionszeiten der beiden, für die Durchführung dynamischer, kontrastmittelverstärkter Untersuchungen im Tumormodell optimierten Sequenzen zeigte, dass die RSG-FLASH-Sequenz eine signifikant kürzere Akquisitionszeit aufweist als die PT-FLASH-Sequenz.

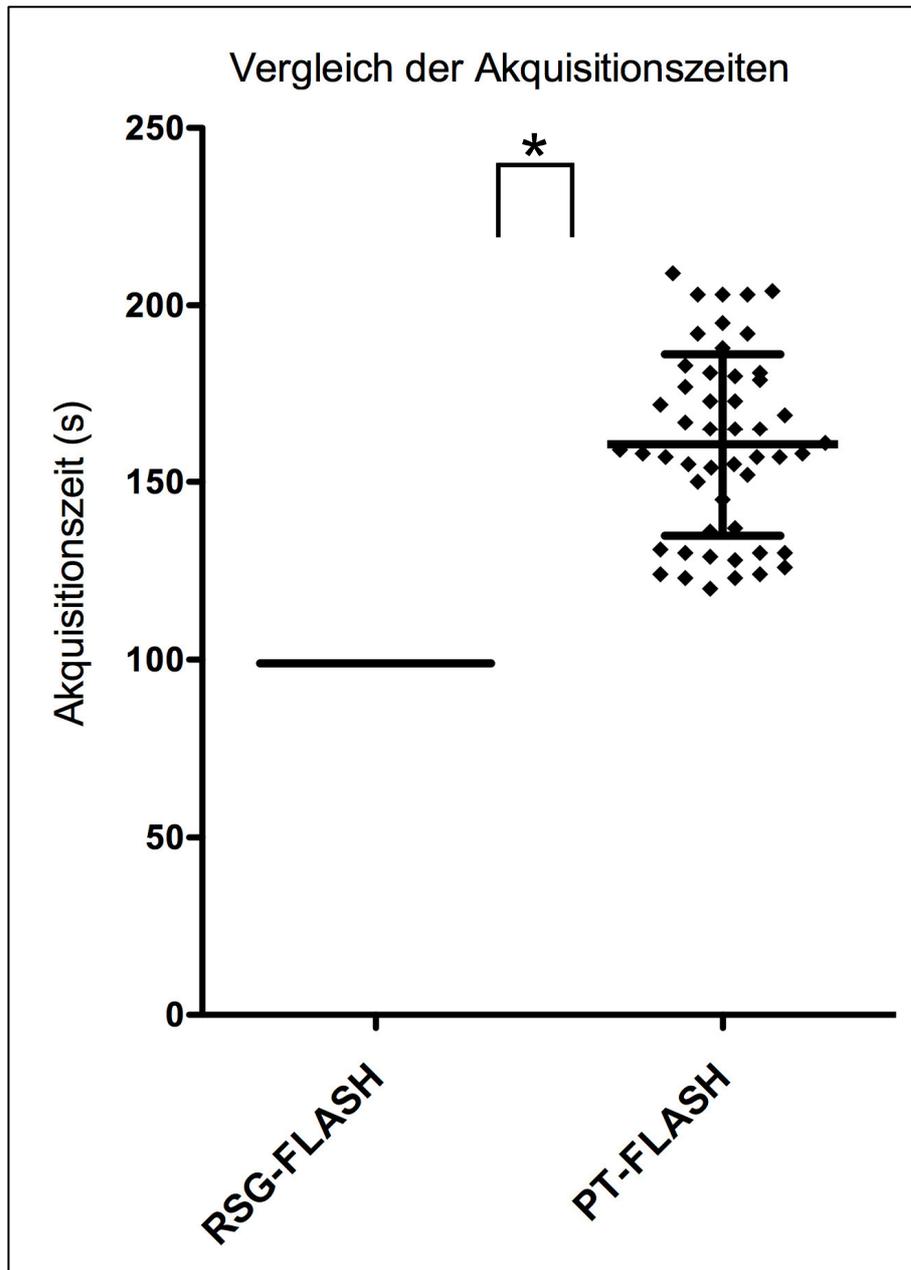
Es zeigte sich außerdem, dass die RSG-FLASH-Sequenz durch eine konstante Messzeit keinerlei Streubreite im Gegensatz zur PT-FLASH-Sequenz aufweist.

PT-FLASH: Minimum = 120 sec / Maximum = 209 sec

RSG-FLASH: 99 sec

PT- FLASH	Tmean [sec] + SD	RSG-FLASH	Tmean [sec] + SD	p-Wert
Mean (Tier 1-10 jung_Tumor)	160,6 +/- 25,7	Mean (Tier 1-10 jung_Tumor)	99,0 +/- 0	<0,001

**Tabelle 27:** Akquisitionszeiten der PT-FLASH und RSG-FLASH für Tiere mit Tumor mit Kontrastmittel.



**Abbildung 41:** Akquisitionszeiten der PT-FLASH und RSG-FLASH für Versuchstiere mit Tumor mit Kontrastmittel. Es zeigte sich ein signifikanter Unterschied in den Akquisitionszeiten der beiden Sequenzen. Da die RSG-FLASH Sequenz eine konstante Akquisitionszeit aufwies, wurde hier keine Standardabweichung abgebildet.

### 7.2.2.5. Qualitativer Vergleich von PT-FLASH und RSG-FLASH

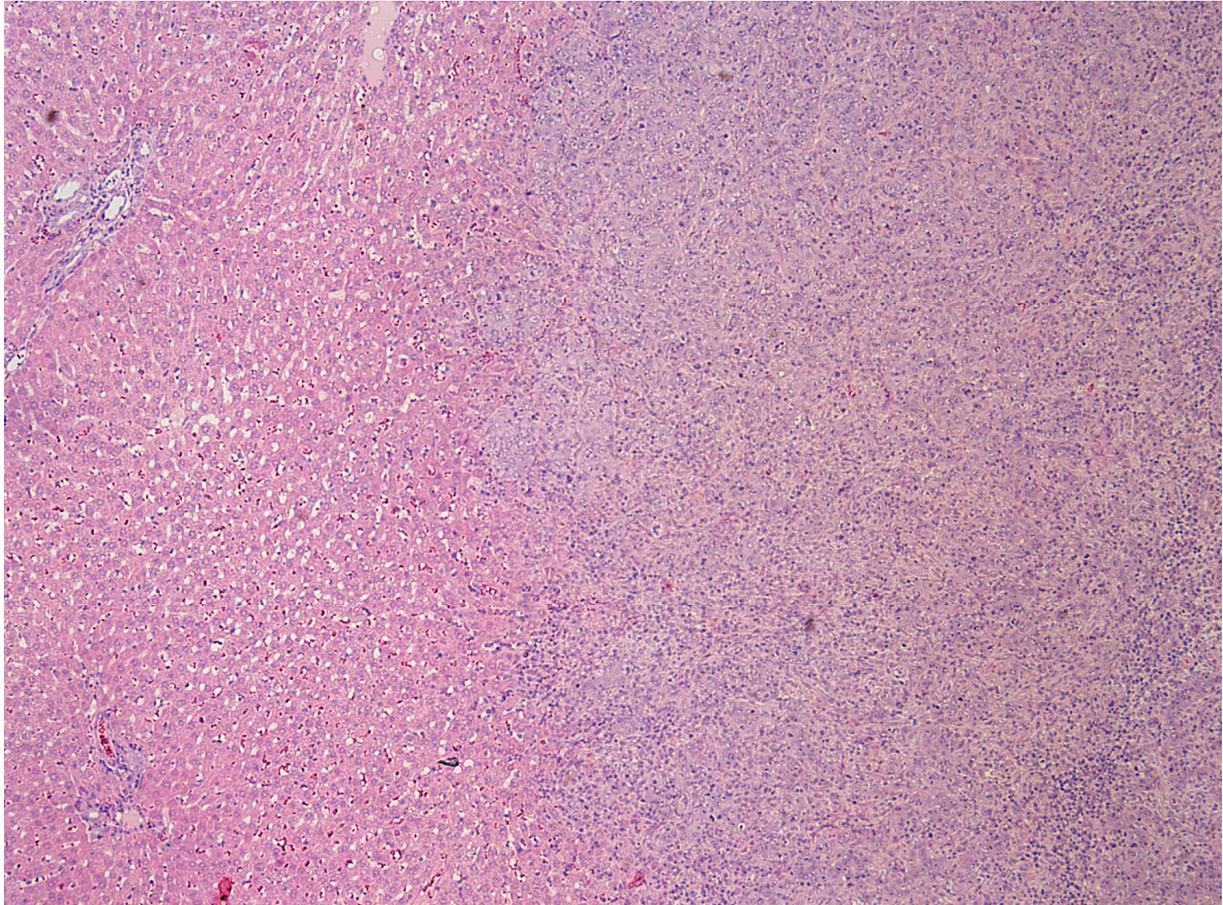
Die Auswertung der qualitativen Evaluation der beiden Sequenztechniken zur Akquisition T1-gewichteter Aufnahmen ergab keinen signifikanten Unterschied für alle zur Beurteilung der Bildqualität herangezogenen Charakteristika.

		PT-FLASH	RSG-FLASH	p-Wert
Frage 1	Auswerter 1	1,1 (+/-0,32)	1,2 (+/-0,42)	<b>0,77</b>
	Auswerter 2	1,9 (+/-0,32)	1,9 (+/-0,32)	<b>0,77</b>
Frage 2	Auswerter 1	1,1 (+/-0,32)	1,1 (+/-0,32)	<b>1,0</b>
	Auswerter 2	1,1 (+/-0,32)	1,1 (+/-0,32)	<b>1,0</b>
Frage 3	Auswerter 1	2,1 (+/-0,32)	2,2 (+/-0,42)	<b>0,77</b>
	Auswerter 2	2,5 (+/-0,53)	2,8 (+/-0,42)	<b>0,77</b>
Frage 4	Auswerter 1	1,1 (+/-0,32)	1,1(+/-0,32)	<b>1,0</b>
	Auswerter 2	1,1 (+/-0,32)	1,2 (+/-0,32)	<b>1,0</b>
Frage 5	Auswerter 1	1,1 (+/-0,32)	1,3 (+/-0,68)	<b>0,35</b>
	Auswerter 2	2,0 (+/-0,0)	2,2 (+/-0,42)	<b>0,35</b>
Frage 6	Auswerter 1	2,8 (+/-0,92)	2,6 (+/-0,84)	<b>0,59</b>
	Auswerter 2	2,2 (+/- 0,42)	2,2 (+/-0,42)	<b>1,0</b>
Frage 7	Auswerter 1	2,6 (+/-0,97)	2,5 (+/-0,85)	<b>1,0</b>
	Auswerter 2	2,0 (+/- 0,0)	1,9 (+/-0,32)	<b>1,0</b>

**Tabelle 28:** Qualitative Auswertung nach den folgenden Kriterien: 1. Bewegungsartefakte, 2. Bewegungsartefakte im Bezug auf den Tumor, 3. Pulsationsartefakte, 4. Pulsationsartefakte im Bezug auf den Tumor, 5. Differenzierbarkeit Lebergefäße/Lebergewebe, 6. Differenzierbarkeit Tumorgewebe/Lebergewebe, 7. Eignung der Sequenz für die Leberbildgebung.

### 7.2.2.6. Histologie

In allen zehn Tieren konnte das Vorhandensein von hepatischen Metastasen bestätigt werden. In keinem der Tiere waren Anzeichen für peritoneale oder extrahepatische Metastasen vorhanden.



**Abbildung 42:** Histologische Darstellung der hepatischen Metastasen der Versuchstiere mit induziertem Tumor. Der rechte Bildausschnitt zeigt die diffuse Infiltration mit Kolonkarzinomzellen, während linksseitig eine normale Architektur des Leberparenchyms zu erkennen ist.

### 8. Diskussion

Maligne Erkrankungen der Leber, insbesondere das hepatozelluläre Karzinom und hepatische Metastasen stellen immer noch ein großes diagnostisches und therapeutisches Problem in der Humanmedizin dar. Wenngleich sich die therapeutischen Möglichkeiten hepatischer Malignome durch moderne chirurgische Techniken und minimalinvasive Verfahren (wie beispielsweise die Radiofrequenzablation / Mikrowellenablation / SIRT) [Ansari et al., 2012, Nishikawa et al., 2011, Gulec et al., 2012] sowie spezielle pharmakologische Therapien (systemische oder transarterielle Chemotherapie, Antikörpertherapien) [Britten et al., 2012, Frenette et al., 2012] deutlich verbessert haben, ist ein kurativer Therapieansatz in den meisten Fällen nicht möglich [Misiakos et al., 2011]. Dies unterstreicht die Notwendigkeit weiterer präklinischer Studien in diesem Bereich.

Es gibt einige etablierte Kleintiermodelle hepatischer Neoplasien, wobei die Tumorkläsionen sowohl durch genetische Alteration als auch durch direkte Implantation in die Leber hervorgerufen werden können [De Jong et al., 2009, Hagen et al., 2004, Heindryckx et al., 2009 und Nakae et al., 1999].

Jedoch sind MR-tomographische Untersuchungen dieser Tumormodelle sehr schwierig. Dies beruht im Wesentlichen auf der geringen räumlichen Ausdehnung der anatomischen Strukturen und den möglichen Bewegungsartefakten aufgrund der Atmung der Tiere. Nicht zuletzt aus diesem Grund werden MR-tomographische präklinische Tumorstudien häufig an Tumorkläsionen des Gehirns und des subkutanen Fettgewebes durchgeführt [Bulte et al., 1993, Wu et al., 2009, Yamate et al., 2007], da in diesen anatomischen Lokalisationen Bewegungsartefakte deutlich geringer ausgeprägt sind.

Bezüglich der hepatischen Tumormodelle werden Studienergebnisse daher meist von histopathologischen Untersuchungen nach Organentnahme abgeleitet, was jedoch bei Langzeitstudien häufig mit einer hohen Anzahl von Versuchstieren einhergeht. Die MRT als bildgebendes Verfahren der Wahl für die Diagnostik von fokalen Leberläsionen hat jedoch das Potential in Longitudinalstudien nicht-invasiv therapieassoziierte Veränderungen im Kleintiermodell nachzuweisen. Dies kann möglicherweise dazu beitragen, die Anzahl der notwendigen Versuchstiere zu reduzieren und stellt eine Alternative zur Versuchstiertötung und Analyse zu verschiedenen Untersuchungszeitpunkten dar.

Ziel dieser Arbeit war es, MRT-Untersuchungstechniken der Leber im Rattenmodell bei 9,4 Tesla Magnetfeldstärken zu etablieren und damit die Grundlage für weitere MR-tomographische Arbeiten im Rattenmodell zu schaffen.

Dabei wurden zunächst die gewebespezifischen Relaxationszeiten bei der angewendeten Feldstärke von 9,4 Tesla erfasst und der Einfluss des Versuchstieralters auf diese Parameter analysiert. Es ist bekannt, dass die T1-Relaxationszeiten für die meisten Gewebe bei 3 T etwa 20-30% höher sind als bei 1,5 T, was eine längere Repetitionszeit erforderlich macht um ein ähnliches Kontrastverhalten zu erreichen [Umutlu et al., 2011]. Hingegen sind die Veränderungen der T2-Relaxationszeiten weniger vorhersehbar, da es hier bei einer Erhöhung der Feldstärke sowohl zu einer geringen Verkürzung der T2-Relaxationszeit oder aber auch zu einer leichten Erhöhung der selbigen kommen kann [Umutlu et al., 2011].

Die Vorteile von höheren magnetischen Feldstärken liegen insbesondere in verbesserten Kontrast-zu-Rausch-Verhältnissen bei Kontrastmittelverstärkten T1-Sequenzen und bei der Durchführung von T2-gewichteten Sequenzen [Herrmann et al., 2010]. Es ist jedoch zu beachten, dass die absolute Erhöhung der T1-Relaxationszeit im Bezug auf die Erhöhung der Magnetfeldstärke nicht für alle Gewebetypen im selben Ausmaß zutrifft, sodass die relativen Unterschiede der T1-Relaxationszeiten zwischen verschiedenen Geweben bei erhöhten Magnetfeldstärken sowohl zu als auch abnehmen können [Merkle et al., 2006]. Bei T2-gewichteten Bildern ist die maximale TR jedoch durch die Dauer der Messung limitiert. Die T1-Relaxation von Geweben mit langer T1-Relaxationszeit (z.B. flüssige Läsionen) wird zwischen den Anregungen nur unvollständig erreicht, falls die TR kürzer als das 4-5fache der T1-Relaxationszeit des Gewebes beträgt, sodass rein T2-gewichtete Bilder schwer zu akquirieren sind [Goldberg et al., 1993]. Auch die T2\*-Relaxationszeit wird mit steigender Feldstärke erhöht, da es bei erhöhter Feldstärke zur Zunahme der Magnetfeldinhomogenität durch gesteigerte Suszeptibilitätsartefakte kommt [Chavhan et al., 2009].

In dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass das Versuchstieralter einen entscheidenden Einfluss auf die Relaxationszeiten und damit auf die Signalintensität der Leber hat. Sowohl die T2- und T2\*-Relaxationszeit als auch die T1-Relaxationszeit verkürzen sich mit zunehmendem Alter der Ratte, was insbesondere

bei Studien zur Leberdiagnostik in Betracht gezogen werden sollte. Vor allem im Bezug auf die Abgrenzbarkeit von Metastasen oder auch anderen Raumforderungen in der Leber kann dies von Relevanz sein. In dieser Arbeit wurde gezeigt, dass das Tumorgewebe signifikant höhere Relaxationszeiten aufweist als das umliegende Lebergewebe. In diesem Falle würde eine Tumorimplantation in alten Ratten eine größere Differenz zwischen den Relaxationszeiten von Tumor- und Lebergewebe hervorrufen, was bei einem potentiellen Vergleich mit einer jüngeren Versuchstiergruppe zu Verfälschungen der Ergebnisse führen würde. Umgekehrt wäre bei Tumoren, welche niedrigere Relaxationszeiten aufweisen, die Abgrenzbarkeit zum Lebergewebe bei alten Ratten aufgrund eines geringeren Unterschieds zwischen den Relaxationszeiten erschwert.

Die in dieser Arbeit heterogenen Ergebnisse bezüglich der Relaxationszeiten des Fettgewebes sind vermutlich auf Messungenauigkeiten zurückzuführen, da sich die Platzierung von ROI im Fettgewebe der jungen Tiere als extrem schwierig gestaltete, da diese Tiere einen deutlich niedrigeren subkutanen Fettanteil besitzen als die alten Versuchstiere. Daher ist es möglich, dass im Messareal des Fettgewebes auch noch andere Gewebe enthalten sind, welche das Ergebnis verfälscht haben könnten.

Dem gegenüber ergaben sich keine relevanten Unterschiede bezüglich der Relaxationszeiten für die Muskulatur, sodass hier das Versuchstieralter offensichtlich keinen relevanten Einfluss hat.

Die Messung von T1- und T2-Relaxationszeiten verschiedener Gewebe geben nicht nur alleine Aufschluss über das Vorhandensein und die Charakterisierung von Tumoren, sie dienen auch der Charakterisierung des Gewebes oder des Perfusionsverhaltens ganzer Organe, was zum Beispiel an der Leber durch das Ausmaß des Fett- oder Eisengehalts verändert sein kann [Farragher et al., 2006].

Tierstudien haben gezeigt, dass sich das den Tumor umgebende Gewebe durch Wachstum oder aber auch durch eine Behandlung merklich verändert, sodass es zu veränderten Relaxationszeiten z.B. durch einen erhöhten Anteil von Wasser oder Nekrosen innerhalb des Tumors kommt [Raza et al., 2012].

Ein erhöhter Wasseranteil führt zu einer Zunahme der T1- und T2-Relaxationszeiten wo hingegen nekrotische Anteile zu verminderten T1- und T2-Relaxationszeiten führen, was man sich besonders in der Beurteilung des Ansprechens von

therapeutischen Maßnahmen oder etwaiger Therapierefraktärität zu Nutzen machen kann [Rofstad et al., 1994].

Die Bestimmung von Relaxationszeiten spielt in der klinischen Anwendung der MRT eher eine untergeordnete Rolle. Vielmehr macht man sich die gewebespezifischen Unterschiede der Relaxationszeiten zu Nutze, um Signalunterschiede von Läsionen im T1- und T2-gewichteten Bild zu erfassen. T1-gewichtete Sequenzen alleine lassen jedoch keine eindeutige Beurteilung von Tumoren in der Leber zu, da nur einige Tumoren als leicht hypointense Strukturen erkennbar sind. Jedoch können Tumoren in T2-gewichteten Bildern häufig eindeutig als hyperintense Läsionen identifiziert werden [Mook et al., 2008].

Um die bestmögliche Erkennung von Tumoren zu gewährleisten, ist eine höchstmögliche Differenz der Signalintensitäten von Lebergewebe und Tumorgewebe anzustreben. Klinisch stellt daher zur Zeit die kontrastmittelverstärkte MRT mit gadoliniumhaltigem Kontrastmittel die beste Möglichkeit dar, um kleine Leberläsionen von umliegenden Leberparenchym abzugrenzen [Reimer et al., 2000]. Die meisten malignen Tumoren sowie die Mehrheit der Lebermetastasen lassen sich am Besten in der portalvenösen Phase nach Kontrastmittelgabe erkennen (etwa 60-70 Sekunden nach Beginn der Kontrastmittelinjektion), da sich in dieser Phase das stark kontrastierte Lebergewebe besonders gut von hypointensen Läsionen abgrenzen lässt [Coenegrachts et al., 2009]. Besonders in der Darstellung von Lebermetastasen des kolorektalen Karzinoms findet man, in mit gadoliniumhaltigen Kontrastmittel verstärkten T1-gewichteten Sequenzen, typischerweise eine ringförmige heterogene Mehranreicherung um eine Metastase, die sich ansonsten hypointens zum umliegenden Lebergewebe darstellt [Iyer et al., 2002]. Dieses typische Anreicherungsmuster von Metastasen in Untersuchungen mit gadoliniumhaltigem Kontrastmittel beruht auf mehreren Faktoren, unter anderem auf einer erhöhten Tumorzellichte im Randbereich der Metastase, sowie auf Reaktionen des umliegenden Gewebes durch Infiltration von Entzündungszellen sowie Gefäßproliferationen [Semelka et al., 2000].

Des Weiteren spielt die angewendete Magnetfeldstärke eine wichtige Rolle bei der Darstellung fokaler Leberläsionen. So führt beispielsweise eine höhere Feldstärke auch zur verbesserten Beurteilung einer periläsionalen ringförmigen Mehranreicherung [Marin et al., 2010]. Vergleichsuntersuchungen am menschlichen

Abdomen mittels Magnetresonanztomographie bei 1,5 T und 3,0 T haben gezeigt, dass bei höherer Feldstärke Änderungen der T1- und T2-Relaxationszeiten auftreten, welche je nach Art des Gewebes zu einem veränderten Bildkontrast führen, der sich sowohl auf die Bildauflösung als auch auf das Signal-zu-Rausch-Verhältnis auswirkt [De Bazelaire et al., 2004, O'Regan et al., 2005]. Im Bezug auf die Bildgebung der Leber und die Erkennung von Leberläsionen zeigen Untersuchungen mittels Magnetresonanztomographie bei 3,0 T jedoch gleichwertige Ergebnisse, was die Bildqualität und die Erkennung von Leberläsionen betrifft [von Falkenhausen et al., 2006].

Wie bereits erwähnt existieren im Bereich des Gehirns und der Weichteile bereits eine Vielzahl von Ultrahochfeld-MRT-Untersuchungen am Kleintiermodell, wobei häufig Feldstärken zwischen 4,7 Tesla und 17 Tesla zur Anwendung kommen [Christoforidis et al., 2009, Denic et al., 2011, Pham et al., 2011]. Dabei wird nicht zuletzt aufgrund von hoher räumlicher Auflösung und dem Fehlen von Bewegungsartefakten durch Atmung und Herzschlag in diesen anatomischen Lokalisationen eine sehr hohe Bildqualität erreicht [Degrassi et al., 2007, Jost et al., 2007, Leenders et al., 2003]. Deutlich weniger Arbeiten sind im Bereich von experimentellen Tumormodellen im Bereich des Abdomens sowohl von der Leber als auch von Pankreas und im Bereich des Gastrointestinaltraktes [Berr et al., 2003, Grimm et al., 2003, Hensley et al., 2004, Mahmood et al., 1992] veröffentlicht.

Untersuchungen bei 7 Tesla zeigen eine gute Abgrenzbarkeit von anatomischen Strukturen in T1-gewichteten Sequenzen, wobei jedoch nur ein geringer Kontrast zwischen Lebergewebe und Metastasen besteht. Der beste Kontrast zwischen Metastasen und Leber lässt sich mit T2-gewichteten Sequenzen erreichen, wobei sich die Metastasen als hyperintense Strukturen darstellen [Gambarota et al., 2004].

Es wurde bereits gezeigt, dass die räumliche Auflösung im Bereich des Abdomens bei 8 T deutlich größer ist als bei 1,5 T, wobei die RARE-Sequenz den größten Bildkontrast liefert [Vitellas et al., 2001].

Da sich die Oberbauchorgane und insbesondere die Leber während der Atemexkursion stark in kraniokaudaler Richtung bewegen, ist es in der Regel deutlich erschwert, aufgrund von Bewegungsartefakten diagnostische Aufnahmen zu erhalten. Bewegungsartefakte wirken sich dabei besonders negativ auf T1-gewichtete Gradient-Echo-Sequenzen aus [Namasivayam et al., 2007].

Bewegungsartefakte haben nicht nur einen Einfluss auf die Bildqualität, sie reduzieren außerdem auch das Kontrast-zu-Rausch Verhältnis (CNR) von Tumor- und Lebergewebe [Low et al., 1997].

Dabei wirken sich nicht nur alleine die Bewegung während der Akquisition negativ aus, sondern auch die Bewegung zwischen den Akquisitionen kann zu fehlerhaften Auswertungen und Fehlern in der Nachbearbeitung von Bildern führen [Filipovic et al., 2011]. Ein Großteil der MR-Artefakte basiert in diesem Zusammenhang auf Ungenauigkeiten im Read-out einer Sequenz, was mit erheblichem Verlust von Bildqualität einhergehen kann. Dies kann sowohl während der Messung des MR-Signals mittels Frequenzkodiergradient in Richtung der y-Achse erfolgen oder aber auch nach den einzelnen Anregungen durch HF-Impulse durch den Phasenkodiergradient entlang der x-Achse, worauf Flusseffekte, der T2- und T2\*-Zerfall, physiologische Parameter und Kontrastmittelaufnahme einen Einfluss nehmen [Johnson et al., 2011].

Deshalb werden in klinischen Untersuchungen Sequenzen der Leber häufig mithilfe von Atemkommandos in Atemanhaltetechnik durchgeführt [Ringe et al., 2010]. Da dies bei Tieruntersuchungen jedoch nur mittels einer Intubationsnarkose und dem damit verbundenen deutlich erhöhten Aufwand möglich ist, ist die Atemtriggerung die einfachste Alternativmethode um MR-Bilder der Leber bei Tieren zu generieren.

Untersuchungstechniken zur Darstellung von Regionen des Körpers welche durch den Herzschlag oder die Atemexkursion in konstanter Bewegung sind orientieren sich an einer anatomischen Ruheposition, welche nach jedem Bewegungsereignis durchlaufen wird. Zur Vermeidung von Bewegungsartefakten werden Bilddaten nur in einer bestimmten Phase eines jeden Bewegungszykluses akquiriert [Nieman et al., 2009]. Hierzu werden am häufigsten Sequenzen mittels externer respiratorischer Triggerung oder Gating verwendet [Baboi et al., 2011 und Morikawa et al., 2012], wobei Ratten je nach Tiefe der Allgemeinanästhesie und Körpertemperatur hierbei eine Atemfrequenz zwischen 30 und 60 zeigen [Morikawa et al., 2012].

In der vorliegenden Arbeit wurden zur Akquisition T1-gewichteter Gradientenechosequenzen zwei unterschiedliche Akquisitionstechniken miteinander verglichen. Eine basiert auf einer prospektiven Triggerung, bei der über einen externen Sensor die physiologische Information der Atemexkursion ermittelt und zur Initialisierung der Sequenzakquisition verwendet wurde. Beim respiratorischen Triggerung gibt es keinen exakt zu bestimmenden physiologischen Parameter, wie

es bei der Messung der R-Zacke bei einer EKG-getriggerten Messung der Fall ist, was zu einer stärkeren Unregelmäßigkeit innerhalb der Messung führt und eine erfolgreiche Anwendung deutlich erschwert [Wood et al., 1988]. Außerdem lassen sich bei Atem- oder EKG-getriggerten Verfahren aufgrund von Schwankungen selten einheitliche Repetitionszeiten bei multiplen Messungen anwenden, was die Bildinterpretation im Bezug auf Änderungen der Signalintensität oder Relaxationszeiten von Gewebe erschwert [Zurek et al., 2010].

Eine alternative Methode zur Reduzierung von Bewegungsartefakten bietet das retrospektive Selbstgating (RSG), welches sich bislang vor allem in der experimentellen MR-Bildgebung des Herzens etabliert hat [Bishop et al., 2006, Bovens et al., 2011, Heijman et al., 2007 und Fries et al., 2012].

Bei RSG-Sequenzen ist typischerweise die Akquirierung eines zusätzlichen Signals im Zentrum des k-Raums zum Atemabgleich nötig, ohne dass ein externes Messgerät oder zusätzliche Gradienten bzw. RF-Pulse erforderlich sind [Jin et al., 2011].

Das Signal im Zentrum des k-Raumes enthält hierbei im Bezug auf die Erkennung von Bewegung die meisten Informationen, welche aus dem MR-Signal im Rahmen einer normalen Messung gewonnen werden können, meist ohne dabei die Akquisitionszeit zu steigern [Brau et al., 2006]. Dabei werden sämtliche Echos während einer Expirationsphase verwendet, um die k-Raum Akquisition durchzuführen, wo hingegen die Echos in der Inspirationsphase nicht in die Bildakquisition mit eingehen [Crowe et al., 2004 und White et al., 1991]. Es können so bei Spontanatmung Bilder erzeugt werden, ohne dass eine externe Ableitung des Atemsignals und ein externes Triggergerät notwendig sind [Jin et al., 2009].

Unsere Untersuchungen haben gezeigt, dass beide Untersuchungstechniken, unter der Voraussetzung der Anwendung gleicher Sequenzparameter, zu vergleichbaren quantitativen Ergebnissen hinsichtlich des Signal-zu-Rausch Verhältnisses verschiedener anatomischer Regionen und Gewebetypen führt.

In einem initialen Untersuchungsansatz ergab sich dabei auch hinsichtlich der notwendigen Akquisitionszeit kein relevanter Unterschied zwischen beiden Sequenzen. Jedoch konnte gezeigt werden, dass die prospektiv getriggerte Sequenz eine deutliche Variabilität in der Akquisitionszeit aufwies, was in erster Linie auf Variabilitäten in der Atemfrequenz der Versuchstiere und Fehlregistrierungen des

extern abgeleiteten Atemsignals beruht. Dem gegenüber zeichnet sich die RSG-FLASH Sequenz durch eine konstante Akquisitionszeit aus.

Diese Irregularitäten der Akquisitionszeiten sind jedoch insbesondere für dynamische Kontrastmittelverstärkte Untersuchungen von Nachteil, weil es hier erforderlich ist, zu definierten Zeitpunkten auch Bilddaten zu erhalten.

Dynamische Kontrastmitteluntersuchungen des Abdomens an kleineren Nagetieren gestalten sich durch erhöhte Atemfrequenzen sowie durch pulsatile Artefakte als besonders schwierig, was eine schnelle dynamische Bildgebung zur Erkennung des Kontrastmittelbolus und seiner first-pass-Eigenschaften notwendig macht [Braren et al., 2011]. Um die Kontrastmittelanreicherung innerhalb eines Tumors genau zu analysieren ist eine Datenakquirierung über einen Zeitraum von mehreren Minuten in hoher Frequenz erforderlich, was nur unter Spontanatmung möglich ist, wobei Bewegungsartefakte und daraus resultierende Unschärfe zu fehlerhaften Messungen von Perfusionsparametern führen können und so die Beurteilung in höheren Auflösungen einschränken [Lin et al., 2008].

In einem zweiten Untersuchungsansatz wurde daher die T1-gewichteten FLASH Sequenzen hinsichtlich ihrer Akquisitionszeit optimiert, insbesondere um dynamische KM-verstärkte Studien durchzuführen. Auch hierbei hat sich gezeigt, dass beide Untersuchungstechniken zu gleichen quantitativen Ergebnissen hinsichtlich der Darstellung des Lebergewebes und der implantierten Tumoren kamen, und zwar für native als auch für alle Zeitpunkte der KM-verstärkten Sequenzen.

Zusätzlich zeigte sich in der qualitativen Bewertung der beiden Sequenzen durch zwei unabhängige Reader, vorbehaltlich der geringen Fallzahl, auch kein signifikanter Unterschied in der Bildqualität zwischen den beiden Sequenzen.

Bei den für die dynamische Kontrastmittelverstärkten Bildgebung optimierten Sequenzen ergab sich jedoch ein entscheidender Unterschied hinsichtlich der Akquisitionszeiten. In dieser Subgruppe der vorliegenden Untersuchung war die RSG-FLASH Sequenz signifikant schneller bei einer konstanten Akquisitionszeit, wobei die prospektiv getriggerte Sequenz deutlich länger war und zudem eine deutliche Varianz zeigte.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass man bei T1-gewichteten Sequenzen mit dynamischer Kontrastmittelgabe an Kleintieren im Ultrahochfeld-MRT die Möglichkeit hat, auf den technischen Mehraufwand der externen Triggerung zu verzichten. Die

vorliegende Arbeit hat gezeigt, dass man mit der RSG-FLASH Sequenz bei einer signifikant kürzeren und zugleich konstanten Akquisitionszeit quantitativ sowie qualitativ gleichwertige Ergebnisse erzielen kann.

In dieser Arbeit wurde außerdem gezeigt, dass das Versuchstieralter einen entscheidenden Einfluss auf die gewebespezifische Relaxationszeit der Leber bei 9,4 Tesla hat und sich damit insbesondere auch auf die Signalintensität der Leber auswirkt. Dies ist letztendlich von entscheidender Bedeutung für die Abgrenzbarkeit von vorhandenen Malignomen und ist somit bei der Wahl und Zusammenstellung von Versuchstiergruppen zu berücksichtigen.

### 9. Literaturverzeichnis

1. Ansari D, Andersson R. Radiofrequency ablation or percutaneous ethanol injection for the treatment of liver tumors. *World J Gastroenterol* (2012) 18:1003-1008
2. Baboi L, Milot L, Lartizien C, et al. Synchronisation strategies in T2-weighted MR imaging for detection of liver lesions: Application on a nude mouse model. *Biomedical Imaging and Intervention Journal* (2007) 3:e53
3. Ba-Ssalamah A, Happel B, Kettenbach J, Dirisamer A, Wrba F, Längle F, Schima W. MRT der Leber. Klinische Bedeutung nichtspezifischer und leberspezifischer MRT-Kontrastmittel. *Radiologe* (2004) 44:1170-1184
4. Berr S S, Roche J K, El-Rifai W, Smith M F, Powell S M. Magnetic Resonance Imaging of Gastric Cancer in Tff1 Knock-Out Mice. *Magnetic Resonance in Medicine* (2003) 49:1033–1036
5. Bishop J, Feintuch A, Bock N A, et al. Retrospective Gating for Mouse Cardiac MRI. *Magnetic Resonance in Medicine* (2006) 55:472–477
6. Bovens S M, te Boeckhorst B C M, den Ouden K, et al. Evaluation of infarcted murine heart function: comparison of prospectively triggered with self-gated MRI. *NMR Biomed.* (2011) 24:307–315
7. Braren R, Curcic J, Remmele S, Altomonte J, Ebert O, Rummeny E J, Steingoetter A. Free-Breathing Quantitative Dynamic Contrast-Enhanced Magnetic Resonance Imaging in a Rat Liver Tumor Model Using Dynamic Radial T1 Mapping. *Investigative Radiology* (2011) 46:624-631
8. Brau A C S, Brittain J H. Generalized Self-Navigated Motion Detection Technique: Preliminary Investigation in Abdominal Imaging. *Magnetic Resonance in Medicine* (2006) 55:263–270

9. Britten C D, Gomes A S, Wainberg Z A, Elashoff D, Amado R, Xin Y, Busuttill R W, Slamon D J, Finn R S. Transarterial chemoembolization plus or minus intravenous bevacizumab in the treatment of hepatocellular cancer: A pilot study. *BMC Cancer* (2012) 12:16
10. Bulte J W, Go K G, Zuiderveen F, The T H, de Leij L. Intracerebral and subcutaneous xenografts of human SCLC in the nude rat: comparison of monoclonal antibody localization and tumor infiltrating lymphocytes. *J Neurooncol* (1993) 16:11-18
11. Chavhan G B, Babyn P S, Thomas B, Shroff M M, Haacke E M. Principles, Techniques, and Applications of T2\*-based MR Imaging and Its Special Applications. *RadioGraphics* (2009) 29:1433–1449
12. Christoforidis G A, Yang M, Kontzialis M S, Larson D G, Abduljalil A, Basso M, Yang W, Ray-Chaudhury A, Heverhagen J, Knopp M V, Barth R F. High Resolution Ultra High Field Magnetic Resonance Imaging of Glioma Microvasculature and Hypoxia Using Ultra-Small Particles of Iron Oxide. *Invest Radiol* (2009) 44:375-383
13. Coenegrachts K. Magnetic resonance imaging of the liver: New imaging strategies for evaluating focal liver lesions. *World J Radiol* (2009) 1:72-85
14. Crowe M E, Larson A C, Zhang Q, et al. Automated Rectilinear Self-Gated Cardiac Cine Imaging. *Magnetic Resonance in Medicine* (2004) 52:782–788
15. De Bazelaire C M J, Duhamel G D, Rofsky N M, Alsop D C. MR Imaging Relaxation Times of Abdominal and Pelvic Tissues Measured in Vivo at 3.0 T: Preliminary Results. *Radiology* (2004) 230:652-659
16. Degrassi A, Russo M, Scanziani E, et al. Magnetic Resonance Imaging and Histopathological Characterization of Prostate Tumors in TRAMP Mice as Model for Pre-Clinical Trials. *The Prostate* (2007) 67:396-404

17. De Jong G M, Aarts F, Hendriks T, Boerman O C, Bleichrodt R P. Animal Models for Liver Metastases of Colorectal Cancer: Research Review of Preclinical Studies in Rodents. *Journal of Surgical Research* (2009) 154(1):167-176
18. Denic A, Macura S I, Mishra P, Gamez J D, Rodriguez M, Pirko I. MRI in Rodent Models of Brain Disorders. *Neurotherapeutics* (2011) 8:3-18
19. Edrei Y, Gross E, Corchia N, Tsarfaty G, Galun E, Pappo O, Abramovitch R. Vascular Profile Characterization of Liver Tumors by Magnetic Resonance Imaging Using Hemodynamic Response Imaging in Mice. *Neoplasia* (2011) 13:244-253
20. Farragher S W, Jara H, Chang K J, Ozonoff A, Soto J A. Differentiation of Hepatocellular Carcinoma and Hepatic Metastasis From Cysts and Hemangiomas With Calculated T2 Relaxation Times and the T1/T2 Relaxation Times Ratio. *J. Magn. Reson. Imaging* (2006) 24:1333–1341
21. Filipovic M, Vuissoz P A, Codreanu A, Claudon M, Felblinger J. Motion Compensated Generalized Reconstruction for Free-Breathing Dynamic Contrast-Enhanced MRI. *Magnetic Resonance in Medicine* (2011) 65:812–822
22. Firbank MJ, Coulthard A, Harrison RM, Williams ED. A comparison of two methods for measuring the signal to noise ratio on MR images. *Phys Med Biol* (1999) 44:N261-N264
23. Frenette C, Gish R. Targeted systemic therapies for hepatocellular carcinoma: Clinical perspectives, challenges and implications. *World J Gastroenterol* (2012) 18:498-506
24. Frericks B B, Loddenkemper C, Huppertz A, Valdeig S, Stroux A, Seja M, Wolf K J, Albrecht T. Qualitative and Quantitative Evaluation of Hepatocellular Carcinoma and Cirrhotic Liver Enhancement Using Gd-EOB-DTPA. *AJR* (2009) 193:1053-1060

25. Fries P, Runge V M, Bücken A, Schürholz H, Reith W, Robert P, Jackson C, Lanz T, Schneider G. Brain Tumor Enhancement in Magnetic Resonance Imaging at 3 Tesla. Intraindividual Comparison of Two High Relaxivity Macromolecular Contrast Media With a Standard Gd-Chelate in a Rat Brain Tumor Model. *Invest Radiol* (2009) 44:200-206
26. Fries P, Massmann A, Seidel R, et al. Comparison of Retrospectively Self-Gated and Prospectively Triggered FLASH Sequences for Cine Imaging of the Aorta in Mice at 9.4 Tesla. *Invest Radiol* (2012) 47:259–266
27. Gaa J, Wieder H, Schwaiger M, Rummeny EJ. Moderne Bildgebung bei Lebermetastasen kolorektaler Tumoren. *Chirurg* (2005) 76:525-534
28. Gambarota G, Veltien A, van Laarhoven H, Philippens M, Jonker A, Mook OR, Frederiks WM, Heerschap A. Measurements of T<sub>1</sub> and T<sub>2</sub> relaxation times of colon cancer metastases in rat liver at 7T. *MAGMA* (2004) 17:281-287
29. Goldberg M A, Hahn P F, Saini S, Cohen M S, Reimer P, Brady T J, Mueller P R. Value of T<sub>1</sub> and T<sub>2</sub> Relaxation Times from Echoplanar MR Imaging in the Characterization of Focal Hepatic Lesions. *AJR* (1993) 160:1011-1017
30. Grimm J, Potthast A, Wunder A, Moore A. Magnetic resonance imaging of the pancreas and pancreatic tumors in a mouse orthotopic model of human cancer. *Int J Cancer* (2003) 106:806-811
31. Gulec S A, Pennigton K, Wheeler J, Barot T C, Suthar R R, Hall M, Schwartzentruber D. Yttrium-90 Microsphere-selective Internal Radiation Therapy With Chemotherapy (Chemo-SIRT) for Colorectal Cancer Liver Metastases: An In Vivo Double-Arm-Controlled Phase II Trial. *Am J Clin Oncol*. (2012) [Epub ahead of print] doi:10.1097/COC.0b013e3182546c50
32. Hagen T L, Eggermont A M. Tumor vascular therapy with TNF: critical review on animal models. *Methods Mol Med* (2004) 98:227-246

33. Heijman E, de Graaf W, Niessen P, et al. Comparison between prospective and retrospective triggering for mouse cardiac MRI. *NMR Biomed.* (2007) 20:439–447
34. Heindryckx F, Colle I, Van Vlierberghe H. Experimental mouse models for hepatocellular carcinoma research. *Int J Exp Pathol* (2009) 90:367-386.
35. Hennig J, Nauerth A, Friedburg H. RARE Imaging: A Fast Method for Clinical MR. *Magn Reson Med* (1986) 3:823-833
36. Hensley H H, Chang W C, Clapper M L. Detection and Volume Determination of Colonic Tumors in Min Mice by Magnetic Resonance Micro-Imaging. *Magnetic Resonance in Medicine* (2004) 52:524–529
37. Herrmann K A, Paspulati R M, Lauenstein T, Reiser M F. Benefits and Challenges in Bowel MR Imaging at 3.0 T. *Top Magn Reson Imaging* (2010) 21: 165-175
38. Iyer R B, Silverman P M, DuBrow R A, Charnsangavej C. Imaging in the Diagnosis, Staging, and Follow-Up of Colorectal Cancer. *AJR* (2002) 179:3-13
39. Jin N, Lewandowski R J, Omary R A, Larson A C. Respiratory Self-Gating for Free-Breathing Abdominal Phase-Contrast Blood Flow Measurements. *Journal Of Magnetic Resonance Imaging* (2009) 29:860–868
40. Jin N, Zhang Z, Zhang L, Lu G, Larson A C. Respiratory Self-Gated Multiple Gradient Recalled Echo Sequences for Free-Breathing Abdominal  $R_2^*$  Mapping. *Magnetic Resonance in Medicine* (2011) 66:207-212
41. Johnson K M, Block W F, Reeder S B, Samsonov A. Improved Least Square MR Image Reconstruction Using Estimates of k-Space Data Consistency. *Magn Reson Med* (2012) 67:1600–1608

42. Jost S C, Wanebo J E, Song S K, et al. In Vivo Imaging in a Murine Model of Glioblastoma. *Neurosurgery* (2007) 60:360-371
43. Koh Dow-Mu, Berry Jonathan. Critical questions in the imaging of colorectal hepatic metastases. *Cancer Imaging* (2008) 8:69-78
44. Korkusuz H, Knau L L, Kromen W, Bihrer V, Keese D, Piiper A, Vogl T J. Different Signal Intensity at Gd-EOB-DTPA Compared With Gd-DTPA-Enhanced MRI in Hepatocellular Carcinoma Transgenic Mouse Model in Delayed Phase Hepatobiliary Imaging. *J. Magn. Reson. Imaging* (2012) 35:1397–1402
45. Kulemann V, Schima W, Tamandl D, Kaczirek K, Gruenberger T, Wrba F, Weber M, Ba-Ssalamah A. Preoperative detection of colorectal liver metastases in fatty liver: MDCT or MRI? *European Journal of Radiology* (2011) 79:e1-e6
46. Lavilla-Alonso S, Abo-Ramadan U, Halavaara J, Escutenaire S, Tatlisumak T, Saksela K, Kanerva A, Hemminki A, Pesonen S. Optimized Mouse Model for the Imaging of Tumor Metastasis upon Experimental Therapy. *PLoS ONE* (2011) 6(11):e26810
47. Layer G, Bohrer M. Radiologische Diagnostik von Lebertumoren. Teil 1: Allgemeine Krankheitsaspekte und radiologische Verfahren. *Radiologe* (2007) 47:819-832
48. Layer G, Delorme S. Radiologische Diagnostik von Lebertumoren. Teil 2: Nachweis und Differentialdiagnose. *Radiologe* (2007) 47:919-934
49. Leenders W, Küsters B, Pikkemaat J, et al. Vascular endothelial growth factor-A determines detectability of experimental melanoma brain metastasis in GD-DTPA-enhanced MRI. *Int J Cancer* (2003) 105:437-443

50. Lerski R A, de Certaines J D. II. Performance assessment and quality control in MRI by europspin test objects and protocols. *Magnetic Resonance Imaging* (1993)11:817-833
51. Lin W, Guo J, Rosen M A, Song H K. Respiratory Motion-Compensated Radial Dynamic Contrast-Enhanced (DCE)-MRI of Chest and Abdominal Lesions. *Magnetic Resonance in Medicine* (2008) 60:1135–1146
52. Low R N, Alzate G D, Shimakawa A. Motion Suppression in MR Imaging of the Liver: Comparison of Respiratory-Triggered and Nontriggered Fast Spin-Echo Sequences. *AJR* (1997) 168:225-231
53. Mahmood U, Devitt M L, Kocheril P G et al. Quantitaion of Total Metastatic Tumor Volume in the Rat Liver: Correlation of MR and Histologic Measurements. *JMRI* (1992) 2:335-340
54. Marin D, Husarik D B, Boll D T, Merkle E M. Abdominal Magnetic Resonance Imaging at 3 T. Oncological Applications. *Top Magn Reson Imaging* (2010) 21:149-156
55. Marquardt D W. An Algorithm for Least-Square Estimation of Nonlinear Parameters. *Journal of the Society for Industrial and Applied Mathematics*. (1963) 11(2):431–441
56. McCann T E, Kosaka N, Turkbey B, Mitsunaga M, Choyke P L, Kobayashi H. Molecular imaging of tumor invasion and metastases: the role of MRI. *NMR Biomed*. (2011) 24(6): 561–568
57. Marzola P, Osculati F, Sbarbati A. High field MRI in preclinical research. *European Journal of Radiology* (2003) 48:165-170
58. Merkle E M, Dale B M. Abdominal MRI at 3.0 T: The Basics Revisited. *AJR* (2006) 186:1524–1532

59. Milot L, Guindi M, Gallinger S, Moulton C A, Brock K K, Dawson L A, Haider M A. MR Imaging Correlates of Intratumoral Tissue Types within Colorectal Liver Metastases: A High-Spatial-Resolution Fresh ex Vivo Radiologic-Pathologic Correlation Study. *Radiology* (2010) 254:747-754
60. Misiakos E P, Karidis N P, Kouraklis G. Current treatment for colorectal liver metastases. *World J Gastroenterol* (2011) 17:4067-4075
61. Mook O R F, Jonker A, Strang A C, Veltien A, Gambarota G, Frederiks W M, Heerschap A, Van Noorden C J F. Noninvasive magnetic resonance imaging of the development of individual colon cancer tumors in rat liver. *BioTechniques* (2008) 44:529-535
62. Morikawa S, Murayama H, Fujimoto S, Shiino A, Inubushi T. A simple way to acquire T1-weighted MR images of rat liver with respiratory triggering. *Magnetic Resonance Imaging* (2012) 30(3):453-8
63. Nakae D. Endogenous liver carcinogenesis in the rat. *Pathol Int* (1999) 49:1028-1042
64. Namasivayam S, Martin D R, Saini S. Imaging of liver metastases: MRI. *Cancer Imaging* (2007) 7:2-9
65. Nieman B J, Szulc K U, Turnbull D H. Three-Dimensional, In Vivo MRI With Self-Gating and Image Coregistration in the Mouse. *Magnetic Resonance in Medicine* (2009) 61:1148–1157
66. Nishikawa H, Inuzuka T, Takeda H, Nakajima J, Matsuda F, Sakamoto A, Henmi S, Hatamaru K, Ishikawa T, Saito S, Nasu A, Kita R, Kimura T, Arimoto A, Osaki Y. Comparison of percutaneous radiofrequency thermal ablation and surgical resection for small hepatocellular carcinoma. *BMC Gastroenterology* (2011) 11:143

67. O'Regan D P, Fitzgerald J, Allsop J, Gibson D, Larkman D J, Cokkinos D, Hajnal J V, Schmitz S A. A comparison of MR cholangiopancreatography at 1.5 T and 3.0 T. *The British Journal for Radiology* (2005) 78:894-898
68. Paschos KA, Bird N. Current diagnostic and therapeutic approaches for colorectal cancer liver metastasis. *HIPPOKRATIA* (2008) 12(3):132-138
69. Pham M, Helluy X, Kleinschnitz C, Kraft P, Bartsch A J, Jakob P, Nieswandt B, Bendszus M, Stoll G. Sustained Reperfusion after Blockade of Glycoprotein-Receptor-Ib in Focal Cerebral Ischemia: An MRI Study at 17.6 Tesla. *PLoS ONE* 6:e18386
70. Raza S A, Funicelli L, Sohaib S A, Collins D J, Scurr E, Leach M O, Koh D-M. Assessment of colorectal hepatic metastases by quantitative T2 relaxation time. *European Journal of Radiology* (2012) 81:e536– e540
71. Reimer P, Jähnke N, Fiebich M, Schima W, Deckers F, Marx C, Holzknacht N, Saini S. Hepatic Lesion Detection and Characterization: Value of Nonenhanced MR Imaging, Superparamagnetic Iron Oxide-enhanced MR Imaging, and Spiral-CT-ROC Analysis. *Radiology* (2000) 217:152–158
72. Ringe K I, Husarik D B, Sirlin C B, Merkle E M. Gadoxetate Disodium–Enhanced MRI of the Liver: Part 1, Protocol Optimization and Lesion Appearance in the Noncirrhotic Liver. *AJR* (2010) 195:13-28
73. Rofstad E K, Steinsland E, Kaalhus O, Chang Y B, Høvik B, Lyng H. Magnetic resonance imaging of human melanoma xenografts in vivo: proton spin-lattice and spin-spin relaxation times versus fractional tumour water content and fraction of necrotic tumour tissue. *Int. J. Radiat. Biol.* (1994) 65:387-402
74. Ruers T, Bleichrodt R P. Treatment of liver metastases, an update on the possibilities and results. *Eur J Cancer* (2002) 38(7):1023-1033

75. Runge V M, Nitz W R, Schmeets S H (eds) (2009) *The Physics of Clinical MR Taught Through Images*. 2nd ed. Thieme, New York Stuttgart
76. Schima W, Kulinna C, Langenberger H, Ba-Ssalamah A. Liver metastases of colorectal cancer: US, CT or MR? *Cancer Imaging* (2005) 5:149-155
77. Schmiedl U, Moseley M E, Ogan M D, Chew W M, Brasch R C. Comparison of Initial Biodistribution Patterns of Gd-DTPA and Albumin-(Gd-DTPA) Using Rapid Spin Echo MR imaging. *Journal of Computer Assisted Tomography*. (1987) 11(2):306-13
78. Schneider G, Grazioli L, Saini S (eds) (2005) *MRI of the Liver. Imaging Techniques, Contrast Enhancement, Differential Diagnosis*. 2nd ed. Springer, Milan Berlin Heidelberg New York
79. Semelka R C, Hussain S M, Marcos H B, Woosley J T. Perilesional Enhancement of Hepatic Metastases: Correlation between MR Imaging and Histopathologic Findings – Initial Observations. *Radiology* (2000) 215:89–94
80. Song T-J, Adusumilli PS, Fong Y. Prognostic factors in the evaluation of colorectal liver metastases. *Chirurg* (2005) 76:535-542
81. Springer F, Martirosian P, Boss A, Claussen C D, Schick F. Current Problems and Future Opportunities of Abdominal Magnetic Resonance Imaging at Higher Field Strengths. *Top Magn Reson Imaging* (2010) 21:141-148
82. Uggeri F, Aime S, Anelli P L, Botta M, Brocchetta M, de Haën C, Ermondi G, Grandi M, Paoli P. Novel Contrast Agents for Magnetic Resonance Imaging. Synthesis and Characterization of the Ligand BOPTA and Its Ln(III) Complexes (Ln = Gd, La, Lu). X-ray Structure of Disodium (TPS-9-145337286-C-S)-[4-Carboxy-5,8,11-tris(carboxymethyl)-1-phenyl-2-oxa-5,8,11-triazatridecan-13-oato(5-)]gadolate(2-) in a Mixture with Its Enantiomer. *Inorg. Chem.* (1995) 34:633-642

83. Umutlu L, Bitz A K, Maderwald S, Orzada S, Kinner S, Kraff O, Brote I, Ladd S C, Schroeder T, Forsting M, Antoch G, Ladd M E, Quick H H, Lauenstein T C. Contrast-enhanced ultra-high-field liver MRI: A feasibility trial. *European Journal of Radiology* (2011) [Epub ahead of print] doi:10.1016/j.ejrad.2011.07.004
84. Unger E C, Winokur T, MacDougall P, Rosenblum J, Clair M, Gatenby R, Tilcock C. Hepatic Metastases: Liposomal Gd-DTPA-enhanced MR imaging. *Radiology*. (1989) 171:81-85
85. Van Duijnhoven F H, Tollenaar R A E M, Terpstra O T, Kuppen P J K. Locoregional therapies of liver metastases in a rat CC531 coloncarcinoma model results in increased resistance to tumour rechallenge. *Clin Exp Metastasis* (2005) 22:247-253
86. Van Kessel C S, Van Leeuwen M S, Van den Bosch M A A J, Borel Rinkes I H M, Mali W P T M, Westers P, Van Hillegersberg R. Accuracy of Multislice Liver CT and MRI for Preoperative Assessment of Colorectal Liver Metastases after Neoadjuvant Chemotherapy. *Digestive Surgery* (2011) 28:36-43
87. Vitellas K M, Kangarlu A, Bova J G, Bennett W F, Vaswani K, Chakeres D W, Spigos D. Canine Abdominal MRI at 8 Tesla: Initial Experience with Conventional Gradient-Recalled Echo and Rapid Acquisition with Relaxation Enhancement (RARE) Techniques. *Journal for Computer Assisted Tomography* (2001) 25(6):856-863
88. Von Falkenhausen M M, Lutterbey G, Morakkabati-Spitz N, Walter O, Gieseke J, Blömer R, Willinek W A, Schild H H, Kuhl C K. High-Field-Strength MR Imaging of the Liver at 3.0 T: Intraindividual Comparative Study with MR Imaging at 1.5 T. *Radiology* (2006) 241:156-166
89. Ward J, New MR techniques for the detection of liver metastases. *Cancer Imaging* (2006) 6,33-42

90. Weinmann H J, Brasch R C, Press W R, Wesbey G E. Characteristics of gadolinium-DTPA complex: a potential NMR contrast agent. *AJR Am J Roentgenol.* (1984) 142:619-24
91. White R D, Paschal C B, Clampitt M E, Spraggins T A, Lenz G W. Electrocardiograph-Independent, "Wireless" Cardiovascular Cine MR Imaging. *JMRI* (1991) 1:347-355
92. Wood M L, Runge V M, Henkelman R M. Overcoming Motion in Abdominal MR Imaging. *AJR* (1988) 150:513-522
93. Wu H, Exner A A, Krupka T M, Weinberg B D, Patel R, Haaga J R. Radiofrequency Ablation: Post-ablation Assessment Using CT Perfusion with Pharmacological Modulation in a Rat Subcutaneous Tumor Model. *Acad Radiol* (2009) 16:321-331
94. Yamate J, Fumimoto S, Kuwamura M, Kotani T, Lamarre J. Characterization of a rat subcutaneous malignant fibrous histiocytoma and its tumor lines, with reference to histiocytic features. *Vet Pathol* (2007) 44:151-160
95. Zurek M, Bessaad A, Cieslar K, Crémillieux Y. Validation of Simple and Robust Protocols for High-Resolution Lung Proton MRI in Mice. *Magnetic Resonance in Medicine* (2010) 64:401–407

## 10. Aus der Arbeit hervorgegangene Publikationen

Wissenschaftlicher Vortrag:

Fries P, Matthes K, Mueller A, Denda G, Massmann A, Sperling J, Schneider G, Buecker A, Seidel R.

Comparison of prospectively triggered (PT) FLASH with retrospectively self-gated (RSG) FLASH sequences for imaging of experimental liver tumours in rats at 9.4 T. European Congress of Radiology 2012. ECR 2012 Book of Abstracts. Insights Imaging (2012) 3: Suppl 1: 292. Presentation number: B-0695.

Wissenschaftlicher Vortrag:

Fries P, Matthes K, Müller A, Denda G, Massmann A, Sperling J, Schneider G, Buecker A, Seidel R.

Vergleich zwischen externem Gating und retrospektivem Selbstgating zur Akquisition T1-gewichteter FLASH Sequenzen bei der dynamischen kontrastmittelverstärkten MRT der Leber an Ratten bei 9.4 Tesla.

Deutscher Röntgenkongress 2012: Fortschr Röntgenstr (2012) 184 - VO204\_6.

Originalarbeit:

Fries P, Seidel R, Müller A, Matthes K, Denda G, Massmann A, Menger M D, Sperling J, Morelli J N, Altmeyer K, Schneider G, Buecker A.

Comparison of Self-gated and Prospectively Triggered Fast Low Angle Shot (FLASH) Sequences for Contrast-Enhanced Magnetic Resonance Imaging of the Liver at 9.4 T in a Rat Model of Colorectal Cancer Metastases

Angenommen zur Veröffentlichung in Investigative Radiology, voraussichtlich Oktober 2013.

### 11. Danksagung

Herrn Prof. Dr. Arno Bücken danke ich für die Vergabe des Themas sowie für die Ermöglichung der Teilnahme am deutschen Röntgenkongress im Mai 2012 in Hamburg.

Herrn Dr. Peter Fries danke ich für die sehr gute Betreuung meiner Dissertation, für ein stets offenes Ohr und für die tatkräftige Unterstützung bei der Durchführung meiner Versuche sowie die vielen guten Ratschläge bis zur Fertigstellung dieser Arbeit.

Bei Herrn Dr. Andreas Müller und Frau Christa Isaacs bedanke ich mich für die Hilfe bei der Nutzung des experimentellen MRT und für viele nette Stunden und motivierende Worte während der Durchführung der Messungen und der Bearbeitung der Bilddaten.

Zudem bedanke ich mich beim gesamten Team des Instituts für Experimentelle Chirurgie der Universitätskliniken des Saarlandes unter Leitung von Herrn Prof. Dr. Michael Menger, insbesondere bei Frau Janine Becker, für die Unterstützung bei der Tierhaltung, der Zellkultivierung und der Herstellung der histologischen Gewebeschnitte.

Meinen Eltern danke ich für ihr permanentes Verständnis und ihre ungebrochene Unterstützung zu jeder Zeit.

## 12. Lebenslauf

### Persönliche Angaben:

Name: Kathrin Matthes  
Wohnort: Merowingerring 14  
65428 Rüsselsheim  
E-Mail: kathrinmatthes@hotmail.com  
Geburtsdatum: 11.12.1986  
Geburtsort: Rüsselsheim  
Familienstand: ledig

### Schulische Ausbildung:

August 1993 – Juli 1997: Grundschule Otto-Hahn in Rüsselsheim  
August 1997 – Juni 2006: 5. bis 13. Klasse am Immanuel-Kant-Gymnasium in Rüsselsheim  
August 2003 – Juni 2004: Auslandsschuljahr an der Spencer High School in Spencer, Iowa (USA)  
Juni 2006: Abitur mit der Note 1,8

### Studium:

November 2006 – September 2008: Vorklinischer Abschnitt des Studiums der Humanmedizin an der Universität des Saarlandes  
September 2008: Erste ärztliche Prüfung mit der Note 2 an der Universität des Saarlandes bestanden  
Oktober 2008 – Juli 2011: Klinischer Studienabschnitt des Studiums der Humanmedizin an der Universität des Saarlands  
Juli 2011- Juli 2012: Praktisches Jahr am Universitätsklinikum des Saarlandes in Homburg:  
1. Terial: 20.08.2011 – 11.12.2011 Klinik für Unfallchirurgie  
2. Terial: 12.12.2011 – 01.04.2012 Klinik für Radiologie  
3. Terial: 02.04.2012 – 22.07.2012 Klinik für Innere Medizin  
November 2012: Zweite ärztliche Prüfung mit der Note 2 an der Universität des Saarlandes bestanden

### Beruf:

Seit Mai 2013: Assistenzärztin der Inselklinik Föhr-Amrum, Wyk auf Föhr