

Aus der Klinik für Allgemein-, Visceral- und Transplantationschirurgie  
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

**„Markierung primärer humaner Hepatozyten mit  
mikroskaligen Eisenoxidpartikeln in temporärer  
Suspensionskultur“**

zur Erlangung des akademischen Grades  
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Nora Navina Kammer

aus Freiburg im Breisgau

Gutachter: 1. Priv.-Doz. Dr. med. I. M. Sauer  
2. Prof. Dr. med. E. Rummeny  
3. Prof. Dr. med. P. Wust

Datum der Promotion: 03.06.2012

# Inhaltsverzeichnis

<b>I. Zusammenfassung</b>	<b>4</b>
I.1 Abstract	4
I.2 Einleitung, Zielstellung	5
I.3 Methodik, Ergebnisse, Diskussion	6
<b>II. Anteilserklärung</b>	<b>14</b>
<b>III. Ausgewählte Publikationen</b>	<b>16</b>
III.1 Labeling of primary human hepatocytes with micron-sized iron oxide particles in suspension culture suitable for large-scale preparation	17
III.2 Quantification of cell labeling with micron-sized iron oxide particles using continuum source atomic absorption spectrometry	27
III.3 Imaging of primary human hepatocytes performed with micron-sized iron oxide particles and clinical magnetic resonance tomography	33
<b>IV. Lebenslauf</b>	<b>44</b>
<b>V. Publikationsliste</b>	<b>46</b>
<b>VI. Selbständigkeitserklärung</b>	<b>49</b>
<b>VII. Danksagung</b>	<b>49</b>

## I. Zusammenfassung

### I.1 Abstract

**Hintergrund:** Die Leberzelltransplantation stellt einen experimentellen Therapieansatz im Bereich verschiedener Lebererkrankungen dar. Um Komplikationen nach erfolgter Applikation der Leberzellsuspensionen zeitnah entgegen wirken zu können, ist die Nachverfolgung *in vivo* mittels eines möglichst nicht invasiven bildgebenden Verfahrens unerlässlich. Verschiedene Zellarten konnten bereits erfolgreich mit mikroskaligen Eisenoxidpartikeln (MPIO) in Adhäsion markiert und mit Magnetresonanztomographie (MRT) dargestellt werden. Für die Anwendung im klinischen Bereich ist allerdings die Markierung der Zellen in Suspension erstrebenswert. Ziel dieser Studie war es, ein für die klinische Routine praktikables Verfahren zur Markierung humaner Hepatozyten mit MPIO zu entwickeln, welches die Detektion der markierten Zellen mittels klinischer MRT ermöglicht.

**Methoden:** Primäre humane Hepatozyten wurden aus insgesamt 25 Resektaten nach Leberteileresektion isoliert. Zunächst wurde die zur Darstellung mittels klinischer MRT notwendige Partikelkonzentration/Zelle evaluiert. Die Markierung der Hepatozytensuspensionen erfolgte im *Rotary Cell Culture System*. Als Kontrollgruppe dienten in Adhäsion markierte und nachfolgend enzymatisch resuspendierte Zellen sowie native Zellen in Suspensions- und Adhäsionskultur. Anschließend wurden alle Versuchsgruppen in Adhäsion rekultiviert und über einen Zeitraum von fünf Tagen hinsichtlich ihrer metabolischen Leistungen (Albumin- und Harnstoffsynthese) und möglicher Zellschädigung (Aspartat- und Alanin-Aminotransferase) untersucht. Die Partikelaufnahme wurde licht-, fluoreszenz- und elektronenmikroskopisch sowie durch den korrelierenden Eisengehalt mittels *Continuum Source Atomic Absorption Spectrometry* verifiziert.

**Ergebnisse:** Die Darstellung mittels eines 3 Tesla MRT gelang bei einer Beladung von 18 Partikeln/Zelle. Für eine ausreichend hohe Partikelbeladung der Zellen in Suspension wurden wesentlich höhere Inkubationskonzentrationen benötigt als für die Markierung in Adhäsion (180 vs. 30 Partikel/Zelle). Mit dem Suspensionsverfahren ließ sich hingegen eine höhere Zellausbeute erzielen. Die Markierung blieb in beiden Gruppen über den gesamten Zeitraum stabil. Es konnten keine negativen Effekte bezüglich Zellintegrität oder metabolischer Aktivität nachgewiesen werden. Das Verfahren zur Markierung in Suspension bot jedoch aufgrund der schnelleren

und effizienteren Durchführung der Markierung deutliche Vorteile und zeigte sich daher für die potentielle klinische Routineanwendung überlegen.

## **I.2 Einleitung, Zielstellung**

Die Leberzelltransplantation (LCT) stellt ein alternatives, experimentelles Therapieverfahren zur orthotopen Lebertransplantation im Bereich bestimmter Lebererkrankungen dar: Einzelne Leberzellen werden in einem mehrstufigen Verfahren mittels enzymatischer Lösungen aus einem für die Transplantation nicht geeigneten Spenderorgan oder aber aus einem Leberteilresektat herausgelöst, aufgereinigt und anschließend als Zellsuspension mittels Katheter über Pfortader oder andere venöse Gefäße des Gastrointestinaltraktes in das erkrankte Patientenorgan appliziert. Dort sollen sich die Zellen ansiedeln und die Organfunktion unterstützen. Dieses Verfahren wurde vielfach in Tierstudien und bereits bei über 70 Patienten in experimentellen Ansätzen untersucht. Dabei konnten vor allem Patienten mit Stoffwechseldefekten von dieser Therapie profitieren. Derzeit wird das Verfahren erstmalig in einer kontrollierten randomisierten Studie bei Kindern mit angeborenen Harnstoffzyklusdefekten untersucht (Safety and Efficacy of Liver Cell Application (SELICA V), Hoffmann G.F. et al.).

Um mögliche Komplikationen wie beispielsweise ausgedehnte Embolisationen von Lebersinusoiden und Gefäßen sowie eine Verschleppung der Zellen in andere Organsysteme frühzeitig detektieren zu können, ist eine möglichst zeitnahe Nachverfolgung der Zellen *in vivo* mittels eines nicht invasiven bildgebenden Verfahrens unerlässlich. Darüber hinaus ist eine Beurteilung des Zellengraftments wünschenswert. Ein mögliches Verfahren stellt die Detektion zuvor entsprechend markierter Zellen mittels Magnetresonanztomographie (MRT) dar: Sie ermöglicht ein dynamisches Monitoring, das weder durch die Invasivität des Verfahrens noch durch kurze Halbwertszeiten limitiert ist wie zum Beispiel im Falle von Biopsien oder szintigraphischen Verfahren. Darüber hinaus zeichnet sich die MRT durch hohe bildliche Auflösung und fehlende Strahlenbelastung aus. Als zelluläre Kontrastmittel wurden unter anderem bioresistente superparamagnetische Eisenoxidpartikel verwendet, wobei sich Partikel im Mikrometerbereich aufgrund ihrer höheren  $T_2^*$ -Relaxivität als überlegen erwiesen. Zellen verschiedenster Gewebe, insbesondere murine Hepatozyten, konnten erfolgreich markiert und mittels MRT sowohl *in vitro* als auch *in vivo* detektiert werden. In einer ersten Studie war die Markierung humaner

Hepatozyten mit mikroskaligen Eisenoxidpartikeln (MPIO) in konventionellen Kulturverfahren (Adhäsionskultur) zur Darstellung mittels klinischer MRT (3 Tesla) untersucht worden. Der Schwerpunkt der vorliegenden Arbeit lag auf der Entwicklung eines vereinfachten Protokolls zur Markierung humaner Hepatozyten in Suspension, da die Zellen unmittelbar nach Isolierung und während der LCT als Zellsuspension vorliegen. Das zu entwickelnde Verfahren sollte prinzipiell für die zukünftige Bereitstellung großer Mengen markierter Zellen unter Reinraumbedingungen für die klinische Anwendung geeignet sein.

### **I.3 Methodik, Ergebnisse, Diskussion**

Insgesamt wurden Hepatozyten aus Gewebe von 25 Leberteileresektaten isoliert, die im Rahmen von Tumor- oder anderen Lebererkrankungen gewonnen worden waren (Klinik für Allgemein-, Visceral- und Transplantationschirurgie, Charité - Campus Virchow, Universitätsmedizin Berlin). Die Verwendung der Gewebe zu Forschungszwecken war durch die Ethikkommission der Charité – Universitätsmedizin Berlin genehmigt und die Aufklärung und Einwilligung der Patienten war in allen Fällen gegeben. Mittels eines zweistufigen Kollagenase-Perfusionsverfahrens wurden die Leberzellen aus dem Gewebeverband gelöst und nachfolgend mit Hilfe einer Percoll-Dichte-Gradienten- Zentrifugation aufgereinigt. Zellzahl- und Viabilitätsbestimmungen erfolgten durch Trypan Blau Ausschluss. Zellen aller Versuche wurden in supplementiertem Williams Medium E in einem befeuchteten CO<sub>2</sub>-Inkubator bei 37°C kultiviert.

Als intrazelluläres Kontrastmittel wurden mikroskalige superparamagnetische Eisenoxidpartikel (MPIO, Bangs Laboratories, Fishers, IN, USA) verwendet. Diese Partikel bestehen aus einem Eisenkern, der in einer Fluorochrom-markierten (Dragon Green) Divinylbenzen-Polymerhülle enkapsuliert ist. Der Eisengehalt pro Partikel beträgt 42,5% bei einem Durchmesser von durchschnittlich 1,6µm.

In einer ersten Studie war zunächst die zur Darstellung mittels 3 Tesla MRT notwendige Partikelkonzentration untersucht worden: Zellen von drei Spendern wurden in Kollagen-beschichteten 6-Lochplatten für 18 Stunden präkultiviert und nachfolgend mit 10, 20, 30 und 40 Partikeln/Zelle für je 24 Stunden in Adhäsionskultur inkubiert. Für die MRT-Untersuchungen wurden jeweils 1000 mittels Trypsin enzymatisch resuspendierte Zellen (markiert oder nativ) und das

entsprechende Äquivalent freier Partikel in einer 1%igen Agarose-Suspension fixiert. Für die Messungen wurde ein MRT mit der Feldstärke von 3 Tesla und eine zirkulär polarisierte Oberflächenspule (Durchmesser 2cm) verwendet. Die Aufnahmen wurden mit einer T2\*-gewichteten Gradienten-Echo-Puls-Sequenz (FoV: 20mm, Matrix: 256x256 Pixel, Schichtdicke: 0,8mm, resultierendes Voxelvolumen: 78µm x 78µm x 800µm, TR: 200ms, TE: 25ms, FA: 20°, NEX: 12, TA: 5:10min) durchgeführt. Nachdem die optimale Inkubationskonzentration mit 30 Partikeln/Zelle ermittelt worden war, wurde die Inkubationszeit von 24 auf 4 Stunden verkürzt (n=3). Überschüssige Partikel wurden jeweils nach Ablauf der Inkubationszeit durch Spülung der Zellen mit Phosphatpuffer entfernt. Die intrazelluläre Lokalisation der Partikel wurde mittels Licht-, Fluoreszenz- und Elektronenmikroskopie verifiziert. Der Partikelgehalt wurde lichtmikroskopisch durch manuelle Auszählung bestimmt. Negative Effekte durch Markierung und enzymatische Resuspension wurden anhand der Freisetzung der Enzyme Laktatdehydrogenase (LDH) und Aspartat-Aminotransferase (AST) sowie der Syntheseparameter Albumin und Harnstoff bewertet.

In der nachfolgenden Studie wurde nun ein in der klinischen Routine abwendbares Markierungsverfahren untersucht. Die konventionelle Kultur von Hepatozyten erfolgt in Adhäsion auf Kollagen-beschichteten Kulturplatten, da die Zellen bei längerer Kulturdauer auf eine extrazelluläre Matrix angewiesen sind. Bei der LCT werden jedoch Leberzellsuspensionen in das Gefäßsystem injiziert, sodass die angewachsenen und markierten Zellen vor der Applikation wieder enzymatisch von den Platten gelöst werden müssen. Um das Markierungsverfahren zu vereinfachen und den Zwischenschritt der enzymatischen Resuspension zu umgehen, wurde die Markierung von Hepatozyten in Suspension untersucht. Zu diesem Zweck wurde das *Rotary Cell Culture System* (RCCS, Synthecon, Houston, TX, USA) ausgewählt und evaluiert (Abb. 1). Dieses System wurde ursprünglich von der NASA (national aeronautics and space administration) zum besseren Verständnis des Verhaltens von Zellen unter



**Abbildung 1:** Rotary Cell Culture System: drei parallel geschaltete RCCS-Bioreaktoren an der eigens für den Versuchsaufbau entwickelten Motoreinheit.

annähernder Schwerelosigkeit entwickelt. Durch Rotation des Bioreaktors um eine horizontale Achse mit einer adjustierten Geschwindigkeit wird ein Summenvektor für die Gravitation von annähernd Null erreicht und somit ein Absinken und Verklumpen der Zellen verhindert. Darüber hinaus ist die Kultivierung von Zellen in diesem System mit einer minimalen Belastung der empfindlichen Zellen durch Scherkräfte verbunden. Die Reaktoren verfügen des Weiteren rückseitig über eine Membran, die einen kontinuierlichen Gasaustausch ermöglicht und sind in unterschiedlichen Volumina von 10 bis 500ml erhältlich. Um eine gleichzeitige Belegung mehrerer Reaktoren zu ermöglichen, wurde eine spezielle Motoreinheit entwickelt, die es erlaubt bis zu drei Reaktoren gleichzeitig mit Zellen zu besetzen.

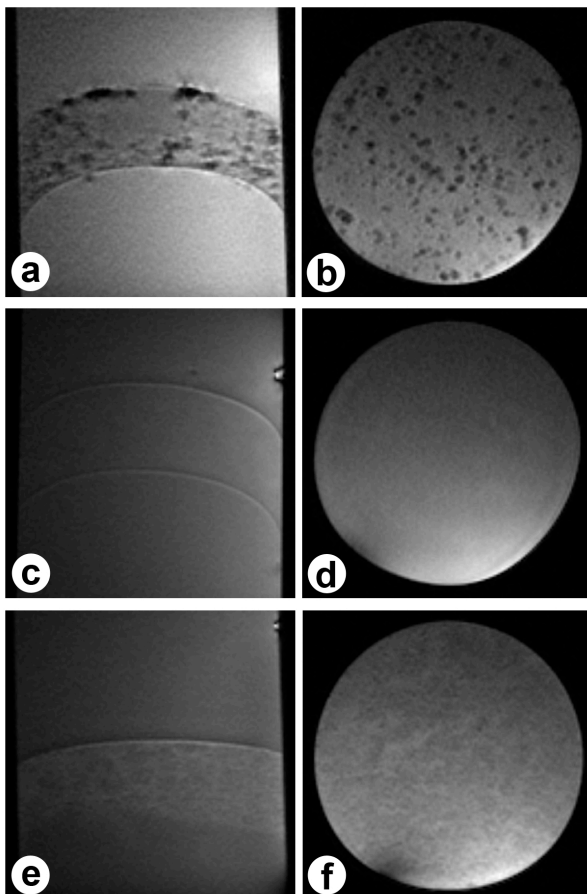
In dieser Studie wurden Reaktoren mit einem Volumen von 10ml verwendet. Für die Bestimmung der optimalen Zellzahl wurden nach Isolierung 10, 15 und 20 x 10<sup>6</sup> Zellen/Reaktor bei einer Umdrehungsgeschwindigkeit von 25 Umdrehungen/Minute in das System eingebracht (n=3). Nach Ausschluss nachteiliger Effekte (beurteilt anhand von Viabilität, Freisetzung der hepatozytenspezifischen Enzyme Alanin- (ALT) und Aspartat-Aminotransferase (AST), Albumin- und Harnstoffsynthese) wurden die weiteren Versuche mit 20 x 10<sup>6</sup> Zellen/Reaktor fortgeführt. Um auch unter Suspensionbedingungen die erforderliche Inkubationskonzentration zu ermitteln, wurden die Zellen nachfolgend mit 30 (n=2), 60 (n=3), 90 (n=7) und 180 (n=7) Partikeln/Zelle für vier Stunden inkubiert. Anschließend wurden die markierten Hepatozyten aus den Reaktoren entnommen und durch Dichte-Gradienten-Zentrifugation mit Hilfe einer 90%igen Percoll-Lösung von überschüssigen freien Partikeln abgetrennt. Parallel wurde dieses Verfahren mit der Markierung in Adhäsion und nachfolgender enzymatischer Resuspension, der Referenzmethode der ersten Studie, verglichen (n=7). Zusätzlich bestanden zwei Kontrollgruppen: native Zellen in vierstündiger Suspensionskultur mit nachfolgender Adhäsion (n=7) und native Zellen in Adhäsion (n=7).

Im Anschluss an die unterschiedlichen Markierungsverfahren wurden die Zellen aller Versuchsgruppen über einen Zeitraum von fünf Tagen in Adhärenz unter Standardbedingungen rekultiviert, wobei das Kulturmedium alle 24 Stunden ersetzt und der Überstand bis zur weiteren analytischen Aufarbeitung bei -80°C aufbewahrt wurde. Die Zellen wurden anhand folgender Parameter untersucht: Morphologie, ALT- und AST-Freisetzung, Albumin- und Harnstoffsynthese sowie dem Proteingehalt am Ende der Kulturphase. Die Partikelaufnahme wurde, wie in der



ersten Studie, licht- und elektronenmikroskopisch verifiziert. Der Partikelgehalt/Zelle wurde lichtmikroskopisch und mit Hilfe der *Continuum Source Atomic Absorption Spectrometry* (CSAAS, Leibniz-Institut für Analytische Wissenschaften - ISAS, Department Berlin) am Ende der Kulturperiode ermittelt. Die CSAAS ist ein spektroskopisches Verfahren zur qualitativen und quantitativen Analyse von Elementen. Die gemessenen Eisenkonzentrationen wurden mit Zellzahl, Proteingehalt und dem nativen Eisengehalt der Zellen korreliert. Die statistische Auswertung erfolgte mittels SPSS 13.0 anhand von two-tailed student t-tests; ein p-Wert von  $\geq 0,05$  wurde als statistisch signifikant gewertet. Alle Angaben erfolgten als Mittelwert  $\pm$  Standardfehler des Mittelwerts (SEM).

In der ersten Studie konnte nach einer 18-stündigen Präkulturphase mit einer Inkubationskonzentration von 30 Partikeln/Zelle über einen Zeitraum von vier Stunden eine intrazelluläre Aufnahme von  $18 \pm 1$  Partikel/Zelle erreicht werden. Die Markierungseffizienz betrug dabei 100%. In T2\*-gewichteten Aufnahmen konnte bei dieser Eisenbeladung eine Darstellung auf Einzelzellniveau mit einem 3 Tesla MRT erzielt werden. Die markierten Zellen erzeugten die für MPIO markierte Zellen typischen, scharf begrenzten, punktuellen Signalauslöschungen, während die



äquivalente Menge freier Partikel und nativer Zellen keinerlei Signalauslöschungen induzierte (Abb. 2). Die intrazelluläre Lokalisation der Partikel wurde licht-, fluoreszenz- und elektronenmikroskopisch bestätigt. Die Markierung blieb über den gesamten Zeitraum von 6 Tagen stabil. Es konnte weder eine zellschädigende Wirkung noch eine Beeinflussung der Syntheseleistung aufgrund der Partikel oder des Resuspensionsverfahrens festgestellt werden.

**Abbildung 2:** Axiale und sagittale MRT-Aufnahmen humaner markierter Hepatozyten (a, b), nativer Hepatozyten (c, d) und der äquivalenten Menge freier Partikel (e, f); Agarosephantome von 250 $\mu$ l mit je 1000 Zellen bei einer Beladung von je 18 MPIO/Zelle bzw. 1000 nativen Zellen und 18.000 Partikeln.

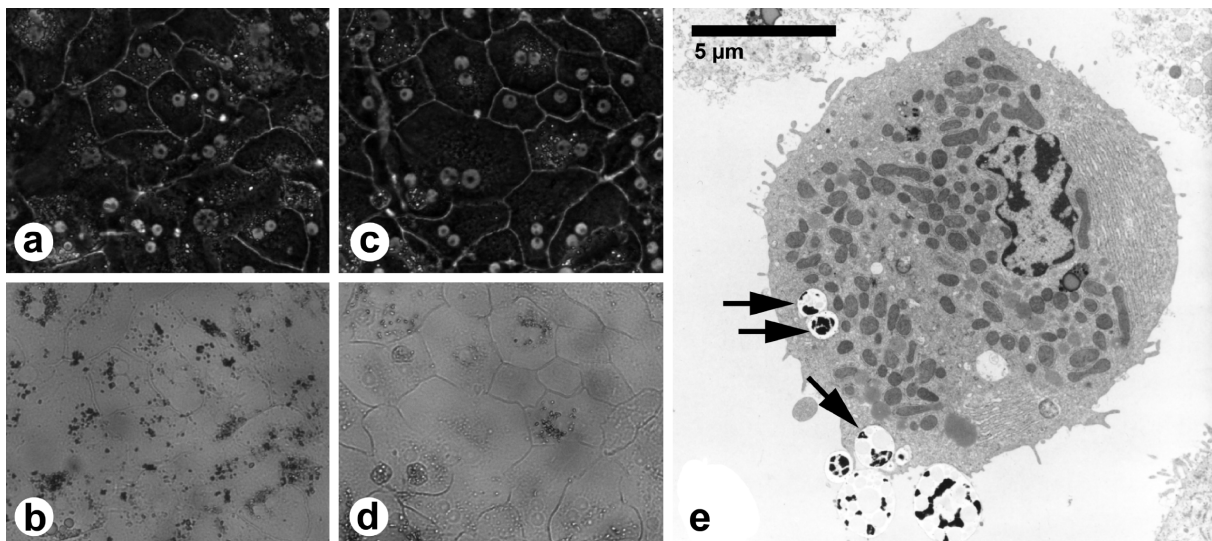
Das Resuspensionsverfahren ist in der klinisch orientierten Anwendung allerdings limitiert: Um das Verfahren auch jenseits der exzeptionellen Laborsituation anwendbar zu machen, sollte idealerweise auf die 18-stündige Präkultur vor Partikelinkubation sowie die nachfolgende enzymatische Resuspension verzichtet werden. Darüber hinaus wird bei klinischer LCT ein Vielfaches der nach diesem Verfahren markierten Zellmenge appliziert. Selbst die Bereitstellung eines Zehntels einer durch dieses Verfahren markierten Zellmenge würde mit einem immensen zeitlichen, personellen und apparativen Aufwand einhergehen. Basierend auf den bereits gewonnenen Ergebnissen und der genannten Problematik wurde das RCCS als alternativer Lösungsansatz in einer zweiten Studie evaluiert.

Um die optimalen Kulturbedingungen im RCCS zu bestimmen, wurde in Vorversuchen zunächst der Einfluss unterschiedlicher Zelldichten untersucht. Es konnte kein Unterschied der Gruppen bezüglich Viabilität, Zellmetabolismus oder Zellschädigung während einer Kulturdauer von 5 Tagen festgestellt werden. Daher wurden alle weiteren Versuche mit der höchsten Zellzahl fortgeführt.

Die Inkubation der Zellen unmittelbar nach Isolierung mit Konzentrationen von 60, 90 und 180 Partikeln/Zelle zeigte eine Abhängigkeit der Partikelaufnahme und des prozentualen Anteils markierter Zellen innerhalb eines Zeitraumes von vier Stunden. Bei den initial durchgeführten Versuchen mit 30 Partikeln/Zelle ließ sich keine signifikante Markierung der Zellen im RCCS erzielen. Mit der 6-fachen Menge der ursprünglichen Konzentration konnte der zur Darstellung mittels klinischer MRT notwendige intrazelluläre Partikelgehalt mit  $28,8 \pm 5,8$  Partikel/Zelle bei einer Markierungsrate von  $95,1 \pm 3,4\%$  erreicht werden. Der erhöhte Bedarf an Partikeln ist vermutlich den unterschiedlichen Volumenverhältnissen zuzuschreiben, da sich Zellen und Partikel im RCCS im dreidimensionalen Raum befinden, sodass die Wahrscheinlichkeit eines Zusammentreffens von Partikel und Zelle reduziert ist. In der zweidimensionalen Adhäsionskultur liegen die Partikel den Zellen als oberste Schicht auf und die Aufnahme wird durch die Wirkung der Schwerkraft zusätzlich begünstigt. Die Bestimmung des Eisengehalts mittels CSAAS ergab Werte von  $32,4 \pm 7,9$  Partikel/Zelle. Die diskrete Abweichung im Vergleich zu den lichtmikroskopisch ermittelten Werten ( $28,8 \pm 5,8$  Partikel/Zelle) beruht auf der Tatsache, dass im Gegensatz zur lichtmikroskopischen Bestimmung bei der CSAAS nicht zwischen intra- und extrazellulären Partikeln differenziert werden kann, da lediglich der Gesamtgehalt eines Elements in einer Suspension gemessen wird.

Dennoch konnte in einer dritten Studie mit porcinen Hepatozyten gezeigt werden, dass die CSAAS eine verlässliche Methode zur Bestimmung des Eisen- und damit des Partikelgehalts der Zellen ist. Um die Stabilität der Markierung über den Zeitraum der Kulturdauer zu überprüfen, wurden aus drei Versuchen unmittelbar nach Beendigung der Inkubationsdauer Proben für die Messung mittels CSAAS gewonnen. Die Messungen ergaben einen Partikelgehalt von  $29,9 \pm 8,2$  Partikel/Zelle. Es konnte daher kein Verlust der Partikel während der Kulturdauer festgestellt werden. Morphologisch ergaben sich keinerlei Unterschiede zwischen den im RCCS markierten und resuspendierten Zellen sowie ihren jeweiligen Kontrollen: Alle Gruppen wiesen die für *in vitro* kultivierten Hepatozyten typischen Merkmale eines polygonalen Aussehens, vereinzelter Granula und eines oder mehrerer Kerne auf. Die Partikel der markierten Zellen ließen sich im Gegensatz zu den nativen Kontrollen klar im Zytoplasma abgrenzen (Abb. 3 a-d).

Die elektronenmikroskopischen Aufnahmen unmittelbar nach Beendigung der vierstündigen Inkubationsphase zeigten eine intrazelluläre Lokalisation der Partikel (Abb. 3 e).



**Abbildung 3:** Licht- und elektronenmikroskopische Aufnahmen humaner Hepatozyten. Phasenkontrast- und Durchlichtmikroskopie von in Suspension mittels MPIO markierten und anschließend in Adhäsion rekultivierten Hepatozyten (a, b) sowie nativen Hepatozyten nach Suspensionskultur (c, d); 200-fache Vergrößerung, Kulturtag 6. Elektronenmikroskopische Aufnahme eines Hepatozyten unmittelbar nach 4-stündiger Inkubation mit MPIO (e). Einzelne in das Zytoplasma aufgenommene Partikel sind mit Pfeilen markiert.

Mit dem RCCS-Verfahren konnte mit  $46,6 \pm 3,5\%$  eine höhere Zellausbeute als mit dem Resuspensionsverfahren ( $37,1 \pm 2,9\%$ ) erzielt werden. Dieser Unterschied erreichte allerdings keine statistische Signifikanz.

Um mögliche negative Effekte der Partikelinkorporation oder des Kulturverfahrens feststellen zu können, wurde die Konzentration der intrazellulär lokalisierten Enzyme ALT und AST bestimmt. Signifikant erhöhte Enzymkonzentrationen für AST fanden sich am ersten Kulturtag in der Gruppe der resuspendierten Zellen verglichen mit denen der anderen Versuchsgruppen. Diese erhöhten Werte ließen sich darauf zurückführen, dass durch Resuspension geschädigte Zellen gemeinsam mit den vitalen Zellen ausgesät und erst am folgenden Kulturtag durch Spülung entfernt wurden. Die Enzymfreisetzung aller Versuchsgruppen stabilisierte sich im Verlauf der folgenden Kulturtage. Die in Suspension kultivierten Zellen wiesen am dritten und vierten Kulturtag zwar geringe, jedoch im Vergleich zu der resuspendierten und kontinuierlich adhärennten Kontrollgruppe signifikant höhere AST Werte auf. Am letzten Kulturtag zeigten jedoch alle Versuchsgruppen gleich niedrige Werte. Für die ALT Konzentrationen zeigte sich ein ähnliches Enzymfreisetzungsmuster; allerdings ließen sich nur am ersten Kulturtag signifikant erhöhte Werte feststellen. Um die metabolische Aktivität der Zellen zu evaluieren, wurden die hepatozytenspezifischen Syntheseparameter Albumin und Harnstoff herangezogen. Am zweiten Kulturtag zeigten die in Suspension kultivierten Zellen eine signifikant erhöhte Harnstoffsyntheserate im Vergleich zu den in Adhäsion kultivierten Zellen. Darüber hinaus zeigten die in Suspension markierten Zellen über die gesamte Kulturdauer eine signifikant höhere Harnstoffproduktion gegenüber allen anderen Versuchsgruppen. Während die Harnstoffsyntheserate über die Kulturdauer annähernd konstant blieb, nahm die Albuminproduktion aller Versuchsgruppen über die Kulturdauer stetig zu. Die markierten Zellen zeigten innerhalb der ersten zwei Kulturtage eine signifikant geringere Albuminproduktion. Am Ende der Kulturdauer ergaben sich jedoch keine Unterschiede zwischen den Gruppen. Zusammenfassend ließ sich feststellen, dass sowohl Partikel als auch die beiden Markierungsverfahren keinerlei nachteilige Effekte auf die Zellen ausübten. Die erhöhte Harnstoffsyntheseleistung musste auf das Zusammenwirken von Markierung und Suspensionskultur zurückzuführen sein, da sich ein solcher Effekt weder bei der reinen Suspensionskultur noch unter Markierung in Adhäsion beobachten ließ. Da humane Hepatozyten in Abhängigkeit ihrer Kulturdauer dedifferenzieren, war der Versuchsaufbau auf einen Zeitraum von 6 Tagen begrenzt. Gegenstand weiterer Forschung sind Untersuchungen auf molekularbiologischer Ebene sowie die Überprüfung der Ergebnisse *in vivo*.

In den vorliegende Studien dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass primäre humane Hepatozyten *in vitro* mit MPIO markiert werden können, sich mittels klinischer MRT *in vitro* detektieren lassen und zwei verschiedene Verfahren zur Markierung und Bereitstellung der Zellen zur Verfügung stehen. Darüber hinaus konnte mit der Messung des Eisengehalts mittels CSAAS ein Verfahren zur objektivierte Bestimmung des Partikelgehalts evaluiert werden. Die Markierung blieb bei beiden Verfahren über den gesamten Versuchszeitraum stabil. Sowohl die Partikel als auch die Markierungsverfahren hatten keinen negativen Effekt auf Integrität und Syntheseleistungen der Zellen. Das Verfahren zur Markierung in Suspension zeigte sich jedoch trotz der größeren benötigten Partikelmenge aufgrund der schnellen und einfachen Handhabung sowie der Möglichkeit der Markierung großer Zellmengen für die Anwendung in der klinischen Routine deutlich überlegen.

## II. Anteilserklärung

Frau Nora Navina Kammer hatte folgenden Anteil an den eingereichten Publikationen:

**Publikation 1:** Kammer NN, Billecke N, Morgul MH, Adonopoulou MK, Mogl M, Huang MD, Florek S, Schmitt KR, Raschzok N, Sauer IM.

*Labeling of primary human hepatocytes with micron-sized iron oxide particles in suspension culture suitable for large-scale preparation.*

Artif Organs. 2011 Apr;35(4):E91-100.

### 80 Prozent

#### Beitrag im Einzelnen:

Erstellung und Durchführung der Versuchspläne für Vor- und Hauptversuche, Vervielfältigung und Prozessierung der Tumorzelllinie HuH7, Zellisolierung und Prozessierung humaner Hepatozyten aus Leberresektaten, Markierung von Hepatozyten mittels Eisenoxidpartikeln, Herstellung von Isolierlösungen und Nährmedien, Pflege und Betreuung der Leberzellkulturen, lichtmikroskopische Begutachtung der Kulturen und fotografische Dokumentation, Probenentnahme für biochemische Analysen und Asservierung der Proben, Herstellung von Proben und Durchführung der Messungen zur Ermittlung des Eisengehalts mittels *Continuum Source Atomic Absorption Spectrometry*, lichtmikroskopische Auswertung der Anzahl der aufgenommenen Eisenoxidpartikel, Durchführung von ELISAs und photometrischen Messungen zur Bestimmung der biochemischen Verlaufparameter, Erstellung von Graphiken und Tabellen, strukturierte Literaturrecherche, Redaktion und Einreichung des Manuskripts, Bearbeitung aller Revisionen sowie Korrespondenz mit Gutachtern und Editoren.

**Publikation 2:** Raschzok N, Billecke N, Kammer NN, Morgul MH, Adonopoulou MK, Sauer IM, Florek S, Becker-Ross H, Huang MD.

*Quantification of cell labeling with micron-sized iron oxide particles using continuum source atomic absorption spectrometry.*

Tissue Eng Part C Methods. 2009 Dec;15(4):681-6.

### **30 Prozent**

#### Beitrag im Einzelnen:

Explantation der Spenderleber (Schwein), Zellisolierung und Prozessierung porciner Hepatozyten aus Leberexplantaten, Herstellung von Isolierlösungen und Nährmedien, Pflege und Betreuung der Leberzellkulturen, Herstellung von Proben und Durchführung der Messungen zur Ermittlung des Eisengehalts mittels *Continuum Source Atomic Absorption Spectrometry*, Überarbeitung und Korrekturlesen des Manuskripts.

**Publikation 3:** Raschzok N, Morgul MH, Pinkernelle J, Vondran FWR, Billecke N, Kammer NN, Pless G, Adonopoulou MK, Leist C, Stelter L, Teichgraber U, Schwartlander R, Sauer IM.

*Imaging of primary human hepatocytes performed with micron-sized iron oxide particles and clinical magnetic resonance tomography.*

J Cell Mol Med. 2008 Aug;12(4):1384-94. Epub 2008 Apr 9.

### **10 Prozent**

#### Beitrag im Einzelnen:

Zellisolierung und Prozessierung humaner Hepatozyten aus Leberresektaten, Herstellung von Isolierlösungen und Nährmedien, Pflege und Betreuung der Leberzellkulturen, Literaturrecherche, Überarbeitung und Korrekturlesen des Manuskripts.

PD Dr. I.M. Sauer

N.N. Kammer

### III. Ausgewählte Publikationen

**Publikation 1:** Kammer NN, Billecke N, Morgul MH, Adonopoulou MK, Mogl M, Huang MD, Florek S, Schmitt KR, Raschzok N, Sauer IM.

*Labeling of primary human hepatocytes with micron-sized iron oxide particles in suspension culture suitable for large-scale preparation.*

Artif Organs. 2011 Apr;35(4):E91-100.

**Publikation 2:** Raschzok N, Billecke N, Kammer NN, Morgul MH, Adonopoulou MK, Sauer IM, Florek S, Becker-Ross H, Huang MD.

*Quantification of cell labeling with micron-sized iron oxide particles using continuum source atomic absorption spectrometry.*

Tissue Eng Part C Methods. 2009 Dec;15(4):681-6.

**Publikation 3:** Raschzok N, Morgul MH, Pinkernelle J, Vondran FWR, Billecke N, Kammer NN, Pless G, Adonopoulou MK, Leist C, Stelter L, Teichgraber U, Schwartlander R, Sauer IM.

*Imaging of primary human hepatocytes performed with micron-sized iron oxide particles and clinical magnetic resonance tomography.*

J Cell Mol Med. 2008 Aug;12(4):1384-94. Epub 2008 Apr 9.



Kammer NN, Billecke N, Morgul MH, Adonopoulou MK, Mogl M, Huang MD, Florek S, Schmitt KR, Raschzok N, Sauer IM.

*Labeling of primary human hepatocytes with micron-sized iron oxide particles in suspension culture suitable for large-scale preparation.*

Artif Organs. 2011 Apr;35(4):E91-100.

<http://dx.doi.org/10.1111/j.1525-1594.2010.01177.x>

Kammer NN, Billecke N, Morgul MH, Adonopoulou MK, Mogl M, Huang MD, Florek S, Schmitt KR, Raschzok N, Sauer IM.

*Labeling of primary human hepatocytes with micron-sized iron oxide particles in suspension culture suitable for large-scale preparation.*

Artif Organs. 2011 Apr;35(4):E91-100.

<http://dx.doi.org/10.1111/j.1525-1594.2010.01177.x>

Kammer NN, Billecke N, Morgul MH, Adonopoulou MK, Mogl M, Huang MD, Florek S, Schmitt KR, Raschzok N, Sauer IM.

*Labeling of primary human hepatocytes with micron-sized iron oxide particles in suspension culture suitable for large-scale preparation.*

Artif Organs. 2011 Apr;35(4):E91-100.

<http://dx.doi.org/10.1111/j.1525-1594.2010.01177.x>

Kammer NN, Billecke N, Morgul MH, Adonopoulou MK, Mogl M, Huang MD, Florek S, Schmitt KR, Raschzok N, Sauer IM.

*Labeling of primary human hepatocytes with micron-sized iron oxide particles in suspension culture suitable for large-scale preparation.*

Artif Organs. 2011 Apr;35(4):E91-100.

<http://dx.doi.org/10.1111/j.1525-1594.2010.01177.x>

Kammer NN, Billecke N, Morgul MH, Adonopoulou MK, Mogl M, Huang MD, Florek S, Schmitt KR, Raschzok N, Sauer IM.

*Labeling of primary human hepatocytes with micron-sized iron oxide particles in suspension culture suitable for large-scale preparation.*

Artif Organs. 2011 Apr;35(4):E91-100.

<http://dx.doi.org/10.1111/j.1525-1594.2010.01177.x>

Kammer NN, Billecke N, Morgul MH, Adonopoulou MK, Mogl M, Huang MD, Florek S, Schmitt KR, Raschzok N, Sauer IM.

*Labeling of primary human hepatocytes with micron-sized iron oxide particles in suspension culture suitable for large-scale preparation.*

Artif Organs. 2011 Apr;35(4):E91-100.

<http://dx.doi.org/10.1111/j.1525-1594.2010.01177.x>

Kammer NN, Billecke N, Morgul MH, Adonopoulou MK, Mogl M, Huang MD, Florek S, Schmitt KR, Raschzok N, Sauer IM.

*Labeling of primary human hepatocytes with micron-sized iron oxide particles in suspension culture suitable for large-scale preparation.*

Artif Organs. 2011 Apr;35(4):E91-100.

<http://dx.doi.org/10.1111/j.1525-1594.2010.01177.x>

Kammer NN, Billecke N, Morgul MH, Adonopoulou MK, Mogl M, Huang MD, Florek S, Schmitt KR, Raschzok N, Sauer IM.

*Labeling of primary human hepatocytes with micron-sized iron oxide particles in suspension culture suitable for large-scale preparation.*

Artif Organs. 2011 Apr;35(4):E91-100.

<http://dx.doi.org/10.1111/j.1525-1594.2010.01177.x>



Kammer NN, Billecke N, Morgul MH, Adonopoulou MK, Mogl M, Huang MD, Florek S, Schmitt KR, Raschzok N, Sauer IM.

*Labeling of primary human hepatocytes with micron-sized iron oxide particles in suspension culture suitable for large-scale preparation.*

Artif Organs. 2011 Apr;35(4):E91-100.

<http://dx.doi.org/10.1111/j.1525-1594.2010.01177.x>

Kammer NN, Billecke N, Morgul MH, Adonopoulou MK, Mogl M, Huang MD, Florek S, Schmitt KR, Raschzok N, Sauer IM.

*Labeling of primary human hepatocytes with micron-sized iron oxide particles in suspension culture suitable for large-scale preparation.*

Artif Organs. 2011 Apr;35(4):E91-100.

<http://dx.doi.org/10.1111/j.1525-1594.2010.01177.x>

Raschzok N, Billecke N, Kammer NN, Morgul MH, Adonopoulou MK, Sauer IM, Florek S, Becker-Ross H, Huang MD.

*Quantification of cell labeling with micron-sized iron oxide particles using continuum source atomic absorption spectrometry.*

Tissue Eng Part C Methods. 2009 Dec;15(4):681-6.

<http://dx.doi.org/10.1089/ten.tec.2008.0675>

Raschzok N, Billecke N, Kammer NN, Morgul MH, Adonopoulou MK, Sauer IM, Florek S, Becker-Ross H, Huang MD.

*Quantification of cell labeling with micron-sized iron oxide particles using continuum source atomic absorption spectrometry.*

Tissue Eng Part C Methods. 2009 Dec;15(4):681-6.

<http://dx.doi.org/10.1089/ten.tec.2008.0675>

Raschzok N, Billecke N, Kammer NN, Morgul MH, Adonopoulou MK, Sauer IM, Florek S, Becker-Ross H, Huang MD.

*Quantification of cell labeling with micron-sized iron oxide particles using continuum source atomic absorption spectrometry.*

Tissue Eng Part C Methods. 2009 Dec;15(4):681-6.

<http://dx.doi.org/10.1089/ten.tec.2008.0675>

Raschzok N, Billecke N, Kammer NN, Morgul MH, Adonopoulou MK, Sauer IM, Florek S, Becker-Ross H, Huang MD.

*Quantification of cell labeling with micron-sized iron oxide particles using continuum source atomic absorption spectrometry.*

Tissue Eng Part C Methods. 2009 Dec;15(4):681-6.

<http://dx.doi.org/10.1089/ten.tec.2008.0675>

Raschzok N, Billecke N, Kammer NN, Morgul MH, Adonopoulou MK, Sauer IM, Florek S, Becker-Ross H, Huang MD.

*Quantification of cell labeling with micron-sized iron oxide particles using continuum source atomic absorption spectrometry.*

Tissue Eng Part C Methods. 2009 Dec;15(4):681-6.

<http://dx.doi.org/10.1089/ten.tec.2008.0675>

Raschzok N, Billecke N, Kammer NN, Morgul MH, Adonopoulou MK, Sauer IM, Florek S, Becker-Ross H, Huang MD.

*Quantification of cell labeling with micron-sized iron oxide particles using continuum source atomic absorption spectrometry.*

Tissue Eng Part C Methods. 2009 Dec;15(4):681-6.

<http://dx.doi.org/10.1089/ten.tec.2008.0675>



Raschzok N, Morgul MH, Pinkernelle J, Vondran FWR, Billecke N, Kammer NN, Pless G, Adonopoulou MK, Leist C, Stelter L, Teichgraber U, Schwartlander R, Sauer IM.

*Imaging of primary human hepatocytes performed with micron-sized iron oxide particles and clinical magnetic resonance tomography.*

J Cell Mol Med. 2008 Aug;12(4):1384-94. Epub 2008 Apr 9.

<http://dx.doi.org/10.1111/j.1582-4934.2008.00343.x>

Raschzok N, Morgul MH, Pinkernelle J, Vondran FWR, Billecke N, Kammer NN, Pless G, Adonopoulou MK, Leist C, Stelter L, Teichgraber U, Schwartlander R, Sauer IM.

*Imaging of primary human hepatocytes performed with micron-sized iron oxide particles and clinical magnetic resonance tomography.*

J Cell Mol Med. 2008 Aug;12(4):1384-94. Epub 2008 Apr 9.

<http://dx.doi.org/10.1111/j.1582-4934.2008.00343.x>

Raschzok N, Morgul MH, Pinkernelle J, Vondran FWR, Billecke N, Kammer NN, Pless G, Adonopoulou MK, Leist C, Stelter L, Teichgraber U, Schwartlander R, Sauer IM.

*Imaging of primary human hepatocytes performed with micron-sized iron oxide particles and clinical magnetic resonance tomography.*

J Cell Mol Med. 2008 Aug;12(4):1384-94. Epub 2008 Apr 9.

<http://dx.doi.org/10.1111/j.1582-4934.2008.00343.x>

Raschzok N, Morgul MH, Pinkernelle J, Vondran FWR, Billecke N, Kammer NN, Pless G, Adonopoulou MK, Leist C, Stelter L, Teichgraber U, Schwartlander R, Sauer IM.

*Imaging of primary human hepatocytes performed with micron-sized iron oxide particles and clinical magnetic resonance tomography.*

J Cell Mol Med. 2008 Aug;12(4):1384-94. Epub 2008 Apr 9.

<http://dx.doi.org/10.1111/j.1582-4934.2008.00343.x>

Raschzok N, Morgul MH, Pinkernelle J, Vondran FWR, Billecke N, Kammer NN, Pless G, Adonopoulou MK, Leist C, Stelter L, Teichgraber U, Schwartlander R, Sauer IM.

*Imaging of primary human hepatocytes performed with micron-sized iron oxide particles and clinical magnetic resonance tomography.*

J Cell Mol Med. 2008 Aug;12(4):1384-94. Epub 2008 Apr 9.

<http://dx.doi.org/10.1111/j.1582-4934.2008.00343.x>

Raschzok N, Morgul MH, Pinkernelle J, Vondran FWR, Billecke N, Kammer NN, Pless G, Adonopoulou MK, Leist C, Stelter L, Teichgraber U, Schwartlander R, Sauer IM.

*Imaging of primary human hepatocytes performed with micron-sized iron oxide particles and clinical magnetic resonance tomography.*

J Cell Mol Med. 2008 Aug;12(4):1384-94. Epub 2008 Apr 9.

<http://dx.doi.org/10.1111/j.1582-4934.2008.00343.x>

Raschzok N, Morgul MH, Pinkernelle J, Vondran FWR, Billecke N, Kammer NN, Pless G, Adonopoulou MK, Leist C, Stelter L, Teichgraber U, Schwartlander R, Sauer IM.

*Imaging of primary human hepatocytes performed with micron-sized iron oxide particles and clinical magnetic resonance tomography.*

J Cell Mol Med. 2008 Aug;12(4):1384-94. Epub 2008 Apr 9.

<http://dx.doi.org/10.1111/j.1582-4934.2008.00343.x>

Raschzok N, Morgul MH, Pinkernelle J, Vondran FWR, Billecke N, Kammer NN, Pless G, Adonopoulou MK, Leist C, Stelter L, Teichgraber U, Schwartlander R, Sauer IM.

*Imaging of primary human hepatocytes performed with micron-sized iron oxide particles and clinical magnetic resonance tomography.*

J Cell Mol Med. 2008 Aug;12(4):1384-94. Epub 2008 Apr 9.

<http://dx.doi.org/10.1111/j.1582-4934.2008.00343.x>



Raschzok N, Morgul MH, Pinkernelle J, Vondran FWR, Billecke N, Kammer NN, Pless G, Adonopoulou MK, Leist C, Stelter L, Teichgraber U, Schwartlander R, Sauer IM.

*Imaging of primary human hepatocytes performed with micron-sized iron oxide particles and clinical magnetic resonance tomography.*

J Cell Mol Med. 2008 Aug;12(4):1384-94. Epub 2008 Apr 9.

<http://dx.doi.org/10.1111/j.1582-4934.2008.00343.x>

Raschzok N, Morgul MH, Pinkernelle J, Vondran FWR, Billecke N, Kammer NN, Pless G, Adonopoulou MK, Leist C, Stelter L, Teichgraber U, Schwartlander R, Sauer IM.

*Imaging of primary human hepatocytes performed with micron-sized iron oxide particles and clinical magnetic resonance tomography.*

J Cell Mol Med. 2008 Aug;12(4):1384-94. Epub 2008 Apr 9.

<http://dx.doi.org/10.1111/j.1582-4934.2008.00343.x>

Raschzok N, Morgul MH, Pinkernelle J, Vondran FWR, Billecke N, Kammer NN, Pless G, Adonopoulou MK, Leist C, Stelter L, Teichgraber U, Schwartlander R, Sauer IM.

*Imaging of primary human hepatocytes performed with micron-sized iron oxide particles and clinical magnetic resonance tomography.*

J Cell Mol Med. 2008 Aug;12(4):1384-94. Epub 2008 Apr 9.

<http://dx.doi.org/10.1111/j.1582-4934.2008.00343.x>

#### **IV. Lebenslauf**

Der Lebenslauf ist in der Online-Version aus Gründen des Datenschutzes nicht enthalten.

Der Lebenslauf ist in der Online-Version aus Gründen des Datenschutzes nicht enthalten.

## V. Publikationsliste

### PUBLIKATIONEN

**Labeling of primary human hepatocytes with micron-sized iron oxide particles in suspension culture suitable for large-scale preparation.**

Kammer NN, Billecke N, Morgul MH, Adonopoulou MK, Mogl M, Huang MD, Florek S, Schmitt KR, Raschzok N, Sauer IM. *Artif Organs*. 35(4):E91-100. doi: 10.1111/j.1525-1594.2010.01177.x. 2011.

**Monitoring of liver cell transplantation in a preclinical swine model using magnetic resonance imaging.**

Raschzok N, Teichgräber U, Billecke N, Zielinski A, Steinz K, Kammer NN, Morgul MH, Schmeisser S, Adonopoulou MK, Morawietz L, Hiebl B, Schwartlander R, Rüdinger W, Hamm B, Neuhaus P, Sauer IM. *Cell Med*. 1:123-135; 2010.

**In Vitro Evaluation of Magnetic Resonance Imaging Contrast Agents for Labeling Human Liver Cells: Implications for Clinical Translation.**

Raschzok N, Muecke DA, Adonopoulou MK, Billecke N, Werner W, Kammer NN, Zielinski A, Behringer PA, Ringel F, Huang MD, Neuhaus P, Teichgräber U, Sauer IM. *Mol Imaging Biol*. 2010 (*im Druck befindlich*).

**Quantification of cell labeling with micron-sized iron oxide particles using continuum source atomic absorption spectrometry.**

Raschzok N, Billecke N, Kammer NN, Morgul MH, Adonopoulou MK, Sauer IM, Florek S, Becker-Ross H, Huang MD. *Tissue Eng Part C Methods*. 15(4):681-6; 2009.

**Imaging of primary human hepatocytes performed with micron-sized iron oxide particles and clinical magnetic resonance tomography.**

Raschzok N, Morgul MH, Pinkernelle J, Vondran FW, Billecke N, Kammer NN, Pless G, Adonopoulou MK, Leist C, Stelter L, Teichgraber U, Schwartlander R, Sauer IM. *J Cell Mol Med*. 12(4):1384-94; 2008.

### KONGRESSBEITRÄGE

**XXIII International Congress of The Transplantation Society (TTS), Vancouver, 2010:**

Raschzok N, Billecke N, Zielinski A, Steinz K, Kammer NN, Schmeisser S, Morgul MH, Adonopoulou MK, Pinkernelle J, Unger JK, Morawietz L, Hiebl B, Ruedinger W, Teichgraeber U, Neuhaus P, Sauer IM.

MRI enables monitoring of transplanted hepatocytes in a preclinical large animal model (Vortrag)

**26. Jahrestagung der Deutschen Arbeitsgemeinschaft zum Studium der Leber (GASL), Bonn, 2010:**

Raschzok N, Billecke N, Zielinski A, Steinz K, Kammer NN, Schmeisser S, Morgul MH, Adonopoulou MK, Pinkernelle J, Unger JK, Morawietz L, Hiebl B, Ruedinger W, Teichgraeber U, Sauer IM.

Monitoring of liver cell transplantation by MRI (Vortrag)

**World Conference on Regenerative Medicine, Leipzig, 2009:**

Raschzok N, Zielinski A, Steinz K, Billecke N, Kammer NN, Schmeisser S, Morgul MH, Adonopoulou MK, Pinkernelle J, Unger JK, Morawietz L, Hiebl B, Ruedinger W, Teichgraeber U, Sauer IM.

Tracking of transplanted liver cells in a preclinical large animal model (Vortrag)

**XXXVIth Annual Meeting of the European Society for Artificial Organs (ESAO), Compiègne, 2009:**

Steinz K, Zielinski A, Raschzok N, Billecke N, Kammer NN, Morgul MH, Adonopoulou MK, Morawietz L, Rüdinger W, Sauer IM.

Evaluation of application sites for liver cell transplantation in a large animal model (Poster)

Zielinski A, Steinz K, Raschzok N, Billecke N, Kammer NN, Morgul MH, Adonopoulou MK, Schmeisser S, Pinkernelle J, Ruedinger W, Teichgraeber U, Sauer IM.

Tracking of transplanted liver cells via clinical 3.0 Tesla MRI (Vortrag)

Adonopoulou MK, Berge S, Billecke N, Raschzok N, Kammer NN, Sauer IM.

Protective effect of curcumin on human hepatocytes exposed to hypothermia (Vortrag)

**Molekulare Bildgebung, Berlin, 2009:**

Raschzok N, Steinz K, Zielinski A, Billecke N, Kammer NN, Schmeisser S, Morgul MH, Adonopoulou MK, Pinkernelle J, Unger JK, Morawietz L, Hiebl B, Ruedinger W, Teichgraeber U, Sauer IM.

Tracking of Transplanted Liver Cells in a Preclinical Large Animal Model (Vortrag)

**25. Jahrestagung der Deutschen Arbeitsgemeinschaft zum Studium der Leber (GASL), Heidelberg, 2009:**

Raschzok N, Huang MD, Billecke N, Kammer NN, Morgul MH, Sauer IM.

Quality control in transplantation of iron-oxide particle labelled liver cells by using continuum source atomic absorption spectrometry (Poster)

Billecke N, Troeller S, Raschzok N, Morgul MH, Kammer NN, Adonopoulou MK, Schwartlander R, Schmitt K, Sauer IM.

The Multicompartment SlideReactor – a novel concept for continuous monitoring of co-cultured cells (Poster)

**XXXV. Conference of the European Society for Artificial Organs (ESAO), Genf, 2008:**

YOUNG INVESTIGATORS LIVER SESSION

Kammer NN (Chair), Salerno S

Kammer NN, Billecke N, Raschzok N, Morgul MH, Adonopoulou MK, Sauer IM.  
Labelling of primary human hepatocytes with micron-sized iron oxide particles in temporary suspension culture (Vortrag)

Morgul MH, Raschzok N, Schwartlander R, Kammer NN, Billecke N, Adonopoulou MK, Steinz K, Pinkernelle J, Teichgraber U, Sauer IM.  
Micron-sized iron oxide (MPIO) labelling of primary human hepatocytes for cell detection by MRI (Poster)

**54th Annual Conference of the American Society of Artificial Internal Organs (ASIO), San Francisco, 2008:**

Morgul MH, Raschzok N, Schwartlander R, Billecke N, Leist C, Kammer NN, Pinkernelle J, Teichgraber U, Sauer IM.  
Iron oxide labeling of primary human hepatocytes for cell detection via clinical MRI (Vortrag)

**21st IMSSC – International Medical Sciences Student Congress, Istanbul, 2008:**

Kammer NN, Billecke N, Raschzok N, Adonopoulou MK, Morgul MH, Sauer IM.  
Labelling of primary human hepatocytes with iron oxide particles in suspension culture for hepatocyte transplantation (Vortrag)

**24. Jahrestagung der Deutschen Arbeitsgemeinschaft zum Studium der Leber (GASL), Frankfurt, 2008:**

Raschzok N, Morgul MH, Schwartlander R, Billecke N, Leist C, Vondran FWR, Kammer NN, Stelter L, Pinkernelle J, Teichgraber U, Sauer IM.  
Preparation of iron oxide labelled primary human hepatocytes suitable for cell transplantation (Poster)

**3rd World Congress on Regenerative Medicine, Leipzig, 2007:**

Raschzok N, Morgul MH, Schwartlander R, Vondran FWR, Kammer NN, Billecke N, Pinkernelle J, Teichgraber U, Sauer IM.  
Transplantation of primary human hepatocytes – Iron oxide labeling for cell detection via MRI (Vortrag)



## **VI. Selbständigkeitserklärung**

„Ich, Nora Navina Kammer, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Markierung primärer humaner Hepatozyten mit mikroskaligen superparamagnetischen Eisenoxidpartikeln in temporärer Suspensionskultur“ selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.“

München, den 01.04.2012

Unterschrift

## **VII. Danksagung**

Mein besonderer Dank gilt meinem guten Freund und Arbeitskollegen Nathanael Raschok, Nils Billecke, Haluk Morgul, meinem Doktorvater, Priv.-Doz. Dr. Igor Sauer, und meiner Freundin Rika Ott für Rat, konstruktive Kritik, ermunternde Worte, kreative Diskussionen und zahlreiche Korrekturlesungen.

Meinen Eltern, meinem Freund Philipp und meinen Freunden danke ich für die Ausdauer, Ruhe und Geduld, mit der sie mir stets zur Seite standen und mich immer wieder aufgemuntert haben.