

**Aus dem Institut für Physiologie  
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin**

**Dissertation**

**Messung der Nierenperfusion mittels DCE-MRI am narkotisierten Schwein**

**zur Erlangung des akademischen Grades**

**Doctor medicinae (Dr. med.)**

**vorgelegt der Medizinischen Fakultät**

**Charité – Universitätsmedizin Berlin**

**von**

**Franz Leopold Elsner**

**aus Berlin**

Gutachter/in:      1. Priv.-Doz. Dr. med. B. Nafz  
                                 2. Prof. Dr. med. A. Kurtz  
                                 3. Priv.-Doz. Dr. med. O. Grisk

Datum der Promotion: 24. Februar 2012

# Inhaltsverzeichnis

|  |           |
|--|-----------|
| Inhaltsverzeichnis .....   | 3         |
| <b>ABKÜRZUNGEN.....</b>  | <b>6</b>  |
| <b>ZUSAMMENFASSUNG.....</b>  | <b>9</b>  |
| <b>1 VORWORT .....</b>   | <b>12</b> |
| <b>2 EINLEITUNG.....</b>   | <b>15</b> |
| 2.1 Perfusion .....  | 15        |
| 2.2 Das menschliche Gefäßsystem.....   | 16        |
| 2.3 Anatomie der Nieren .....  | 18        |
| 2.3.1 Makroanatomie und Gefäßversorgung .....  | 18        |
| 2.3.2 Mikroanatomie.....   | 21        |
| 2.4 Nierenphysiologische Aspekte .....   | 28        |
| 2.5 Nierenperfusion .....  | 29        |
| 2.6 Ursachen eines verminderten RBF .....  | 30        |
| 2.7 Etablierung eines Modells.....   | 32        |
| <b>3 METHODEN UND MATERIAL .....</b>   | <b>35</b> |
| 3.1 Allgemeine Versuchsbeschreibung .....  | 35        |
| 3.1.1 Versuchstiere.....   | 35        |
| 3.1.2 Prämedikation und Narkoseeinleitung.....   | 36        |
| 3.1.3 Narkoseaufrechterhaltung.....  | 37        |
| 3.1.4 Chirurgisches Procedere (Narkose, arterielle Kanülierung, Dopplersondenimplantation,<br>Nierendenerverung) ..... | 38        |
| 3.1.5 Medianlaparatomie .....  | 39        |
| 3.1.6 Probeweise Platzierung der Flußsonde .....   | 40        |
| 3.1.7 Denervierung der Nierenarterie .....   | 40        |
| 3.1.8 Platzierung der Nierenart.-Drossel .....   | 41        |
| 3.1.9 Transport ins MRT.....   | 42        |

|            |   |           |
|------------|---|-----------|
| 3.1.10     | Durchführung der Messungen im MRT .....   | 42        |
| 3.1.11     | Durchführung der Versuche .....   | 43        |
| 3.1.12     | Setup im Messraum und MRT-Technik.....  | 44        |
| 3.1.13     | Versuchsende .....  | 46        |
| 3.1.14     | Rücktransport und Nierenexplantation .....  | 46        |
| <b>3.2</b> | <b>Protokoll .....</b>  | <b>46</b> |
| <b>3.3</b> | <b>Volumetrie .....</b>   | <b>47</b> |
| <b>3.4</b> | <b>Untersuchung der renalen Perfusion im MRT.....</b>   | <b>47</b> |
| <b>3.5</b> | <b>Statistik.....</b>   | <b>50</b> |
| <b>4</b>   | <b>ERGEBNISSE .....</b>   | <b>50</b> |
| <b>4.1</b> | <b>Volumetrie .....</b>   | <b>51</b> |
| <b>4.2</b> | <b>Renaler Blutfluß und renale Perfusion.....</b>   | <b>52</b> |
| <b>4.3</b> | <b>Berechnungen des regionalen renalen Blutflusses und der renalen Perfusion.....</b>         | <b>53</b> |
| <b>5</b>   | <b>DISKUSSION .....</b>   | <b>54</b> |
| <b>5.1</b> | <b>Volumetrie .....</b>   | <b>54</b> |
| <b>5.2</b> | <b>Renaler Blutfluß (RBF).....</b>  | <b>54</b> |
| <b>5.3</b> | <b>RBF und Perfusion .....</b>  | <b>55</b> |
| <b>5.4</b> | <b>Schlußfolgerungen.....</b>   | <b>58</b> |
| <b>6</b>   | <b>ABBILDUNGEN UND TABELLEN .....</b>   | <b>59</b> |
|            | <b>Tabelle 1: Mittelwerte und Standardabweichungen der volumetrischen Messungen.....</b>      | <b>59</b> |
|            | <b>Tabelle 2: Mittelwerte und Standardabweichungen von RBF und MRT-Perfusionswerten .....</b> | <b>60</b> |
|            | <b>Abbildung 1: Arbeits- und Zeitablauf.....</b>  | <b>61</b> |
|            | <b>Abbildung 2: Schematische Darstellung des experimentellen Aufbaus .....</b>                | <b>62</b> |
|            | <b>Abbildung 3: Arterielle Inputfunktion.....</b>   | <b>63</b> |
|            | <b>Abbildung 4: SPGR- und SSFP-Bildgebung .....</b>   | <b>64</b> |

|  |           |
|--|-----------|
| <b>Abbildung 5: DCE-MRT-Perfusionsbildgebungen .....</b>                 | <b>65</b> |
| <b>Abbildung 6: Lineare Regressionsanalyse .....</b>                     | <b>66</b> |
| <b>Abbildung 7: Flußreduktionsstadien .....</b>                          | <b>67</b> |
| <b>Abbildung 8: Regionale Nierenrinden- und Nierenmarkperfusion.....</b> | <b>68</b> |
| <b>7 LITERATURVERZEICHNIS.....</b>                                       | <b>69</b> |
| <b>ANHANG I: LEBENS LAUF .....</b>                                       | <b>72</b> |
| <b>ANHANG II: PUBLIKATIONS LISTE .....</b>                               | <b>73</b> |
| <b>ANHANG III: DANKSAGUNGEN.....</b>                                     | <b>74</b> |
| <b>ANHANG IV: ERKLÄRUNG.....</b>   | <b>75</b> |

## Abkürzungen

|                  |   |
|------------------|---|
| ACE              | Angiotensin-Converting-Enzyme   |
| ADH              | Antidiuretisches Hormon   |
| AIF              | Arterielle-Input-Funktion   |
| ANP              | Artrial natriuretisches Peptid  |
| ASL              | Arteriellles Spin Labeling  |
| BHS              | Bluthirnschranke  |
| BNP              | Brain natriuretic Peptid  |
| BP               | Blutdruck   |
| cm               | Zentimeter  |
| CNP              | Natriuretisches Peptid vom C-Typ                                      |
| CO <sub>2</sub>  | Kohlendioxid  |
| DCE              | Dynamic contrast enhanced   |
| EBT              | Electron Beam Tomography  |
| FF               | Filtrationsfraktion   |
| FiO <sub>2</sub> | Fraction of inspired oxygen = inspiratorische Sauerstoffkonzentration |
| FOV              | Field of View (Sichtfeld)   |
| GRE              | Gradient-Echosequenz  |
| HF               | Herzfrequenz  |
| HK               | Herz-Kreislauf  |
| H <sub>2</sub> O | Wasser  |
| Hz               | Hertz   |
| KM               | Kontrastmittel  |
| Kg               | Kilogramm   |
| KG               | Körpergewicht   |

|                  |   |
|------------------|---|
| LWK              | Lendenwirbelkörper  |
| Mo               | Magnetisierungskarten   |
| MRI              | Magnetic resonance imaging  |
| MRT              | Magnetresonanztomographie   |
| mT               | Militesla   |
| NMI              | Normolized mutual information = Bildähnlichkeitsmessungen               |
| O                | Sauerstoff  |
| PAH              | Paraaminohippursäure  |
| PEEP             | Positive end-expiratory-pressure = Positiv endexpiratorischer Druck     |
| PET              | Positiv-Elektronen-Tomographie  |
| RBF              | Renaler Blutfluss   |
| RPF              | Renaler Plasmafluss   |
| RR               | Blutdruck nach Riva-Rocci   |
| ROI              | Region of interest  |
| SAO <sub>2</sub> | Arterielle Sauerstoffsättigung  |
| SAR              | Spezifische Absorptionsrate   |
| SNR              | Signal-Rausch-Verhältnis (R = Ratio)                                    |
| SPGR             | Spoiled Gradient Recalled Acquisition in the Steady State ( MR-Sequenz) |
| SSFP             | Steady State Free Precession (MR-Sequenz)                               |
| Th               | Thorakal  |
| T                | Tesla   |
| T <sub>1</sub>   | Längsrelaxationszeit T <sub>1</sub>                                     |
| T <sub>2</sub>   | Querrelaxationszeit T <sub>2</sub>                                      |
| TE               | Echozeit  |
| TR               | Repetitionzeit  |

VOI      Volume of Interest

ZD      Zweidimensional



## Zusammenfassung

Die Magnetresonanztomographie (MRT) der Niere wird derzeit überwiegend zur Darstellung der Nierenmorphologie verwendet. Die im MRT darstellbaren Veränderungen der Morphologie können Folge einer prärenalen (Art. renalis Verschluss, Blutdruckabfall, Hämolyse), einer intrarenalen (akute Tubulusnekrose, makro- und mikrovaskuläre Erkrankungen, Nephritiden) oder postrenalen (erworbene Harnabflussbehinderungen im Bereich von Nierenbecken, Ureter, Blase oder Urethra, wie z. B. Tumoren oder Prostataadenom) Störung sein. Häufigste Ursachen einer funktionellen Änderung sind z. B. Minderperfusion und/oder O<sub>2</sub>-Mangel. Obwohl für Therapie und Prognose von großem Interesse, führen diese funktionellen Veränderungen meist erst sehr spät zu einem mit MRT oder CT erfassbaren morphologischen Korrelat. Neben der Darstellung der Morphologie könnte daher die zusätzliche Bestimmung der Perfusion es ermöglichen bisher fehlende funktionelle Informationen bereitzustellen, die unter anderem auch die Diagnostik und Klassifizierung von Nierenarterienstenosen unterschiedlicher Schweregrade deutlich verbessern könnte. Eine Methode zur Quantifizierung der gesamten Nierendurchblutung sowie der kortikalen als auch der medullären Perfusion mit dem Ziel lokalen Fluss und örtliche Auflösung darzustellen, ist jedoch bisher nicht etabliert. Die verlängerte Verweildauer neuerer intravaskulärer, MRT-tauglicher Kontrastmittel und die Verbesserung dynamisch kontrastmittelunterstützter MRT-Methoden (DCE-MRI) könnte die Auflösung, Zuverlässigkeit und Quantifizierbarkeit der Nierenperfusionsmessung jedoch in einen praktisch anwendbaren Bereich verschieben. Daher war es das Ziel der vorliegenden tierexperimentellen Untersuchungen, die vorhandenen Methoden zu verbessern und zu untersuchen inwieweit sie in dieser Form sowohl für die Quantifizierung des gesamten Nierenflusses als auch für die Quantifizierung der kortikalen und medullären Perfusion mittels DCE-MRI unter Verwendung eines zugelassenen intravaskulären Kontrastmittels (KM), Gadofosveset Trisodium (Vasovist®), einsetzbar sind.

Insgesamt 18 weibliche Schweine ( $55 \pm 10$ kg Körpergewicht) wurden untersucht. Zunächst wurde in 7 Versuchen eine Anpassung und Optimierung der MRT-Technik an die besonderen Anforderungen der Aufgabenstellung vorgenommen. Dazu wurden insbesondere verschiedene MRT-Sequenzen, die Akquisitionsparameter für die Perfusionsmessung und die morphologische Darstellung der Niere optimiert. Zusätzlich wurde die Kontrastmitteldosierung für die Studie optimiert und die Reproduzierbarkeit der neu entwickelten MR-Perfusionsmessmethode untersucht. Weiterhin wurde eine Referenzmethode entwickelt, die es ermöglichte in den Räumen des MRT genaue, kontinuierliche Messungen der Nierendurchblutung durchzuführen, die Nierendurchblutung in weiten Bereichen auf vorgegebene Werte hin einzuregulieren und dort während der MRT-Messung zu fi-

xieren: Hierzu wurde eine modifizierte Ultraschall-dopplersonde (Typ 4RB, MRT kompatibel, Transonic Systems Inc., USA) an der Nierenvene angebracht. Eine speziell für diesen Zweck entwickelte, von extrakorporal bedienbare Manschette (Drossel) wurde aortennah um die Arteria renalis gelegt und erlaubte es während der Untersuchungen die Nierendurchblutung in der oben genannten Weise präzise zu kontrollieren. Die MRT-Untersuchung erfolgte an einem TwinSpeed-System (GE, USA) unter Verwendung einer 8-Kanalherzoberflächenspule für den Signalempfang. Alle Untersuchungen wurden in Atemanhaltetechnik in koronaler Schichtführung mit einem Gesichtsfeld von 460 mm durchgeführt. Vor der Perfusionsmessung wurden ohne Kontrastmittelverstärkung eine  $T_1$ -gewichtete gespoilte Gradientenechosequenz mit Fettsättigung und eine gemischt  $T_1/T_2$ -gewichtete SSFP (steady state free procession) Sequenz durchgeführt zur Ermittlung der anatomischen Strukturen (3.1.12) und zur Berechnung des totalen renalen Volumens.

Jeder dynamischen Messung gingen fünf Bildakquisitionen mit einer 3D  $T_1$ -gewichteten Gradientenechosequenz mit einer TE (Echozeit) von 0,88 ms, TR (Repetitionzeit) von 2,65 ms, Schichtdicke 8,8 mm, 4 Schichten, Matrix 128×128, Phasen-FOV 0,62, Rekonstruktionsmatrix 256×256, 4 Mittelungen und unterschiedlichen Anregungswinkeln ( $\alpha=2^\circ, 5^\circ, 10^\circ, 20^\circ, 30^\circ$ ) voraus. Unmittelbar nach Akquisition dieser Bilder wurde in der gleichen Schichtposition eine 3D  $T_1$ -gewichtete Gradientenechosequenz mit denselben Sequenzparametern mit Ausnahme des Anregungswinkels  $\alpha=30^\circ$  - halber Fourierabtastrung ohne Mittelung aufgenommen. Die Kontrastmittelanflutung wurde über einen Zeitraum von 105,6 s an 65 Zeitpunkten mit einer zeitlichen Auflösung von 1,65 s gemessen. 3 ml des albuminbindenden intravaskulären Kontrastmittels (0,25 mmol/ml Gadofosveset Trisodium, Bayer Schering Pharma AG, Deutschland) wurden mit einer Geschwindigkeit von 3 ml/s gefolgt von 20 ml isotonischer Kochsalzlösung injiziert. Die Infusion wurde während der Akquisition des fünften 3D-Bilddatensatzes gestartet.

Zunächst wurden HF, RBF, BP kalibriert (RBF=interne Kalibrierung, sowie RBF=0 durch Drossel, BP=kalibriertes Manometer: Referenz=Quecksilbermanometer BP=0mmHg/100mmHg und 200mmHg), dann wurden diese Größen gemessen (Schwein im MRT, beatmet) bis stabile Herz-Kreislauf-Verhältnisse vorhanden waren (erkennbar an HF und BP). Schliesslich wurde die MR-Bildgebung gestartet. Dazu wurde die RBF-Messung abgeschaltet (während die restliche Registrierung der HK-Parameter bis ans Versuchsende durchlief) und direkt nach Abschluss der Sequenz wieder eingeschaltet, da das MR-Signal die RBF-Messung störte.

Vor Beginn der MR-Bildgebung wurde der Gesamtnierenfluss mit der Ultraschall-dopplersonde im MRT-Raum gemessen. Die Perfusionsmessung wurde bei jedem Schwein über den gesamten Versuchszeitraum kontinuierlich durchgeführt und jeweils nur kurz für die MRT-Bildgebung unterbro-

chen. Es wurde angestrebt den Nierenblutfluss mit der implantierten Nierenarteriendrossel bei der ersten Messung auf 60 %, bei der zweiten Messung auf 40 % und bei der dritten Messung auf 20 % des Ruheflusses zu reduzieren. Abschliessend wurde eine vierte Messung mit vollständig geöffneter Nierenarteriendrossel durchgeführt.

Der Satz von fünf 3D  $T_1$ -gewichteten Gradientenechobildern mit den unterschiedlichen Anregungswinkeln ( $\alpha=2^\circ, 5^\circ, 10^\circ, 20^\circ, 30^\circ$ ) akquiriert vor jeder dynamischen Messung wurde dazu verwendet die longitudinale basale Relaxationsrate ( $R_{10}$ ) und die Magnetisierung ( $M_0$ ) voxelweise zu berechnen (Li 2000). Anschließend wurden die Parameterkarten  $R_{10}$  und  $M_0$  dazu verwendet, um die dynamischen bewegungskorrigierten Messungen in 4D Karten der Relaxationsratenänderung ( $R_1(t)$ ) umzurechnen (Li 2000). Die arterielle Eingangsfunktion (AIF) wurde gemittelt nur aus denjenigen Voxeln der  $R_1(t)$ -Karte welche vollständig innerhalb der Aorta lagen, um Partialvolumeneffekte zu vermeiden. Anschließend wurde mit Hilfe der AIF und der  $R_1(t)$ -Karte mit Hilfe der Singulärwertzerlegung die Perfusion voxelweise berechnet (Ostergaard, Weisskoff et al. 1996).

Die Sequenzen (gemischt  $T_1/T_2$ -gewichtete SSFP (steady state free procession) Sequenzen) zur Bestimmung der Anatomie wurden dazu verwendet, die ipsilaterale Niere, d.h. die Niere, bei der der Fluss während der Versuche verändert worden war, in Mark-, Rinden- und nicht näher klassifizierte „restliche“ Anteile (Pyramiden) zu zerlegen. Der volumenmäßige Anteil jedes dieser Teilbereiche zum Gesamtvolumen der Niere wurde daraus berechnet. Die Sequenzen zur Ermittlung der Perfusion wurden dazu genutzt die mittlere Rinden- und Markperfusion zu berechnen, wobei eine möglichst große partialvolumenfreie Abdeckung in den Perfusionbildern angestrebt worden war. Die Gesamtdurchblutung der Niere wurde aus diesen Daten (näherungsweise) ermittelt indem die mittleren Perfusionen der Teilbereiche mit ihren Gesamtvolumina (berechnet aus den morphologischen Bildern) verrechnet wurden. Dabei wurde angenommen, dass nur Rinde und Mark signifikant zum Gesamtnierenblutfluss beitragen.

Zwei Schweine wurden viermal unter identischen Perfusionsbedingungen untersucht. Dabei konnte sowohl die AIF als auch eine gemittelte Gewebesignalzeitkurve in Einheiten der Relaxationsrate mit einer Genauigkeit von besser als 5% reproduziert werden. Zusätzlich wurde eine Dosiseskaltionsstudie mit Einzeldosen von bis zu 5 ml Kontrastmitteldosis bis zu einer Gesamtdosis von 18 ml durchgeführt. Dabei wurde festgestellt, dass die dynamische Auflösung des bildgebenden Verfahrens bis zu einer Gesamtdosis von 15 ml KM zu reproduzierbaren Ergebnissen mit linearen Abhängigkeiten führte. Im vorliegenden Protokoll wurde für jede Perfusionsmessung eine Injektion von 3ml KM benutzt. Die Gesamtdosis lag also deutlich unter der vorher bestimmten Maximaldosis von 18 ml, so dass für die Messungen eine gute Reproduzierbarkeit und Linearität angenommen werden

durfte. Bei weiteren elf Schweinen wurden vier unterschiedliche Perfusionszustände nacheinander gemessen. Der kontrolliert reduzierte Gesamtnierenblutfluss gemessen mit der Ultraschallsonde korrelierte dabei gut mit dem Gesamtnierenblutfluss, wie er aus den Messwerten der MRT-Messung bestimmt wurde mit  $P < 0,001$  (siehe Abb. 8 A). Der Korrelationskoeffizient zwischen beiden Messmethoden betrug 0,843. Die lineare Regression ergab eine Steigung von 0,777 und einen y-Achsenabschnitt von 24,1 ml/min. Die Perfusion von Nierenkortex und Nierenmark korrelierten ebenfalls hochgradig mit dem relativen Gesamtnierenfluss,  $P < 0,001$  (siehe Abb. 8 A + B). Erst im Bereich sehr niedriger Perfusionswerte (kleiner als  $50 \text{ ml}/(\text{min cm}^3)$ ) kam es zu Nichtlinearitäten, die im MRT relativ zu hohe Perfusionswerte zur Folge hatten. Der Grund dafür ist höchstwahrscheinlich, dass der dynamische Signal-zu-Rauschabstand bei niedrigen Perfusionswerten zu gering ist und Rauschen bei der Singularwertzerlegung als Perfusion interpretiert wurde. Sehr hohe Perfusionswerte, im Bereich von über  $400 \text{ ml}/(\text{min cm}^3)$  wurden im Gegensatz zu den niedrigen Perfusionswerten (s.o.) geringfügig zu niedrig bestimmt.

Die in der vorliegenden Studie angewendete DCE-MRI-Technik ermöglichte sowohl die Messung der Nierenperfusion als Absolutwert wie auch die separate Bestimmung der Mark- und Rindenperfusion. Die vorliegenden Ergebnisse zeigten, dass die entwickelte Meßmethode eine ausreichende Genauigkeit und Reproduzierbarkeit hat, um sie zur genauen, gering invasiven Bestimmung der intrarenal lokalen Perfusion einsetzen zu können (Ludemann, Nafz et al. 2009).

## **1 Vorwort**

Wesen und Antrieb der Durchblutung des menschlichen Körpers beschäftigten schon die Ärzte der Antike (Ackerknecht 1992). Galen aus Pergamon (ca. 129 – 199 n. Chr.), vermutlich der einflussreichste griechische Arzt nach Hippokrates, stellte erstmals eine – wenngleich sehr einfache – Theorie der Blutbildung und Blutbewegung auf. Nach Galen wird das Blut in der Leber gebildet und gelangt über Arterien und Venen gleichermaßen an die Peripherie, wo es versickern sollte. Er war überzeugt, dass das Blut Nährstoffe aus den Därmen und Sauerstoff aus der Lunge transportiert, die er „spiritus naturales“ und „spiritus vitales“ nannte. Der Erkenntnisgewinn war zu dieser Zeit auf

die Beobachtung sowie das Tierexperiment beschränkt. Galens Theorie hatte fast 1500 Jahre Bestand, obwohl in der Zwischenzeit eine Reihe von Forschern Mutmaßungen über einen „Kreislauf“ des Blutes äußerten (z.B. Ibn an-Nafis 1210-1280; Servetus 1511-1553). Der Beweis der Zirkulation des Blutes gelang jedoch erst dem Engländer William Harvey (1578-1657). Er beantwortete nicht die Frage, was mit dem Blut im Herzen, Leber und Gehirn passiert, sondern beschränkte sich auf rein mechanische Überlegungen und Messungen. Zunächst stellte er morphologische Untersuchungen der Venenklappen an und untersuchte den Blutfluss nach selektivem Abbinden einzelner großer Gefäße. Er zeigte, dass alles Blut auf dem Weg von der rechten in die linke Herzhälfte den Lungenkreislauf passiert, die Lungenkapillaren waren ihm jedoch unbekannt. Sein zweites Argument war rein quantitativer Natur: Die Blutmenge, die das Herz an einem Tag transportiert, ist größer als das gesamte Körpergewicht. Schließlich sammelte er noch eine Reihe weiterer Argumente zum Beweis eines Blutkreislaufs, so zum Beispiel die Verbreitung von Giften im Körper durch das Blut (Ackerknecht 1992; Warmuth 2003).

Der Begriff Perfusion (lat. perfundere „durchströmen“) definiert ganz allgemein das Durchströmen eines Organs mit einer Flüssigkeit. Häufig wird der Begriff jedoch verwendet, um die lokale Versorgung des Gewebes mit Blut zu beschreiben, also den kapillären Blutfluss. Die Kenntnis der lokalen Blutversorgung ist bei einer Reihe von Erkrankungen von Bedeutung: Zum Beispiel bei akutem Nierenversagen im Schock, bei Herz-, Hirn- oder Niereninfarkten sowie Tumoren ist die lokale Perfusion, die eng mit dem Ort und dem Ausmaß des Zellunterganges und Gewebeverlustes korreliert, reduziert. Den meisten Perfusionsmesstechniken, zum Beispiel der Thermodilution, ist dabei gemeinsam, dass das Blut und dessen Verteilung nur indirekt über eine beigemischte Substanz nachgewiesen werden. Aus der Verteilung der Substanz, oft auch Tracer oder Kontrastmittel genannt, kann dann auf die lokale Perfusion geschlossen werden, bei einer Reihe von Verfahren ist diese Aussage auch quantitativ möglich. In den letzten Jahrzehnten wurden bei der Messung der orts aufgelösten Perfusion große Fortschritte gemacht. Die Erfindung der Computertomographie durch Hounsfield in den späten 1960er Jahren ermöglichte die orts aufgelöste Perfusionsmessung in vivo. Als Tracer kommen dabei radioaktive Substanzen ( $H_2^{15}O$ ,  $^{18}F$ , Xe) und Röntgenkontrastmittel zum Einsatz, welche allerdings mit dem Nachteil der Strahlenbelastung durch die Untersuchungstechnik in einem CT/Rö. behaftet sind. In der Forschung sind Techniken wie zum Beispiel die Injektion von gefärbten Mikrokugeln, die in den Kapillaren stecken bleiben, getestet worden (Warmuth 2003). Diese haben Vorteile, wie zum Beispiel das Plasmaskimming (s. weiter unten), aber auch schwerwiegende Nachteile, sie sind organzerstörend und somit für die klinische Praxis nicht anwendbar. Sie werden mehr und mehr durch minimal- oder nichtinvasive Verfahren abgelöst. Neben der Computertomographie mit dem Nachteil der Strahlenbelastung wird für solche Messun-

gen zunehmend die MR-Tomographie eingesetzt. Ein Beispiel hierfür ist die nichtinvasive Perfusionssmessung mittels MRT nach dem Prinzip des Spin-Labelings. Detre beschrieb 1992 erstmals die direkte magnetische Markierung einfließenden Blutes und deren Nachweis im Gewebe (Detre, Leigh et al. 1992). Das im Blut vorhandene Wasser wird dabei als intrinsischer Tracer verwendet. Das Verfahren hat nach bisheriger Kenntnis neben der Nichtinvasivität den Vorteil, dass die physikochemischen Verbindungen reversibel und ohne Auswirkung auf die Hämodynamik sind. Auswirkungen auf den Stoffwechsel sind derzeit nicht bekannt und werden allgemein als vernachlässigbar angenommen. Es ist jedoch zu bedenken, dass obwohl magnetisch angeregte Moleküle durchaus andere physikochemische Eigenschaften aufweisen als nichtangeregte, Störungen des intrazellulären Stoffwechsels nicht sicher ausgeschlossen werden können. Der häufig nach 3-Tesla-MRT-Untersuchungen beim Menschen auftretende Schwindel und Übelkeit könnte in diesem Sinne als möglicher Hinweis auf eine solche Störung z. B. der molekulären Mechanismen des Kinozilienapparates der Bogengänge und/oder der zentralen Reizverarbeitung gedeutet werden. Die Perfusion lässt sich quantifizieren, wobei Buxton et al. die wohl umfassendste theoretische Beschreibung in ihrem „general kinetic model“ liefern (Buxton RB, Lawrence RF et al. 1998; Warmuth 2003).

Ein Schwerpunkt dieser Arbeit war die Messung der Nierenperfusion in vivo bei einem narkotisierten Schwein im MRT mittels DCE-MRI (Dynamisch-kontrastverstärkte Magnetresonanztomographie). Gemessen wurde die Nierenperfusion am ruhenden, narkotisierten Schwein ohne Einengung der Nierenarterie („Ruhebedingungen“), und nach gezielter schrittweiser Reduktion des Nierenflusses. Dies wurde durch Veränderung des Innendurchmessers einer implantierten Manschette (Nierenarteriendrossel) erreicht. Um zu überprüfen, in welchem Umfang die im MRT gewonnenen Messergebnisse mit den tatsächlichen lokalen Perfusionswerten übereinstimmen, wurde die Perfusion mittels einer Ultraschall-Dopplersonde (s. Beschreibung 3.1.6) bestimmt. Diese Methode ist validiert und gilt als Referenzstandard für derartige Messungen (s. u.). Somit konnte der mittlere RBF/MRT verglichen werden mit dem mittleren RBF, gemessen mit der Dopplersonde. Die Messung von intravasalem Blutfluß mittels Dopplerflußmessung stellt momentan den „Goldstandard“ hierfür dar.

Lokale Flussänderungen gehen häufig morphologischen Schäden voraus, wobei interstitielle Schäden nicht immer oder erst spät als morphologische Schäden erkennbar sind, wie zum Beispiel nach einem Infarkt oder einer Embolie. Eine klinisch anwendbare Flussmessung wäre von grossem Vorteil, es wird beispielsweise angenommen, dass ein Abfall der Nierenmarkdurchblutung Ursache für das Entstehen eines Bluthochdruckes sein kann. Mit der Flussmessung sind Schäden an der Niere diagnostizierbar, die man sonst nicht erkennen könnte – gestörter Salz-H<sub>2</sub>O-Haushalt, Langzeitblutdruckregulation, lokale Ischämie (ohne Nekrose).

Eine passende, einfach am Patienten einsetzbare Methode hierfür existiert bislang nicht, etablierte Perfusionsmessungen des Herzens sind für die Niere nicht anwendbar, da im Nierenmark im Bereich der Vasa recta bereits physiologisch eine deutlich Flussminderung besteht. Zahlreiche, in der tierexperimentellen Forschung etablierte Messmethoden sind, da sie organzerstörend sind, am Patienten nicht anwendbar (s. oben).

Ziele dieser Arbeit waren daher:

1. Entwicklung einer, im Bereich des MRT anwendbaren Methode zur gezielten extrakorporalen Kontrolle der renalen Durchblutung am narkotisierten Schwein
2. Entwicklung einer MRT-basierten Messung der lokalen renalen Perfusion
3. Untersuchung der entwickelten Methoden hinsichtlich ihrer Reproduzierbarkeit. Test, Validierung und Kalibrierung der Methoden

## **2 Einleitung**

### **2.1 Perfusion**

Der Begriff „Perfusion“ bezeichnet den Durchfluss von Flüssigkeiten durch Organe und Gewebe bzw. Blutgefäße. Meistens wird der Begriff als Synonym für die Durchblutung von Organen verwendet (z.B. Nierenperfusion). Die Blutzufuhr erfolgt über Arterien, der Abfluss über Venen und Lymphgefäße. Dies dient der Versorgung von Geweben mit Sauerstoff, Nährstoffen und anderen lebensnotwendigen Blutbestandteilen sowie dem Abtransport von Stoffwechselprodukten und Kohlendioxid. Es wird eine Ruhedurchblutung von einer maximal möglichen Durchblutung (auch Durchblutungsreserve d.i.  $Q_{max}-Q_{Ruhe}$ ) unterschieden. Dabei werden die einzelnen Organe sehr unterschiedlich stark mit Blut versorgt: In Ruhe erhalten die Nieren (im Verhältnis zu ihrem Gewicht) den relativ größten Anteil am Herzminuten- bzw. Herzzeitvolumen (HMV und HZV), bei maximaler lokaler Durchblutung  $Q_{max}$  sind dies die Muskulatur (Skelett- und Herzmuskulatur) und die Haut. In einem komplizierten vielzelligen Organismus kann die Aufnahme und Verteilung von Nährstoffen und Sauerstoff nicht mehr über die äußeren und inneren Oberflächen allein geschehen, sondern erfolgt durch den Blutkreislauf (Waldeyer 1987). Den unterschiedlichen Anforderungen entsprechend haben sich bei den einzelnen Gattungen verschieden differenzierte Systeme entwickelt. Während bei den Wirbellosen noch Teile der Gefäße pulsieren und so das Blut transportieren, besitzen Wirbeltiere mit dem Herzen ein separates Pumporgan. Auch das Herz ist unterschiedlich

ausgebildet. Es gibt Organismen mit seriellem Körper- und Kiemenkreislauf, bei denen das Herz nur eine Kammer besitzt. Lungenatmer haben dagegen getrennte Lungen- und Körperkreisläufe und weisen eine Längsteilung des Herzens auf. Das gesamte System ist nicht starr, sondern passt sich individuell den Erfordernissen des Körpers an. Der Kreislauf sichert die Versorgung aller Organe. Ruhende Organe werden weniger durchblutet als aktive. Die Anpassung des Kreislaufs erfolgt sowohl über das Herz durch die Regulierung von Herzfrequenz und Schlagvolumen als auch über die Gefäße durch eine Veränderung des Lumens (totaler peripherer Widerstand). Zusätzlich kann die Blutmenge im Kreislauf angepasst werden, Leber und Milz dienen dabei als Speicher, wobei diese Speicherfunktion beim Menschen nur wenig ausgeprägt ist. Langfristig kann diese Anpassung auch stattfinden über eine Änderung des Gesamtkörperwassers und der Zellzahl durch z.B. Steigerung der Erythropoese, was sich darstellen würde durch Veränderung des Hämatokrits (Waldeyer 1987; Warmuth 2003; Silbernagel 2005).

## **2.2 Das menschliche Gefäßsystem**

Die vom Herzen zu den Organen führenden Blutgefäße werden als Schlagadern oder Arterien bezeichnet. Der Name Arterien leitet sich vom griechischen „aer“ = Luft ab, und beruht auf der Beobachtung, dass diese Gefäße bei einer Leiche aufgrund der Wandkontraktion stets blutleer sind. Man nahm irrtümlicherweise an, Arterien würden Luft transportieren. Die Aorta als größte Arterie dient mit ihrer elastischen Wand als mechanischer Zwischenspeicher für den vom Herzen erzeugten hohen systolischen Blutdruck (Windkesselfunktion). Sie erzeugt einen quasikontinuierlichen pulsatischen, aber gedämpften Blutstrom durch die Peripherie.

Die großen Arterien teilen sich unter stetiger Zunahme des Gesamtquerschnittes in mittelgroße, kleine und präkapilläre Arterien (Arteriolen) auf, wobei die Dicke aller Wandschichten, besonders aber die der Tunica media abnimmt. Die kleinsten präkapillären Gefäße, die Arteriolen bestehen nur noch aus Endothel, Gitterfaserhäutchen und einer oft auch nicht mehr geschlossenen Lage glatter Muskelzellen.

Der eigentliche Stoffaustausch findet in den kleinsten Blutgefäßen, den Kapillaren statt. Diese äußerst dünnwandigen Röhren bestehen nur noch aus einer Endothelzellschicht, umgeben von einer Basalmembran. Da sich die gesamte Querschnittsfläche der Kapillaren im Vergleich zu den großen Arterien um den Faktor 500 – 800 vergrößert, sinkt die Strömungsgeschwindigkeit auf 0,2 bis 1 mm/s. Zusammen mit der Länge von 0,5 bis 1 mm und einem Durchmesser von 4 – 8 Mikrometern ergibt sich daraus eine Verweildauer des Blutes in den Kapillaren von 0,5 bis 5 Sekunden. Die Arteriolen regulieren über ihre Muskelkontraktion die Durchblutung des nachgeschalteten Kapillarnetzes. Unter Ruhebedingungen sind nur etwa ein Drittel aller Kapillaren durchströmt, die effektive



Austauschoberfläche beim Menschen beträgt dann etwa 300m<sup>2</sup>. Die Kapillardichte ist von Organ zu Organ verschieden, am höchsten ist sie im Gehirn, dem Myokard und den Nieren.

Der Stoffaustausch in den Kapillaren geschieht auf verschiedenen Wegen. Lipidlösliche Stoffe wie zum Beispiel die Atemgase O<sub>2</sub> und CO<sub>2</sub> können durch die gesamte Fläche des Endothels diffundieren. Das Konzentrationsgefälle dieser Substanzen zwischen Blut und Gewebe wird nahezu vollständig ausgeglichen, die Menge der ausgetauschten Stoffe ist nach dem Fickschen Diffusionsgesetz proportional zur lokalen Durchblutung (durchblutungslimitierter Austausch). Wasserlösliche Substanzen wie Glukose, Aminosäuren, Proteine und das Wasser selbst können die Kapillarwand dagegen nur durch Poren oder interzelluläre Spalten passieren (diffusionslimitierter Austausch). Die Transportgeschwindigkeit hängt dabei wesentlich vom Verhältnis der Molekülgröße zum Porenradius ab. Während bei kleinen Molekülen wie Glukose die Diffusion nahezu ungestört verläuft, können größere Moleküle die Kapillarwand zunehmend schlechter passieren. Kapillaren vom kontinuierlichen Typ, wie sie im Herz- und Skelettmuskel, der Lunge und im Gehirn zu finden sind, besitzen kein Porensystem. Der Haupttransportweg wasserlöslicher Stoffe ist in diesen Gefäßen die Passage der interzellulären Spalten zwischen den Endothelzellen. In diesen Spalten befinden sich sogenannte „tight junctions“. Diese Haftstränge zwischen benachbarten Zellen sind im Gehirn lückenlos und bilden zusammen mit den Gliazellen die Blut-Hirn-Schranke (BHS), die den Übertritt hochmolekularer Substanzen, aber auch von Bakterien und Viren vom Blut in die Nervenzellen verhindert. Die BHS kann bei einer Reihe von Erkrankungen wie z.B. Entzündungen, bei Tumoren oder Durchblutungsstörungen des Gehirns aber auch bei Vergiftungen oder Hypoxie eingeschränkt sein.

Das Kapillarbett bildet das Ende des arteriellen Gefäßbaumes. Die Kapillaren münden in Venolen, die das Blut in immer größeren Venen sammeln, bis es schließlich über die Vena cava bzw. Venae pulmonales wieder das Herz erreicht. Der Blutfluss durch das Kapillarbett, der für die Versorgung der Zellen mit Nährstoffen sowie den Abtransport von Stoffwechselprodukten verantwortlich ist, wird „mikrovaskuläre Perfusion“ – oder oft auch nur „Perfusion“ genannt.

Weiterhin sind allgemein die Blutviskosität und für den Bereich der Vasa recta der Niere das sogenannte Plasmaskimming wichtige, die Perfusion bestimmende Eigenschaften. Plasmaskimming bezeichnet einen Abrahmeffekt im Bereich des Nierenmarkes: Hämoglobinkonzentration und Erythrocytenzahl im vasa recta Blut sind 53% niedriger als im Systemblut. Der Hämatokrit, der bei isotonem vasa recta Blut im gleichen Maße erniedrigt ist, sinkt bei hypertonem vasa recta Blut weiter ab, und zwar relativ um so stärker, je höher der osmotische Druck im vasa recta Plasma ist. Die Diskrepanz ist durch Schrumpfung der Erythrocyten beim Passieren des hypertonen Nierenmarks

bedingt. Die niedrige Erythrocytenzahl spricht für einen Abrahmeffekt im Nierenmark (plasma skimming)(Karl J. Ullrich 1961).

Für die Strömung des Blutes durch das Gefäßsystem gelten die allgemeinen Strömungsgesetze der Physik (Ohm-Gesetz, Hagen-Poiseuille-Gesetz, Newton-Gesetz), es sind diesbezüglich jedoch zahlreiche Näherungen und Vereinfachungen nötig, da Herz- und Blutgefäße ein komplexes Druck/Durchströmungsmuster erzeugen und Blut keine ideale Flüssigkeit ist, sondern eine variable, lumenabhängige Viskosität besitzt. Das vom Herzen ausgeworfene Blut fließt infolge der arteriovenösen Druckdifferenz durch den peripheren Widerstand ab und wird entsprechend den regionalen Strömungswiderständen auf die Organe verteilt. Der arterielle Druck (im Mittel etwa 100 mm Hg = 13,3 kPa) zeigt charakteristische Pulsationen, wobei der systolische Druck vor allem durch das Herzminutenvolumen, der diastolische vor allem durch den peripheren Widerstand bestimmt wird. Der zentralvenöse Druck (etwa 3mm Hg = 0,4 kPa) hängt vor allem vom Füllungsvolumen des Niederdrucksystems ab (Waldeyer 1987; Benninghoff 1993; Warmuth 2003; Silbernagel 2005).

## **2.3 Anatomie der Nieren**

### **2.3.1 Makroanatomie und Gefäßversorgung**

Die paarig angeordneten, bohnenförmigen Nieren liegen unterhalb des Zwerchfells beidseits der Wirbelsäule zwischen dem Peritoneum (Bauchfell) und der hinteren Bauchwand. Eine Niere ist im Durchschnitt 11 cm lang, 6 cm breit, 2,5 cm dick und wiegt ca. 150 g. Gliederung in Vorderseite, Hinterseite, oberen und unteren Nierenpol. Die laterale Fläche ist konvex. Die mediale Fläche ist konkav tief eingezogen (Sinus renalis) und bildet den Hilus der Niere (Nierenhilus), dort treten Ureter, Nierenarterie und Nierenvene an das Organ heran. Die Nieren sind von einer derben Organkapsel (Capsula fibrosa) umgeben, welche nach medial dem Parenchym folgt und nicht den Hilus umgibt. Die Nieren inklusive Organkapsel lagern in einer Fettschicht (Capsula adiposa), was sie vor Verletzungen schützt und elastisch aufhängt. Diese Fettkapsel wird von einer bindegewebigen Hülle umgeben, der Gerotafaszie (Fascia renalis). Die Gerotafaszie umhüllt die Nieren samt Fettkapsel und die Nebennieren, nach kranial und lateral geht das vordere Blatt in das hintere über und bildet einen Abschluss (Nierenloge). Nach medial und kaudal gibt es keine Verbindung zwischen vorderem und hinterem Blatt der Gerotafaszie, der Faszienraum ist offen. Das vordere Blatt der Gerotafaszie liegt unmittelbar unter dem Peritoneum parietale. Topographisch betrachtet liegen die Nieren retroperitoneal rechts und links neben der Wirbelsäule unterhalb des Zwerchfells. Normallage: Linke Niere auf der Höhe der 11. Rippe bis 3. Lendenwirbelkörper. Wegen des Platzbedarfs des rechten Leberlappens der im Körper rechts gelegenen Leber (mit der Impressio renalis) ist die rechte Niere tiefer gelegen als die linke (12. Rippe bis Unterkante 3. LWK). Dorsal von ihr

liegen die 12. Rippe, N. subcostalis, N. iliohypogastricus, N. ilioinguinalis, M. quadratus lumborum, Zwerchfellansatz mit Pleura am Oberpol. Kranial liegt die Nebenniere. Medial liegt der M. psoas major, V. cava, V. ovarica/testicularis, Ureter. Ventral liegt am Oberpol die Leber und Nebenniere, im Hilusbereich das Duodenum, an der Vorderfläche das Colon ascendens. Dorsal der linken Niere liegen die 11. und 12. Rippe, N. subcostalis, N. iliohypogastricus, N. ilioinguinalis, M. quadratus lumborum, Zwerchfellansatz mit Pleura am Oberpol. Kranial liegt die Nebenniere und Milz. Medial liegt der M. psoas major, Aorta, V. ovarica/testicularis, Ureter. Ventral liegt am Oberpol die Milz und Nebenniere, im Hilusbereich das Pankreas, an der Vorderfläche kranial der Magen und etwas kaudal davon das Colon descendens. Dieses Wissen um die Lagebeziehungen der Nieren macht man sich zum Beispiel im MRT zu Nutze um die Nieren abzugrenzen. Atemsynchrone Bewegungsartefakte können im MRT durch die Nähe zum Zwerchfell entstehen. Um diese zu reduzieren würde man am narkotisierten Versuchstier einen Atemstillstand induzieren.

Im Längsschnitt sind die einzelnen funktionellen Einheiten der Nieren erkennbar. Die Nieren bestehen beiderseits aus ungefähr 14 Lobuli renalis. Jeder Lobus renalis drainiert mit seinen Sammelrohren in einen Calix (Kelch), die Sammelrohre bilden die Papille aus. Jede Niere hat 7-9 Kelche. Neben den Papillen befinden sich die Columnae renalis (Bertini'sche Säulen), sie bestehen aus Rindenanteilen von zwei benachbarten Lobuli renalis, welche sich in den Nierensinus ausgedehnt haben. Im Prinzip sind die menschlichen Nieren eine Verschmelzung von ungefähr 14 Einzelnieren, bei anderen Spezies ist die morphologische Trennung der Einzelnieren noch deutlicher erkennbar (Renkulierung). Als morphologische Variante ist diese Renkulierung als Ren lobatus bei manchen Menschen ebenfalls erkennbar. Der Urin gelangt von dem Kelch über den Kelchhals in das Nierenbecken, von dort in den Harnleiter.

Die Niere ist gut durchblutet. Der renale Blutfluss durch beide Nieren beträgt ca. 1 Liter pro Minute, das sind ca. 20% des Herzminutenvolumens. Bei einem Hämatokrit von 0.4 (40%) fließen demnach ca. 600 ml Blut pro Minute durch die Nieren. Ungefähr 20% davon, das sind 120 ml werden pro Minute filtriert. Die Nierenglomeruli produzieren demnach etwa 180 Liter sogenannten Primärurin pro Tag. Das Volumen des Endurins, der dann ausgeschieden wird, ist etwa 100-mal kleiner, d.h. der grösste Teil des Primärurins wird im Tubulussystem wieder in das Blut überführt. Die Nieren werden über parietale Äste der Aorta versorgt. Die Gefäßversorgung unterliegt häufig Variationen. Die Arterien (Arteriae renalis dextra et sinistra) der Nieren entspringen aus der Aorta. Die rechte Arterie zieht unter der V. cava zur rechten Niere. Beide Nierenarterien liegen unter den zugehörigen Nierenvenen. Die intrarenale Gefäßarchitektonik ist entsprechend der hohen Durchblutungsrate und der dadurch ermöglichten Nierenfunktion hoch differenziert. Die Arteria (A.) renalis

teilt sich im Sinus renalis in einen Ramus (R.) anterior sowie einen R. posterior, die insgesamt fünf Nierensegmente versorgen. Aus dem R. anterior entspringt je eine A. segmenti für das obere, das obere vordere, das untere vordere und das untere Nierensegment. Der R. posterior versorgt dagegen lediglich das hintere Nierensegment. Aus den Segmentarterien gehen die Aa. Interlobares hervor, die zwischen den Lobi renales aufsteigen. An der Grenze zwischen Mark und Rinde gehen die Aa. interlobares in die in der Basis der Markpyramiden verlaufenden Aa. arcuatae über. Aus diesen gehen, radiär verlaufend, die Aa. interlobulares hervor, die als Rr. capsulares enden. Die Aa. interlobulares verlaufen, wie ihr Name bereits andeutet, in der Grenzfläche zwischen benachbarten Lobuli corticales. Die Glomeruli hängen wie Trauben an der A. interlobularis und sind mit dieser durch Arteriolae glomerulares afferentes, den sogenannten Vasa afferentia, verbunden. Am Gefäßpol geht aus den Kapillarschlingen des Glomerulus erneut eine Arteriole, die Arteriola glomerularis efferens hervor. Die in ihrer Gesamtheit als Vasa efferentia bezeichneten efferenten Arteriolen speisen das intertubuläre Kapillarnetz der Nierenrinde. Die Niere zeichnet sich somit durch eine Besonderheit aus: Im arteriellen Schenkel des Kreislaufs sind zwei Kapillargebiete hintereinander geschaltet – es liegen somit arterielle Wundernetze (s. 2.3.2.1) vor. Aus den Aa. arcuatae gehen, den Aa. interlobulares entgegengesetzt, Arteriolae rectae hervor, die das Kapillarnetz des Nierenmarks speisen. Sie werden dabei durch Vasa efferentia juxtamedullärer Glomeruli (s. 2.3.2.1) ergänzt. Der venöse Abfluß aus den intertubulären Kapillarbereichen erfolgt über Venulen und Venen, die entsprechend den arteriellen Gefäßen benannt sind. Lediglich die Kapselvenen werden wegen ihres sternförmigen Zusammenlaufens als Venulae stellatae bezeichnet. Die Venen der Nieren (Venae renalis dextra et sinistra) drainieren in die Vena cava inferior. Die linke Nierenvene ist länger und zieht über die Aorta unterhalb der A. mesenterica superior in die V. cava.

Die Lymphgefäße der linken Niere drainieren in die paraaortalen, die der rechten Niere in die paracavalen und interaortokavalen Lymphknoten. Die kраниokaudale Ausdehnung der Lymphknoten reicht von der A. mesenterica inf. bis zum Zwerchfell.

Die Innervation der Nieren erfolgt durch den Plexus renalis, dieser liegt um die A. renalis und enthält v.a. postganglionäre Fasern aus dem Sympathicus (Th10 bis L2). Mit den Arterienaufzweigungen gelangen die Nerven in die Nieren und sind an der Regulation des Gefäßtonus und der Ausschüttung von Renin beteiligt. Die Filtratbildung und der renale Blutfluss (RBF) nach kompletter Durchtrennung der Innervation (nach Transplantation) ist gut, da die wichtigsten Funktionen durch Hormone reguliert werden (Benninghoff 1993). Sympathikusaktivierung verschiebt die untere Autoregulationsgrenze von GFR und RBF, sowie den Schwellendruck der Reninkurve zu höheren Blutdrücken, so dass ein fehlender sympathisch neuronaler Zufluß (die Nebenniere bleibt ja intakt)

eher eine Verbesserung der Resistenz gegen niedrige Blutdrücke erwarten lässt (Waldeyer 1987; Silbernagel 2005).

## 2.3.2 Mikroanatomie

### 2.3.2.1 Corpusculum renale (Nierenkörperchen)

Die morphologische und funktionelle Einheit der Nieren, bzw. für die Harnbereitung, ist das Nephron, bestehend aus einem Nierenkörperchen (Glomerulum, oder nach den derzeit gültigen Nomina anatomica eher einheitlich Glomerulus) und dem Tubulussystem. Die Funktion eines Nephrons besteht in glomerulärer Filtration, tubulärer Rückresorption, tubulärer Sekretion und letztlich der Produktion des definitiven Endharns. An diesem sind das Nierenkörperchen und das Harnkanälchen als Abschnitte mit unterschiedlicher Bedeutung zu unterscheiden. Jede Niere enthält etwa eine Million Nephrone. Mehrere Nephrone sind jeweils an ein Sammelrohr angeschlossen. Die Niere ist in der Lage, ihre Funktionen wechselnden Beanspruchungen anzupassen. In der Regel ist nur ein Teil aller Nephrone aktiv, so daß stets eine Reserve zur Verfügung steht (die Nephrone „wechseln sich in ihrer Aktivität ab“, so dass einzelne immer wieder eine „Regenerationspause“ haben, was aufgrund der eingeschränkten O<sub>2</sub>-Versorgung, besonders in der Medulla renalis Sinn macht, bzw. vorteilhaft ist). Für eine normale Harnausscheidung reicht ein Drittel des Nierengewebes aus. Die zirkadiane uropoetische Aktivität hat ihr Maximum gegen 0 Uhr, ihr Minimum gegen 13 Uhr. Je nach Lage der Nierenkörperchen, nahe der Rindenoberfläche oder nahe der Markgrenze, werden kortikale Nephrone (Nephronum breve) und juxtamedulläre Nephrone (Nephronum longum) unterschieden. Diese stellen Extremfälle dar, zwischen denen es verschiedenste Übergänge gibt. Innerhalb der Organisationseinheit des Nephrons kommt dem Nieren- oder Malpighi-Körperchen die Bedeutung eines Filtrationsapparats zu. Das Nierenkörperchen hat einen Durchmesser von etwa 0,25 mm und ist damit noch mit unbewaffnetem Auge zu erkennen. Am Nierenkörperchen (Corpusculum renale) sind zwei Komponenten zu unterscheiden: Glomerulus: Ein vom Gefäßpol des Nierenkörperchens ausgehendes Konvolut von etwa 30 Kapillarschlingen bildet den Glomerulus. Jeweils etwa fünf Schlingen bilden ein gemeinsames Lappchen von zum Teil anastomosierenden Kapillaren. Diese gehen aus vier bis sechs Ästen der Arteriola glomerularis afferens hervor und münden in entsprechende Sammelwurzeln der Arteriola glomerularis efferens. Im Kapillarkonvolut wird das Blut in die Bowman-Kapsel filtriert. Insgesamt steht in beiden Nieren eine Filtrationsfläche von etwa 1,5 m<sup>2</sup> zur Verfügung, durch die rund 130 ml pro Minute filtriert werden können. Bowman-Kapsel (Capsula glomeruli): Die Bowman-Kapsel stellt die „Auffangschale“ für das im Gefäßknäuel gebildete „Ultrafiltrat“ und den Harnpol als Beginn des Nierenkanälchens dar. Zwischen dem Glomerulus und der Capsula glomeruli liegt der enge Kapselspalt (Lumen capsulae). Dieser wird vom einschichtigen,

abgeplatteten Epithel der Bowman-Kapsel (parietales Blatt, *Paries externus*) und den Deckzellen des Glomerulus (viszerales Blatt, *Paries internus*) begrenzt. Etwas ungenau wird oft auch das ganze Nierenkörperchen (mit Glomerulus und Bowman-Kapsel) als „Glomerulus“ bezeichnet. Im Nierenkörperchen erfolgt die Bereitung des Primärharns durch Ultrafiltration. Dieser Primärharn wird dann im Harnkanälchen noch weiter verändert. Die Filtrationsschranke hält, außer den Blutkörperchen, alle Makromoleküle des Blutes zurück, wobei die Rückhaltung nicht vollständig, sowie von Molekulargewicht und Ladung abhängig ist, Restprotein wird im Tubulus entfernt. Das Filtrat enthält folglich die kleinmolekularen Bestandteile des Blutserums in gleicher Gesamt- und Partialkonzentration und ist daher blutisoton. Die Filtration ist druckabhängig, daher darf in den glomerulären Kapillarschlingen der Druck nicht auf die niedrigen Werte anderer Kapillargebiete absinken. In dem den Glomerulus verlassenden Gefäß herrscht daher noch hoher Druck (20-40 mm/Hg); dementsprechend handelt es sich nicht nur beim *Vas afferens* um eine Arteriole, sondern auch beim *Vas efferens*. Diese Druckverhältnisse ermöglichen es, daß die *Vasa efferentia* ein zweites Kapillarnetz zur Versorgung des übrigen Nierenparenchyms und insbesondere der Harnkanälchen speisen können, dieses wird auch als arterielles Wundernetz bezeichnet. Die treibende Kraft der Filtration ist der effektive Filtrationsdruck ( $P_{\text{eff}}$ ). Er ergibt sich aus dem Blutdruck in den Glomeruluskapillaren ( $P_{\text{kap}}$ , ca. 48 mmHg), abzüglich des Druckes in der Bowman-Kapsel ( $P_{\text{Bow}}$ , ca. 13 mmHg) und des onkotischen Druckes im Plasma ( $\Pi_{\text{kap}}$ , 25-35 mmHg):  $P_{\text{eff}} = P_{\text{kap}} - P_{\text{Bow}} - \Pi_{\text{kap}}$ . Am Kapillaranfang ist  $P_{\text{eff}} = 48 - 13 - 25 = 10$  mmHg. Wegen der hohen Filtrationsfraktion (FF = filtrierter Teil des renalen Plasmaflusses, RPF, ca. 20 %) steigt die Plasmaproteinkonzentration und somit  $\Pi_{\text{kap}}$  entlang der Glomeruluskapillare an und  $P_{\text{eff}}$  sinkt ab. Die Filtration sistiert dann (ca. am Ende der Kapillare), wenn  $\Pi_{\text{kap}}$  auf ca. 35 mmHg angestiegen und damit  $P_{\text{eff}}$  auf Null abgesunken ist. Dieses nennt man Filtrationsgleichgewicht. Die glomerulären Kapillarschlingen gehen aus einem bindegewebigen Stiel hervor, der als Mesangium bezeichnet wird und am Gefäßpol mit dem extraglomerulären Bindegewebe zusammenhängt. Das Mesangium besteht aus extrazellulärer Matrix, in die verzweigte Mesangiumzellen eingebettet sind, deren oft lange Fortsätze sich zwischen die Kapillarschlingen erstrecken. Die Mesangiumzellen besitzen phagozytotische Aktivität und weisen zum Teil kontraktile Filamente auf. Diese kontraktilen Mesangiumzellen haben vermutlich durch ihre Möglichkeit zur Einschnürung der Basis von Kapillarläppchen Bedeutung für die Regulation der Filtrationsfläche. Sie dürfen nicht mit den extraglomerulären Mesangiumzellen verwechselt werden. Die Filtrationsschranke, durch welche die Ultrafiltration erfolgt, besitzt eine Gesamtfläche von etwa 1,5 m<sup>2</sup>. Sie ist dreischichtig und besteht aus folgenden Komponenten: Endothel der Glomeruluskapillaren, Basalmembransystem, Podozytenschicht (Deckzellschicht). Die Glomeruluskapillaren sind fenestrierte Kapillaren mit einem Porendurchmesser von etwa 70 nm, jedoch vielfach ohne Diaphragma. Die

Größe der Poren verhindert den Durchtritt von Blutzellen. Die entscheidende Schicht für die Ultrafiltration ist die mit etwa 300 nm bemerkenswert dicke Basalmembran. Bei dieser handelt es sich um einen Basalmembran-Komplex, der zwar aus den üblichen drei Laminae besteht, jedoch durch die Vereinigung von Basalmembranmaterial entsteht, das sowohl von Endothelzellen wie auch von Podozyten beigesteuert und von beiden ständig regeneriert wird. Die glomeruläre Basalmembran stellt durch ihr negatives (anionisches) Ladungsmuster das Hindernis für den Durchtritt von Plasmaproteinen durch die Filtrationsschranke dar. Eine besondere Rolle spielt hierbei die Lamina lucida der Basalmembran, bei der es sich um die stark anionische Glykokalyx der Endothelzellen handelt. Auch die übrige Glykokalyx trägt zum negativen Ladungsmuster der Filtrationsschranke bei. Im Hinblick auf die häufig diaphragmale Fenestration der Endothelzellen und die Schlitzporen der Podozyten ist die Basalmembran die einzige geschlossene Schicht des dreischichtigen Harnfilters. Die glomeruläre Basalmembran funktioniert als gröbenselektiver Filter, der lediglich Wasser, andere kleine Moleküle sowie Ionen passieren läßt. Die Deckzellen (Podocyti) bilden mit ihren langen Primärfortsätzen (Cytotrabeculae) und den von diesen ausgehenden füschenartigen Sekundärfortsätzen bzw. Fußfortsätzen (Cytodia) einen gitterartigen Zellverband. Die Zellkörper selbst liegen in Wirklichkeit frei im Kapselspalt, sie sind lediglich durch ihre Primärfortsätze mit der Basalmembran oft mehrerer Kapillarschlingen verbunden. Zwischen den miteinander verschränkten (interdigitierenden) Fußfortsätzen befinden sich etwa 25 nm weite schlitzförmige Poren, sogenannte Schlitzporen. In den Schlitzporen ist jeweils ein extrazelluläres Diaphragma, das Schlitzdiaphragma, ausgespannt, das jedoch seinerseits Poren aufweist, durch die Moleküle über 70 kD nicht passieren können. Bei diesen Diaphragmen handelt es sich offenbar um die Glykokalyx, die auch die Oberfläche der Podozyten bedeckt. Der Deckzellverband geht am Gefäßpol in das geschlossene einschichtige Epithel der Bowman-Kapsel über (Waldeyer 1987; Leonhardt 1990; Silbernagel 2005).

#### 2.3.2.2 Tubulus renalis (Nierenkanälchen)

Am Harnpol des Nierenkörperchens beginnt das Nierenkanälchen, auch als Nierentubulus bezeichnet. Bei diesem handelt es sich nicht um einen Ausführungsgang, sondern um einen komplizierten Apparat zur quantitativen und qualitativen Veränderung des im Glomerulus gebildeten Primärharns. Die quantitative Veränderung durch die Nierenkanälchen (Tubuli renales) wird aus der Tatsache deutlich, daß durch die glomeruläre Filtration täglich etwa 180 Liter Primärharn produziert werden. Aus diesem werden im Tubulusapparat der Nieren durch die beschriebenen Veränderungen etwa 1,5 Liter Endharn (Urina) bereitet. Aus der Menge des Primärharns ergibt sich, daß die Gesamtblutmenge des Organismus täglich 30- bis 40mal in den Nieren ultrafiltriert wird. Dies ist natürlich nur möglich, weil im Tubulusapparat der größte Teil dieser Flüssigkeitsmenge, einschließlich vieler

darin gelöster Stoffe, wieder rückresorbiert wird. Der einzelne Nierentubulus hat eine Länge von 3–5 cm und verläuft unverzweigt. Charakteristisch für seinen Verlauf ist, daß der Tubulus zunächst in der Nähe des zugehörigen Nierenkörperchens – also im Labyrinthus corticis – eine Schlinge bildet, um dann in dem zugehörigen Markstrahl der Rinde eine mehr oder weniger weit papillenwärts reichende enge, haarnadelförmige Schleife (Henle-Schleife) zu bilden. Der Tubulus kehrt anschließend zum zugehörigen Nierenkörperchen zurück und bildet in dessen Bereich erneut eine Schlinge mit einer besonderen Kontaktzone, der Macula densa, ehe er durch ein kurzes Verbindungsstück in ein im Markstrahl verlaufendes Sammelrohr mündet. Aufgrund morphologischer und funktioneller Unterschiede können am einzelnen Tubulus folgende Abschnitte unterschieden werden: Hauptstück bzw. proximaler Tubulus mit Tubulus contortus proximalis und Tubulus rectus proximalis, Überleitungsstück bzw. Tubulus attenuatus mit Pars descendens und Pars ascendens, Mittelstück bzw. Distaler Tubulus mit Tubulus rectus distalis und Tubulus contortus distalis. Der oft arkadenförmige Anschlußabschnitt (Tubulus renalis arcuatus), der in das nicht mehr zum Nephron gehörende Sammelrohr mündet, kann als Verbindungsstück gesondert benannt werden. Das Hauptstück weist einen Durchmesser von etwa 50 µm auf und ist etwa 15 mm lang. Es liegt mit seinem gewundenen Abschnitt (Tubulus contortus proximalis) dem Nierenkörperchen an. Sein in den Markstrahl eintretender, sich papillenwärts wendender gerader Abschnitt (Tubulus rectus proximalis) bildet den dicken Anfangsteil der Henle Schleife (s. u.). Morphologisches Charakteristikum des proximalen Tubulus ist ein einschichtiges kubisches Epithel mit mittelständigen kugeligen Zellkernen und lichtmikroskopisch kaum erkennbaren Zellgrenzen. Auf der apikalen Oberfläche findet sich ein unregelmäßig hoher Bürstensaum, der die resorptive Leistung ermöglicht: im proximalen Tubulus werden 80% des Wassers rückresorbiert – der Primärharn wird hier auf 25% seines Volumens reduziert. Wichtig ist hier auch die Rückresorption von Natrium und Glukose, der ausgeschiedene Harn ist normalerweise zuckerfrei. Eine oft erkennbare basale Streifung wird durch tiefe Einfaltungen der basalen Zellmembran und eine entsprechende Anordnung der Mitochondrien hervorgerufen. Das Überleitungsstück bildet zusammen mit dem Tubulus rectus proximalis und dem Tubulus rectus distalis die Henle Schleife (Ansa nephroni). An dieser können ein absteigender und ein aufsteigender Schenkel unterschieden werden. Der Schleifenscheitel kann, abhängig davon, ob es sich um ein kortikales oder juxtamedulläres Nephron handelt, in der Außen- oder Innenzone des Nierenmarks liegen. Die Überleitungsstücke sind unterschiedlich und bis zu 10 mm lang. Die Länge der Schleifen steht in Zusammenhang mit der Fähigkeit zur Bildung hypertonen Harns (vgl. Haarnadelgegenstromsystem 2.3.2.4). Da das Überleitungsstück, im Gegensatz zu den Anteilen des Haupt- und Mittelstücks an der Schleife, nur einen Durchmesser von etwa 12 µm aufweist, können an der Henle-Schleife dünne (Tubulus attenuatus) und dicke Abschnitte unterschieden werden. Das einschichtige Epithel des



Überleitungsstücks ist flach und die kernhaltigen Zellabschnitte wölben sich in das Lumen vor. Dieser Tubulusabschnitt weist daher für den unerfahrenen Betrachter eine gewisse Ähnlichkeit mit Blutkapillaren auf. Das Mittelstück ist etwa 23 mm lang und nur wenig dünner als das Hauptstück. Es beteiligt sich mit seinem geraden Abschnitt (Tubulus rectus distalis) am aufsteigenden Schenkel der Henle-Schleife. Der gewundene Abschnitt (Tubulus contortus distalis) bildet im Kontakt mit dem Gefäßpol des zugehörigen Nierenkörperchens die Macula densa. Der distale Tubulus ist, neben dem Sammelrohr, Ziel- und Wirkungsort des Hypophysenhinterlappenhormons Adiuretin, das die Wasserrückresorption beeinflusst. Insofern hat das Mittelstück entscheidende Bedeutung für die Wassermenge, die mit dem Harn ausgeschieden wird. Das kubische Epithel des distalen Tubulus weist nur wenige Mikrovilli auf. Eine basale Streifung ist weniger deutlich zu erkennen als im Hauptstück. Die Zellkerne liegen häufig apikal, die Zellgrenzen sind – abhängig von der Fixierung – meist klarer zu sehen als im Hauptstück. Die Glykokalyx enthält ein nierenspezifisches Protein, das in erheblicher Menge mit dem Harn ausgeschieden wird. Die Epithelzellen des kurzen Verbindungsstücks bilden Kallikrein, das im Rahmen des Kallikrein-Kinin-Systems gefäßerweiternd und damit diuretisch wirkt. Die Sammelrohre (Tubuli renales colligentes) sind etwa 20 mm lang. Ihr Durchmesser steigt von etwa 40 µm im Bereich der Markstrahlen bis auf etwa 200 µm in den Papillen. Die Sammelrohre sind aus entwicklungsgeschichtlichen Gründen kein Teil der Nephrone und damit kein Abschnitt des Nierentubulus. Die Sammelrohre sind von Bedeutung für das Haarnadelgegenstromsystem. Das einschichtige Epithel der Sammelrohre ist proximalwärts kubisch, distalwärts prismatisch und besitzt in das Lumen vorspringende apikale Zellkuppen. Die kugeligen Zellkerne liegen zentral. Das Zytoplasma der meisten Zellen erscheint im gefärbten Übersichtspräparat auffallend hell. Neben diesen hellen Hauptzellen kommen auch etwas dunklere Zellen vor, die als Schaltzellen (Typ A und B) bezeichnet werden. Die Hauptzellen sind von Bedeutung für die Rückresorption von Natrium; sie sind vasopressinsensibel. Die Funktion der Schaltzellen ist ungewiß. Diskutiert wird hier eine Bedeutung für den  $H^+/HCO_3^-$ -Transport. Jedes Sammelrohr nimmt acht bis zehn Nephrone auf, die im Bereich eines Markstrahls mit ihren Verbindungsstücken einmünden. Im Bereich jeder Papillenspitze vereinigen sich jeweils etwa fünf Sammelrohre zu einem Ductus papillaris. Auf der Papillenspitze münden in der Area cribrosa 20 bis 80 Ductus papillares mit je einem Foramen papillare. Die Ductus papillares besitzen einen Durchmesser von 200 µm und sind von einem einschichtigen hochprismatischen Epithel ausgekleidet. Im Interstitium der Niere erfolgt der Stofftransport zwischen den Tubuli und den Blutgefäßen. Das peritubuläre Interstitium macht in der Rinde einen Anteil von etwa 5% aus, während sein Anteil im Mark zur Papille hin gerichtet bis auf 30 % und mehr ansteigt. Neben Fibroblasten kommen im Interstitium der Niere vor allem dendritische Zellen vor. Hier erfolgt auch die systematische Verbreitung von dort sezernierten

Wirkstoffen, unter anderem Renin und Erythropoetin. Das periarterielle Kompartiment des Interstitiums hat vermutlich für die Wirkung verschiedener vasoaktiver Substanzen und damit für den Kontraktionszustand der renalen Widerstandsgefäße Bedeutung. Im inneren Markbereich findet sich eine besonders hohe Konzentration von Glykosaminoglykanen. Die interstitiellen Zellen des Nierenmarks, die diese sezernieren, haben daher eine wichtige Funktion für die Osmolarität des Harns; außerdem produzieren sie antihypertensive Lipide. Die auffallende Ausrichtung der zum Teil kontraktilen interstitiellen Markzellen senkrecht zur Verlaufsrichtung von Tubuli und Blutgefäßen läßt eine mechanische Wirkung dieser Zellen vermuten. Die topographische Zuordnung der einzelnen Nephronabschnitte im histologischen Präparat ergibt folgendes Verteilungsmuster: Labyrinthus corticis: Nierenkörperchen, Abschnitte von Haupt- und Mittelstücken; Pars radiata der Rinde (Markstrahl): Sammelrohre, Abschnitte der Tubuli recti der Haupt- und Mittelstücke; Außenzone des Marks: Tubuli recti der Haupt- und Mittelstücke, Überleitungsstücke, Sammelrohre; Innenzone des Marks: Überleitungsstücke, Sammelrohre (Waldeyer 1987; Leonhardt 1990; Silbernagel 2005).

### 2.3.2.3 Juxtaglomerulärer Apparat (Complexus juxtaglomerularis)

Im Bereich des Gefäßpols jedes einzelnen Nierenkörperchens befindet sich ein für die Nierenfunktion und den Gesamtblutdruck wichtiger Regulationsapparat, der Juxtaglomeruläre Apparat (Complexus juxtaglomerularis). An diesem sind folgende Komponenten beteiligt: Polkissen in der Wand des glomerulusnahen Abschnitts der Arteriola afferentes: Beim Polkissen handelt es sich um eine Ansammlung von zu Epitheloidzellen umgewandelten Myozyten der Tunica media. Die Epitheloidzellen sind gekennzeichnet durch Granula, die das proteolytische Enzym Renin enthalten. Vereinzelt kommen Epitheloidzellen auch am Vas efferens vor. Goormaghtigh-Zellen bzw. extraglomeruläre Mesangiumzellen zwischen der Macula densa und dem Winkel zwischen zu- und abführender Arteriole: Die etwa 30 verzweigten Zellen mit vereinzelt sekretorischen Granula hängen mit dem glomerulären Mesangium zusammen. Macula densa des distalen Tubulus zwischen Pars recta und Pars contorta: Die Macula densa ist ein Feld von etwa 50 µm Durchmesser, das aus bis zu 40 Zellen besteht. In diesem Bereich sind die sonst kubischen Epitheloidzellen des distalen Tubulus hochprismatisch und stehen palisadenartig dicht nebeneinander. Dieses Feld ist stets dem Winkel zwischen zu und abführender Arteriole am Gefäßpol des Nierenkörperchens zugewandt. Die Komponenten des juxtaglomerulären Apparats stehen in Wechselwirkung miteinander: Im Mittelpunkt steht die Reninausschüttung durch Epitheloidzellen der Arteriola afferentes und extraglomeruläre Mesangiumzellen. Das proteolytische Nierenenzym Renin, ein Glykoprotein mit Aspartylproteinase-Wirkung, spaltet im Blut aus dem hepatogenen Plasmaglobulin Angiotensinogen das nur schwach hypertensiv wirkende Dekapeptid Angiotensin I ab. Durch das weitverbreitete, auf der Lumenseite lokalisierte „angiotensin converting enzyme“ (ACE) der Endotheloidzellen entsteht unter

anderem in der Lunge aus Angiotensin I das stark vasokonstriktive Oktapeptid Angiotensin II. Dieses wird durch Peptidasen rasch gespalten. Angiotensin II hat außerdem wichtige Wirkungen auf die Niere. Durch lokale Vasokonstriktion kommt es zu einer Reduzierung der Nierendurchblutung und damit der glomerulären Filtration (antidiuretische Wirkung, gegensätzlich zur Wirkung des Kalikrein-Kinin-Systems). Hieraus resultiert eine Verringerung der Wasser- und Natriumausscheidung in den Primärharn. Das Enzym bewirkt eine Kontraktion der Mesangiumzellen, durch die es zur Verkleinerung der Filtrationsoberfläche der Basalmembran kommt, aber auch zur Vergrößerung der Poren. In der Nebennierenrinde führt Angiotensin II zur Ausschüttung des Steroidhormons Aldosteron. Dieses fördert die Rückresorption von Natrium im distalen Tubulus des Nephrons. Das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System als eines der wichtigsten Kontrollsysteme der renalen Hämodynamik ist somit an der Regulation des Blutdrucks, der glomerulären Filtration und des Elektrolythaushalts (Homöostase) beteiligt. Die Ausschüttung von Renin wird durch drei Faktoren kontrolliert: 1. Barosensoren-2 in der Wand der Arteriola afferentes bewirken eine Senkung der Reninabgabe bei einem Anstieg des Blutdrucks und umgekehrt. 2. Chemosensoren der Macula densa messen die Natriumkonzentration und bewirken eine Steigerung der Reninausschüttung bei verringerter Natriumkonzentration im distalen Tubulus und umgekehrt. 3. Die Erregung des Sympathikus bewirkt ebenfalls eine Steigerung der Reninabgabe. Wahrscheinlich wird im juxtaglomerulären Apparat auch das Glykoproteinormon Erythropoetin gebildet (Waldeyer 1987; Leonhardt 1990; Silbernagel 2005).

#### 2.3.2.4 Haarnadelgegenstromsystem

Durch die glomeruläre Ultrafiltration wird ein blutisotoner Primärharn gebildet. Die Niere ist jedoch in der Lage sowohl hypotonen als auch hypertonen Sekundärharn auszuscheiden. Diese Fähigkeit ist an die Henle-Schleifen und deren räumliche Beziehung zu den Sammelrohren geknüpft. Die durch diese Anordnung realisierte physikalische Grundlage wird als Haarnadelgegenstromsystem oder Gegenstrommultiplikationssystem bezeichnet. Zahlreiche Henle-Schleifen bilden mit benachbarten peripher angeordneten Sammelrohren und zugeordneten Gefäßen eine funktionelle Einheit, das Leitungsbündel. Entscheidend für die Konzentrierung des Primärharns ist, daß die Epithelien der aufsteigenden Schleifenschenkel Natrium (und Chlorid) in das umgebende Interstitium pumpen können, gleichzeitig aber „wasserdicht“ sind, so dass das Wasser diesen Ionen nicht folgen kann. Hierdurch steigt im Interstitium die Osmolarität. Dieses führt im absteigenden Schenkel der Schleifen sowohl zur Wasserabgabe an das Interstitium (das Wasser wird von hier durch die Gefäße wieder abtransportiert) als auch zur Natriumaufnahme in den Schleifenschenkel. Infolgedessen kommt es zu einer Konzentrationserhöhung am Schleifenscheitel. Aus dem aufsteigenden Schleifenschenkel wird Natrium wieder in das Interstitium gepumpt, so daß sich zwischen aufsteigenden Schenkeln und Sammelrohren die Osmolarität im Interstitium weiter erhöht. Dies hat letzt-

endlich zur Konsequenz, dass – in Anwesenheit des antidiuretischen Hormons – den Sammelrohren in ihrem Verlauf kontinuierlich Wasser entzogen wird und sich dadurch die Konzentration in den Sammelrohren fortschreitend erhöht. Das Ausmaß der Konzentrationserhöhung ist abhängig von der Schleifenlänge. Besonders lange Henle-Schleifen werden charakteristischerweise bei Wüstentieren gefunden, die einen stark hypertonen Harn ausscheiden, um ihren Wasserhaushalt ausgeglichen zu halten (Waldeyer 1987; Leonhardt 1990; Silbernagel 2005).

#### 2.3.2.5 Ableitende Harnwege

In den ableitenden Harnwegen wird der Sekundärharn von den Mündungen der Harnkanälchen auf den Nierenpapillen bis zur externen Harnröhrenmündung transportiert. In den ableitenden Harnwegen wird die Zusammensetzung des Sekundärharns nicht mehr nennenswert verändert; sie dienen der Weiterleitung und der Ausscheidung nach außen. Es läßt sich ein oberer Harntrakt mit Nierenkelchen (Calices renales), Nierenbecken (Pelvis renalis) und Harnleiter (Ureter) von einem unteren Harntrakt mit Harnblase (Vesica urinaria) und Harnröhre (Urethra) unterscheiden.

## 2.4 Nierenphysiologische Aspekte

Die Menge, Konzentration und Zusammensetzung des Urins ist das Ergebnis aus dem Zusammenspiel von glomerulärer Filtration, tubulärer Rückresorption, tubulärer Sekretion und letztlich der Produktion des definitiven Harns. Im Glomerulus wird das Blut filtriert: Zellen sowie grosse Moleküle in Abhängigkeit ihrer elektrischen Ladung werden zurückgehalten, Wasser mit allen gelösten Stoffen und kleinen Molekülen als sogenannter Primärurin an das Tubulussystem abgegeben. Bei gesunden Erwachsenen werden pro Minute ca. 120 ml Glomerulumfiltrat (d.h. 170 - 180 Liter pro Tag, s. oben) gebildet. In den verschiedenen Tubulusabschnitten wird nicht nur der grösste Teil des Filtrates rückresorbiert, sondern zusätzlich bestimmte Stoffe gezielt sezerniert. Unter ausgewogenen Bedingungen liegt so die Urinmenge zwischen 900 und 1500 ml pro Tag. Im Tubulussystem werden Wasser, Elektrolyte und Metabolite rückresorbiert. Zu den Stoffen, die aktiv sezerniert werden, gehören neben Protonen und Ammoniak vor allem organische Säuren und Basen. Arzneimittel und andere Fremdstoffe können im proximalen Tubulus sezerniert werden. Die Steuerung der Wasserausscheidung und damit die Feinregulation der Wasserbilanz erfolgt vorwiegend über hormonelle Signale an die Nieren. Dabei steuern vor allem zwei Hormone den Salz- und den Wasserhaushalt: das antidiuretische Hormon (im Weiteren ADH) und das Aldosteron. Dazu kommen zentralnervöse Mechanismen, die das Durstgefühl auslösen. Bei Blutdruckabfall, Abnahme des Blutvolumens und Natriummangel wird von den juxtaglomerulären Zellen der Nieren vermehrt Renin abgegeben. In der Blutbahn spaltet Renin das von der Leber gebildete Angiotensinogen zu Angiotensin I, das wiederum von einem weiteren Enzym, dem angiotensin converting enzyme (ACE), durch Abspaltung

eines Tripeptids in Angiotensin II umgewandelt wird. Angiotensin II wirkt gefäßverengend und damit blutdruckerhöhend, fördert aber vor allem die Produktion von Aldosteron in den Nebennieren, wobei dieser Zusammenhang fakultativ ist: Aldosteron wird in Abhängigkeit zum Gesamtkörpernatriumbestand sezerniert, es kann also durchaus Angiotensin II erhöht und Aldosteron erniedrigt sein. Angiotensin wird vor allem in der Lunge abgebaut. Aldosteron, ein Mineralocorticoid, steigert die Rückresorption von Natrium und damit osmotisch bedingt die Wasserrückresorption in den proximalen und distalen Nierentubuli. Gleichzeitig fördert es die Ausscheidung von Kalium und Wasserstoffionen. Aldosteron wird vorwiegend in der Leber abgebaut. Der Wassergehalt des Körpers wird reguliert durch das ADH, das im Hypothalamus gebildet wird, in dem auch das Durstzentrum und die Osmorezeptoren lokalisiert sind. ADH wird entlang des Hypophysenstiels in die Neurohypophyse transportiert, wo es gespeichert und bei Bedarf ausgeschüttet wird. Die Regelung der ADH-Spiegel erfolgt über das extrazelluläre Volumen und die Serumosmolalität, d.h. nicht über den Wassergehalt allein, sondern über das Verhältnis Salze zu Wasser. Die drei Peptide ANP (atriales natriuretisches Peptid), BNP (brain natriuretic peptide) und CNP (natriuretisches Peptid vom C-Typ) bilden die Familie der natriuretischen Peptide. ANP und BNP werden vor allem vom Myokard vermehrt sezerniert bei Volumenexpansion und Drucksteigerung in Vorhof und Herzventrikel. Sie wirken als Gegenspieler des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems in dem sie sowohl natriuretisch wie auch diuretisch wirken (Benninghoff 1993). Erhöhte Werte von BNP im Blut findet man bei Patienten mit instabiler Angina pectoris, akutem Myokardinfarkt und chronischer Herzinsuffizienz (Carey and Siragy 2003; Silbernagel 2005).

## **2.5 Nierenperfusion**

Zu den menschlichen Nieren fließen etwa 15-25% des Herzzeitvolumens (im Mittel rund 1,2 l/min.), eine enorm starke Durchblutung in Relation zu ihrem Anteil am Körpergewicht mit nur 0,4%. Die auf das Körpergewicht bezogene Durchblutung beträgt 3-5 ml/min pro g Gewebe, ähnliche Werte werden z. B. vom Myocard nur bei maximaler Koronardilatation erreicht. Während es beim Herzmuskel aber der Sauerstoffbedarf ist, der die hohe Durchblutung erfordert, steht die hohe renale Durchblutung ganz im Dienste der Filtratbildung und damit letztendlich in dem der Regulations- und Ausscheidungsaufgaben der Nieren. Die Filtratbildung ist eine Aufgabe der Nierenrinde, das Filtrat (auch Primärharn oder Ultrafiltrat) wird durch die kortikal gelegenen Glomerula gebildet, während der Endharn, welcher entscheidend für die Ausscheidung der harnpflichtigen Substanzen ist, im Nierenmark gebildet wird. Die Endharnbildung ist abhängig von den Konzentrierungsmechanismen der Nierentubuli, der Macula densa, den Sammelrohren und den langen Nephronen. Hieraus erklärt sich, dass die Nierenrinde rund 90% des renalen Blutflusses (RBF) erhält, während das äußere Mark ca. 10% und das innere Mark nur 1-2% bekommt. Die renale arteriovenöse O<sub>2</sub>-

Differenz beträgt wegen der vergleichsweise hohen Durchblutung nur etwa 14 ml/l Blut, das heißt, dem arteriell herangeführten Blut (mit ca. 200 ml O<sub>2</sub>/l Blut) werden nur 7% seines Sauerstoffs entnommen. Benötigt wird dieser hauptsächlich für die primär-aktive, das heißt ATP-verbrauchende Resorption des filtrierten Natriums. In einer nicht filtrierenden und daher nicht resorbierenden Niere sinkt der O<sub>2</sub>-Verbrauch auf einen basalen Wert von etwa 10% dieses Wertes. Das heißt, wenn RBF und GFR (glomeruläre Filtrationsrate) kleiner werden, sinkt die Natrium-Resorption und folglich auch der Sauerstoffbedarf. Also bestimmt hier die Durchblutung den Sauerstoffverbrauch und nicht umgekehrt – wie beim Herzen – der Sauerstoffbedarf die Durchblutung. Die Nierenperfusion ist im Gegensatz zu Herz und Gehirn nicht metabolisch geregelt, sondern steht im Dienste der spezifischen Nierenfunktionen Filtration, Resorption und Ausscheidung (Silbernagel 2005). Der RBF bleibt bei Schwankungen des systemischen mittleren Blutdrucks im Bereich von ca. 80 – 170 mm/Hg weitgehend konstant, dieses bezeichnet man als Durchblutungsautoregulation der Nieren. Diese autoregulatorische Änderung der intrarenalen Strömungswiderstände scheint bei kleinen Abweichungen vom Normaldruck in den Aa. interlobulares und bei starken Änderungen zusätzlich in den Vasa afferentia zu geschehen. Bei noch größeren Druckabweichungen fällt bzw. steigt der RBF (BM 2004). Trotz Autoregulation von RBF und GFR steigt bei einer Blutdruckerhöhung die fraktionale Wasserausscheidung (Harnzeitvolumen/GFR), was als Druckdiurese bezeichnet wird. Vermutlich verantwortlich hierfür ist eine druckabhängige Änderung der Nierenmarkdurchblutung. Die Druckdiurese wird angesehen als eine wesentliche Funktion bei der langfristigen Blutdruckregulation (Ehmke, Persson et al. 1987; Guyton 1991). Die Urinproduktion versiegt (Anurie), wenn der arterielle Mitteldruck auf ca. 50 mm/Hg abgesunken ist (Shibley and Study 1951). Wie in Kapitel 3 beschrieben, wurde deshalb im Rahmen der Stabilisierung der Vitalparameter der Versuchstiere unter anderem auf die Aufrechterhaltung von mindestens 1 ml/kg/KG Urinbildung pro Stunde geachtet, wobei das Harnzeitvolumen nur eingeschränkt einen Marker darstellt, da es ja von beiden Nieren stammt. Der Blutdruck wurde stabilisiert und einer Volumenkontraktion (nachweisbar durch stabile Serumelektrolyt- und Hämatokritwerte) entgegengewirkt.

## **2.6 Ursachen eines verminderten RBF**

Als renalen Blutfluss (RBF) bezeichnet man die Gesamtnierendurchblutung, sie beläuft sich beim Menschen auf 1200 ml/min, bzw. auf 1700 - 1800 l/24 Stunden. Der RBF wird berechnet aus dem renalen Plasmafluss (650 ml/min), welcher korrigiert um den Volumenanteil von korpuskulären Blutbestandteilen (Blutzellen), dem Hämatokrit, selbigen ergibt (Silbernagel 2005). Ein akuter bzw. chronisch vermindertes RBF kann Ursache oder auch Auslöser akuter und chronischer Nierenerkrankungen sein, z.B. akutem oder chronischem Nierenversagen. Es gibt prärenale, intrarenale und postrenale Ursachen hierfür.

1. Prärenale liegende Ursachen für verminderten RBF wären : 1. Abfall des zirkulierenden Blutvolumens, 2. Abfall von HZV und arteriellem Mitteldruck bei Kreislaufchock unterschiedlicher Genese, kardiale Insuffizienz mit Abnahme des renalen Perfusionsdruckes, 3. Systemische Vasodilatation bei Sepsis, 4. Renale Vasokonstriktion bei hepato-renalem Syndrom und zytokin-vermittelter Vasokonstriktion, 5. Makrovaskuläre Erkrankungen, wie Vaskulitiden, Embolien oder Thrombosen und Nierenarterienstenosen.
2. Bei intrarenaler RBF-Verminderung wären zu nennen: 1. Akute Tubulusnekrose, bedingt durch ischämisch-toxische Prozesse, hervorgerufen durch Medikamente wie Röntgenkontrastmittel oder Antiphlogistika, 2. Mikrovaskuläre Erkrankungen, wie Glomerulonephritiden, 3. Akute interstitielle Nephritis, allergisch-medikamentös, oder parainfektios bedingt.
3. Eine postrenal ausgelöste RBF-Verminderung entsteht durch Obstruktion in den ableitenden Harnwegen. Durch die Obstruktion kommt es zur Anurie und zur Druckerhöhung oberhalb des Abflusshindernisses. Dadurch wird die Durchblutung der Niere gedrosselt. Als postrenale Ursachen für eine RBF-Verminderung wären zu nennen u. a. 1. Erworbene Abflusshindernisse im Bereich von Nierenbecken, Harnleiter, Blase oder Urethra, 2. Tumoren, 3. Gynäkologische Erkrankungen und operative Komplikationen, 4. Medikamentöse Ursachen bei vorbestehender Harnabflussbehinderung (Prostataadenom) z. B. durch Anticholinergika oder Neuroleptika (Herold 2006).

Eine im MRT/CT morphologisch erfassbare Ursache eines verminderten RBF ist die Nierenarterienstenose. Problematisch derzeit ist, dass die verbliebene Lumenweite der betroffenen Arterie durch MRT/CT nur ungenügend bestimmbar ist, aber gleichzeitig als OP-Indikation genutzt wird. Durchblutung und besonders die lokale Durchblutung der Nieren als eigentlich kritische Werte für Prognose und Therapie sind fast immer unbekannt. In unseren Experimenten kam eine artifiziell angelegte Arterienstenose zur Anwendung, mit der Zielsetzung zu untersuchen, ob die im MRT erhobenen Daten valide sind und die gemessenen Perfusionsgrößen denen der Dopplerflußmessungen entsprachen (siehe unten, Methodikteil). Nierenarterienstenosen stellen eine wichtige Ursache für Hypertonie, progressive Niereninsuffizienz und Dysfunktion von Nierentransplantaten dar (Gedroyc, Negus et al. 1992; Derkx and Schalekamp 1994). Weiterhin wurde gezeigt, dass Stenierungen der Nierenarterien zur Entwicklung einer kongestiven Herzinsuffizienz führen können (Missouris, Buckenham et al. 1993; Ducloux, Jamali et al. 1997). In 60-75% der Fälle sind Stenosen der Nierenarterien arteriosklerotischer Genese, mit einem Häufigkeitsgipfel jenseits des 50. Lebensjahres, einer Bevorzugung des männlichen Geschlechts und einem vorwiegenden Befall des Abganges bzw. des proximalen Drittels der Nierenarterien. Arteriosklerotische Stenosen in fortge-

schrittenen Stadien neigen in besonderem Maße zur Progression mit der Gefahr des totalen Gefäßverschlusses und renalen Funktionsverlustes (Tollefson and Ernst 1991; Strandness 1994). An zweiter Stelle der Ursachen einer Nierenarterienstenose steht mit 15-30% die fibromuskuläre Dysplasie, unter der Frauen etwa doppelt so häufig leiden wie Männer und bei der vor allem das mittlere und distale Drittel der Nierenarterien befallen sind. Auch liegt der Häufigkeitsgipfel dieser Erkrankung deutlich niedriger, nämlich in der 3. und 4. Lebensdekade. Seltener Ursachen für Stenosen oder Verschlüsse der Nierenarterien sind Arteriitiden, Gefäßanomalien, Aneurysmen, Kompressionen durch raumfordernde Prozesse, Traumata sowie Embolien. Eine der wesentlichen Komplikationen der Nierenarterienstenose stellt die renovaskuläre Hypertonie dar. Sie macht zwar nur 1-5% aller Hypertonieformen aus (van Jaarsveld, Krijnen et al. 1997; Fauci AS 1998), gilt jedoch als die häufigste, prinzipiell heilbare Form des arteriellen Bluthochdrucks, welcher in der erwachsenen Bevölkerung der westlichen Länder eine Prävalenz von 20-25% aufweist und damit dort die am häufigsten diagnostizierte Krankheit darstellt (Scholze J 1999). Zudem beruht bei 5-15% der Hämodialysepatienten das Nierenversagen auf einer chronischen renalen Ischämie (O'Neil, Hansen et al. 1992; Rimmer and Gennari 1993). Für Nierenarterienstenosen (>50% Lumeneinengung) selbst wird über Prävalenzen von 18% bei Patienten zwischen 65 und 74 Jahren, sowie von 42% bei Patienten über 75 Jahren berichtet (Fauci AS 1998). Die Inzidenz nach Nierentransplantationen variiert in verschiedenen Studien von 1-23% (Luk, Chan et al. 1999).

## **2.7 Etablierung eines Modells**

Die Etablierung eines Modells der verminderten Nierendurchblutung war wichtig, weil geprüft werden sollte, inwieweit eine suffiziente bildgebende Wiedergabe der Nieren im MRT unter Kontrastierung mittels des Bloodpoolkontrastmittels Vasovist (Gadofosveset Trinatriumsalz) möglich war, und zwar auch bei bereits vorgeschädigten, perfusionsgeminderten Nieren.

Der heutige Goldstandard für die bildgebende Darstellung vaskulärer, mit strukturellen Veränderungen verbundener Nierenerkrankungen ist die Röntgenangiographie, die jedoch mit einer hohen Strahlenbelastung und einer hohen benötigten Dosis Kontrastmittels vergesellschaftet ist, was wiederum eine weitere Schädigung des Nierenparenchyms (sog. Kontrastmittelneuropathie) nach sich ziehen könnte.

Vasovist verbleibt nach Injektion fast vollständig an Albumin im Blut gebunden, insofern verlängert sich das Zeitfenster für die Darstellung des zu untersuchenden Gewebes und die Kontrastmittelbelastung des Patienten verringert sich. Verbunden mit der Darstellung im MRT entfielen die Röntgenstrahlenbelastung absolut.



Bisher ist Vasovist für die MRT-Angiographie von Extremitäten- und großen Abdominalgefäßen zugelassen. Um die Indikationsstellung auch für Nierendarstellungen zu erweitern waren Untersuchungen an einem dem Menschen vergleichbaren Modell notwendig. Hierfür erschienen Schweine besonders geeignet, da der Nierentyp, sowie Größe, Gewicht und Perfusionsdaten der Tiere und die topographische Lage der Nieren im Körper der des Menschen besonders ähnlich sind.

Um eine Vergleichbarkeit der einzelnen Experimente zu erreichen, wurde zunächst in sieben Vorversuchen ein standardisiertes Versuchsprotokoll entwickelt, nach dem während der folgenden 11 Hauptversuche verfahren wurde. Dieses wird im Hauptteil en detail dargestellt. Es sollte die Stabilität der Vitalparameter der Versuchstiere bis zum Versuchsende gewährleisten, sowie einen reibungslosen Versuchsablauf ermöglichen. Es beinhaltete ein cardio-respiratorisches Monitoring zur Überwachung der in Intubationsnarkose verbrachten Tiere während der chirurgischen und radiologischen Maßnahmen, sowie während der Transportphase vom Operationssaal zum MRT-Raum, welche über Tunnelgänge ca. zwei Kilometer voneinander getrennt waren. Weiterhin wurden standardisierte laborchemische Analysen durchgeführt (s. 3.1).

Wegen ihrer Noninvasivität wird die Magnetresonanztomographie (MRI) in zunehmendem Maße dazu verwendet, die Nierenmorphologie zu visualisieren (Semelka, Corrigan et al. 1994). Mit ihrer ausgezeichneten weichen Gewebekonstrastierung erlaubt sie es sicher die Nierenrinde vom Nierenmark und dem Nierenkelchsystem zu differenzieren. Kontrastverstärkte MR-Angiographie (MRA)-Techniken ermöglichen die exakte Abbildung der renalen arteriellen und venösen Gefäße bei Patienten mit suspekten Nierenarterienstenosen oder bei potentiellen Nierenspendern. Neben diesen morphologisch-bildgebenden Ansätzen ermöglicht die Injektion von gadolinium-basierten Kontrastmitteln in Kombination mit dynamischen, kontrastverstärkten Magnetresonanzbildgebungen (DCE-MRI) der Nieren es, den Nierenparenchymfluß und Teilfunktionen zu demonstrieren und zu berechnen. Dementsprechend hat die Magnetresonanzbildgebung das einzigartige Potential um noninvasiv Krankheiten zu differenzieren, die verschiedene Bereiche des Nierengefäßsystems angreifen, und Parameter zu differenzieren, die die renale Perfusion beeinflussen (Lee, Rusinek et al. 2003; Schoenberg, Rieger et al. 2003).

Renale Perfusionsmessungen haben das Potential, bestehende Untersuchungsprotokolle zu ergänzen durch Zufügung relevanter funktioneller Informationen zu bestehenden morphologischen Erkenntnissen für ein komplettes diagnostisches Setup bei Patienten mit vermuteter Nierenarterienstenose. Der Einfluß einer Nierenarterienstenose auf die Parenchymperfusion und die Funktion der betroffenen Niere kann in frühen Stadien von den morphologischen Bildgebungen nicht abgeleitet werden, wenn ein Umbau noch nicht stattgefunden hat. Zwei der gebräuchlichsten laborchemischen Parame-

ter, das Serumkreatinin und die endogene Kreatininclearance, können nur indirekt die renale Perfusion und Filtration reflektieren. Der Kreatininwert ist ein Hinweis auf die GFR beider Nieren, und die PAH (Paraaminohippursäure)-Clearance als ein Maß für den RPF beider Nieren ist aufwendig zu erstellen und klinisch wenig gebräuchlich. Lokale Perfusion ist damit überhaupt nicht beurteilbar. Diese Laborparameter können keine Aussage über die möglicherweise unterschiedliche Funktion beider Nieren machen (Semelka, Corrigan et al. 1994). Ersten Berichten zufolge ermöglicht DCE-MRI mit Kontrastmittelanwendung die Detektion einer gestörten Nierenperfusion und ist dazu geeignet, die Nierenperfusion einzuschätzen. Im Gegensatz zur Nierenzintigraphie hat DCE-MRI die Vorteile schneller zu sein, keine ionisierende Strahlung zu benötigen und eine größere Raumauflösung zu besitzen (Michaely, Schoenberg et al. 2006; Sourbron, Michaely et al. 2008). Alternativ könnte arterielles spin labeling (ASL) zur Einschätzung der Nierenperfusion eingesetzt werden, aber eine dem arteriellen spin labeling anhaftendes niedriges Signal-zu-Rausch-Verhältnis (SNR, in dB gemessen: Signal-Rausch-Abstand) und die T<sub>1</sub>-Dämpfung erlaubt nicht die Quantifikation der Nierenmarkspfusion (Ludemann, Nafz et al. 2009).

Bisher werden die erwähnten DCE-MRI-Methoden mit niedrigmolekularen Substanzen als Kontrastmittel unter experimentellen Bedingungen zur Quantifikation der Nierenrindenperfusion verwendet. Diese Substanzen werden glomerulär frei filtriert und tubulär weder resorbiert, noch sezerniert. Dieses impliziert, dass eine Fraktion des Kontrastmittels bereits während der ersten Perfusion das Gefäßbett verlässt. Demzufolge ist der medulläre Signalanstieg während der ersten Perfusion ein Attribut des Kontrastmittels, welches das Nierenmark über die Blutgefäße, aber ebenso über die Nierentubuli und das Kelchsystem erreicht. Aus diesem Grunde ist die quantitative Messung der Nierenmarkspfusion bis jetzt noch sehr ungenau. Als eine gegenwärtig zur Verfügung stehende Untersuchungsmöglichkeit für die Nierenmarkspfusion haben sich blood-oxygen-level-dependent (BOLD) – MRI-Bildgebungen als Ersatzmarker für die Nierenmarkspfusion etabliert. Sie liefern jedoch nicht absolute Blutflusswerte in ml/min/100 cm<sup>3</sup>-Gewebe, sondern R<sub>2</sub>-Werte, die nur indirekt die medulläre renale Perfusion reflektieren. Im Weiteren neigen BOLD-Messungen zu Bildartefakten und liefern generell keine stabilen Sequenzen (Ludemann, Nafz et al. 2009).

Eine verlässliche nichtinvasive Methode zur Quantifikation der Perfusion von sowohl Nierenrinde und Nierenmark kann demzufolge nur etabliert werden, wenn ein intravaskuläres Kontrastmittel verwendet wird. Gadovosveset (Vasovist<sup>R</sup>, BayerScheringPharma, Berlin, Deutschland) ist zurzeit das einzige EMEA (europäische Arzneimittelagentur)-geprüfte intravaskuläre Kontrastmittel, das aufgrund seiner starken aber flüchtigen Plasmaalbuminbindung intravaskulär verbleibt. Diese pharmakokinetischen Eigenschaften prädestinieren Gadovosveset für die Anwendung bei der DCE-MRI der Nieren. In ersten Tierstudien wurde Gadovosveset dazu benutzt, den Nierenrindenfluß zu

berechnen. Das Ziel dieser Tierstudie war es, getrennt die Realisierbarkeit der Perfusionsquantifikation von Nierenrinde und Nierenmark durch DCE-MRI unter Verwendung von Gadovosveset darzustellen.

## **3 Methoden und Material**

### **3.1 Allgemeine Versuchsbeschreibung**

#### **3.1.1 Versuchstiere**

Es wurden insgesamt 18 weibliche Schweine untersucht. Sie waren zwischen 16 und 22 Wochen alt und wogen im Mittel 55 kg. Bei den verwendeten Tieren handelte es sich nicht um eigens für Tierversuche gezüchtete Tiere, sondern sie stammten allesamt aus landwirtschaftlicher Produktion. Sie erhielten das normale, in der Schweinemast übliche Futtermittel (CLUB ZSK, „Alleinfuttermittel für Sauen“, Club-Kraftwerke Hamburg). Durch eine klinisch-tiermedizinische Untersuchung wurde festgestellt, dass die Tiere gesund waren und in ihrer Anamnese keine kardiovaskulären oder renalen Erkrankungen aufwiesen. Die Regeln des Tierschutzes wurden berücksichtigt, den Versuchen ging ein umfassendes Genehmigungsverfahren voran und es wurde gemäß den Regeln des LAGetSi (Landesamt für Arbeitsschutz, Gesundheitsschutz und technische Sicherheit Berlin) verfahren. Die Versuche wurden von diesem Amt, Abteilung VB1 unter der Bearbeitungsnummer G 0152/06 registriert und genehmigt.

Die ersten sieben Experimente dienten zur Festlegung des Ablaufes von den Operationen und Narkosen sowie zur Findung der MRT-Sequenzen und deren Optimierung. Es wurde in diesen ersten sieben Versuchen ein allgemeines Versuchsprotokoll (s. 3.2) erstellt, nach dem dann die weiteren

Versuche durchgeführt wurden. So war es wichtig, das chirurgisch-anästhesiologische Prozedere festzulegen und eine visuelle Einschätzung der Nieren einschließlich Gefäßversorgung vorzunehmen. Auch der Transport der narkotisierten Tiere ins MRT bedurfte der Planung, da zwischen Operationssaal und der Untersuchungseinheit ein längerer Weg von ca. zwei Kilometern durch ein unterirdisches Tunnelsystem zurückgelegt werden mußte. Weiterhin wurden im MRT die notwendigen Meßparameter festgelegt (MRT-Sequenzen, Kontrastmitteldosis, Perfusionsmessungen) und die Reproduzierbarkeit der MR-Perfusionstechnik ermittelt. Zum Versuchsende wurden die Tiere getötet, sodann in den Operationstrakt zurücktransportiert um die Nieren zu explantieren und zu wiegen (s. 3.2.13). Als Ausschlußkriterium galten Gefäßanomalien der Nierengefäße beider Nieren, die eine korrekte Platzierung der Dopplersonde und somit die Messung des RBF unmöglich machten. Dieses kam insgesamt einmal vor. Traten Gefäßanomalien, wie zum Beispiel eine sehr frühe Aufteilung der Nierenvene, nur einseitig auf, wurde die kontralaterale Niere als Experimentalnieren verwendet. Bei achtzehn untersuchten Schweinen wurde insgesamt zwölfmal die rechte Niere untersucht und sechsmal die linke Niere. Im Folgenden wird die Experimentalnieren, welche für die Flußmessungen verwendet wurde als die ipsilaterale, und die andere als die kontralaterale Niere bezeichnet. Dieses wurde durch den Versuchsleiter so festgelegt, um die elektronische Datenbearbeitung zu vereinfachen.

### 3.1.2 Prämedikation und Narkoseeinleitung

Bis zum Zeitpunkt der Prämedikation hatten die Versuchstiere freien Zugang zu Wasser, konnten also trinken nach Bedarf, was den Vorteil hatte, dass zu Versuchsbeginn eine gute Hydratationszustand und Normovolämie bestand. Feste Nahrung, in diesem Falle das in der Schweinemast übliche Futtermittel (s. 3.1.1.) wurde bis 12 Stunden vor Anästhesiebeginn zugeführt. Die Prämedikation wurde 30 Minuten vor Narkoseeinleitung intramuskulär appliziert und beinhaltete die folgenden Medikamente: Azaperon 5 mg/kg/KG (Stresnil, Janssen-Cilag GmbH, Deutschland), Atropinsulfat 0,03 mg/kg/KG (Atropinsulfat, Braun Melsungen, Deutschland), Ketamin 10 mg/kg/KG (Ursotamin, Serumwerk Bernburg AG, Germany) und Xylazinhydrochlorid 5 mg/kg/KG (Rompun 2%, Bayer Vital GmbH, Deutschland). Die Prämedikation wurde, um die Tiere nicht zu beunruhigen in ihrer gewohnten Umgebung, ihrem Stall appliziert. Dadurch hatten die Tiere wenig Stress und waren zum Zeitpunkt der Narkoseinduktion ruhig, auch die Narkoseführung war einheitlicher und es gab weniger stressbedingte Interferenzen durch einen andererseits möglicherweise erhöhten Sympatikotonus. 30 Minuten nach erfolgter Applikation wurden die Tiere in den OP-Vorraum zur Narkoseeinleitung verbracht. Hier wurden zwei venöse Zugänge platziert, und zwar jeweils eine 18 G-

Kunststoffkanüle in eine Vene des rechten und linken Ohres. Nach sodann erfolgter intravenöser Narkoseinduktion mit Propofol 10mg/kg/KG (Propofol, Braun Melsungen AG, Germany) wurden die Schweine in Rückenlagerung verbracht und orotracheal intubiert (HI-Lo Lanz, I.D. Malinckrodt, Irland). Danach erfolgte noch im OP-Vorraum die Fortführung der Anästhesie inhalativ mit Isoflurane (Beatmungsparameter s. 3.1.3.). Seitens der Tierpfleger wurden die Tiere jetzt rasiert und zur kontinuierlichen Messung der Urinausscheidung platzierte man einen Blasendauerkatheter (Thiemann, 14 Chariere). Danach erfolgte der Transport in den Operationssaal vermittels des fahrbaren Operationstisches.

### 3.1.3 Narkoseaufrechterhaltung

Im weiteren Verlauf der Narkose erfolgte volumenkontrollierte Beatmung durch den Ventilator 711 (Siemens, Deutschland) mit einem Atemzugvolumen von 10 ml/kg/KG und einer Atemfrequenz von 14-18, so daß die Tiere normoventiliert wurden, kapnographisch wurde ein expiratorischer CO<sub>2</sub>-Wert von 35-40 mmHg angestrebt. Zum Erreichen einer pulsoximetrisch gemessenen peripheren Sauerstoffsättigung (SAO<sub>2</sub>) von >95 % wurde mit FiO<sub>2</sub> 0,5 und einem positiv endexpiratorischen Druck (PEEP) von 5 cm/H<sub>2</sub>O beatmet. Lachgas kam nicht zur Anwendung um eine mögliche dadurch induzierte Darmausdehnung, was wiederum den Operationssitus verschlechtert hätte, zu verhindern. Die Narkose wurde inhalativ unterhalten mit Isoflurane (Forene, Abbott GmbH & Co. KG, Deutschland)(W. Forth 2001) in einer Konzentration von 1,5-2,0 Vol.% in Kombination mit repetitiven Dosen Fentanyl (Fentanyl, Janssen-Cilag GmbH, Deutschland)(W. Forth 2001), jeweils 0,1-0,2 mg/h als Bolusinjektionen. Zur Muskelrelaxierung wurde Pancuroniumbromid (Pancuronium Organon, Organon GmbH, Deutschland)(W. Forth 2001) appliziert, und zwar 2-4 mg/h ebenfalls als Bolusinjektionen. Dieses Procedere sowie die im Folgenden erarbeiteten Narkose- und Operationsbedingungen wurden identisch in den endgültigen Protokollen zur Anwendung gebracht.

Zur sicheren Überwachung des arteriellen Blutdruckes wurde eine invasive Blutdruckmessung angelegt, und zwar durch Kanülierung der rechten Art. carotis mit einem Polyurethankatheter (Heidelberg extension, Fresenius Kabi, Germany) nach Inzision der rechten Halsregion (s. 3.1.4). Zum weiteren Monitoring der Vitalparameter wurden folgende Kriterien permanent überwacht: Kontinuierliche Messung der expiratorischen CO<sub>2</sub>-Konzentration und deren graphische Darstellung (Kapnographie), Narkosegaskonzentration im in- und expiratorischen Gasgemisch, Messung der Körpertemperatur vermittels rektaler Sonde, Urinausscheidungskontrolle via Dauerkatheter,

angestrebt war hier eine Harnmenge von mindestens 1ml/kg/KG/h. Weiterhin wurden regelmäßig Blutgasanalysen, Elektrolytkontrollen, Hämoglobin,- und Blutzuckerkontrollen durchgeführt, um mögliche metabolische Instabilitäten frühzeitig zu erkennen und gegebenenfalls gegenwirken zu können.

Zusammenfassung des zur Anwendung gekommenen Monitorings: SaO<sub>2</sub>-Messung, volumenkontrollierte Beatmung, Kapnometrie, bzw. Kapnographie, Kanülierung A. carotis und kontinuierliche invasive Blutdruckmessung, Körpertemperatur, Urinausscheidungskontrolle via Dauerkatheter, arterielle Blutgasanalysen, 2 venöse Zugänge jeweils re. U. li. Ohr, balancierte Anästhesie in Intubation, Protokollierung der Basisdaten im Narkoseprotokoll.

### 3.1.4 Chirurgisches Procedere (Narkose, arterielle Kanülierung, Dopplersondenimplantation, Nierendenervierung)

Alle, den Messungen vorangehenden chirurgischen Maßnahmen wurden unter aseptischen Kautelen in einem klimatisierten Operationssaal durchgeführt.

Wie oben bereits beschrieben, wurde zur sicheren Überwachung des arteriellen Blutdruckes im Operationssaal zunächst eine invasive Blutdruckmessung operativ angelegt, und zwar durch Kanülierung der Art. carotis interna dextra mit einem Polyurethankatheter (Heidelberg extension, Fresenius Kabi, Germany) nach Inzision der rechten Halsregion. Die Freilegung der Arteria carotis interna erfolgt durch arteriae sectio, das heißt nach einer ca. 10 cm langen Hautinzision der rechten Halsregion erfolgte die stumpfe Präparierung der Art. carotis interna unter Schonung der sie umgebenden anatomischen Strukturen wie Venen, Muskeln und Nerven. Nach Auffinden der Arterie wurde diese zunächst mittels einer Naht nach distal fixiert und sodann nach proximal kanüliert. Die Arterie wurde nun ebenfalls mit dem sich in ihr befindlichen Katheter durch einen Faden an der Haut fixiert. Der arterielle Blutdruck wurde kontinuierlich gemessen. Das für die Messung notwendige Setup bestand aus:

1. arteriellem Katheter, gefüllt mit 0,9% NaCl-Lösung
2. Druckwandler auf Herzhöhe
3. Analogverstärker
4. AD (Analog-Digital) -Wandlung
5. Speicherung der digitalisierten Daten (Computer mit Monitor, AT-kompatibel)

Die Flüssigkeitssäule im arteriellen Katheter übertrug den Blutdruck des Tieres auf die Membran des Druckwandlers. Diese war durch eine dünne Silikonmembran von der Flüssigkeitssäule im Dom des Druckwandlers getrennt. Beide Membranen lagen sich direkt an, um so eine direkte Verbindung zu schaffen ohne dass die Flüssigkeit mit der Metallmembran in Berührung kam. Auf der anderen Seite war die Metallmembran mit einem Siliziumchip verbunden, auf dem Widerstände in Form einer Wheatstonebrücke angeordnet waren. Die Funktion dieses Systems beruht auf dem Prinzip, dass sich aufgrund des einwirkenden Blutdrucks die Widerstände und damit proportional auch die anliegende Spannung änderten. Von dort wurden Analogsignale über einen Verstärker (Gould, Model 13-4615-520) geleitet, danach digitalisiert und auf dem Monitor als fortlaufende Blutdruckdarstellung mit zugehörigem Mittelwert angezeigt. Der Computer speicherte die Werte fortlaufend auf der Festplatte mit einer Abtastfrequenz von 20 Hz (= 10 Messungen pro Sekunde. Vorgeschaltet war ein analoges Tiefpassfilter mit einer Eckfrequenz von 10 Hz zur Vermeidung von Aliasingeffekten).

Die Geräte wurden vor jeder Messung abgeglichen. Die Kalibrierung des arteriellen Druckaufnehmers erfolgte über einen Nullpunktgleich des sich auf Höhe des Herzens befindenden Druckaufnehmers mit dem Umgebungsluftdruck. Mit einem Quecksilbermanometer erfolgte danach ein Abgleich des Verstärkungsfaktors, wobei ein Druck von 100 mm/Hg und 200 mm/Hg auf den Druckaufnehmer gegeben wurde. Zuletzt wurde der Nullpunkt nochmals kontrolliert und bei Bedarf korrigiert.

### 3.1.5 Medianlaparatomie

Die Eröffnung des Abdomens der Versuchstiere erfolgte via Medianlaparatomie, die Tiere waren dazu in Rückenlage gelagert. Selbstverständlich wurde das gesamte chirurgische Procedere unter sterilen Kautelen durchgeführt. Das gesamte Darmkonvolut wurde in feuchte, in warmer physiologischer Kochsalzlösung getränkte Tücher gehüllt und ausgelagert. Nun konnte man die Nieren darstellen und die Nierenarterie und Nierenvene freipräparieren. In den meisten Fällen kam die rechte Niere zur Anwendung, in einigen Fällen jedoch verästelten sich die Nierengefäße derart, dass die später zu platzierende Flußsonde nicht ordnungsgemäß den Nierenfluß hätte messen können. In diesen Fällen fand die linke Niere Anwendung. Lediglich bei einem Versuchstier (Schwein Nr. 7) konnte weder bei der rechten, noch bei der linken Niere eine ordnungsgemäße Messung aufgrund der anatomisch besonderen Gefäßanlage durchgeführt werden, so dass dieser Versuch abgebrochen werden musste. In allen anderen Fällen waren die Messungen möglich. Im Versuchsprotokoll wurde die Niere, bei der der Nierenfluß gemessen werden konnte, egal ob es sich hierbei um die linke oder

rechte Niere handelte, als ipsilaterale Niere bezeichnet und die andere als kontralaterale Niere (vgl.oben).

### 3.1.6 Probeweise Platzierung der Flußsonde

Nach Freipräparierung der Nierengefäße der Experimentalniere konnte nun zunächst probeweise eine Ultraschall Dopplersonde (Type 4RB MRI-compatible, Transonic Systems Inc. Ithaca, NY, USA)(Beschreibung 3.1.7.) an der Nierenvene angebracht werden. Hierbei handelte es sich um eine speziell für die Bedingungen der Magnetresonanztomographie konstruierte, also metallfreie Sonde. Konnte der Nierenfluß (RBF = renaler Blutfluß) einwandfrei gemessen werden, erfolgte der nächste Arbeitsschritt.

### 3.1.7 Denervierung der Nierenarterie

Um Einflüsse des vegetativen Nervensystems via Sympathikus auf die Nierenfunktion (RBF, GFR, Reninfreisetzung) bei versuchsbedingter Nierenflußreduktion zu verhindern, wurde eine Denervierung der Experimentalniere durchgeführt: Nach dem Entfernen von gefäßumgebendem Gewebe und sichtbaren Nervenfasern wurde die Nierenarterie mit einer Phenollösung (Phenol 5% in Äthanol) eingestrichen. Nach Entfernung von gefäßumgebendem Gewebe und Durchtrennung aller sichtbaren Nervenfasern inklusive der Darstellung von Nierenpol und Nierenbecken, an dem es mitunter akzessorische Nerveneintrittsstellen gibt, wurde die Nierenarterie mit einer Phenollösung (Phenol 5% in Äthanol) eingestrichen.

Sodann wurde eine spezielle Ultraschall Dopplersonde (Type 4RB MRI-compatible, Transonic Systems Inc., Ithaca, NY, USA) perivaskulär um die Nierenvene herum platziert. Mit ihr war es möglich den absoluten renalen Blutfluß (RBF) zu ermitteln. Nach dem Ultraschall-Doppler-Prinzip wurde der Laufzeitunterschied über eine gegebene Distanz zwischen einer mit und einer gegen die Flussrichtung gerichteten Schallwelle gemessen. Diese Messmethode ist unabhängig von der Größe des Gefäßes und benötigt zum Anlegen des Flussmesskopfes keine Konstriktion der Arterie. Der Messkopf besteht aus zwei Transducern und einem gegenüberliegenden akustischem Reflektor, wobei das gemessene Gefäß zwischen Transducern und Reflektor zu liegen kommt. Über einen gleichmässig breiten (quaderförmigen) strahldivergierenden Ultraschallkegel war es möglich, das gesamte Fenster des Sensors unter Einschluss des vollen Gefäßquerschnittes zu beschallen. Über die zwei Transducer wurden das Gefäß und das umliegende Gewebe sowohl stromaufwärts als auch stromabwärts von einem Schallimpuls durchdrungen und die benötigte Zeit vom Transducer



zum Reflektor und wieder zurück berechnet. Die für diesen Vorgang erforderliche Zeit ist abhängig von dem sich im Gefäß bewegendem Blut. Gemessen wurde: 1. Messung des Frequenzshifts unter Nutzung des Doppler-Effektes, der in jedem Punkt des Schallfensters ein Maß für die Geschwindigkeit des Blutes ist. 2. Integration des erfassten Strömungsprofils über das Schallfenster und dadurch Feststellung der durchströmten Fläche inklusive der vektoriellen Integration. 3. Berechnung der Durchblutung aus 1 und 2.

Um Störungen, hervorgerufen durch Kabel und Flußsonde auf die MRT-Perfusionsmessung zu minimieren, wurde die Flußmessung nicht an der Nierenarterie, sondern an einem mehr distal gelegenen Abschnitt der Nierenvene durchgeführt. Dieses Vorgehen war möglich, obwohl bekannt ist, dass der RBF der Nierenvene sich geringfügig von dem der Nierenarterie unterscheidet, und zwar um das Harnzeitvolumen, was sich um ca. 0,5 bis 2 ml/min. beläuft. In Anbetracht der Schwankungen der gemessenen Flußraten (Tabelle 2) erscheint diese RBF- Verminderung der Nierenvene vernachlässigbar.

Die Kalibrierung des Flussmessgerätes erfolgte auf 0 ml/min. Das Gerät erhielt einen internen elektrischen Standard mit dem die während der Abgleichung gemessenen Werte verglichen wurden um die Abgleichungen bei verschiedenen Versuchen miteinander vergleichen zu können. Diese Kalibrierung fand vor jeder Messung an den narkotisierten Versuchstieren statt.

### 3.1.8 Platzierung der Nierenart.-Drossel

Am Ursprung der Nierenarterie an der Aorta abdominalis wurde eine von extrakorporal regulierbare metallfreie Arterienklemme (im Weiteren Arterien-drossel genannt) platziert, die eigens für diese Experimente konstruiert wurde. Die Anwendung einer solchen Drossel im Zusammenhang mit Nierenflußmessungen im MRT wurde bislang noch nicht beschrieben. Hiermit war es möglich während der MR-Messungen den mittleren RBF mit hoher Präzision auf verschiedene Werte hin einzuregulieren und dort konstant zu halten. Nach der ordnungsgemäßen Platzierung der Drossel wurde ihre korrekte Funktion durch Flußmessungen bei Flußreduktion auf 60%, 40% und 20% des Ausgangs-RBF überprüft. Letztlich wurden die zuführenden Kabel der Flußsonde und der Arterien-drossel durch subkutane Untertunnellung geführt und durch die Abdominalwunde nach außen geleitet. Sie wurden durch Naht und Patch fixiert. Dann erfolgte der Abdominalwundverschluß durch fortlaufende mehrschichtige Nähte. Nun wurden die Tiere, jetzt für die Zeit des Transportes in intravenöser Vollnarkose zur MRT-Einrichtung verbracht.

### 3.1.9 Transport ins MRT

Da das Röntgeninstitut ca. zwei Kilometer vom Tierlabor entfernt war und der erforderliche Transport aus ethischen Gründen nicht über Tage durchgeführt werden konnte, war es notwendig, das narkotisierte Tier durch ein verzweigtes Tunnelsystem zu transportieren. Zudem fanden die Versuche größtenteils bei niedrigen Außentemperaturen statt, so dass die Tiere auch vor Auskühlung zu schützen waren. Auch die Narkoseführung während des Transportes musste geändert werden, da die üblichen Narkosegeräte hier nicht zur Verfügung standen weil sie einer zentralen Gasversorgung bedurften und somit auch nicht transportabel waren.

Um der Auskühlung vorzubeugen wurden die Tiere in Wärmedecken gehüllt, die Temperaturmessungen ergaben nach Transport kein wesentliches Absinken der Körpertemperatur. Die Narkose wurde jetzt intravenös fortgeführt mit repetitiven Applikationen von Propofol (Propofol, Braun Melsungen AG, Germany) und Fentanyl (Fentanyl, Janssen-Cilag AG, Germany) und zwecks weiterer Relaxierung mit Pancuroniumbromid (Pancuronium, „Organon“, Organon GmbH, Germany). Die Beatmung wurde manuell durchgeführt vermittels eines Atembeutels. Die zur Kontrolle nach Transportende durchgeführten Blutgasanalysen zeigten jeweils ausreichende Oxygenierung (es konnte ja während des Transportes „nur“ mit Luft, also einem Sauerstoffanteil von 21 % ( $\text{FiO}_2$  0,21), im Gegensatz zu vorher mit 50 % beatmet werden) und Normoventilation. Somit war bewiesen, dass die Tiere durch die manuelle Beatmung in keiner Weise während des Transportes gefährdet waren. Auch die Herzfrequenz und der arteriell gemessene Blutdruck waren nach Transportende im Normbereich.

### 3.1.10 Durchführung der Messungen im MRT

Vor allem während der ersten Vorversuche galt es einen auch unter MRT-Bedingungen stabilen Versuchsablauf zu etablieren und zu optimieren. Dazu war es notwendig auch hier stabile Narkosebedingungen zu erzielen. Das Funktionsprinzip des MRT machte es notwendig, jegliches Metall aus der Umgebung des Tomographen fernzuhalten. Das bedeutete, dass übliche Respiratoren und Narkosegeräte sich nicht im MRT-Raum befinden durften, da sie alle metallhaltig sind. Zunächst stand uns ein speziell für Tieranästhesie hergestellter Respirator (ADS 1000, Engler engineering corporation, Hialeah, Florida, USA) zur Verfügung. Er war zugelassen für die Tieranästhesie von Tieren bis zu 60 kg/Körpergewicht. Desweiteren bestand er größtenteils aus Kunststoff und es war möglich einen Isofluraneverdampfer anzuschließen, so dass man jetzt wieder wie während der OP-Phase

eine Inhalationsanästhesie durchführen konnte. Ein großer Nachteil bestand darin, dass sich während der Versuche ein Mitglied der Arbeitsgruppe im MRT-Raum befinden musste, um die kontinuierliche Anpassung und Optimierung der Narkose gemäß den Versuchsbedürfnissen zu steuern. So musste während der Messungen, die jeweils in Atemstillstand erfolgten um atmungsbedingte Bewegungsartefakte zu vermindern, die Beatmung entsprechend angepasst werden und an- und abgeschaltet werden. Aufgrund der Lautstärke des Tomographen musste ein Gehörschutz getragen werden, dadurch wiederum war die Kommunikation mit den im Regieraum des MRT befindlichen Kollegen, die von dort jeweils die Befehle zum Atemstillstand geben mussten, sehr schwierig.

Zudem zeigten Blutgasmessungen während der Vorversuche eine deutliche respiratorische Azidose mit pH-Verminderung bis auf 7,11 mit pCO<sub>2</sub>-Wert von 100 mmHg bei Schwein 7, was bewies, dass die Beatmung insuffizient war. Das Protokoll wurde daraufhin geändert. Bei den folgenden Versuchen wurde ein anderer Narkoseapparat benutzt. Es handelte sich um einen Narkosegerät der Bauserie „Sulla“ der Firma Drägerwerke Lübeck, Deutschland, womit sich gute Blutgase für die Dauer der Messungen und darüber hinaus einstellen ließen. Da er sich außerhalb des MRT-Raumes befand, musste er für die Versuche dahingehend modifiziert werden, als dass die zum Versuchsschwein zu- und abführenden Atemschläuche jeweils um 3,5 m verlängert werden mussten. Befürchtungen, dass aufgrund der Beatmungsschlauchdimensionen Beatmungsprobleme entstünden, bestätigten sich nicht. Die Blutgasmessungen sowohl als auch die Kapnometrie (Messung des expiratorischen CO<sub>2</sub>-Anteils) zeigten Normoventilation. Dies bedeutete, dass die Beatmung mit diesem Respirator jetzt suffizient war. Auch die vorher bei den teilweise bis zu drei Minuten dauernden Atemstillstände während der MRT-Messungen zu beobachtenden Kreislaufdepressionen traten jetzt nicht mehr auf.

### 3.1.11 Durchführung der Versuche

Zur Überwachung der Versuchstiere während der sich nun anschließenden Experimente wurde als Standard folgendes Monitoring implementiert: 1. kontinuierliche Überwachung von art. Blutdruck und Herzfrequenz, Beatmungsparameter und Kapnometrie. 2. Messung der Blutgase, jeweils nach Transport bei Ankunft im MRT, einmal nach längerem Atemstillstand während der Messungen und einmal zum Versuchsende vor Tötung der Tiere. Die Narkose wurde als balanced Anästhesia aufrechterhalten, das heißt inhalativ wurde Isofluran zugeführt und intravenöse Anästhetika wie Fentanyl, Propofol und Pancuronium wurden in den Meßpausen im MRT nach Bedarf direkt in die, in den Ohrvenen platzierten Teflonkanülen injiziert. (s.o.). Die MR-Messungen wurden nun, wie unter den Punkten 3.3 bis 3.6 beschrieben durchgeführt. Die Zeitdauer für die MRT-Experimentalphase belief sich auf jeweils ca. drei Stunden.

### 3.1.12 Setup im Messraum und MRT-Technik

Im MRT-Raum wurde eine 8-Kanalherzoberflächenspule (GE Healthcare Technologies, Milwaukee, WI, USA) auf dem Abdomen des Schweines befestigt. Da sämtliche Metallteile in der MRT-Einheit verboten sind (s.o.), befanden sich die Überwachungseinheiten (Flußsondenmonitor und Vitalparameterüberwachungseinheit) in einem Nebenraum. Die Kabel der Flußsonde und der Arteriendrossel, sowie arterielle Druckmeßschläuche und zu- und abführende Beatmungsschläuche wurden durch eine Wandöffnung aus dem MRT-Raum ausgeleitet. Von hier aus wurden die Tiere beatmet und die Inhalationsnarkose wie oben beschrieben gesteuert. Zur Messung des RBF diente das bereits oben beschriebene T206-Flowmeter (Transonic Systems Inc. Ithaca, NY, USA). Das pulsatile Signal der Flußsonde und des arteriellen Blutdruckes wurden auf einem Personal Computer digitalisiert und gespeichert mit einer Abtastfrequenz von 20 Hz. Um Überlagerungen und Interferenzen mit dem MRT zu vermeiden wurden alle analogen Signale vor der Digitalisierung gefiltert (s.o.). Alle Daten, die zwei Minuten vor der MRT-Perfusionsmessung und zwei Minuten danach ermittelt wurden, dienten zur Kalkulation eines mittleren Basiswertes. Nach einer Stabilisierungsphase von ca. 30 bis 60 Minuten mit Monitoring von HF, BP und RBF wurden die hämodynamischen Daten inclusive des RBF gespeichert. Danach wurde der RBF mittels Nierenarteriendrossel schrittweise reduziert und während der MRT-Perfusionsmessungen konstant gehalten. Die Flußreduktion wurde in den Stufen 60%, 40% und 20% bezogen auf den Ruhefluß, der am Ende der Stabilisierungsphase vorlag, vorgenommen. Nach jeder Flußreduktion und einer kurzen Stabilisierungsphase von ca. 3 – 5 Minuten wurde dann die DCE-MRT durchgeführt um die renalen Perfusionsparameter zu messen (Details weiter unten). Am Ende einer Meßsequenz wurde die Drossel komplett geöffnet und der RBF wurde erneut gemessen. Bei jedem Schwein führte man vier Perfusionsmessungen durch, jeweils mit einer Pause von 20 Minuten zwischen den Anwendungen (Ludemann, Nafz et al. 2009).

Für die Durchführung der MR-Tomographien stand ein 1,5 Tesla TwinSpeed Ganzkörper-Kernspintomograph mit 60 cm Innendurchmesser (GE Healthcare Technologies, Milwaukee, WI, USA) zur Verfügung, dies bedeutete das die Gradientenspule fähig war bis zu einer Gradientenstärke von 40 mT/m mit einer Anstiegsrate von 150 T/m/s im Linsenmodus des 1,5 T TwinSpeed Systems umzuschalten. Für die Signalanregung wurde eine Ganzkörper RF Spule benutzt. Der Signalempfang erfolgte durch die 8-Kanalherzoberflächenspule (GE Healthcare Technologies, Milwaukee, WI, USA). Bei allen Messungen bestand Atemstillstand. Die Projektion war coronal mit einem Gesichtsfeld von 460 mm.

Vor den Perfusionstomographien wurden ohne Kontrastmittel 2D-Tomographien erstellt, um das totale renale Volumen zu berechnen und um bei der Auswertung die unterschiedliche Zuordnung der

Voxel zwischen anatomischer Struktur und Perfusion vornehmen zu können. Hierfür benutzte man eine  $T_1$ -gewichtete gespoilte Gradientechosequenz mit Fettsättigung (SPGR) mit TE 2,4 ms, TR 165 ms, Schichtdicke 5 mm, ohne Zwischenabstand, 16 Schichten, Akquisitionsmatrix 256x256, Rekonstruktionsmatrix 512x512, Pixelbandbreite mit 127,2 Hz, Anregungswinkel 80 Grad und eine  $T_1/T_2$ -gewichtete Sequenz mit frei Präzession im Gleichgewichtszustand (Steady state free processing Sequenz (SSFP)) mit den folgenden Parametern: TE 1,68 ms, TR 6,97 ms, Schichtdicke 5 mm, ohne Zwischenabstand, 16 Schichten, Akquisitionsmatrix 256x256, Phase FOV 0,75, Rekonstruktionsmatrix 512x512, Pixelbandbreite 488,3 Hz, Anregungswinkel 55 Grad. Diese Sequenzen ermöglichten eine regionale volumetrische Segmentierung von Nierenrinde und Nierenmark für die Berechnung des regionalen BF. Die benutzte Amira-Software ermöglichte die Segmentierung aufgrund der anatomischen Tomographien. Mit den  $T_1$ -gewichteten Tomographien war die Differenzierung zwischen Medulla und Cortex am besten, mit den SSFP-Tomographien die Differenzierung zwischen Medulla und Nierenbecken (s. Bild 4) (Ludemann, Nafz et al. 2009).

Jeder dynamische Scan begann mit einem Satz von fünf 3D  $T_1$ -gewichteten Gradientechosequenzen (GRE), die sich nur in den Anregungswinkeln unterschieden ( $\alpha = 2^\circ, 5^\circ, 10^\circ, 20^\circ$  und  $30^\circ$ ). TE war =0,88 ms, TR 2,65 ms, Schichtdicke 8,8 mm, 4 Schichten, Akquisitionsmatrix 128x 128, Phase FOV 0,62, Rekonstruktionsmatrix 256x256 und Pixelbandbreite 976,6 Hz in vier Durchgängen. Dieses Procedere erlaubte die Kalkulation von 3D Parameterbildern der intrinsischen longitudinalen Relaxationsrate der intrinsischen longitudinalen Parameterkarten ( $R_{10}$ ) und der Magnetisierung ( $M_0$ ) in Übereinstimmung mit dem von Li et al beschriebenen Protokoll, wie es von ihm zur Quantifizierung der 4D Karten der Änderung der Relaxationsrate (4D Relaxation rate change maps) ( $R_1(t)$ ) benutzt wurde (Li, Brophy et al. 2000).

Nachdem diese Bilder erstellt wurden, erfolgten die dynamischen 3D  $T_1$ -gewichteten Gradientechotomographien mit denselben Parametern und einem Anregungswinkel von 30 Grad, halbe Fourierabtastung, 1 Durchgang, 64 Bilder, mit einem Zeitintervall von 1,65 s zwischen den einzelnen Bildern und einer Gesamtdauer von 105,6 s. Zur Kontrastierung wurde ein Bolus von 3 ml des an Albumin bindenden intravaskulären Kontrastmittels Gadofosveset trisodium (0,25 mmol/ml, Vasovist<sup>R</sup>, Bayer Schering Pharma AG, Berlin, Deutschland) in eine Ohrvene durch die 18 G-Kanüle injiziert, und zwar mit einer Injektionsgeschwindigkeit von 3 ml/s. Im Anschluß wurden 20 ml NaCl, 0,9 % mit derselben Injektionsrate injiziert. Die Infusion wurde simultan mit der fünften 3D Darstellung mittels Druckinfusion (Power Injector Spectris Solaris, Medrad, PE, USA) durchgeführt.

### 3.1.13 Versuchsende

Nach Abschluß der MR-Messungen wurde abschließend nochmals eine Blutgasanalyse erhoben, um zu untersuchen, ob die Versuchstiere sich bis zum Versuchsende in einem stabilen metabolischen Zustand befanden, was ausnahmslos der Fall war. Nach Vertiefung der Narkose mit Isoflurane, Fentanyl und Propofol (Medikamentenbeschreibung s.o.) erfolgte jetzt die Tötung der Tiere noch im MRT-Raum durch die schnelle intravenöse Applikation von 80 ml Kaliumchlorid 7,45 %, entsprechend 80 mmol Kaliumchlorid (Kaliumchlorid-Köhler 7,45 %, Dr. Franz Köhler Chemie GmbH, Neue Bergstraße 3-7 64665 Alsbach-Hähnlein, Deutschland).

### 3.1.14 Rücktransport und Nierenexplantation

Zum Abschluß des Experimentes erfolgte der Rücktransport des Tieres in den tiermedizinischen Operationssaal. Hier wurden alle implantierten Instrumente (Dopplerflußsonde, Nierenarteriendrossel, venöse und arterielle Zugänge, Trachealtubus, Dauerkatheter) wieder explantiert und geborgen. Außerdem erfolgte die Explantation beider Nieren zur Feststellung der Gewichte. Die Nieren wurden vermittels Längsschnitt eröffnet um die Nieren und die Schnittflächen makroskopisch zu beurteilen und so Hinweise auf z. B. Infarkte, Vorschädigungen oder ähnliches zu erhalten und gegebenenfalls diese Tiere ausschließen zu können. Zuletzt wurde die Bauchdecke situativ verschlossen und der Kadaver ordnungsgemäß entsorgt.

## 3.2 Protokoll

Für die MRT-Untersuchungen im Messraum wurde folgendes Protokoll erstellt, nach dem bei allen Versuchen verfahren wurde:

1. Nach dem Anschluss der Versuchstiere im MRT an Narkosegerät und Meßaufnehmer, wie in 3.1.10 und 3.1.11 beschrieben, wurde im Rahmen einer Stabilisierungsphase von 30 bis 60 Minuten abgewartet, bis sich Blutdruck, Herzfrequenz und RBF auf konstante Ruhewerte eingepegelt hatten. Sie wurden als konstant angesehen, wenn Herzfrequenz und RBF über einen Zeitraum von mindestens 5 Minuten keine Trends und kurzfristigen Abweichungen von mehr als  $\pm 10\%$  und der Blutdruck keine Schwankungen von  $\pm 5\%$  vom Mittelwert der vorhergehenden 5 Minuten aufwies. Direktwerte (Abtastfrequenz = 20Hz), Mittelwerte und Abweichungen davon wurden zu diesem Zweck zahlenmäßig und graphisch dargestellt.

2. Erstellung von nichtverstärkten 2D-Tomographien zur Ermittlung der anatomischen Strukturen (3.1.12) und zur Berechnung des totalen renalen Volumens
3. Akquirierung von fünf 3D T<sub>1</sub>-gewichteten Gradientenechobildern mit den unterschiedlichen Anregungswinkeln  $\alpha = 2^\circ, 5^\circ, 10^\circ, 20^\circ, 30^\circ$  (s. 3.1.12)
4. Erstellung der dynamischen 3D T<sub>1</sub>-gewichteten Gradient-Echotomographie (s. 3.1.12)
5. Neue RBF-Einstellung

Insgesamt erfolgte die Durchführung dieses Messzyklus viermal pro Versuchstier und zwar zunächst eine Ruhemessung und dann bei RBF-Reduktion auf 60%, 40% und 20% des mittleren Ruhe-RBF. Am Ende des Versuches wurde eine (in einigen Fällen auch mehrere) Messung mit geöffneter Drossel durchgeführt. Dadurch wurden „Hyperämiewerte“ erzielt, also RBF-Werte, die mitunter oberhalb des Ruhewertes lagen. Dadurch wurden die Korrelationsbereiche erweitert.

### **3.3 Volumetrie**

Zur Durchführung der Volumetrie und Evaluierung der Nierenperfusion wurde das Visualisierungspaket AmiraDev 4.1 (Mercury Computer Systems, Berlin, Germany) auf einer Debian Linux 64 Workstation benutzt. Die Merkmale von AmiraDev 4.1 wurden ergänzt durch die Generierung einer eigenen Auswertroutine und durch Anwendung der AmiraDev tools von dynamisch erworbenen Daten als dynamic link libraries in AmiraDev, die am Institut für Strahlentherapie der Charite, Campus Virchow-Klinikum-Berlin entwickelt wurde (Bild 4).

Mit Hilfe der morphologischen MR-Tomographien (T1-SPGR, SSFP) konnten beide Nieren getrennt voneinander segmentiert werden in Kortex, Medulla und andere Teile (Pyramiden, Kelche, etc.). Außerdem wurde dadurch der Volumenanteil dieser drei Segmente pro Niere eingeschätzt.

### **3.4 Untersuchung der renalen Perfusion im MRT**

Da die Schweine relaxiert und maschinell beatmet wurden, konnten die MR-Tomographien in Atemstillstand durchgeführt werden. Dadurch konnte erreicht werden, dass in der Mehrheit der Fälle keine oder nur vernachlässigbare Bewegungsartefakte nachweisbar waren. Eine Bewegungskorrektur wurde in sieben Fällen durchgeführt. Wesentliche Ursachen hierfür waren eine Atemverschiebbarkeit der Niere und der Aorta. Da Abdominalbewegungen durch die Atmung grundsätzlich elastisch sind, elastische Registrierungsmethoden jedoch derzeit praktisch nicht zur Verfügung stehen, wurde auf eine starre Registrierung zurückgegriffen. Zur Minimierung des Fehlers wurde die starre

Registrierung nur lokal angewendet. Die zu registrierenden Gebiete, die beiden Nieren bzw. der Aortenabschnitt können jeweils in erster Näherung als starre Region angesehen werden, so dass eine selektive starre lokale Registrierung für jede Region separat vorgenommen wurde. Zur Auswertung wurden nur die beiden Nieren und der proximale Abschnitt der Aorta für die arterielle Eingangsfunktion (AIF) benötigt. Bei der Untersuchung der Bilder zeigte sich, dass die Hauptbewegungsrichtung der interessierenden Regionen in apikaler/kaudaler Richtung erfolgt. Durch die gewählte koronale Schnittebene bei der Bildakquisition fand daher der überwiegende Teil der Bewegung in Schichtebene statt. Das ermöglichte eine weitere Vereinfachung der Korrektur der Atembeweglichkeit, die auf eine starre Registrierung in 2D reduziert werden konnte. Das Transformationsmodell bestand daher aus drei Parametern, zwei Translations-, und einem Rotationsparameter. Um ein möglichst genaues Referenzbild für die Registrierung zu erhalten, das als Basis diente, wurde ein Mittelwertbild verwendet. Als Referenz für die Registrierung, also als Basis für den eingefrorenen Zustand, diente für alle dynamischen Bilder ein rauschreduziertes Bild, das aus dem Mittelwert von 10 Bildern vor Kontrastmittelapplikation berechnet wurde. Als Ähnlichkeitsmaß für die Registrierung diente die NMI (normalized mutual information). Die Registrierung wurde für jedes Bild separat zwischen dem Referenzbild und dem später gemessenen Bild der dynamischen Bildakquisition vorgenommen. Jede der drei interessierenden ROIs (Region of Interest), ipsilaterale Niere, kontralaterale Niere und die abdominelle Aorta wurden aus dem dynamischen Scan ausgeschnitten, in jeweils einer Bilddatei abgespeichert und separat auf dem Referenzbild registriert. Anschließend wurden die bewegungskorrigierten Bilder wieder an der neuen berechneten Position in den dynamischen Datensatz hineinkopiert.

Jeweils ein Satz von fünf 3D  $T_1$ -gewichteten Gradient-Echotomographien mit verschiedenen Anregungswinkeln ( $\alpha = 2^\circ, 5^\circ, 10^\circ, 20^\circ$  und  $30^\circ$ ) für jeden dynamischen Scan wurde benutzt zur Kalkulation der intrinsischen longitudinalen Relaxationsrate in 3D (R10) und der Magnetisierungskarten (Mo) vor Kontrastmittelapplikation (Li, Brophy et al. 2000). Die Verteilungen der Relaxierungsrate (R10) und der Magnetisierungskarten (Mo) wurden zur Konvertierung der dynamischen bewegungskorrigierten Bilder in 4D Karten der Änderung der Relaxationsrate (R1(t)) verwendet (Li, Brophy et al. 2000).

Die Kalkulation der Perfusion basiert auf der Indikatorverdünnungstheorie, d.h. es wird gemessen wie schnell ein Indikator in ein Gewebe einfließt. Eine solche Messung kann jedoch nur erfolgen, wenn gleichzeitig auch die Zufuhr des Indikators in das Gewebe über die zuführende Arterie bekannt ist. Der Indikator wird jedoch periphervenös injiziert, so dass die effektive arterielle Eingangsfunktion (arterial input function, AIF) deutlich von der Injektionskurve abweicht. Zur Perfusionberechnung ist es daher notwendig, neben der Konzentrations-Zeit-Kurve des Indikators im



Gewebe auch die Konzentrations-Zeit-Kurve in der zuführenden Arterie zu kennen. Aufgrund des hohen Blutflusses sowohl in der Aorta als auch der zuführenden Nierenarterien ist davon auszugehen, dass die Konzentrations-Zeit-Kurven in beiden Gefäßen nahezu identisch sind.

Zur Berechnung der AIF wurden nur diejenigen Voxel herangezogen, die zweifelsfrei vollständig innerhalb der Aorta abdominalis lokalisiert waren. Da eine räumliche Auflösung gewählt worden war, die den Durchmesser der Aorta überstieg, konnten Partialvolumeneffekte auf die AIF vollständig verhindert werden. Das ausgewertete Volumen (Volume of Interest, VOI) der AIF bestand aus annähernd 200 Voxeln und umfasste ein Gesamtvolumen von annähernd  $3,1 \text{ cm}^3$ . Nachdem die AIF aus den dynamisch berechneten bewegungskorrigierten Bildern der Änderung der Relaxationsrate extrahiert worden waren, konnten die Perfusionstomographien voxelweise kalkuliert werden, wobei eine Singularwertzerlegung, wie von Ostergaard et al beschrieben, benutzt wurde (Ostergaard, Weisskoff et al. 1996).

Ziel der Experimente war es, eine MRT-Aufnahmetechnik und Auswertung zur lokalen Perfusionsquantifizierung zu entwickeln und zu validieren. Die Validation fand über den Vergleich der über der gesamten Niere integrierten Perfusion, dem totalen renalen Blutfluß (RBF), mittels des RBF gemessen mit einer Referenzmethode statt. Als Referenzmethode zur RBF-Messung diente eine Ultraschall-dopplersonde auf der abführenden Nierenvene.

Die dynamische Bildakquisition erlaubte jedoch aus zeitlich methodischen Gründen keine Komplettabdeckung der Niere. Es war daher notwendig die gemessene Nierenperfusion auf den Blutfluß für die gesamte Niere hochzurechnen. Aus diesem Grund wurde die Perfusion in der ipsi- und kontralateralen Medulla und Cortex separat gemessen. Die Ausdehnung der VOI wurde so gewählt, dass jeder visuell identifizierte Partialvolumeneffekt vermieden wurde. Innerhalb dieser VOI wurde die durchschnittliche Medulla- und Cortexperfusion in  $\text{ml/min}/100 \text{ cm}^3$  (Bild 5) ermittelt. Dann wurde mittels des Volumens und der durchschnittlichen Perfusion der Segmente der totale renale Blutfluß (RBF) extrapoliert in  $\text{ml/min}$ . Als vorgegeben unterstellte man, dass nur der Nierencortex und das Nierenmark signifikanten Anteil am totalen RBF haben. Insofern flossen die Nierenpyramiden- und Kelche nicht in die Messung mit ein. Die Volumenanteile der Areale Cortex, Mark, Pyramiden und Kelche wurden in den hochaufgelösten volumenabdeckenden morphologischen Vor-kontrastaufnahmen durch Segmentierung der Anteile bestimmt.

### **3.5 Statistik**

Für die statistischen Analysen benutzten wir Microsoft Excel für Windows (Microsoft Corp., Redmond, WA), Statview Version 5 (SAS Institute Inc., Cary, NC) und SPSS 13 für MacOS (SPSS Inc., Chicago, IL). Die Dopplermessungen vor und nach jeder MR-Messung in einem Tier wurden jeweils interpoliert um Mittelwerte zu erhalten, die mit dem MRT wegen der geringen zeitlichen Auflösung vergleichbar waren. Im Groben wurden in einem Tier die folgenden gleichen Perfusionstufen angestrebt: 60%, 40%, 20% und Ausgangswert der Ruheperfusion. Verglichen wurden dann die individuellen Werte und die Mittelwerte jeder Versuchsphase. Da beide Verfahren dasselbe messen sollten, ist zunächst von einer linearen Korrelation zwischen beiden Methoden (invasive Flußmessungen und DCE-Daten) auszugehen, was auch anhand der Bilder gezeigt werden konnte. Der Fehler der beiden Methoden, da vorzugsweise durch Rauschen verursacht, wurde als normal verteilt angenommen. Da ein linearer Zusammenhang zwischen beiden Methoden vorliegt, wurde zur Berechnung der Korrelation eine lineare Regressionsanalyse verwendet. Aufgrund der Normalverteilung der Daten wurde die Signifikanz mit Pearsons bivariatem Korrelationskoeffizienten eingeschätzt. Ein p-Wert von  $<0,05$  wurde als statistisch signifikant bewertet.

## **4 Ergebnisse**

Die ersten Experimente ( $n=7$ ) hatten zum Ziel, das Protokoll zu optimieren. Die Methode wurde bezüglich Operation, Narkoseführung, Gewinnung der Herz-Kreislaufparameter (Blutdruck, Herzfrequenz, RBF), Datenaufnahme, Perfusionskontrolle, Bildakquisition, sowie der zeitlichen Synchronisation und Auswertung der aufgenommenen Daten etabliert und optimiert. Neben dem allgemeinen Versuchsablauf (siehe unten) war es wichtig, die bestmöglichen Bedingungen für die MRT-Untersuchungen herauszuarbeiten. Die MRT-Sequenzen, Kontrastmitteldosierungen und die Akquisitionsparameter für die Perfusions- und anatomischen Bildgebungen wurden optimiert. Danach konnte das optimierte Protokoll bei den 11 folgenden Untersuchungen angewendet werden (Tabelle 1,2 und Kap. 3.2). Die morphologisch-anatomischen Vorkontrastbildgebungen gestatteten es, die Nieren in die drei Regionen Cortex, Medulla und Pelvis aufzuteilen. Unter Verwendung der Amira-Software (Bild 4) konnte man sie dann nach visueller Nachkontrolle und gegebenenfalls notwendiger Korrektur weitgehend halbautomatisch bei allen 11 Schweinen segmentieren.

Die Volumetrie zeigte, dass der dynamische scan in coronaler Ebene mehr als 90% des Nierenvolumens darstellte. Allerdings wurden im Anregungsprofil der 3D T<sub>1</sub>-gewichteten gradient-echo-

Abbildungen Inhomogenitäten beobachtet, was darauf hindeuten könnte, dass die weiter außerhalb liegenden Schnitte für die Perfusionsquantifikation nicht benutzt werden konnten, so dass diese aus Sicherheitsgründen ausgeschlossen wurden. Demzufolge konnte eine mittlere effektive Abdeckung von 40 bis 50% der Nieren für die Perfusionsmessungen erreicht werden. Die Berechnungen des absoluten RBF (renalen Blutflusses) basierten auf der Annahme, dass die, für die Perfusionskalkulation verwendeten Schnitte suffizient die durchschnittliche Perfusion von Nierenrinde und Nierenmark wiedergaben und daher eine Extrapolation erlaubten. Für die statischen 3D T<sub>1</sub>-gewichteten Gradient-Echosequenzen (GRE) waren Anregungswinkel bis zu 30 Grad erreichbar, aber größere Anregungswinkel würden eine deutliche Temperaturerhöhung erforderlich gemacht haben, um die SAR (Spezifische Absorptionsrate)-Bestimmungen zu erfüllen und kamen deswegen nicht zur Anwendung.

Wie bereits im Abschnitt „Material und Methoden“ erwähnt, wurden 2 Schweine viermal im selben Perfusionsstadium untersucht, ohne Intervention zwischen den Messungen bei stabilen Kreislaufverhältnissen (Herzfrequenz und Blutdruck konstant). In diesen Experimenten konnte gezeigt werden, dass sowohl die AIF (Arteriell Input Function) als auch die durchschnittliche Gewebesignalintensitätszeitkurve, quantifiziert in Einheiten der „dynamic relaxation rate change“ genau reproduzierbar waren (Bild 3) bis zu einer Gesamt-Loading-Dosis des Kontrastmittels (Gadovosvet trisodium) von 15 ml mit einer Standardabweichung von 6,83%. Deswegen basierte das definitive Protokoll (n=11) für die vorliegende Studie auf 4 dynamischen Repetitionsmessungen mit einer Bolusinjektion von 3ml Kontrastmittel für jeden dynamischen Schritt.

#### **4.1 Volumetrie**

Die Volumetrie der Nieren basierte auf den zusätzlich durchgeführten morphologisch-anatomisch MR-Bildgebungen (SPGR, SSFP-Sequenzen, s. Bild 4). Das durchschnittliche, durch die MR-Bildgebungen kalkulierte Nierenvolumen belief sich auf 152 cm<sup>3</sup> (±29) für die ipsilaterale und 174 cm<sup>3</sup> (±38) für die kontralaterale Niere (Tab. 1), diesbezüglich zeigte sich eine signifikante lineare Korrelation mit den totalen Nierengewichten, die nach operativer Explantation am Ende der Experimente erhoben wurden (r=0,4, p<0,05). Die erhobenen mittleren Nierengewichte der ipsi- und kontralateralen Nieren unterschieden sich nicht signifikant. Das mittlere Gewicht der ipsilateralen Niere war 158g (±19) und der kontralateralen Niere 154g (±20). Das berechnete Größenverhältnis (ratio) zwischen MRI-Volumen und Nierengewicht belief sich auf 1,0 cm<sup>3</sup>/g (±0,1) für die ipsilaterale und 1,1 cm<sup>3</sup>/g (±0,2) für die kontralaterale Niere (Tab. 1). Bezüglich des Nierenvolumens der ipsilateralen Nieren bestand eine geringe systematische Unterbewertung (14%), an dieser Seite befanden sich die regulierbare Nierenarteriendrossel und die Ultraschall-dopplerflußsonde. Das kom-

binierte Größenverhältnis (ratio) Nierenvolumen/Nierengewicht für beide Seiten war  $1,0 \text{ cm}^3/\text{g}$  ( $\pm 0,2$ ). Das mittlere totale Nierengewicht von allen untersuchten 22 Nieren war  $156 \text{ g}$  ( $\pm 19$ ), das kalkulierte totale renale Volumen  $163 \text{ cm}^3$  ( $\pm 35$ ). Das mittlere berechnete prozentuale Volumen der Nierenrinde belief sich auf  $68\%$ , das des Nierenmarks auf  $22\%$  und das der Nierenpyramiden auf  $10\%$  des totalen Nierenvolumens. Die vollständigen Resultate inklusive der getrennten Nierenvolumenuntersuchungen (ipsilateral und kontralateral) sind zusammengefasst in Tabelle 1.

## 4.2 Renaler Blutfluß und renale Perfusion

Bei elf Schweinen wurden vier komplette Perfusionsmessungen durchgeführt. Bei der ersten, zweiten und dritten RBF-Untersuchung unter Verwendung der Ultraschall Dopplersonde wurde der renale Blutfluss auf  $60\%$ ,  $40\%$ , und  $20\%$  der Ruheperfusion reduziert. Die vierte Messung bei komplett geöffneter Nierenarteriendrossel erfolgte um einen weiteren Messwert in Hyperperfusion zu erhalten und somit eine reaktive Hyperämie zu objektivieren. Der gemessene mittlere RBF war determiniert durch die Ultraschall Dopplersonde als Referenzstandard. Er betrug bei der ersten Messung  $60,1\% \pm 9,7$  ( $169,0 \pm 16,3 \text{ ml/min}$ ), bei der zweiten  $40,1\% \pm 8,0$  ( $111,3 \text{ ml/min} \pm 31,3 \text{ ml}$ ) und bei der dritten  $22,3\% \pm 7,4$  ( $61,5 \text{ ml/min} \pm 22,4$ ) (Tab. 2). Damit konnte die Realisierbarkeit einer standardisierten Nierenflußreduktion in einem experimentellen Setup mit regulierbarer Nierenarteriendrossel an der Nierenarterie und einer Dopplerflußsonde an der Nierenvene überprüft werden (s. Kap. 3.1, Bild 2). Die mittlere, mit der Dopplersonde gemessene Ruheperfusion repräsentierte  $100\%$  RBF und belief sich auf  $278 \text{ ml/min}$  ( $\pm 76$ ). Nach kompletter Öffnung der Nierenarteriendrossel bei der vierten Datenakquisition stieg der Blutfluss an, erreichte aber nicht die Ruheperfusionswerte. Der mittlere RBF nach Öffnung der Drossel war  $244 \text{ ml/min}$  ( $\pm 84 \text{ ml}$ ), dies waren ca.  $87\%$  ( $\pm 20\%$ ) der Ruheperfusion.

Der von der Ultraschall Dopplersonde gemessene RBF der Gesamtnieren als Referenzstandard korrelierte sehr gut und signifikant ( $r=0,84$ ,  $p<0,01$ ) mit dem durch die DCE-MRI berechneten RBF der Gesamtnieren (Bild 6-A). Wie erwartet bestand aufgrund der Denervierung der ipsilateralen Niere keine Korrelation ( $r=0,08$ ) mit dem Fluß der kontralateralen Niere (Bild 6-B). Die Denervierung wurde durchgeführt, um eine Zunahme des Blutflusses der kontralateralen Niere, bedingt durch die normalerweise aktive renale Autoregulation, zu verhindern. Außerdem sollte ein durch die operativen Massnahmen induzierter RBF-Abfall verhindert werden.

Der mittlere RBF der kontralateralen Niere, bestimmt durch die DCE-MRI war  $267,67 \text{ ml/min}$  ( $\pm 54,5$ ), er unterschied sich damit nicht signifikant von dem mittleren Basisfluß des Referenzstandards, der sich auf  $277,9 \text{ ml/min}$  belief (Tabelle 2).

Die Genauigkeit der, durch das MRT berechneten RBF-Werte im Vergleich zu den mit der Dopplersonde gemessenen RBF-Werten hing ab von der Größe der Flowreduktion. Die beste Korrelation lag vor bei einer Flowreduktion auf 60% ( $r=0,81$ ) der Ruheperfusion, die schlechteste Korrelation bei einer Reduktion auf 40% und 20% der Ruheperfusion ( $r=0,73$ ). Im Vergleich zum Referenzstandard wurde der hohe Blutfluß durch das MRT signifikant unterbewertet ( $p<0,05$ ), wenn die Arteriendrossel voll geöffnet war (Tabelle 2, Bild 7).

### **4.3 Berechnungen des regionalen renalen Blutflusses und der renalen Perfusion**

Die Amira-Software ermöglichte es, die auf den anatomisch-morphologischen 2D-Bildgebungen (SPGR, SSFP) basierenden Segmentierungen auf die Perfusionsbildgebungen zu übertragen. Dadurch wurden identische VOIs für die Morphometrie und die Perfusionsauswertung herangezogen. Hierdurch war man in der Lage, den regionalen RBF von Nierenmark und Nierenrinde durch das MRT separat berechnen zu können. Der Beitrag der Nierenbeckenregion für die Perfusion wurde als unerheblich betrachtet. Durch die Abweichung der Flußberechnungen zwischen DCE-MRI und der Ultraschall-dopplersonde konnte die Exaktheit der Perfusionswerte eingeschätzt werden. Nieren-segmentierung und Volumetrie ergaben ein mittleres Volumen der ipsilateralen Nierenrinde von  $103 \text{ cm}^3 (\pm 23)$ , wodurch 87% des totalen Nierenflusses hindurchfloss (Tabelle 2). Dieser Prozentsatz war unabhängig von dem Grad der Flowreduktion und zeigte keine signifikante Differenz zur Rinde der kontralateralen Niere, wodurch 85% ( $\pm 7 \%$ ) des RBF floss.

Da mit Ausnahme des Harnzeitvolumens (s. o. Kap. 3.1.7) der gesamte RBF durch die Nierenrinde floss, konnten die Nierenrindenperfusionswerte dazu verwendet werden, die Stimmigkeit der gesamten Perfusionsmesstechnik einzuschätzen. Es konnte festgestellt werden, dass bei der hier zur Anwendung gekommenen Technik bei Perfusionswerten unterhalb  $60 \text{ ml/min/100 cm}^3$  die gemessenen Flusswerte bis zu 50% überschätzt wurden. Bei Perfusionswerten zwischen 60 und  $170 \text{ ml/min/100 cm}^3$  wurden die Perfusionswerte geringfügig bis zu 15% unterschätzt. Die methodische Abweichung ist gewebeunabhängig und unterstützt die Genauigkeit zur Beurteilung der Perfusion von Nierenkortex und Nierenmark.

Nierenmark- und Nierenrindenblutperfusion mit induzierter Nierenarteriendrossel an der ipsilateralen Niere waren also signifikant korreliert mit dem absoluten Dopplerfluß, und zwar mit einem r-Wert von 0,77 beziehungsweise 0,78 (Bild 8 a und b) und mit dem relativen Grad der Flowreduktion mit einem r-Wert von 0,67 beziehungsweise 0,65,  $p<0.001$  (Bild 8 c und d).

## **5 Diskussion**

Das Ziel dieser Untersuchungen bestand darin, zu ermitteln ob es möglich ist, separat die absolute renale Perfusion von Nierenrinde und Nierenmark mit DCE-MRI unter Verwendung von Gadovosveset, einem intravasalen Kontrastmittel, darzustellen. Die Perfusionsquantifikation unter Verwendung von DCE-MRI wurde dazu benutzt, den totalen renalen Blutfluß (RBF) zu bestimmen. Die Ergebnisse wurden verglichen mit einer parallel durchgeführten RBF-Messung als Referenzstandard, bei der eine Ultraschall-dopplersonde zur Anwendung kam.

### **5.1 Volumetrie**

Nur eine Studie, in der unter Verwendung von Elektronenstrahl-Computertomographie der absolute renale Blutfluß (Lerman, Schwartz et al. 1999) von Lerman et al quantifiziert wurde, beschreibt wie in der vorliegenden Untersuchung, wie Nierenmark- und Nierenrindenvolumen separiert werden können, und dadurch auch die lokale Perfusion. Sie haben Untersuchungen an einem narkotisierten Schwein vorgenommen. Das Volumen der gesamten Niere, soweit sie im CT abgrenzbar war, differierte signifikant von den in dieser Untersuchung gefundenen Werten mit einem mittleren Volumen von ca. 78 ml versus 163 ml (Tab. 1) in den Untersuchungen unserer Arbeit. Der Grund für diese Differenz liegt in dem unterschiedlichen mittleren Körpergewicht der untersuchten Tiere. Lerman et al untersuchten Tiere mit einem mittleren Körpergewicht von 25 kg, ungefähr der Hälfte des mittleren Körpergewichtes der in dieser Studie verwendeten Tierpopulation. Das Verhältnis von Nierenmark- zu Nierenrindenvolumen war ähnlich wie in den Messungen unserer Arbeit mit Größenverhältnissen zwischen 3/1 und 4/1. Wie bei unseren Messungen konnten keine signifikanten Volumen- oder Gewichtsunterschiede zwischen linker und rechter Niere bei den Tieren gefunden werden. Dennoch zeigten die volumetrischen Messungen bei unseren Untersuchungen tendenziell niedrigere Werte der ipsilateralen Niere verglichen mit denen der contralateralen Niere. Dieses wurde unter Umständen hervorgerufen durch geringfügige Verzerrungen der Magnetfeldgradienten der ipsilateralen Niere durch die Dopplerflusssonde an der Nierenvene und die Nierenarteriendrossel an der manipulierten Nierenarterie (Bild 2) und Kompressionseffekten am Organ, bedingt durch den Versuchsaufbau.

### **5.2 Renaler Blutfluß (RBF)**

In der vorliegenden Studie konnte zum ersten Mal eine absolute Quantifikation des regionalen renalen Blutflusses (RBF) von Nierenmark und Nierenrinde durch Magnetresonanztomographie beschrieben werden. Lerman et al (Lerman, Schwartz et al. 1999) hatten ebenfalls, mit Elektronenstrahl-tomographie (electron beam tomography = EBT), regionalen Blutfluss von Nierenrinde

und Nierenmark in einem Schweinemodel quantifiziert. Der mittlere, durch EBT berechnete Basisfluß lag in den Untersuchungen der Gesamtniere bei Schweinen zwischen 319 ml/min – 341 ml/min. Das bedeutete, der Fluß war höher 1. im Vergleich mit den im MRT erhobenen Werten (63 ml/min. = 23 %) und 2. ebenfalls im Vergleich mit den durch die Ultraschall Dopplersonde gemessenen Werte (53 ml/min. = 19,6 %). Die in dieser Studie ermittelten Werte beliefen sich auf einen mittleren RBF von 267 ml/min (Tab. 2), berechnet aus den MRT-Daten (1,7 ml/g Niere, 4,85 ml/kg/KG) und einen mittleren RBF von 277 ml/min, gemessen mit der Ultraschall Dopplersonde (1,75 ml/g Niere, 5,04 ml/kg/KG) als Referenzstandard.

Die mittlere contralaterale Rindenperfusion bei unseren Untersuchungen lag um 180 ml/min/100 cm<sup>3</sup> (Tab.2), das mittlere Rindenvolumen bei 118 g (Tab. 1), und demzufolge konnte ein mittlerer Rindenblutfluß von 222 ml/min durch die MRT-Daten berechnet werden. Im Gegensatz dazu wurden durch die EBT-Messungen 294 ml/min ermittelt. Die mittlere medulläre Perfusion bei unseren Untersuchungen war 88 ml/min/100 cm<sup>3</sup> (Tab. 2), das mittlere Markvolumen 39 g (Tab. 1). Demzufolge konnte ein mittlerer medullärer Blutfluss von 34 ml/min berechnet werden, im Gegensatz von 50 ml/min in der Studie von Lerman et al. Mithin sind die im Rahmen der vorliegenden Studie ermittelten absoluten Mittelwerte von Rinden- und Markfluss ein wenig niedriger im Vergleich zu den Ergebnissen der EBT-Studie (Lerman, Schwartz et al. 1999), aber mit einem mittleren Prozentanteil von 85 % Rindenfluß am totalen Nierenvolumenfluss ist das Verhältnis Rindenfluss/Markfluss vergleichbar.

### **5.3 RBF und Perfusion**

Die lineare Regressionsanalyse (Bild 6) ergab auf der y-Achse einen Wert von 26 ml/min, wobei niedrige Perfusionswerte zu hoch eingeschätzt (Bild 7) wurden, jedoch nicht signifikant. Ein Grund dafür könnte eine speziell unter low-flow-Bedingungen zu niedrige Kontrast-zu-Rausch-Ratio gewesen sein, welche zu einer unrichtigen Interpretation von Rauschen als Perfusion geführt haben könnte.

Weiterhin wurde in der hier vorliegenden Studie eine ziemlich niedrige Kontrastmitteldosis von nur 3 ml appliziert. In den Vorversuchen wurde die Anwendbarkeit von höheren Kontrastmitteldosierungen für eine niedrigere Anzahl von Replikationsmessungen überprüft. Eine höhere Dosis würde zu einem Anstieg der dynamischen Kontrast-zu-Rausch-Ratio führen. Würde man eine Gesamtdosis von bis zu 10 ml Kontrastmittel benutzen, hätte man einen Anstieg der Kontrast-zu-Rausch-Ratio um den Faktor drei. Deswegen wurde in dieser Studie die Anfangsdosis von 10 ml Kontrastmittel

herunterreguliert bis auf einen Level von  $0,1 \text{ ml/Min/cm}^3$ . Weiterhin wurden hohe Perfusionswerte geringfügig, aber signifikant unterschätzt (Bild 7).

Die Volumetrie ergab, dass das Volumen der ipsilateralen Niere durch die MRT-Berechnungen um annäherungsweise 14 % im Vergleich zu den direkten Messungen an der untersuchten Niere unterschätzt wurde (Tabelle 1). Konsequenterweise wurde der berechnete ipsilaterale Fluß ebenfalls um 14 % unterschätzt. Der Grund für die geringfügige Unterschätzung des ipsilateralen Nierenvolumens ist möglicherweise eine Verzerrung des Magnetfeldes durch das Kabel der Ultraschall Dopplersonde. Es ist bekannt, dass MRT-Bildgebungen durch den Einfluß von Nichtlinearitäten gestört werden, dies kann durch metallische Implantate verstärkt werden. Weiterhin war bei unseren Experimenten lagerungsbedingt die ipsilaterale Körperhälfte des Schweines leicht komprimiert. Dies hat möglicherweise ebenfalls zu einer geringfügigen Unterschätzung des Nierenvolumens durch eine Organkompression beitragen können.

Wie weiter oben beschrieben, wurden Bewegungsartefakte durch Anhalten der künstlichen Beatmung während der Anwendung vermindert. Als Reaktion auf diese Maßnahme änderte sich der Gesamtnierenblutfluss nicht. Bei einigen Schweinen konnten wir einen leichten Anstieg des mit der Ultraschall Dopplersonde gemessenen pulsatilen Blutflusses feststellen. Dieses war begleitet von gleichsinnigen Änderungen des systemischen arteriellen Blutdruckes und der Herzfrequenz, welches unter Umständen Schwankungen der Narkosetiefe während der Datenakquisition reflektierte. Der Blutdruckanstieg während der Atempausen könnte sich erklären, da die Anästhetikazufuhr in dieser Phase reduziert war und dadurch inhalativ kein Narkotikum aufgenommen wurde.

In sieben Fällen war eine Bewegungskorrektur notwendig. Bewegungskorrekturen kamen nur in wichtigen Regionen zur Anwendung („Regions of interest“: Beide Nieren und die Aorta abdominalis, um die arterielle-Input-Funktion, AIF, zu extrahieren). In diesen Regionen fand man Bewegung bevorzugterweise bei den coronalen Schnitten. Das Registrierungsproblem konnte so umgewandelt und bewertet werden als ein „rigid region 2D tracking problem“. Die Bewegungskorrektur konnte in allen Fällen erfolgreich angewendet werden. Im Prinzip wäre diese einfache Lösung auch anzuwenden zur Bewegungskorrektur bei frei atmenden Patienten. Natürlich wäre bei frei atmenden Patienten mehr Bewegung zu erwarten und die Bewegungskorrektur hätte eine geringere Exaktheit, aber im Prinzip könnte die gesamte DCE-MRI-Methode und Evaluation, wie sie in der jetzigen Studie zur Anwendung kam, auch bei Patienten angewendet werden.

Eine Limitierung der präsentierten Messtechnik könnte eine nicht vollständige Albuminbindung von Gadolinium sein. Aber experimentelle Studien neueren Datums demonstrieren, dass die Albuminbindung, speziell für niedrige Konzentrationen wie sie in unserer Studie gebraucht wurden, zwi-



schen 87 – 90 % liegen (Caravan, Parigi et al. 2007). Nur bei höheren Konzentrationen sinkt die Albuminbindung auf 61 – 64 %. Dieses hat die Ergebnisse unserer Studie nicht beeinflusst.

Die Perfusionsquantifizierung des Nierenmarks mit DCE-MRI ist hingegen bis jetzt noch nicht etabliert. Dieses basiert auf dem Fakt, dass das Nierenmark seine Blutzufuhr von der Nierenrinde bekommt und zur selben Zeit kontrastmittelverstärkten Urin in den Sammelrohren enthält. Bisher wurden konventionelle Kontrastmittel für DCE-MRI benutzt. Diese Substanzen haben ein niedriges Molekulargewicht und werden frei glomerulär filtriert, aber tubulär weder filtriert noch sezerniert. Dies impliziert, dass eine Fraktion des Kontrastmittels das Gefäßbett während der ersten Perfusionsphase, in der das Kontrastmittel als Bolus hochkonzentriert durch das Gefäßsystem fließt, verlässt. Man geht davon aus, dass bis zu 10 % des Kontrastmittels während der Bolusphase gefiltert werden und in den Primärharn ausgeschieden werden. Der Signalanstieg im Nierenmark während der ersten Perfusion ist dem Kontrastmittel, welches die Medulla erreicht zuzuschreiben, erstens durch die Blutgefäße und zweitens ebenfalls durch die Nierentubuli.

Eine alternative MRT-Technik zur noninvasiven Quantifizierung der Nierenrinden- und Markperfusion ist das „arterielle Spin Labeling“ (ASL). Warmuth et al (Warmuth, Nagel et al. 2007) demonstrieren in einem Experiment, dass ASL es ebenfalls ermöglicht, den absoluten Flow zu quantifizieren. Leider ist die Signal-zu-Rausch-Ratio dieser Methode sehr niedrig und das technische Setup erlaubt keine Quantifizierung der regionalen Nierenmarkperfusion. Außerdem erfordert die lange Akquisitionszeit dieser Technik ebenfalls Bewegungskorrektur und würde deswegen sehr viel schwieriger in einem klinischen Setup zu etablieren sein.

Andere Techniken zur nichtinvasiven Perfusionsquantifizierung, die in einem klinischen Kontext am Menschen angewendet werden könnten, sind sehr wenige beschrieben. Einige Untersucher benutzten  $^{15}\text{O}$  oder schweres Wasser in Verbindung mit PET (Positronen-Elektronen-Tomographie), (Alpert, Rabito et al. 2002) oder  $^{13}\text{N}$ -Ammoniak um die renale Perfusion zu quantifizieren (Nitsche 1993). Eine generelle Limitierung der PET-Techniken ist die begrenzte räumliche Auflösung, welche Korrekturen notwendig macht. Eine regionale Quantifizierung des RBF von Nierenrinde oder Nierenmark für absoluten Blutfluß durch nuklearmedizinische Techniken ist bis jetzt noch nicht beschrieben. Die publizierten Resultate der Nierenrindenflußmessungen mit  $^{15}\text{O}$  schwerem Wasser (Alpert, Rabito et al. 2002) ergaben  $3,4 \text{ ml/min/cm}^3$  bei unterstelltem Volumen von  $100 \text{ cm}^3$  und geschätztem Blutfluss von  $340 \text{ ml/min}$  und liegen somit höher als die Resultate der vorliegenden Studie mit Mittelwerten von  $222 \text{ ml/min}$  an der kontralateralen Niere. Dieses könnte darauf hinweisen, dass bei den PET-Messungen der medulläre Anteil der Nierenperfusion fälschlicherweise der Nierenrindenperfusion zugerechnet wird. Aufgrund ihrer geringeren Raumauflösung ist PET nicht

optimal in der Lage das Nierenmark und die großen Nierengefäße im Nierenbecken zu differenzieren. Von der Rinden-Mark-Grenze ausgehende Signale werden beim Scan auch in benachbarte Bereiche lokalisiert und können daher beim Auswerten nicht oder falsch zugeordnet werden, das heißt kortikale Signalbeiträge erscheinen aufgrund der geringen Ortsauflösung in der Medulla. Außerdem ist es schwierig vermittels PET die arterielle Inputfunktion (AIF) zu bestimmen, wenn man die dynamischen Scans zur Extraktion (Ludemann, Sreenivasa et al. 2006) benutzt ohne Monitoring des arteriellen Blutdruckprofils durchgeführt zu haben.

## **5.4 Schlußfolgerungen**

Die in dieser Arbeit präsentierte DCE-MRT Technik unter Verwendung eines Bloodpool-Kontrastmittels ermöglicht die Quantifizierung der Nierenperfusion sowohl als auch die separate Bestimmung von Nierenrinden- und Nierenmarkperfusion. Die Resultate zeigen, dass die Methode am narkotisierten Schwein genau und reproduzierbar ist. Somit könnte sie grundsätzlich in den klinischen Alltag übertragen werden. Ob die Methode auch am Menschen zur Anwendung kommen könnte, müsste durch entsprechende Untersuchungen überprüft werden. Durchaus problematisch bei der Anwendung an nicht beatmeten Patienten könnte die notwendige lange Apnoephase von 3 Minuten während der dynamischen Perfusionsmessungen sein. Technischer Aufbau und Umfang sowie Reproduzierbarkeit und Genauigkeit der Messergebnisse scheinen dazu geeignet um routinemäßig angewendet werden zu können.

## 6 Abbildungen und Tabellen

**Tabelle 1: Mittelwerte und Standardabweichungen der volumetrischen Messungen**

|               | Total<br>Renal<br>Weight<br>[g] | Total<br>Renal<br>Volume<br>[cm <sup>3</sup> ] | Cortical<br>Volume<br>[cm <sup>3</sup> ] | Medullary<br>Volume<br>[cm <sup>3</sup> ] | Pyramidal<br>Volume<br>[cm <sup>3</sup> ] | Volume-<br>Weight Ratio<br>[cm <sup>3</sup> /g] |
|---------------|---------------------------------|--|--|---|---|---|
| <b>Mean</b>   |                                 |  |  |   |   |   |
| <b>±SD</b>    | 158                             | 152  |  |   |   |   |
| <b>ipsi</b>   | ±19                             | ±29  | 103 ±23                                  | 32 ±11                                    | 16 ±4                                     | 1 ±0.1  |
| <b>Mean</b>   |                                 |  |  |   |   |   |
| <b>±SD</b>    | 154                             | 174  |  |   |   |   |
| <b>contra</b> | ±20                             | ±38  | 118 ±27                                  | 39 ±11                                    | 17 ±5                                     | 1 ±0.2  |
| <b>Mean</b>   |                                 |  |  |   |   |   |
| <b>±SD</b>    | 156                             | 163  |  |   |   |   |
| <b>total</b>  | ±19                             | ±35  | 111 ±26                                  | 36 ±11                                    | 16 ±4                                     | 1 ±0.2  |

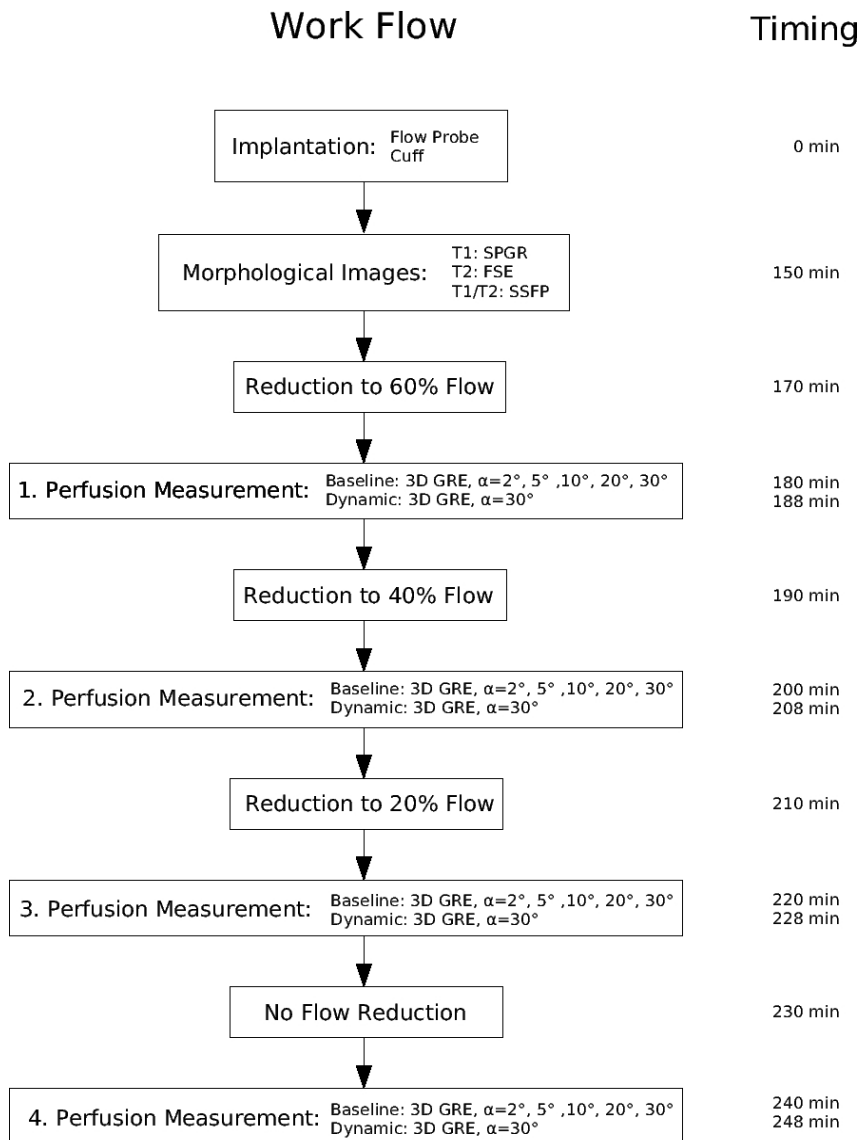
Absolute Mittelwerte und Standardabweichungen (SD) der volumetrischen Messungen, berechnet aus den morphologischen Bildgebungen und den Nierengewichten nach Explantation. Abkürzungen: ipsi = ipsilateral, contra = contralateral (Ludemann, Nafz et al. 2009)

**Tabelle 2: Mittelwerte und Standardabweichungen von RBF und MRT-Perfusionswerten**

|          | Flow RA [%]  | Total RBF Doppler [ml/min] | Total RBF MRI ipsi [ml/min] | Total RBF MRI con [ml/min] | Cortical Perfusion MRI ipsi [ml/min/100cm <sup>3</sup> ] | Medull. Perfusion MRI ipsi [ml/min/100cm <sup>3</sup> ] | Cortical Perfusion MRI con [ml/min/100cm <sup>3</sup> ] | Medull. Perfusion MRI con [ml/min/100cm <sup>3</sup> ] | Rel. cortFlow ipsi [%] | Rel. cortFlow contra [%] |
|----------|--------------|----------------------------|-----------------------------|----------------------------|--|---|---|--|------------------------|--------------------------|
| Mean ±SD | <b>60</b>    | 169 ±56                    | 154 ±65                     | 252 ±45                    | 132 ±37  | 50 ±22  | 174 ±32   | 78 ±24   | 90 ±4                  | 87 ±5                    |
| Mean ±SD | <b>40</b>    | 111 ±31                    | 127 ±59                     | 251 ±39                    | 110 ±43  | 42 ±17  | 170 ±27   | 81 ±26   | 89 ±3                  | 86 ±6                    |
| Mean ±SD | <b>20</b>    | 62 ±22                     | 71 ±51                      | 294 ±65                    | 58 ±40   | 28 ±11  | 195 ±35   | 98 ±39   | 84 ±6                  | 84 ±8                    |
| Mean ±SD | <b>Open</b>  | 244 ±84                    | 201 ±83                     | 274 ±60                    | 159 ±54  | 96 ±54  | 179 ±36   | 95 ±36   | 85 ±6                  | 83 ±9                    |
|          |              |                            |                             |                            |  |   |   |  |                        |                          |
| Mean ±SD | <b>Total</b> | <b>146 ±86</b>             | <b>138 ±79</b>              | <b>268 ±54</b>             | <b>115 ±57</b>   | <b>54 ±39</b>   | <b>180 ±33</b>  | <b>88 ±32</b>  | <b>87 ±6</b>           | <b>85 ±7</b>             |

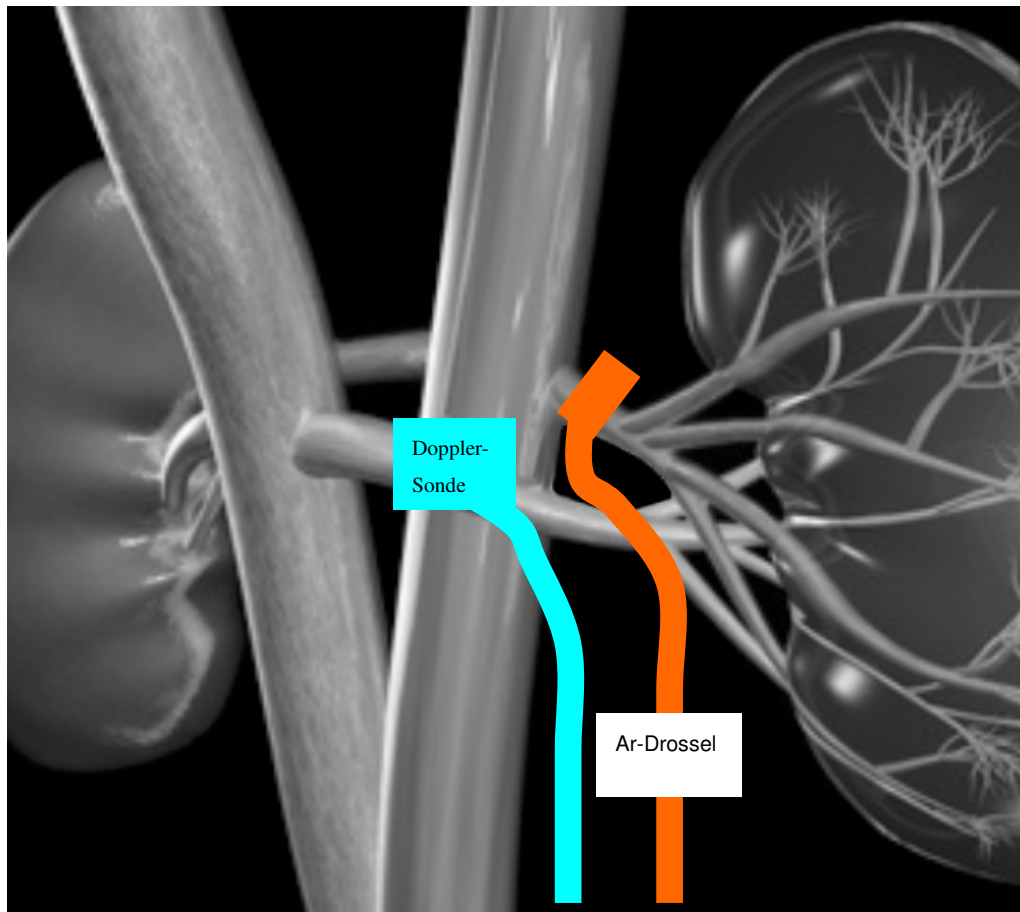
Mittelwerte und Standardabweichungen des renalen Blutflusses (RBF) in ml/min und Perfusionswerte in ml/min/100 cm<sup>3</sup>, gemessen durch MRT bei unterschiedlichen Flowbedingungen (Flowreduzierung an der Nierenarterie 60 – 20 % und offen) und Gesamtwerte für die ganze Niere, Nierenrinden- und Nierenmarkfluss an der ipsilateralen und der kontralateralen Niere. Abkürzungen: RBF= renaler Blutfluss, SD = Standardabweichung, ipsi = ipsilateral, contra = kontralateral, rel.cortFlow = relativer Rindenfluss (Ludemann, Nafz et al. 2009)

# Abbildung 1: Arbeits- und Zeitablauf



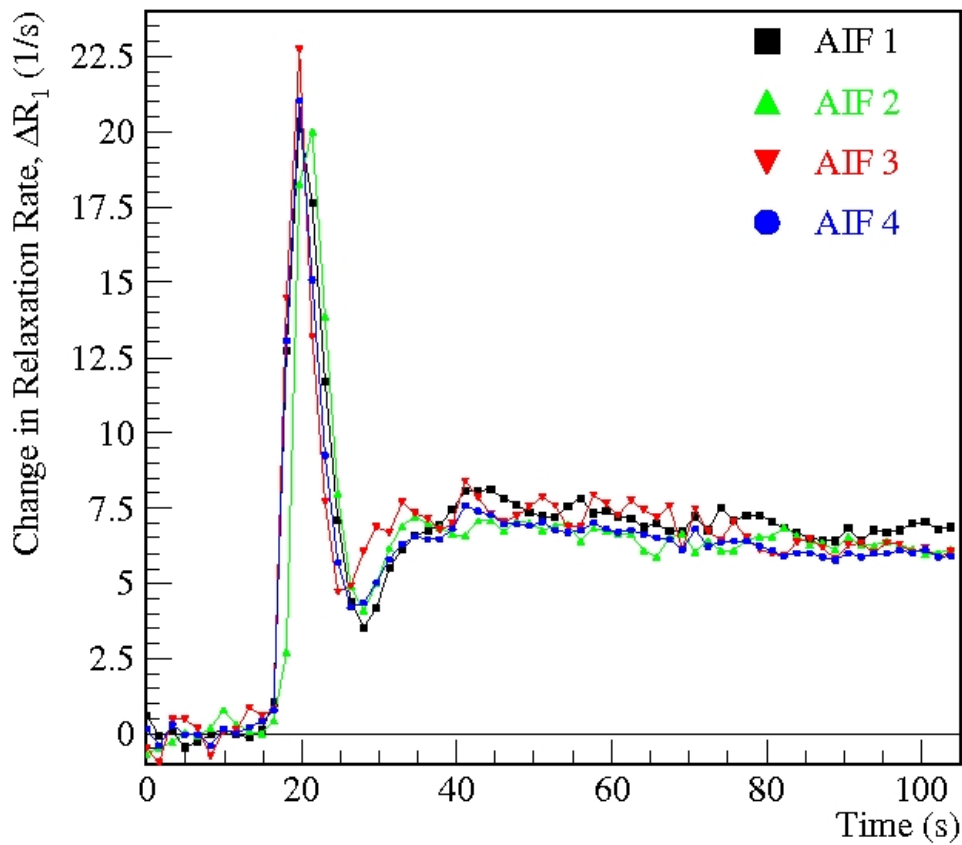
Arbeits- und Zeitablauf eines einzelnen Schweineexperiments (Ludemann, Nafz et al. 2009)

## Abbildung 2: Schematische Darstellung des experimentellen Aufbaus



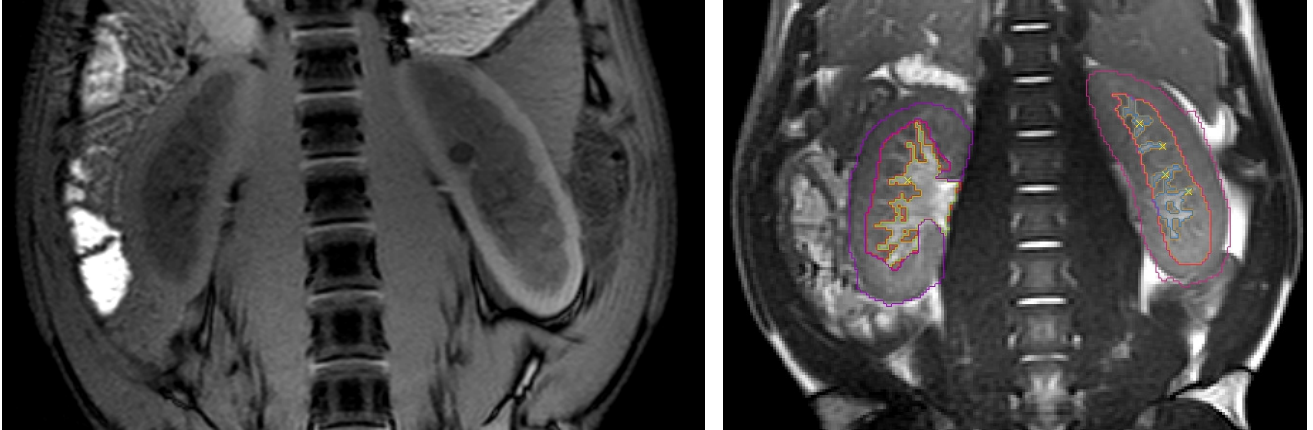
Schema des experimentellen Aufbaus zur standardisierten Flowreduktion an der Nierenarterie mit einer größenregulierbaren Arteriodrossel und Flowmessung durch eine Ultraschallsonde an der Nierenvene als Referenzstandard (Ludemann, Nafz et al. 2009)

**Abbildung 3: Arterielle Inputfunktion**



Die arterielle Inputfunktion, AIF, abgeleitet von der Aorta abdominalis bei vier aufeinanderfolgenden Messungen (jeweils nach Injektion von 3ml Kontrastmittel) demonstriert die hohe Reproduzierbarkeit (Ludemann, Nafz et al. 2009)

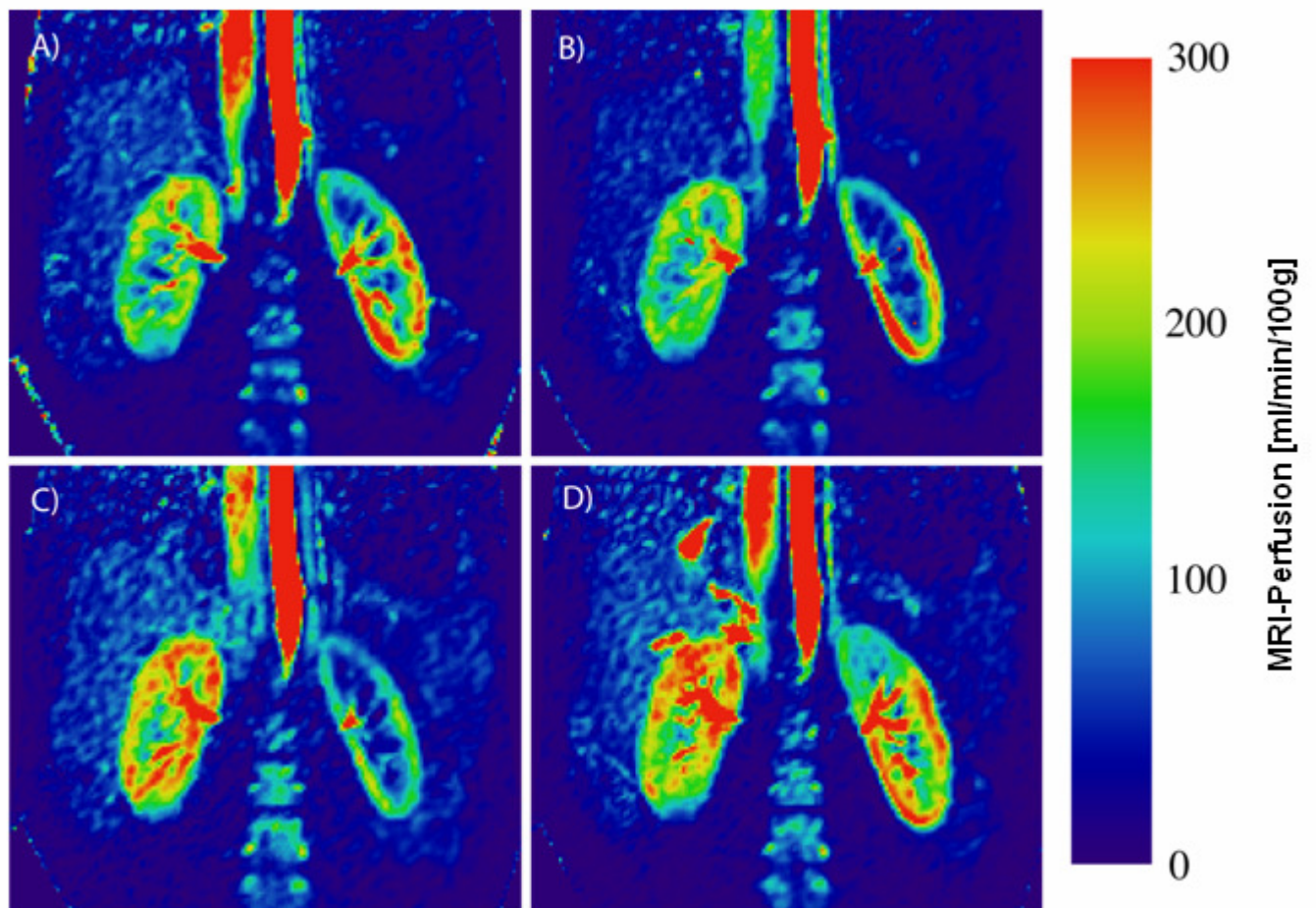
#### Abbildung 4: SPGR- und SSFP-Bildgebung



Morphologische T1-gewichtete SPGR-Bildgebung in coronaler Orientierung (A) ermöglichte die beste Segmentierung von Nierenrinde und Nierenmark, SSFP-Sequenzen (B) konnten am besten verwendet werden, um Nierenmark und Nierenbecken zu differenzieren. Das Beispiel zeigt die semi-automatisch erhobenen Konturen von Kortex, Medulla und Pelvis durch die Amira<sup>®</sup>-Software (Ludemann, Nafz et al. 2009)

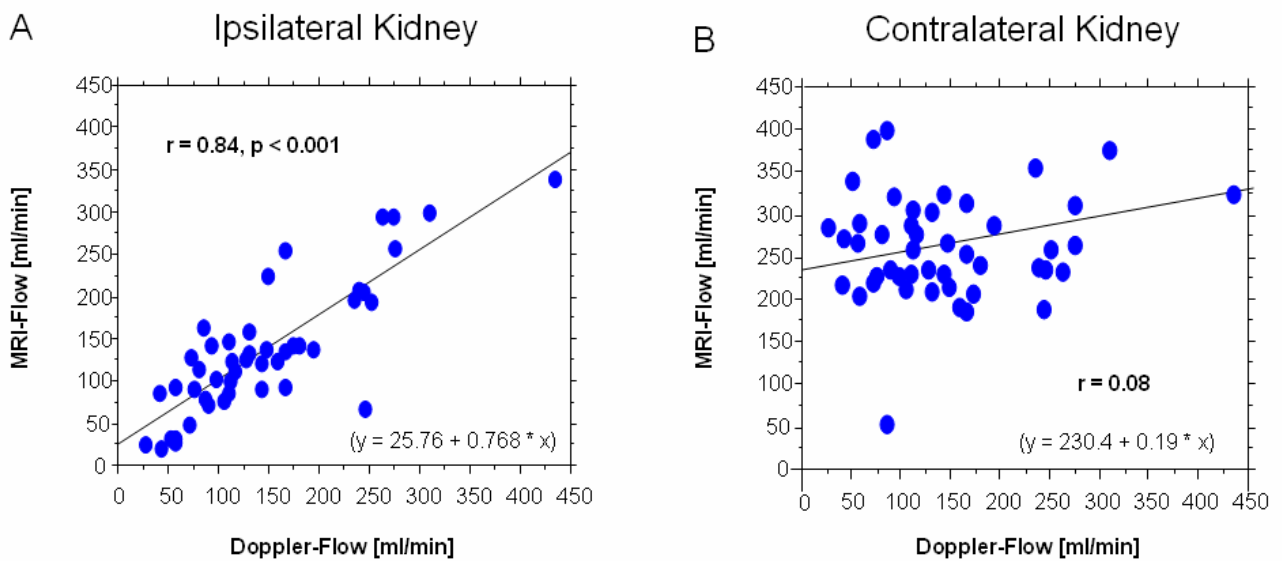


## Abbildung 5: DCE-MRT-Perfusionsbildgebungen



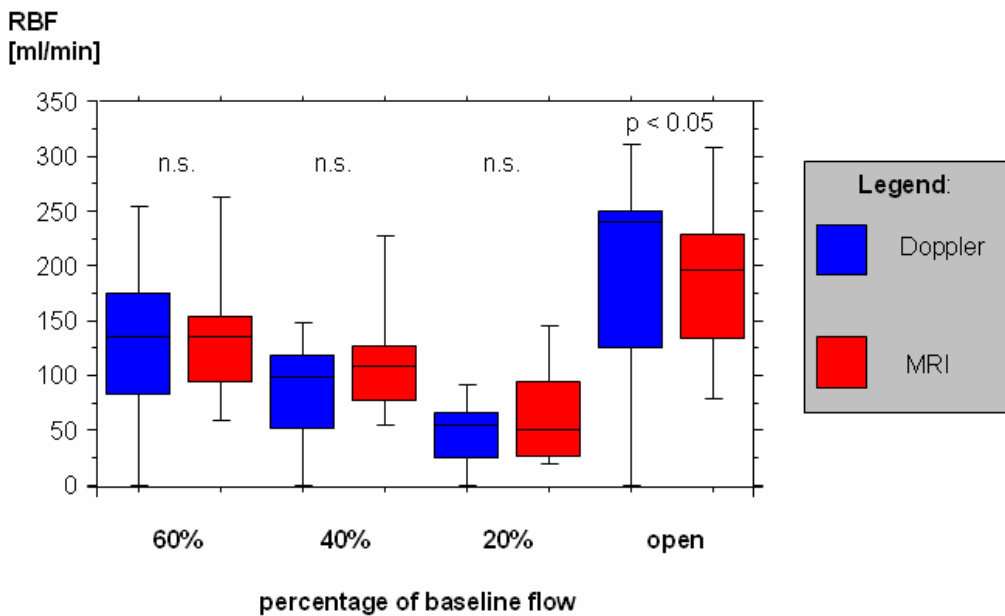
Koronal-parametrische Perfusionsbildgebungen, berechnet durch DCE-MRT. Bei der ersten (A), zweiten (B) und dritten (C) Messung wurde der Flow entsprechend den Dopplersondenflußmessungen reduziert auf 60 %, 40 % und 20 % der Basisflußwerte. Die vierte (D) Anwendung wurde zur Kontrolle mit komplett geöffneter Arteriendrossel erhoben (Ludemann, Nafz et al. 2009).

## Abbildung 6: Lineare Regressionsanalyse



Lineare Regressionsanalyse des MRT-Flows (ml/min) verglichen mit den Ergebnissen der Dopplerflowmessungen als Referenzstandard ergab eine gute Korrelation ( $r = 0,84$ ,  $p < 0,001$ ) bei der ipsilateralen Niere (A) und eine fehlende Korrelation bei der denervierten kontralateralen Niere (B) (Ludemann, Nafz et al. 2009).

## Abbildung 7: Flußreduktionsstadien

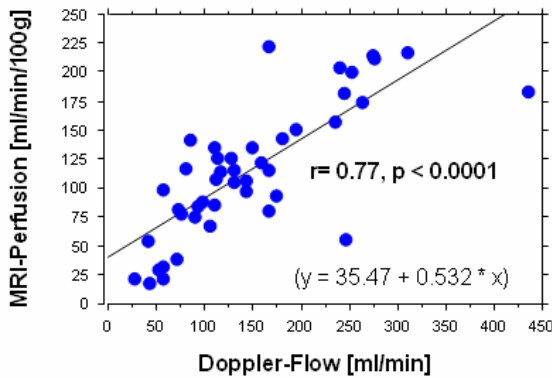


Darstellung der unterschiedlichen Stadien der Flußreduktion (60 %, 40 %, 20 %) demonstrieren eine signifikante Unterschätzung durch die MRT-Messungen bei höheren Flußraten, wenn die regulierbare Arteriendrossel voll geöffnet war, und eine nichtsignifikante Überschätzung bei niedrigen Flußraten

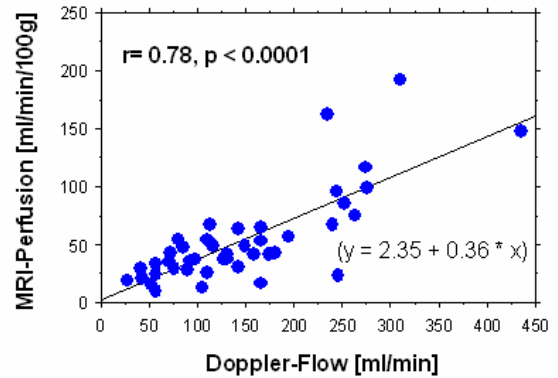
Symbolerklärung: Obere und untere Grenzen der Kästen ergeben sich durch das 25% und 75% Quartil, die dicke mittlere Linie repräsentiert den Median. Die verlängerten Linien beschreiben die größten Werte, die keine Ausreißer sind. Ausreißer oder Extremwerte sind definiert als Werte, die größer als die 1,5-fache Kastenlänge vom Kasten entfernt sind, „ns“ bedeutet, es gibt keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Verteilungen unterhalb der Schrift (Ludemann, Nafz et al. 2009).

## Abbildung 8: Regionale Nierenrinden- und Nierenmarkperfusion

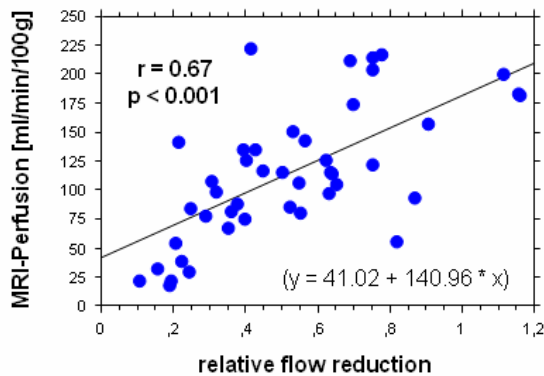
A Cortical Perfusion



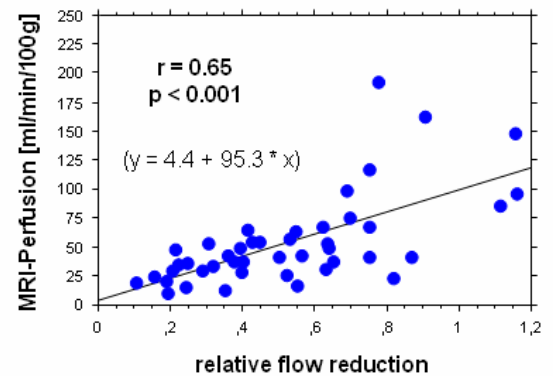
B Medullary Perfusion



C Cortical Perfusion



D Medullary Perfusion



Die regionale Nierenrinden- und Nierenmarkperfusion ( $\text{ml/min}/100\text{cm}^3$ ), berechnet durch die Nieren-MRT mit induzierter arterieller Stenose der ipsilateralen Niere war hochsignifikant korreliert mit dem absoluten Dopplerfluss mit einem r-Wert von 0,77 beziehungsweise 0,78 (Bild 8 a und b) und bei dem relativen Grad der Flussreduktion mit einem r-Wert von 0,67 beziehungsweise 0,65,  $p < 0,001$  (Bild 8 c und d) (Ludemann, Nafz et al. 2009).

## 7 Literaturverzeichnis

- Ackerknecht, E. H. (1992). Geschichte der Medizin. Stuttgart, Enke Verlag, Stuttgart.
- Alpert, N. M., C. A. Rabito, et al. (2002). "Mapping of local renal blood flow with PET and H<sup>2</sup>(15)O." J Nucl Med **43**(4): 470-5.
- Benninghoff, A. (1993). Makroskopische Anatomie, Embryologie und Histologie des Menschen. München; Wien; Baltimore, Urban und Schwarzenberg.
- BM, B. (2004). Brenner and Rector's The Kidney. Philadelphia, Saunders.
- Buxton RB, Lawrence RF, et al. (1998). "A general kinetic model for quantitative perfusion imaging with arterial spin labeling." Magnet Resonance Med. **40**: S. 383-396.
- Caravan, P., G. Parigi, et al. (2007). "Albumin binding, relaxivity, and water exchange kinetics of the diastereoisomers of MS-325, a gadolinium(III)-based magnetic resonance angiography contrast agent." Inorg Chem **46**(16): 6632-9.
- Carey, R. M. and H. M. Siragy (2003). "Newly recognized components of the renin-angiotensin system: potential roles in cardiovascular and renal regulation." Endocr Rev **24**(3): 261-71.
- Derkx, F. H. and M. A. Schalekamp (1994). "Renal artery stenosis and hypertension." Lancet **344**(8917): 237-9.
- Detre, J. A., J. S. Leigh, et al. (1992). "Perfusion imaging." Magn Reson Med **23**(1): 37-45.
- Ducloux, D., M. Jamali, et al. (1997). "Chronic congestive heart failure associated with bilateral renal artery stenosis." Clin Nephrol **48**(1): 54-5.
- Ehmke, H., P. Persson, et al. (1987). "A physiological role for pressure-dependent renin release in long-term blood pressure control." Pflugers Arch **410**(4-5): 450-6.
- Fauci AS, B. E., Isselbacher KJ, Wilson JD, Martin JB, Kaspar DL et al. (1998). Harrisons Innere Medizin, McGraw-Hill.
- Gedroyc, W. M., R. Negus, et al. (1992). "Magnetic resonance angiography of renal transplants." Lancet **339**(8796): 789-91.
- Guyton, A. C. (1991). "Blood pressure control--special role of the kidneys and body fluids." Science **252**(5014): 1813-6.
- Herold, G. (2006). Innere Medizin. Köld.
- Karl J. Ullrich, G. P., Hartmut Stöckle (1961). "Hämoglobinkonzentration, Erythrozytenzahl und Hämatokrit im vasa recta Blut." Pflügers Archiv European Journal of Physiology **273**(6): 573 - 578.
- Lee, V. S., H. Rusinek, et al. (2003). "Dynamic three-dimensional MR renography for the measurement of single kidney function: initial experience." Radiology **227**(1): 289-94.
- Leonhardt, H. (1990). Histologie, Zytologie und Mikroanatomie des Menschen. Kiel.
- Lerman, L. O., R. S. Schwartz, et al. (1999). "Noninvasive evaluation of a novel swine model of renal artery stenosis." J Am Soc Nephrol **10**(7): 1455-65.
- Li, K.-L. e. a. (2000). "JMRI 12:347-357."
- Li, W., D. P. Brophy, et al. (2000). "Semi-quantitative assessment of uterine perfusion using first pass dynamic contrast-enhanced MR imaging for patients treated with uterine fibroid embolization." J Magn Reson Imaging **12**(6): 1004-8.

- Ludemann, L., B. Nafz, et al. (2009). "Absolute Quantification of Regional Renal Blood Flow in Swine by Dynamic Contrast-Enhanced Magnetic Resonance Imaging Using a Blood Pool Contrast Agent." Invest Radiol.
- Ludemann, L., B. Nafz, et al. (2010). "Dependence of Renal Blood Flow on Renal Artery Stenosis Measured Using CT Angiography." Rofo.
- Ludemann, L., G. Sreenivasa, et al. (2006). "Corrections of arterial input function for dynamic H215O PET to assess perfusion of pelvic tumours: arterial blood sampling versus image extraction." Phys Med Biol **51**(11): 2883-900.
- Luk, S. H., J. H. Chan, et al. (1999). "Breath-hold 3D gadolinium-enhanced subtraction MRA in the detection of transplant renal artery stenosis." Clin Radiol **54**(10): 651-4.
- Michaely, H. J., S. O. Schoenberg, et al. (2006). "Renal artery stenosis: functional assessment with dynamic MR perfusion measurements--feasibility study." Radiology **238**(2): 586-96.
- Missouris, C. G., T. Buckenham, et al. (1993). "Renal artery stenosis masquerading as congestive heart failure." Lancet **341**(8859): 1521-2.
- Nitsche, e. a. (1993). "Kidney International." **Vol. 44**.
- O'Neil, E. A., K. J. Hansen, et al. (1992). "Prevalence of ischemic nephropathy in patients with renal insufficiency." Am Surg **58**(8): 485-90.
- Ostergaard, L., R. M. Weisskoff, et al. (1996). "High resolution measurement of cerebral blood flow using intravascular tracer bolus passages. Part I: Mathematical approach and statistical analysis." Magn Reson Med **36**(5): 715-25.
- Rimmer, J. M. and F. J. Gennari (1993). "Atherosclerotic renovascular disease and progressive renal failure." Ann Intern Med **118**(9): 712-9.
- Schoenberg, S. O., J. Rieger, et al. (2003). "Renal MR angiography: current debates and developments in imaging of renal artery stenosis." Semin Ultrasound CT MR **24**(4): 255-67.
- Scholze J, H. (1999). Hypertonie - Risikokonstellation & Begleiterkrankungen. Berlin-Wien, Blackwell Wissenschafts-Verlag.
- Semelka, R. C., K. Corrigan, et al. (1994). "Renal corticomedullary differentiation: observation in patients with differing serum creatinine levels." Radiology **190**(1): 149-52.
- Shipley, R. E. and R. S. Study (1951). "Changes in renal blood flow, extraction of inulin, glomerular filtration rate, tissue pressure and urine flow with acute alterations of renal artery blood pressure." Am J Physiol **167**(3): 676-88.
- Silbernagel, K., Pape (2005). Physiologie. Stuttgart, New York, Georg Thime Verlag.
- Sourbron, S. P., H. J. Michaely, et al. (2008). "MRI-measurement of perfusion and glomerular filtration in the human kidney with a separable compartment model." Invest Radiol **43**(1): 40-8.
- Strandness, D. E., Jr. (1994). "Natural history of renal artery stenosis." Am J Kidney Dis **24**(4): 630-5.
- Tollefson, D. F. and C. B. Ernst (1991). "Natural history of atherosclerotic renal artery stenosis associated with aortic disease." J Vasc Surg **14**(3): 327-31.
- van Jaarsveld, B. C., P. Krijnen, et al. (1997). "The place of renal scintigraphy in the diagnosis of renal artery stenosis. Fifteen years of clinical experience." Arch Intern Med **157**(11): 1226-34.
- W. Forth, D. H., W. Rummel (2001). Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie. München, Urban&Schwarzenberg.
- Waldeyer, A. (1987). Anatomie des Menschen, Band 1. Berlin, de Gruyter.

- Warmuth, C. (2003). Nichtinvasive Magnetresonanz-Perfusionsmessung des Gehirns mittels Magnetischer Blutbolusmarkierung (Spin-Labeling). Medizinische Fakultät Charité. Berlin, Humboldt-Universität zu Berlin: 172.
- Warmuth, C., S. Nagel, et al. (2007). "Accuracy of blood flow values determined by arterial spin labeling: a validation study in isolated porcine kidneys." J Magn Reson Imaging **26**(2): 353-8.

## **Anhang I: Lebenslauf**

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.



## **Anhang II: Publikationsliste**

### **Absolute Quantification of Regional Renal Blood Flow in Swine by Dynamic Contrast Enhanced MRI (DCE-MRI) using a Blood Pool Contrast Agent**

Lutz Lüdemann, Benno Nafz, Franz Elsner, Michael Meissler, Nicola Kaufels, Hagen Rehbein, Christian Große-Siestrup, Pontus Persson, Philipp Lengsfeld, Henrik J. Michaely, , Matthias Gutberlet, Matthias Voth

JOURNAL ARTICLE publiziert in Investigative radiology 1/2009 (Ludemann, Nafz et al. 2009)

### **Dependence of Renal Blood Flow on Renal Artery Stenosis Measured Using CT**

#### **Angiography.**

Ludemann L, Nafz B, Elsner F, Grosse-Siestrup C, Meissler M, Persson P, Gutberlet M, Lengsfeld P, Voth M

JOURNAL ARTICLE publiziert in ROFO 12/2010 (Ludemann, Nafz et al. 2010)

## **Anhang III: Danksagungen**

Für die besonderen Verdienste um die Fertigstellung dieser Dissertationsschrift bin ich folgenden Personen zu besonderem Dank verpflichtet:

PD Dr. B. Nafz (Institut für Physiologie der Humboldt Universität, Berlin)

PD Dr. L. Lüdemann (Institut für Strahlenphysik der Humboldt Universität, Berlin)

PD Dr. C. Grosse-Siesstrup (Institut für Veterinärmedizin der Humboldt Universität, Berlin)

Dr. M. Meissler (Institut für Veterinärmedizin der Humboldt Universität, Berlin)

## **Anhang IV: Erklärung**

„Ich Franz Elsner, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertationsschrift mit dem Thema: **„Messung der Nierenperfusion mittels DCE-MRI am narkotisierten Schwein‘** 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.“

Berlin, den 9. Januar 2011