

Aus dem Institut für Radiologie
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Neue Entwicklungen der abdominalen Magnetresonanz-
Elastographie (MRE)

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Rolf Otto Reiter

aus Bonn

Datum der Promotion: 11.12.2015

Inhaltsverzeichnis

1. Zusammenfassung	4
2. Einleitung	6
2.1 Fragestellung und Motivation.....	6
2.2 Leberfibrose.....	7
2.3 Portale Hypertension	8
3. Mechanische Grundlagen der MRE	8
3.1 Theorie der klassischen MRE.....	8
3.2 Theorie der MRE 2.0	9
3.3 Poroelastizität	9
4. Methoden, Patienten und Gewebeproben	10
4.1 In-vivo-MRE (Studie: Methodenentwicklung MRE von Leber und Milz).....	10
4.1.1 Demographische Patientendaten.....	10
4.1.2 Experimenteller Aufbau und Anregung	10
4.2 In-vivo-MRE (Studie: Drucksensitive Leber-MRE bei TIPS)	11
4.2.1 Demographische Patientendaten.....	11
4.2.2 Experimenteller Aufbau und Anregung	11
4.2.3 Voruntersuchung zur Validierung der Methodik.....	11
4.3 Mikro-MRE (Studie: Charakterisierung humaner Gewebeproben)	12
4.3.1 Demographische Patientendaten.....	12
4.3.2 Mikro-MRE	12
4.3.3 Indenter-Test	13
4.3.4 LiMAx-Test	13
4.3.5 Histologie.....	14
4.3.6 Hydroxyprolin.....	14
4.4 Statistische Auswertung.....	14

5. Ergebnisse	15
5.1 In-vivo-MRE (Studie: Methodenentwicklung MRE von Leber und Milz)	15
5.2 In-vivo-MRE (Studie: Drucksensitive Leber-MRE bei TIPS)	15
5.2.1 Schafsleber und Proband	15
5.2.2 Patientenkohorte	16
5.3 Mikro-MRE-Studie (Studie: Charakterisierung humaner Gewebeproben)	16
5.3.1 Histologie	16
5.3.2 Mikro-MRE	17
5.3.3 Indenter-Test	17
5.3.4 Parameter-Korrelation	17
6. Diskussion	18
6.1 In-Vivo-MRE	18
6.2 Mikro-MRE	19
7. Literaturverzeichnis	20
8. Anteilserklärung	22
9. Eidesstattliche Versicherung	23
10. Druckexemplare der ausgewählten Publikationen	24
11. Lebenslauf	55
12. Komplette Publikationsliste	56
13. Danksagung	57

1. Zusammenfassung

Hintergrund und Methodik: In der vorliegenden Arbeit wurden zwei aufeinander aufbauende In-vivo-Magnetresonanz-Elastographie-Studien (MRE) und eine Grundlagen-Studie zur Mikro-MRE zusammengefasst. In der ersten In-vivo-MRE-Studie wurden technische Weiterentwicklungen, wie die Integration der Anregungseinheit in den Untersuchungstisch und die hochauflösende Parameter-Rekonstruktion in die abdominelle MRE eingeführt. Die Experimente wurden an Phantomen, zehn Probanden und vier Patienten mit portaler Hypertension (PHT) durchgeführt. Die zweite darauf aufbauende In-vivo-MRE-Studie wurde um das Konzept der Poroelastizität erweitert. Mittels drucksensitiver MRE wurden intrahepatische Blutdruckveränderungen bei 13 Patienten mit PHT vor und nach transjugulärem intrahepatischem portosystemischem Stent-Shunt (TIPS) untersucht. Trotz des Erfolges der MRE zur Fibrosegraduierung ist wenig bekannt über den Zusammenhang von mechanischen Kenngrößen und der Lebergewebestruktur. Aus diesem Grund wurde eine dritte Studie an 16 humanen Leberproben verschiedener Fibrorestadien durchgeführt. Mittels Mikro-MRE wurden die frequenzabhängigen Schermodule (Realteil-Modul G' und Imaginärteil-Modul G'') sowie der frequenzunabhängige Schermodul (μ) und der Dispersionskoeffizient (α) nach dem Springpot-Modell bestimmt. Statische Indentationsexperimente wurden zur Bestimmung des Young'schen Moduls (E) durchgeführt. Diese mechanischen Parameter wurden mit der Histologie, dem Hydroxyprolinegehalt, Blutwerten und einem In-vivo-Funktionstest verglichen.

Ergebnisse: Adipositas und Aszites stellten keine Untersuchungseinschränkungen der MRE dar. In der Probandengruppe waren die gemittelten Werte des Betrags $|G^*|$ und des Phasenwinkels ϕ des komplexen Schermoduls in der Milz größer als in der Leber ($p = 0,015$ bzw. $p = 6,58 \cdot 10^{-5}$). In der PHT-Kohorte stieg die Volumendeformation $|d^*|$ nach TIPS signifikant an ($p = 1,38 \cdot 10^{-5}$), bei jedoch konstanter Scherdeformation $|C^*|$ und konstantem Schermodul $|G^*|$. Die über die Frequenz gemittelten Parameter in humanen Gewebeproben korrelierten signifikant mit dem Fibrosegrad (G' : $R = 0,762$; G'' : $R = 0,830$; μ : $R = 0,744$; $p < 0,01$) und Hydroxyprolin (G' : $R = 0,712$; G'' : $R = 0,720$; μ : $R = 0,731$; $p < 0,01$). α zeigte eine negative Korrelation für den Fibrosegrad ($R = -0,590$; $p = 0,034$). E korrelierte geringer mit dem Fibrosegrad ($R = 0,587$; $p = 0,022$).

Schlussfolgerung: Die Integration der Anregungseinheit in den Untersuchungstisch ermöglicht eine leichtere klinische Anwendung. Bei einer kurzen Untersuchungszeit von 6 – 8 Minuten wurden erstmals hochaufgelöste Karten der Verteilung von Elastizität und Viskosität im

Abdomen erzeugt. Durch die drucksensitive MRE wurde zum ersten Mal die Sensitivität der volumetrischen Deformation für den Gewebedruck in der Leber vor und nach TIPS-Intervention nachgewiesen. Die mittels Mikro-MRE gemessenen viskoelastischen Parameter sind sensitiv für histologisch gesicherte Leberfibrose. Zusätzlich zum Gehalt des Bindegewebes beeinflussen subtile Strukturveränderungen des viskoelastischen Netzwerkes die mechanischen Eigenschaften der fibrotischen Leber.

Abstract

Background and Methods: The present thesis summarizes two related in-vivo magnetic resonance elastography (MRE) studies and one fundamental micro-MRE study. The first study implemented technical advances such as driver integration into the patient table and high-resolution reconstruction algorithms and was performed on phantoms, ten healthy volunteers, and four patients with portal hypertension (PHT). In the corresponding second study, the initial concept was expanded by incorporating poroelasticity. Pressure-sensitive MRE was used to measure intrahepatic blood pressure in 13 patients with PHT before and after transjugular intrahepatic portosystemic shunt (TIPS). Despite the success of MRE in grading hepatic fibrosis the relationship between viscoelastic constants in the liver and tissue structure remains unclear. Therefore, in a third study, 16 human liver specimens with different degrees of fibrosis were examined. Micro-MRE and static indentation experiments provided the shear modulus (storage modulus G' , loss modulus G''), the frequency-independent shear modulus (μ), powerlaw exponent (α), and Young's modulus (E). The mechanical parameters were compared with histology, hydroxyproline, blood markers, and in-vivo function tests.

Results: Image quality was not compromised by ascites or obesity. In the group of healthy volunteers, averages of magnitude $|G^*|$ and phase ϕ of the complex modulus were significantly higher in spleen than liver ($p = 0.015$ and $p = 6.58 \cdot 10^{-5}$, respectively). In the PHT cohort, volumetric strain $|d^*|$ was significantly higher after TIPS ($p = 1.38 \cdot 10^{-5}$), while neither shear strain $|C^*|$ nor shear modulus $|G^*|$ were affected. The frequency-averaged parameters of micro-MRE were significantly correlated with fibrosis (G' : $R = 0.762$, G'' : $R = 0.830$; μ : $R = 0.744$; $p < 0.01$) and hydroxyproline (G' : $R = 0.712$, G'' : $R = 0.720$; μ : $R = 0.731$; $p < 0.01$). α was inversely correlated with fibrosis ($R = -0.590$, $p = 0.034$). E was less correlated with fibrosis ($R = 0.587$, $p = 0.022$).

Conclusion: The new setup allows integration of abdominal MRE into clinical workflow. The

proposed method provides for the first time high-resolution abdominal maps of viscoelasticity within 6–8 minutes. Also for the first time, the results show that volumetric strain $|d^*|$ is sensitive to high values of tissue pressure. Viscoelastic constants measured by micro-MRE are highly sensitive to histologically proven fibrosis. In addition to the amount of connective tissue, subtle structural changes in the viscoelastic matrix determine the sensitivity of mechanical tissue properties to hepatic fibrosis.

2. Einleitung

2.1 Fragestellung und Motivation

Die manuelle Palpation ist seit Anbeginn der Medizin ein Hauptbestandteil der ärztlichen Praxis. Krankhaft veränderte Organe können durch die Hand des Arztes ertastet werden. Die Magnetresonanz-Elastographie (MRE) ist ein Elastizitätsbildgebungsverfahren, das durch externe Anregung Scherwellen in biologischem Gewebe erzeugt. Diese Scherwellen können mittels Magnetresonanztomographie (MRT) und Bewegungskodiergradienten (Motion Encoding Gradient, MEG) dargestellt werden. Die mechanischen Kenngrößen werden mit Welleninversionsalgorithmen rekonstruiert [1]. Im Gegensatz zum Tastbefund werden auch tieferliegende Strukturen erfasst und die Veränderungen quantifiziert. Eine morphologische Differenzierung mittels Schnittbilddiagnostik oder Ultraschall zwischen gesunder und fibrotischer Leber ist nicht sicher möglich [2]. Auch die portale Hypertension (PHT) kann mit bildgebenden Verfahren nur im fortgeschrittenen Stadium durch sekundäre Veränderungen wie zum Beispiel einen vergrößerten Durchmesser der Vena portae oder endoskopisch durch den Nachweis von gastroösophagealen Varizen diagnostiziert werden. Die mechanischen Kenngrößen von Leber und Milz werden durch die PHT beeinflusst [3]. In der vorliegenden Arbeit wurden zwei aufeinander aufbauende In-vivo-MRE-Studien und eine Grundlagenstudie zur Mikro-MRE zusammengefasst.

In der ersten In-vivo-MRE-Studie werden Modifikationen zu bereits bekannten Versuchsaufbauten und Parameter-Rekonstruktionen vorgeschlagen. Dabei war das Ziel dieser Studie die Weiterentwicklung der MRE von Leber und Milz zur einfachen, zeiteffizienten klinischen Anwendung als hochauflösende Modalität. Die Experimente wurden an Phantomen, zehn Probanden und vier Patienten mit portaler Hypertension und Aszites durchgeführt.

In der zweiten In-vivo-MRE-Studie wurde die neue Technologie genutzt und um das Konzept der Poroelastizität erweitert. In dieser Pilotstudie sollte untersucht werden, ob die MRE mit den vor und nach transjugulärem intrahepatischem portosystemischem Stent-Shunt (TIPS) invasiv gemessenen portosystemischen Druckgradienten (Hepatic Venous Pressure Gradient, HVPG) bei Patienten mit PHT korreliert und damit als nichtinvasive Druckmesssonde einsetzbar ist.

Durch die Literatur ist ausgiebig belegt, dass die MRE die genaueste nichtinvasive Untersuchungsmethode zur Graduierung der hepatischen Fibrose ist [2]. Trotzdem ist unklar, welche Gewebestrukturen ursächlich die hohe Sensitivität der MRE-Parameter begründen. Deshalb wurde in der dritten vorliegenden Mikro-MRE-Studie zum ersten Mal der Zusammenhang von strukturellen, biochemischen, funktionellen und mechanischen Parametern bei humanen Leberproben verschiedener Fibrosestadien untersucht. Dabei war von besonderem Interesse, welche strukturellen Gewebeveränderungen zur Erhöhung der Lebersteifigkeit bei Leberfibrose führen.

In den beiden vorliegenden In-vivo-MRE-Pilotstudien und der Mikro-MRE-Pilotstudie wurden Veränderungen von Leber und Milz bei Leberfibrose sowie PHT untersucht. Bisher werden diese Erkrankungen in der klinischen Routine nur durch invasive und den Patienten belastende Diagnostik mittels Leberbiopsie beziehungsweise Katheterintervention sicher diagnostiziert. Vor diesem Hintergrund erscheint die Weiterentwicklung einer nichtinvasiven und für den Patienten schonenden Untersuchung mittels MRE besonders bedeutsam.

2.2 Leberfibrose

Weltweit sind über 100 Millionen Menschen von einer Leberfibrose betroffen. Die Hauptursachen stellen die chronische Hepatitis B und C, Autoimmunhepatitis sowie nichtalkoholische und alkoholische Fettlebererkrankungen dar. Alle chronischen Leberkrankheiten können zu Leberfibrose und im Endstadium zur Zirrhose führen [4]. Die Leberfibrose wird nach der METAVIR-Klassifikation in fünf Stadien von F0 bis F4 eingeteilt [5]. Der Aspartat-Aminotransferase-Thrombozyten-Ratio-Index (APRI) trifft mit biochemischen Markern, die nicht in direkter Beziehung mit der Leberfibrose stehen, eine statistische Vorhersage. Der LiMAX-Test (Maximum liver function capacity) dient der präoperativen Risikoabschätzung einer postoperativen Leberinsuffizienz bei Patienten mit Lebertumoren [6].

Der Goldstandard zur Diagnose der Leberfibrose ist die Biopsie, die allerdings invasiv, schmerzhaft, risikobehaftet und teuer ist. Die Komplikationsrate für Infektionen und Blutungen

liegt bei 3 % und die Mortalitätsrate bei 0,03 % [4]. Die Leberbiopsie erfasst ungefähr 1/50000 der Leber und ist aufgrund der Heterogenität der fibrotischen Leber nur eingeschränkt reproduzierbar, wie in mehreren Studien gezeigt wurde [5], [7], [8].

2.3 Portale Hypertension

Durch die hohe Prävalenz von Hepatitis C (weltweit 2,6 %, Deutschland 0,5 %) und der nichtalkoholischen Fettlebererkrankung (USA 30 %) ist die PHT eine Erkrankung von zunehmender Bedeutung. In der Diagnostik der PHT sind die invasive HVPG-Messung mittels Katheter und der endoskopische Nachweis von gastroösophagealen Varizen der Goldstandard. Die invasive HVPG-Messung kann jedoch nur in spezialisierten Zentren durchgeführt werden. Deshalb besteht der Bedarf nach einer nichtinvasiven Methode zur PHT-Diagnostik. Der normale HVPG beträgt 1 bis 5 mmHg. Ab einem Druck von 10 mmHg zeigen sich klinische Manifestationen wie zum Beispiel Aszites oder gastroösophageale Varizen. Die medikamentöse Therapie der ersten Wahl sind nicht-selektive Betablocker, die weniger als die Hälfte der Patienten vor gastroösophagealen Varizenblutungen schützen. Die Hauptindikationen für eine TIPS-Intervention sind die Notfallbehandlung und Prophylaxe von gastroösophagealen Varizenblutungen bei Versagen der medikamentösen und endoskopischen Therapie, ein therapieresistenter Aszites und das Budd-Chiari-Syndrom. Bei der TIPS-Intervention wird über einen Katheter in der rechten Vena hepatica ein Kurzschluss zwischen dem systemisch-venösen und dem portal-venösen Kreislauf hergestellt, um den HVPG zu senken. Bei der TIPS-Intervention wird durch invasive Messung von PVP und VCP (Vena Cava Pressure) der HVPG bestimmt.

3. Mechanische Grundlagen der MRE

3.1 Theorie der klassischen MRE

Zur Abgrenzung von bekannten und weiterentwickelten Welleninversionsalgorithmen wird im Folgenden zwischen der klassischen MRE und der hochauflösenden MRE (MRE 2.0) unterschieden.

In der vorliegenden Mikro-MRE-Studie wurde die klassische MRE angewandt. Hier wird der komplexe Schermodul G^* durch den frequenzabhängigen Realteil G' [kPa] für Elastizität und

dem Imaginärteil G'' [kPa] für Viskosität dargestellt: $G^* = G' + G''$. Die Dispersion des komplexen Moduls G^* über die Frequenz erschwert den direkten Vergleich bei verschiedenen singulären Frequenzen. Mittels Springpot-Modell wird G^* über den Frequenzbereich angeglichen. Dadurch können die frequenzunabhängigen Parameter Schermodul μ und Dispersionsindex α berechnet werden [9]. Das Springpot-Modell in seiner kürzesten Schreibweise lautet: $G^* = \kappa (i\omega)^\alpha$ mit $\kappa = \mu^{1-\alpha} \eta^\alpha$ [10].

3.2 Theorie der MRE 2.0

In den beiden In-vivo-MRE-Studien wurde die MRE 2.0 angewandt, die eine Weiterentwicklung der klassischen MRE mit Multifrequenz-3D-Bildakquisition und Multifrequency-Dual-Elastovisco (MDEV) Inversion darstellt [11]. Der komplexe Modul G^* wird in der MRE 2.0 durch seinen Betrag $|G^*|$ [kPa] für Elastizität und seinen Phasenwinkel ϕ [rad] für Viskosität dargestellt: $G^* = |G^*|(\cos \phi + i \sin \phi)$ [11]. Im Unterschied zu den klassischen viskoelastischen Parametern sind Betrag $|G^*|$ und Phase ϕ des komplexen Moduls G^* frequenzgemittelte und modellfreie Parameter [11]. Durch die MDEV-Inversion wird eine höhere räumliche Auflösung von $|G^*|$ und ϕ erreicht [11].

3.3 Poroelastizität

Poroelastizität ist die Grundlage der drucksensitiven MRE. Als neuer mechanischer Biomarker ergänzt die Poroelastizität die viskoelastischen Kenngrößen in biologischem Gewebe mit sogenanntem biphasischem System [12]. In der Leber wird das biphasische System durch das Parenchym als feste Phase und den Gefäßen als flüssige Phase dargestellt [12]. Eine Kompression des Gewebes führt zu einer Druckveränderung im Gefäßsystem [12]. Der Betrag der Volumendeformation verhält sich proportional zum Gefäßdruck p und wird beschrieben durch die Divergenz $d: (V_1 - V_2)/V_1 \sim -p$, wobei V_1 für das Gewebevolumen vor und V_2 für das Gewebevolumen nach Kompression stehen [12]. Für die Rekonstruktion der Poroelastizität ist eine 3D-Vektorfelderfassung der Gewebedeformation mittels MRT erforderlich [13]. Damit ermöglicht die Poroelastographie eine nichtinvasive Messung der Druckveränderung bei Kompression von biologischem Gewebe [12].

4. Methoden, Patienten und Gewebeproben

4.1 In-vivo-MRE (Studie: Methodenentwicklung MRE von Leber und Milz)

4.1.1 Demographische Patientendaten

Zuerst wurde ein Gelatine-Phantom mit drei sphärischen, 2 cm messenden Gelatine-Inklusionen mit ansteigendem Gelatine-Wasser-Quotient untersucht. Anschließend wurden nach Zustimmung der Ethikkommission der Charité-Universitätsmedizin Berlin zehn gesunde Probanden (drei Frauen, Alter von 22 bis 51 Jahren) und vier Patienten (zwei Frauen, Alter von 58 bis 75 Jahre, HVPg von 32, 18, 12, 27 mmHg) mit portaler Hypertension am Institut für Radiologie, Campus Charité Mitte, untersucht. Alle Patienten und Probanden wurden über den Sinn und die Risiken der MRT- und MRE-Untersuchung aufgeklärt, deren Einwilligung zu den Untersuchungen dokumentiert und eine schriftliche Einverständniserklärung eingeholt. Zum Test der Reproduzierbarkeit wurde Proband Nr. 1 fünfmal mit einem Abstand von jeweils einer Stunde untersucht.

4.1.2 Experimenteller Aufbau und Anregung

Der Patient befand sich in Rückenlage auf dem Untersuchungstisch eines 1,5-Tesla-MRT (Magnetom Sonata, Siemens, Erlangen), an dessen Ende ein nichtmagnetischer, piezoelektrischer Wellengenerator (150 V, 63 μ F, 3,5 kN, Piezosystem, Jena) integriert war. Mit einer Karbonfaserstange wurden die Vibrationen auf den Patienten übertragen. Die zeitharmonische Anregung erfolgte mit Einzelfrequenzen von 30, 40, 50 und 60 Hz. Die Bildakquisition erfolgte mit einer zweidimensionalen EPI-MRE-Sequenz, einer 12-Kanal-Spule und Centricity 3.1.2. Software. Die Untersuchung wurde in zwölf expiratorischen Apnoephasen von jeweils 15 Sekunden aufgeteilt und dauerte insgesamt 6 bis 8 Minuten. In jeder Apnoephase wurden zehn Schichten mit einer Auflösung von $2,7 \times 2,7 \times 5 \text{ mm}^3$ und acht Zeitschritte, in einer der drei Raumrichtung gemessen.

Weitere Messparameter: Vorlauf des Trigger-Pulses zur Wellenerzeugung = 100 ms, Wiederholzeit = 182 ms, Echozeit = 54 ms, Sichtfeld = $350 \times 284 \text{ mm}^2$, Matrix 128×104 , GRAPPA-Faktor 2, MEG Frequenz 50 Hz und MEG Amplitude 30 mT/m. Aufgrund der höheren Steifigkeit des Phantoms wurden die Frequenzen auf 110, 120, 130 und 140 Hz sowie die räumliche Auflösung auf $1,5 \times 1,5 \times 1,5 \text{ mm}^3$ angepasst.

4.2 In-vivo-MRE (Studie: Drucksensitive Leber-MRE bei TIPS)

4.2.1 Demographische Patientendaten

Nach Zustimmung der Ethikkommission der Charité-Universitätsmedizin Berlin wurden 13 Patienten vor und nach TIPS-Intervention am Institut für Radiologie, Campus Charité Mitte, untersucht. Alle Patienten wurden über den Sinn sowie die Risiken der MRT- und MRE-Untersuchung aufgeklärt, deren Einwilligung zu den Untersuchungen dokumentiert und eine schriftliche Einverständniserklärung eingeholt. Das Patientenkollektiv bestand aus vier Frauen und neun Männern in einem Altersbereich von 51 bis 71 Jahren. Alle Patienten hatten einen Aszites bedingt durch Zirrhose oder PHT. Die erste Untersuchung erfolgte einen Tag vor und die zweite Untersuchung erfolgte einen bis maximal drei Tage nach TIPS-Anlage. Während der TIPS-Intervention wurde der HVPG vor und nach der Shuntanlage invasiv gemessen.

4.2.2 Experimenteller Aufbau und Anregung

Die Untersuchung erfolgte wie in 4.1.2 beschrieben mit folgenden Unterschieden: 3D-EPI-MRE-Sequenz, zeitharmonische Anregung mit 25 und 50 Hz in allen 3 Raumrichtungen, sechs expiratorische Apnoephasen von jeweils 15 Sekunden und Gesamtdauer 3 bis 4 Minuten.

4.2.3 Voruntersuchung zur Validierung der Methodik

Zur Validierung der Methodik wurde eine frisch entnommene Schafsleber innerhalb von 28 Stunden untersucht. Arteria und Vena hepatica wurden mit Wirogel versiegelt. An die Vena portae wurde ein Schlauch mit einer gefüllten Wasserflasche angeschlossen. Durch das Anheben der Wasserflasche auf 0, 20, 40, 60 und 77 cm über den Untersuchungstisch konnten verschiedene portale Druckverhältnisse von 0 bis 7,8 kPa simuliert werden. Die Untersuchungen mit 25 und 50 Hz verliefen nach dem Protokoll der Patientengruppe mit folgenden Unterschieden: 30 Schichten mit 2 mm Dicke und $2 \times 2 \text{ mm}^2$ Auflösung in der axialen Ebene. Außerdem wurde ein gesunder Proband insgesamt fünfmal an vier verschiedenen Tagen nach dem Protokoll der Patientengruppe untersucht, um die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse zu überprüfen. Am vierten Tag wurden die Daten zusätzlich in einer einzigen Apnoephase erhoben, um den Einfluss atmungsbedingter Schichtverschiebung darzustellen.

4.3 Mikro-MRE (Studie: Charakterisierung humaner Gewebeproben)

4.3.1 Demographische Patientendaten

In der Mikro-MRE-Studie wurden Leberproben von 16 pseudonymisierten Patienten untersucht. 14 Patienten waren an Tumoren und zwei Patienten an einer Zirrhose erkrankt. Die Studie wurde durch die Ethikkommission der Charité-Universitätsmedizin Berlin genehmigt. Alle Leberproben wurden von Patienten, die nach Aufklärung ihr schriftliches Einverständnis erteilten, in der Klinik für Transplantationschirurgie, Charité Campus Virchow-Klinikum, entnommen. Das Patientenkollektiv bestand aus fünf Frauen und elf Männern in einem Altersbereich von 28 bis 73 Jahren.

4.3.2 Mikro-MRE

Die Untersuchung erfolgte innerhalb von 24 Stunden nach Gewebeentnahme an einem 7-Tesla-Kleintier-MRT (Bruker, Pharmascan, Ettlingen) bei Raumtemperatur im Neurowissenschaftlichen Forschungszentrum, Campus Charité Mitte. 16 humane Leberproben und eine bovine Leberprobe wurden mit einem speziell angefertigten Stanzzylinder passgenau für ein 50 ml Eppendorf-Röhrchen auf eine Größe von 3,5 cm \emptyset und circa 2 cm Höhe geschnitten. Das Eppendorf-Röhrchen wurde mit einem Adapter auf einer Karbonfaserstange befestigt. An dessen Ende befand sich eine Lorentz-Spule zur mechanischen Anregung. Nach optischer Kontrolle der Wellenbilder wurde die Wellenamplitude über den Audioverstärker angepasst. Die Bildakquisition mit einer FLASH-Sequenz mit sinusförmigem MEG in Schichtselektionsrichtung, einer 38 mm \emptyset Rattenkopf-Spule und Paravision 4.0 Software dauerte pro Leberprobe vier Stunden. Mit der Anregungsfrequenz variierte die Anzahl der MEG von 2 bis 12 Zyklen, um eine konstante Echozeit von 14,252 ms zu gewährleisten. Die zeitliche Auflösung erfolgte für jede Anregungsfrequenz in 16 Zeitschritten mit jeweils zwei entgegengesetzten MEG-Richtungen [9]. Dem MEG ging ein Trigger-Puls von 20 ms voraus, um den Gleichgewichtszustand der Wellen sicherzustellen.

Weitere Messparameter: Oszillationszyklen = 7 – 37; Periode = 5,000 – 0,833 ms mit Phasenzeitschritten = 0,313 – 0,052 ms; Sichtfeld = 40 mm; Schichtdicke = 2 mm; Matrix 256 x 256; Wiederholzeit = 126,171 ms; MEG-Amplitude 285 mT/m. Eine Bildakquisition mit T1- und T2-Sequenzen erfolgte zur morphologischen Darstellung. Die Rekonstruktion mechanischer Kenngrößen erfolgte mit Matlab R 7 Release 14 (The Mathworks, Inc., Natick, MA, USA) mittels Welleninversion nach dem Springpot-Modell. Zur Verbesserung der

Bildqualität wurde ein Phasendifferenzbild aus zwei Phasenbildern mit gegensätzlicher MEG-Polarität subtrahiert. Bei höheren Frequenzen konnten zentrale und obere Bereiche der Leberproben aufgrund einer stärkeren Dämpfung nicht vollständig angeregt werden. Nach Klatt et al. [14] erfolgte eine automatische Segmentierung der zu analysierenden Areale (sog. Regions of Interest (ROI)), basierend auf der Hälfte des Betrages der Wellenamplitude. Rauschen und Kompressionswellen wurden durch einen Butterworth-Bandpass-Filter nach Riek et al. [9] reduziert.

4.3.3 Indenter-Test

Am Institut für Radiologie, Campus Charité Mitte, wurde der Indenter-Test mit einem Rheometer (MCR 301, Anton Paar, Österreich) an allen Leberproben durchgeführt. Dazu wurde ein 5 mm messendes Loch in das Eppendorf-Röhrchen gebohrt, um mit einer 3 mm messenden zylindrischen Indenter-Spitze die Leberprobe mit einer Amplitude von 1 mm für 20 s zu komprimieren. Die entgegenwirkende Kraft wurde dabei gemessen. Eine Vorlast von 1 g sorgte für vollen Kontakt zwischen der Indenterspitze und der Probe. Vier Belastungszyklen dienten der Präkonditionierung. Am Department of Electrical and Computer Engineering, University of Western Ontario, Kanada, wurde der Young'sche Modul E der Leberproben mittels Finite-Elemente-Methode nach Samani et al. [15] berechnet (Software: ABAQUS, Dassault Systèmes Simulia Corp, Providence, RI, USA). Die für dieses Modell benötigte Probengeometrie wurde aus den MRT-Magnitudenbildern abgeleitet.

4.3.4 LiMAx-Test

In der Klinik für Transplantationschirurgie, Charité Campus Virchow-Klinikum, erhielten 10 von 16 Patienten einen präoperativen LiMAx-Test. Bei Patienten mit Lebertumoren und Indikation zur Leberresektion dient der LiMAx-Test der Risikoabschätzung einer postoperativen Leberinsuffizienz. Durch einen Algorithmus wird eine Vorhersage zur postoperativen Leberfunktion und Mortalität getroffen [6]. Grundlage des LiMAx-Tests ist ein Quotient aus künstlichem $^{13}\text{CO}_2$ und physiologischem $^{12}\text{CO}_2$ in der expiratorischen Atemluft, die über eine Zeit von 60 Minuten untersucht wird [6]. Das $^{13}\text{CO}_2$ wird nach einer intravenösen Injektion von ^{13}C -Methacetin (Euriso-top, Saint-Aubin Cedex, Frankreich) und einem hepatischem Metabolismus über Cytochrom P450 1A2 synthetisiert [6].

4.3.5 Histologie

Am Institut für Pathologie, Campus Charité Mitte, wurden alle Leberproben nach einer Hämatoxylin-Eosin-Färbung mikroskopisch auf Fibrose, Inflammation und Fettgehalt untersucht. Die Fibrosegraduierung erfolgte nach der METAVIR-Klassifikation, erweitert um Zwischenschritte. Die Inflammation wurde wie folgt mit Zwischenschritten eingeteilt: 0 = keine Inflammation, 1 = geringe Inflammation, 2 = mäßige Inflammation und 3 = hochgradige Inflammation. Der Fettgehalt wurde in Prozent in Bezug auf die gesamte Probe angegeben. Der Gehalt an Kollagen I und III als Marker der EZM wurde mittels Kollagen-Antikörper und dem optiView DAB ICH detection kit (Ventana Tucson, Arizona, USA) bestimmt. Mit Zwischenschritten wurde eingeteilt: 0 = keine Proliferation, 1 = geringer Kollagenanstieg, 2 = mäßiger Kollagenanstieg und 3 = hochgradiger Kollagenanstieg.

4.3.6 Hydroxyprolin

Als letzte Untersuchung der Leberproben erfolgte in der Klinik für Pädiatrie mit Schwerpunkt Nephrologie und am Charité Center for Cardiovascular Research die Bestimmung des Hydroxyprolinegehalts als ein etablierter Kollagenmarker. Das Verfahren basiert auf den Methoden von Boigk et al. [16] und Jamall et al. [17]. Der Hydroxyprolinegehalt wurde auf das Gewicht der Leberprobe hochgerechnet, um den Hydroxyprolinegehalt in mg pro g Lebergewebe zu erhalten.

4.4 Statistische Auswertung

Die statistischen Hypothesen der beiden In-vivo-MRE-Studien wurden mit einem Student-t-Test überprüft. Der Zusammenhang von $\Delta|d^*|$ und $\Delta|C^*|$ mit invasiv gemessenen Druckparametern wurde mit dem Pearson-Korrelations-Koeffizienten getestet. Für die Micro-MRE-Studie wurde der Pearson-Korrelations-Koeffizient aller Parameter zum paarweisen Vergleich bestimmt. Als statistisch signifikant galten P-Werte $< 0,05$. Die Auswertung erfolgte mit Matlab R 7 Release 14 (The Mathworks, Inc., Natick, MA, USA) und IBM SPSS Statistics 18 (IBM Corporation, Route 100, Somers, NY, USA).

5. Ergebnisse

5.1 In-vivo-MRE (Studie: Methodenentwicklung MRE von Leber und Milz)

Durch die MEDV-Inversion war es möglich, alle drei Gelatine-Inklusionen von der Gelatine-Matrix des Phantoms abzugrenzen. Zusätzlich konnte die Steifigkeit entsprechend der unterschiedlichen Zusammensetzung bestimmt werden: Inklusion 3 ($|G^*| = 42,8 \pm 6,7$ kPa), Inklusion 2 ($|G^*| = 26,6 \pm 3,5$ kPa) und Inklusion 1 ($|G^*| = 11,5 \pm 2,4$ kPa). Außerdem konnten größere anatomische Strukturen wie die Vena cava inferior und die Aorta abdominalis bei niedrigen Werten in der $|G^*|$ -Karte aufgrund der geringen Elastizität von flüssigkeitsgefüllten Kompartimenten dargestellt werden. Bei der Leber sind die ϕ -Werte der Patienten ($\phi = 0,803 \pm 0,094$) signifikant höher als die der Probanden ($\phi = 0,492 \pm 0,064$, $p = 1,1 \cdot 10^{-5}$). Der Betrag des komplexen Moduls $|G^*|$ zeigt jedoch keinen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen (Patienten: $1,96 \pm 0,99$ kPa; Probanden: $1,44 \pm 0,23$ kPa; $p = 0,129$). Auch bei der Milz gibt es keinen signifikanten Unterschied für den Betrag des komplexen Moduls $|G^*|$ zwischen den Gruppen (Patienten: $2,85 \pm 0,67$ kPa; Probanden: $2,29 \pm 0,97$ kPa; $p = 0,594$). Wie bei der Leber gibt es für ϕ einen signifikanten Unterschied (Patienten: $1,012 \pm 0,100$; Probanden: $0,749 \pm 0,144$; $p = 0,0066$). In der Probandengruppe sind $|G^*|$ und ϕ in der Milz höher als in der Leber ($p = 0,015$ bzw. $p = 6,58 \cdot 10^{-5}$). In Übereinstimmung mit der Literatur zeigt sich auch eine signifikante Korrelation von Milz und Leber für $|G^*|$ (Pearson-Korrelation: $R = 0,8488$, $p = 0,002$) [18]. Ebenfalls in Übereinstimmung mit der Literatur ist die Korrelation des portosystemischen Druckgradienten (HVPG) mit den MRE-Parametern $|G^*|$ ($R = 0,774$) und ϕ ($R = 0,882$), ohne jedoch bei geringer Fallzahl statistische Signifikanz zu erreichen [3]. Die fünf wiederholten Untersuchungen des Probanden nach jeweils einer Stunde zeigten bei einer geringen Standardabweichung ($|G^*| = 1,58 \pm 0,11$ kPa, $\phi = 0,419 \pm 0,046$) die hohe Reproduzierbarkeit der Methode.

5.2 In-vivo-MRE (Studie: Drucksensitive Leber-MRE bei TIPS)

5.2.1 Schafsleber und Proband

Nach Anheben der Wasserflasche und einem konsekutivem Druckanstieg von 0 auf 7,8 kPa zeigte sich eine um den Faktor zwei verminderte Volumendeformation $|d^*|$ von $2,87 \cdot 10^{-4}$ auf $1,40 \cdot 10^{-4}$. Dabei waren die Scherdeformation $|C^*|$ ($(3,64 \pm 0,13) \cdot 10^{-3}$) und der Betrag des komplexen Moduls $|G^*|$ ($2,65 \pm 0,19$ kPa) nahezu konstant. Die Volumendeformation $|d^*|$ ohne

mechanische Anregung war mit $(3,38 \pm 0,34) \cdot 10^{-5}$ zwei Größenordnungen kleiner als $|C^*|$ und wurde deshalb als Rauschen betrachtet. Die fünf wiederholten Probandenmessungen an vier verschiedenen Tagen zeigten die Reproduzierbarkeit von $|d^*|$ ($(2,42 \pm 0,05) \cdot 10^{-4}$), $|C^*|$ ($(7,73 \pm 2,80) \cdot 10^{-4}$) und $|G^*|$ (1376 ± 42 kPa). Auch die zusätzliche Bildakquisition in einer Apnoephase zeigte die Methodenstabilität gegenüber atmungsbedingter Schichtverschiebung. Bei der Messung am vierten Tag bei sechs versus einer Apnoephase ergab sich: $|d^*| = 2,41 \cdot 10^{-4}$ bzw. $2,44 \cdot 10^{-4}$; $|C^*| = 9,35 \cdot 10^{-4}$ bzw. $9,97 \cdot 10^{-4}$ und $|G^*| = 1368$ bzw. 1332 kPa.

5.2.2 Patientenkohorte

Bei allen Patienten mit pathologisch erhöhtem HVPG ($21,4 \pm 5,7$ mmHg) steigt $|d^*|$ nach TIPS-Intervention an. Bei Patient Nr. 5, der als einziger Patient einen normwertigen HVPG (6 mmHg) vorwies, kam es zu einem Abfall der Volumendeformation $|d^*|$. Die relative Veränderung von $|d^*|$ ($\Delta|d^*|$) vor und nach TIPS-Intervention ist für alle 13 Patienten mit (21 ± 13) % signifikant ($p = 1,38 \cdot 10^{-5}$). Im Gegensatz dazu konnte keine signifikante Veränderung für $|C^*|$ mit einer relativen Veränderung von (-2 ± 32) % beobachtet werden. Obwohl ein unterschiedliches Ausmaß an Aszites vor und nach der TIPS-Intervention zu Fehlern führen kann, war die Variabilität von $|d^*|$ bei jedem Patienten geringer als die Variabilität der Patienten untereinander.

5.3 Mikro-MRE-Studie (Studie: Charakterisierung humaner Gewebeproben)

5.3.1 Histologie

Die histologische Untersuchung erfolgte bei allen Proben mit Ausnahme der bovinen Leber. Der mittlere Fibrosegrad der humanen Proben betrug $2,2 \pm 1,3$. Alle humanen Proben wiesen einen geringen bis mäßigen Grad von Inflammation bei einem Mittelwert von $1,2 \pm 0,5$ auf. Bei einem Mittelwert von $1,5 \pm 0,4$ variierte Kollagen I nur zwischen geringer und mäßiger Proliferation. Kollagen III war bei allen Proben nicht signifikant nachweisbar. Der Fettgehalt ergab keine Steatosis in acht Proben, eine geringe Steatosis in sieben Proben ($3,4 \pm 1,6$ %) und eine hochgradige Steatosis in zwei Proben (10 % und 50 %).

5.3.2 Mikro-MRE

Drei Leberproben konnten aufgrund eines zu hypointensen Signals bei Hämochromatose nicht untersucht werden. G' , G'' und μ stiegen zusammen mit dem Fibrosegrad an. Aufgrund von Modenkonversion an den Wänden des Eppendorf-Röhrchens wurden horizontale Scherwellen beobachtet, obwohl die Lorentz-Spule vertikale Vibrationen erzeugte.

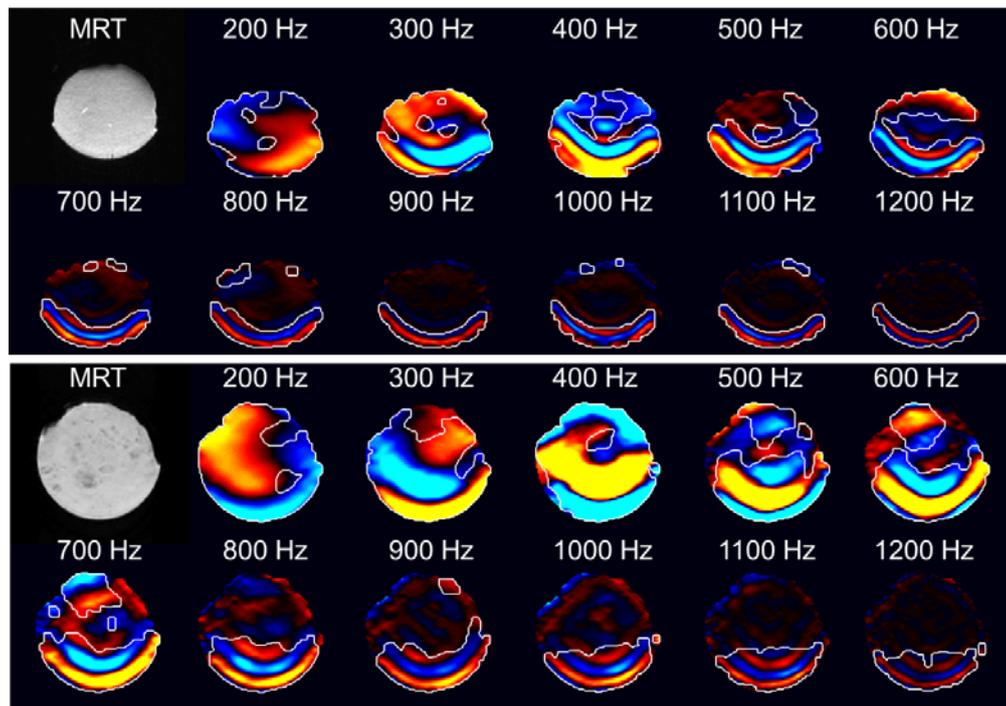


Abb. 1 Darstellung der MRT-Magnitudenbilder und der MRE-Wellenbilder (Realteil G' des komplexen Moduls) von 200 bis 1200 Hz für zwei Proben. Die oberen zwei Reihen zeigen eine gesunde bovine Leberprobe und die unteren zwei Reihen eine zirrhotische humane Leberprobe (F4). Eine automatische Segmentierung der zu analysierenden Areale erfolgte nach Klatt et al. [11].

5.3.3 Indenter-Test

Der Young'sche Modul E konnte bis auf Probe Nr. 15 bei allen Proben berechnet werden. Probe Nr. 15 war zu klein, um die geometrischen Voraussetzungen für die Indentations-Experimente zu erfüllen.

5.3.4 Parameter-Korrelation

Die hohe Korrelation von Fibrose und Inflammation ($R = 0,773$; $p < 0,001$) deutet darauf hin, dass Hepatitis die Hauptursache der Fibrose in unserer Kohorte ist. Keine Korrelation ergab sich für Fibrose und Kollagen I, Fettgehalt, APRI und dem LiMAX-Test. Der Hydroxyprolinegehalt

korrelierte mit dem Fibrosegrad ($R = 0,645$; $p < 0,007$) und geringer auch mit der Inflammation ($R = 0,565$; $p < 0,023$). Wie in der Literatur beschrieben, waren alle mechanischen Parameter mit dem Fibrosegrad korreliert [4]. Dabei ergab sich eine stärkere Korrelation der MRE-Parameter im Vergleich zur statischen Indentation. Der Dispersionskoeffizient α zeigte für den Fibrosegrad eine geringe negative Korrelation ($R = -0,590$; $p < 0,034$) und bekräftigt damit die Ergebnisse von vorangegangenen In-vivo-MRE-Studien [10], [19]. Unter allen Parametern korrelieren G' und G'' , gemittelt über die Frequenzen ($\text{mean}G'$, $\text{mean}G''$), am stärksten mit dem Fibrosegrad ($R = 0,762$ bzw. $R = 0,830$). Ausgehend von einzelnen Frequenzen steigt die Korrelation mit der Frequenz von $R = 0,47$ (200 Hz) auf $R = 0,79$ (1200 Hz) für G' und von $R = 0,32$ (200 Hz) auf $R = 0,65$ (1200 Hz) für G'' . Im Gegensatz zu In-vivo-MRE-Studien wurde keine Korrelation zwischen Inflammation und den mechanischen Parametern beobachtet. Ein Anschwellen der Hepatozyten nach Resektion kann als ursächlich diskutiert werden. Außerdem ergab sich keine Korrelation von mechanischen Parametern und Kollagen, Fettgehalt, APRI und dem LiMAX-Test.

6. Diskussion

Ziel der Arbeit war die Entwicklung neuer Methoden zur systematischen Untersuchung der mechanischen Eigenschaften der Leber mittels MRE.

6.1 In-Vivo-MRE

In der ersten In-vivo-MRE-Studie konnte ein verbesserter Versuchsaufbau für die abdominelle MRE implementiert werden. Die Integration der Anregungseinheit in den Untersuchungstisch ohne Verzerrung des Magnetfeldes ermöglicht eine leichtere Anwendung in der klinischen Routine. Bei einer kurzen Untersuchungszeit konnte die Auflösung mittels MEDV-Inversion erhöht werden, so dass sogar anatomische Strukturen wie die Vena cava inferior oder die Aorta abdominalis in den Elastizitätskarten dargestellt wurden. Dabei stellten Adipositas und Aszites keine Einschränkungen der Untersuchung dar. Die Berechnung der mechanischen Parameter von Leber und Milz erfolgte aus derselben Untersuchung. Bei der Milz-MRE zeigte sich die Scherelastizität sensitiv für HVPG und PHT. Außerdem zeigte sich in Übereinstimmung mit der Literatur eine Korrelation der Schermodule von Milz und Leber [3], [18]. Mit den zusätzlichen diagnostischen Informationen der Milz kann die PHT-Diagnostik der Leber-MRE erweitert werden. Limitationen der Studie sind die kleine Kohorte und fehlende Informationen zum Fibrosegrad, da keine Indikation zur Leberbiopsie bestand. In der zweiten In-vivo-MRE-Studie

wurde zum ersten Mal die Poroelastizität der menschlichen Leber zur Detektion portaler Druckveränderungen untersucht. Es zeigte sich eine signifikante Sensitivität der Volumendeformation $|d^*|$ für HVPG und PVP. Der Betrag des komplexen Moduls $|G^*|$ zeigte keine signifikante Änderung in Bezug auf den Abfall des HVPG nach TIPS-Intervention oder einem anderen invasiv gemessenen Druckparameter. Eine der Hauptlimitationen der In-vivo-MRE-Studie ist neben der kleinen Kohorte eine fehlende Allgemeingültigkeit der drucksensitiven Elastographie. Die invasiv gemessenen Parameter wurden direkt nach der TIPS-Intervention gemessen, wohingegen die MRE-Messung ein bis drei Tage später erfolgte. Während dieser Zeit könnte eine Rückbildung oder Veränderung des hepatischen Blutflusses erfolgt sein. Außerdem wurde in der vorliegenden In-vivo-MRE-Studie eine ROI im Lobus dexter zur Bestimmung von diffusen Veränderungen selektiert. In zukünftigen Studien könnte die Änderung der Volumendeformation $\Delta|d^*|$ durch eine einzige Untersuchung vor der TIPS-Intervention mit Hilfe von zwei kleineren ROIs in der Nähe der Vena portae und der Vena cava inferior bestimmt werden.

6.2 Mikro-MRE

In der Mikro-MRE-Studie wurden strukturelle, biochemische, funktionelle und mechanische Parameter zur Analyse des Zusammenhangs von Geweberemodellierung bei Leberfibrose und viskoelastischen Eigenschaften bestimmt. Funktionelle Parameter wie der LiMax-Test und der APRI geben Auskunft über Stoffwechselprozesse und stehen in unserer limitierten Kohorte nicht in Zusammenhang mit der Gewebeszusammensetzung. Es zeigte sich keine Korrelation von funktionellen Parametern für Fibrose oder Inflammation. Der Indenter-Test war für den Fibrosegrad weniger sensitiv als die MRE. Als Ursachen sind eine unregelmäßige Probengeometrie, Oberflächeneffekte und die Vorlast zu diskutieren. Durch den geringen Fettgehalt in unserer Kohorte können keine Aussagen zum Einfluss der Steatosis auf MRE-Parameter gemacht werden. G' und G'' sind sensitive MRE-Parameter zur Diagnostik der Leberfibrose. Abgesehen von In-vivo-Effekten wie Gefäßdruck und Gewebeswellung hat der Fibrosegrad den größten Einfluss auf die Lebersteifigkeit. Die Korrelation von Elastizität und Fibrosegrad steigt bei höheren Anregungsfrequenzen. Diese Beobachtung stimmt mit Schlussfolgerungen aus bereits durchgeführten In-vivo-MRE- und Mikro-MRE-Studien überein [9], [19]. Die hohen Korrelationen von μ , $\text{mean}G'$ und $\text{mean}G''$ mit Fibrose und Hydroxyprolin zeigen, dass elastische und visköse Lebereigenschaften zusammen mit dem Kollagengehalt bei

der Fibrogenese ansteigen. Einen Einblick in die strukturelle Reorganisation des Lebergewebes gibt die relative Verschiebung von elastischen und viskösen Eigenschaften, bestimmt durch den Springpot-Parameter $\alpha = 2/\pi \arctan(G''/G')$. Ein Abfall von α ist in der vorliegenden Studie mit einem Anstieg der elastischen Eigenschaften verbunden. Nach vorläufiger Interpretation kommt es zu einer Reduktion der freien Kettenenden im viskoelastischen Netzwerk und damit zu einer Abnahme der dispersiven Eigenschaften des Gewebes bei Fibrose [10]. Unter der Annahme, dass Kollagen den größten Beitrag am viskoelastischen Netzwerk hat, ist die Reduktion freier Ketten bei gleichzeitigem Hydroxyprolinanstieg ein Hinweis für zusätzlich gebildete Quervernetzungen. Der Anstieg von μ und $\text{mean}G'$ mit dem Fibrosegrad weist auf eine höhere Anzahl von quervernetzten Netzwerkelementen hin. Ein Anstieg von $\text{mean}G''$ entspricht einer erhöhten unspezifischen Netzwerkdichte mit vernetzten und beweglichen Ketten. Diese Interpretation und die negative Korrelation von α und dem Fibrosegrad erklären, warum die MRE sensitiver für Fibrose ist als Hydroxyprolin: Die Fibrose verursacht die Proliferation von Kollagen und zusätzlich die Bildung von Quervernetzungen von bereits bestehenden Bindegewebsketten. Beide Effekte beeinflussen die Scherwellenpropagation.

7. Literaturverzeichnis

- [1] Muthupillai R, Lomas DJ, Rossman PJ, Greenleaf JF, Manduca A, Ehman RL. Magnetic Resonance Elastography by Direct Visualization of Propagating Acoustic Strain Waves. *Science* 1995;269(5232):1854-7.
- [2] Bonekamp S, Kamel I, Solga S, Clark J. Can imaging modalities diagnose and stage hepatic fibrosis and cirrhosis accurately? *J Hepatology* 2009;50(1):17-35.
- [3] Nedredal GI, Yin M, McKenzie T, Lillegard J, Luebke-Wheeler J, Talwalkar J, Ehman RL, Nyberg SL. Portal hypertension correlates with splenic stiffness as measured with MR elastography. *J Magn Reson Imaging* 2011;34(1):79-87.
- [4] Venkatesh SK, Yin M, Ehman RL. Magnetic resonance elastography of liver: technique, analysis, and clinical applications. *J Magn Reson Imaging* 2013;37(3):544-55.
- [5] Bedossa P. Intraobserver and Interobserver Variations in Liver Biopsy Interpretation in Patients with Chronic Hepatitis C. *Hepatology* 1994;20:15-20.
- [6] Stockmann M, Lock JF, Malinowski M, Niehues SM, Seehofer D, Neuhaus P. The Li-MAX test: a new liver function test for predicting postoperative outcome in liver surgery. *HPB (Oxford)* 2010;12(2):139-46.

- [7] Ratziu V, Charlotte F, Heurtier A, Gombert S, Giral P, Bruckert E, Grimaldi A, Capron F, Poynard T. Sampling Variability of Liver Biopsy in Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Gastroenterol* 2005;128(7):1898-906.
- [8] Colloredo G, Guido M, Sonzogni A, Leandro G. Impact of liver biopsy size on histological evaluation of chronic viral hepatitis: the smaller the sample, the milder the disease. *J Hepatol* 2003;39(2):239-44.
- [9] Riek K, Klatt D, Nuzha H, Mueller S, Neumann U, Sack I, Braun J. Wide-range dynamic magnetic resonance elastography. *J Biomech* 2011;44(7):1380-6.
- [10] Sack I, Jöhrens K, Würfel J, Braun J. Structure-sensitive elastography: on the viscoelastic powerlaw behavior of in vivo human tissue in health and disease. *Soft Matter* 2013;9(24):5672-81.
- [11] Guo J, Hirsch S, Fehlner A, Papazoglou S, Scheel M, Braun J, Sack I. Towards an Elastographic Atlas of Brain Anatomy. *PLoS One* 2013;8(8):e71807.
- [12] Sack I. Magnetic resonance elastography 2.0: High resolution imaging of soft tissue elasticity, viscosity and pressure. *Dtsch Med Wochenschr* 2013;138(47):2426-30.
- [13] Hirsch S, Klatt D, Freimann F, Scheel M, Braun J, Sack I. In vivo measurement of volumetric strain in the human brain induced by arterial pulsation and harmonic waves. *Magn Reson Med* 2012; doi: 10.1002/mrm.24499.
- [14] Klatt D, Asbach P, Rump J, Papazoglou S, Somasundaram R, Modrow J, Braun J, Sack I. In vivo determination of hepatic stiffness using steady-state free precession magnetic resonance elastography. *Invest Radiol* 2006;41(12):841-8.
- [15] Samani A, Zubovits J, Plewes D. Elastic moduli of normal and pathological human breast tissues: an inversion-technique-based investigation of 169 samples. *Phys Med Biol* 2007;52(6):1565-76.
- [16] Boigk G, Stroedter L, Herbst H, Waldschmidt J, Riecken EO, Schuppan D. Silymarin retards collagen accumulation in early and advanced biliary fibrosis secondary to complete bile duct obliteration in rats. *Hepatology* 1997;26(3):643-9.
- [17] Jamall IS, Finelli VN, Que Hee SS. A Simple Method to Determine Nanogram Levels of in Biological Tissues. *Anal Biochem* 1981;112(1):70-5.
- [18] Talwalkar JA, Yin M, Venkatesh S, Rossman PJ, Grimm RC, Manduca A, Romano A, Kamath PS, Ehman RL. Feasibility of in vivo MR elastographic splenic stiffness measurements in the assessment of portal hypertension. *Am J Roentgenol* 2009;193(1):122-7.
- [19] Asbach P, Klatt D, Schlosser B, Biermer M, Muche M, Rieger A, Loddenkemper C, Somasundaram R, Berg T, Hamm B, Braun J, Sack I. Viscoelasticity-based staging of hepatic fibrosis with multifrequency MR elastography. *Radiology* 2010;257(1):80-6.

8. Anteilserklärung

Publikation 1:

Reiter R, Freise C, Jöhrens K, Kamphues C, Seehofer D, Stockmann M, Somasundaram R, Asbach P, Braun J, Samani A, Sack I. Wideband MRE and static mechanical indentation of human liver specimen: Sensitivity of viscoelastic constants to the alteration of tissue structure in hepatic fibrosis. J Biomech, 2014.

Beitrag im Einzelnen: Planung und Entwicklung der Studie, Probenakquisition, Durchführung der MRE-Experimente, Datenvalidierung, Datenauswertung, Beteiligung an der Anfertigung des Manuskriptes.

Publikation 2:

Hirsch S, Guo J, **Reiter R**, Papazoglou S, Kroencke T, Braun J, Sack I. MR Elastography of the Liver and the Spleen Using a Piezoelectric Driver, Single-Shot Wave-Field Acquisition, and Multifrequency Dual Parameter Reconstruction. Magn Reson Med, 2014.

Beitrag im Einzelnen: Patientenrekrutierung, Durchführung der MRE-Experimente, Beteiligung an der Anfertigung des Manuskriptes.

Publikation 3:

Hirsch S, Guo J, **Reiter R**, Schott E, Buening C, Somasundaram R, Braun J, Sack I, Kroencke T. Towards Compression-Sensitive Magnetic Resonance Elastography of the Liver: Sensitivity of Harmonic Volumetric Strain to Portal Hypertension. J Magn Reson Imaging, 2014.

Beitrag im Einzelnen: Patientenrekrutierung, Durchführung der MRE-Experimente, Beteiligung an der Anfertigung des Manuskriptes.

Rolf Otto Reiter

9. Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Rolf Otto Reiter, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Neue Entwicklungen der abdominalen Magnetresonanz-Elastographie (MRE)“ selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung (siehe „Uniform Requirements for Manuscripts (URM)“ des ICMJE -www.icmje.org) kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Mein Anteil an der ausgewählten Publikation entspricht dem, der in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem Betreuer, angegeben ist.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§156,161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Ort, Datum

Rolf Otto Reiter

10. Druckexemplare der ausgewählten Publikationen

Die Seiten 25 bis 54 umfassen folgende Originalartikel:

Publikation 1:

Reiter R, Freise C, Jöhrens K, Kamphues C, Seehofer D, Stockmann M, Somasundaram R, Asbach P, Braun J, Samani A, Sack I. Wideband MRE and static mechanical indentation of human liver specimen: Sensitivity of viscoelastic constants to the alteration of tissue structure in hepatic fibrosis. J Biomech. 2014.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.jbiomech.2014.02.034>

Impact-Faktor = 2,496 (Stand 2013)

Publikation 2:

Hirsch S, Guo J, **Reiter R**, Papazoglou S, Kroencke T, Braun J, Sack I. MR Elastography of the Liver and the Spleen Using a Piezoelectric Driver, Single-Shot Wave-Field Acquisition, and Multifrequency Dual Parameter Reconstruction. Magn Reson Med. 2014.

<http://dx.doi.org/10.1002/mrm.24674>

Impact-Faktor = 3,398 (Stand 2013)

Publikation 3:

Hirsch S, Guo J, **Reiter R**, Schott E, Buening C, Somasundaram R, Braun J, Sack I, Kroencke T. Towards Compression-Sensitive Magnetic Resonance Elastography of the Liver: Sensitivity of Harmonic Volumetric Strain to Portal Hypertension. J Magn Reson Imaging. 2014.

<http://dx.doi.org/10.1002/jmri.24165>

Impact-Faktor = 2,788 (Stand 2013)

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

12. Komplette Publikationsliste

Originalartikel in Zeitschriften mit Peer-Review-Verfahren:

Publikation 1:

Reiter R, Freise C, Jöhrens K, Kamphues C, Seehofer D, Stockmann M, Somasundaram R, Asbach P, Braun J, Samani A, Sack I. Wideband MRE and static mechanical indentation of human liver specimen: Sensitivity of viscoelastic constants to the alteration of tissue structure in hepatic fibrosis. J Biomech 2014;47(7):1665-74.

Impact-Faktor = 2,496 (Stand 2013)

Publikation 2:

Hirsch S, Guo J, **Reiter R**, Papazoglou S, Kroencke T, Braun J, Sack I. MR Elastography of the Liver and the Spleen Using a Piezoelectric Driver, Single-Shot Wave-Field Acquisition, and Multifrequency Dual Parameter Reconstruction. Magn Reson Med 2014;71(1):267-77.

Impact-Faktor = 3,398 (Stand 2013)

Publikation 3:

Hirsch S, Guo J, **Reiter R**, Schott E, Buening C, Somasundaram R, Braun J, Sack I, Kroencke T. Towards Compression-Sensitive Magnetic Resonance Elastography of the Liver: Sensitivity of Harmonic Volumetric Strain to Portal Hypertension. J Magn Reson Imaging 2014;39(2):298-306.

Impact-Faktor = 2,788 (Stand 2013)

Publikation 4:

Freimann FB, Müller S, Streitberger KJ, Guo J, Rot S, Ghori A, Vajkoczy P, **Reiter R**, Sack I, Braun J. MR elastography in a murine stroke model reveals correlation of macroscopic viscoelastic properties of the brain with neuronal density. NMR Biomed 2013;26(11):1534-9.

Impact-Faktor = 3,559 (Stand 2013)

13. Danksagung

Mein Dank gilt:

Prof. Dr. rer. nat. Ingolf Sack, Diplom-Chemiker und PD Dr. rer. nat. Jürgen Braun, Diplom-Chemiker für die Überlassung des Promotionsthemas und die exzellente Betreuung.

PD Dr. med. Patrick Asbach für die Initiierung der Zusammenarbeit und die weitere Förderung.

PD Dr. med. Thomas Kröncke für die zwischenzeitliche Betreuung.

Dr. rer. nat. Dieter Klatt, Diplom-Geophysiker für die Vermittlung der physikalischen Grundlagen.

Meinen Kollegen Dr. rer. nat. Jing Guo, Diplom-Chemikerin, Sebastian Hirsch, Diplom-Physiker und Heiko Tzschätzsch, Diplom-Physiker für die gute Zusammenarbeit.

Meiner Familie, insbesondere meinem Vater Dr. rer. nat. Wolfgang Reiter, Diplom-Physiker.