

Aus der

Klinik und Poliklinik für Radiologie
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Direktor: Prof. Dr. med. Jens Ricke

***Mikro- und makrovaskuläre Veränderungen in der
kontrastmittelverstärkten Bildgebung***

Kumulative Habilitationsschrift

zur Erlangung der Venia Legendi
für das Fach Experimentelle Radiologie
der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München

vorgelegt von

Dr. med. Giovanna Negrão de Figueiredo

2021

*Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München*

Fachmentorat:

Prof. Dr. med. Dr. h.c. Maximilian F. Reiser, FACR, FRCR

Prof. Dr. med. Dr. h.c. (TSM-Uni) Dirk-André Clevert

Prof. Dr. med. Martin Angele

Gutachter:

Prof. Dr. med. Stefan Delorme

Prof. Dr. med. Thomas Fischer

Dekan:

Prof. Dr. med. dent. Reinhard Hickel

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	5
1 Einleitung und Zielsetzung	7
2 Grundlagen der Kontrastmittelverstärkten Bildgebung.....	8
2.1 Computertomographie-Angiographie (CTA)	8
2.2 Mikro-Computertomographie (Mikro-CT).....	10
2.3 Magnetresonanz-Angiographie (MRA)	13
2.4 Digitale Subtraktionsangiographie (DSA)	15
2.5 Grundlagen der Kontrastmittelverstärkten Ultraschalldiagnostik.....	17
3 Präklinische Anwendung der Kontrastmittelverstärkten Bildgebung	19
3.1 Vergleich der DSA, Mikro-CTA und MRA bei der Beurteilung der intrakraniellen Gefäße in lebenden Mäusen (a)	21
3.2 In-vivo-digitale Subtraktions- und CT-Angiographie der murinen intrakraniellen Gefäße mittels intraarterieller Kontrastinjektion (b).....	24
3.3 Vergleich von Fenestra™ LC, ExiTron™ nano 6000 und ExiTron™ nano 12000 für die Mikro-CT-Bildgebung von Leber und Milz in Mäusen (c)	28
3.4 Kostengünstiger, metallfreier Mini-Port für die artefaktfreie Bildgebung und wiederholte Injektionen von Kontrastmittel bei Mäusen (d)	30
3.5 Minimalinvasive Überwachung von chronischer Durchgängigkeit des zentralen Venenkatheters bei Mäusen mittels DSA (e).....	33
4 Klinische Anwendung der Kontrastmittelverstärkten Bildgebung - Ultraschalldiagnostik	36
4.1 Gallenblase.....	39
5 Zusammenfassung und Ausblick	51
6 Abbildungsverzeichnis	53
7 Literaturverzeichnis mit Fremdliteratur zum Thema	57
8 Originalarbeiten zum Thema als Erstautor	64
9 Originalarbeiten zum Thema als Koautor	66
10 Danksagung.....	67
11 Lebenslauf	68

12	Eidesstattliche Versicherung	70
13	Erklärung über anderweitige Habilitationen oder Habilitationsversuche.....	71
14	Faksimile der relevanten Arbeiten.....	72

Abkürzungsverzeichnis

2D	Zweidimensional
3D	Dreidimensional
AA	(aortic arch) Arcus aortae
ACA	(anterior cerebral artery) Arteria cerebri anterior
CEUS	Contrast-enhanced ultrasound
CNC	Computerized Numerical Control
CT	Computertomographie
CTA	Computertomographie-Angiographie
DSA	Digitale Subtraktionsangiographie
DWI	Diffusion weighted imaging
ECA	(external carotid artery) Arteria carotis externa
FA	(facial artery) Arteria facialis
FLASH	Fast Low-Angle Shot
HCC	hepatozelluläres Karzinom
ICA	(internal carotid artery) Arteria carotis interna
ICV	(intercostal vein) Venae intercostales
KM	Kontrastmittel
LA	(lingual artery) Arteria lingualis
MB	Mikrobläschen
MCA	(middle cerebral artery) Arteria cerebri media
MDCT	Multizeilendetektor-Computertomographie
MDCTA	Multizeilendetektor- Computertomographie-Angiographie
Mikro-CT	Mikro-Computertomographie
MRA	Magnetresonanz-Angiographie
MRT	Magnetresonanztomographie
NaCl	Natriumchlorid
OA	(occipital artery) Arteria occipitalis
PA	(pulmonary artery) Arteria pulmonalis

PCA	(posterior cerebral artery) Arteria cerebri posterior
PWI	Perfusion weighted imaging
SCV	(superior caval vein) Vena cava superior
SNR	Signal-to-Noise-Ratio
STA	(superficial temporal artery) Arteria temporalis superficialis
ToF	Time-of-Flight
US	Ultraschall
VAMP	vaskulärer Mini-Port

1 Einleitung und Zielsetzung

Die mikro- und makrovaskuläre diagnostische Bildgebung hat sich aufgrund zahlreicher experimenteller, retrospektiver und prospektiver Studien in den letzten Jahrzehnten mit großer Geschwindigkeit entwickelt. Diese Fortschritte und die Entwicklung spezifischer Kontrastmittel ermöglichten es, eine detaillierte Darstellung der physiologischen und pathologischen Gefäße unterschiedlicher Größen zu erreichen. Darüber hinaus dient die vaskuläre Bildgebung der Perfusionsdarstellung tumoröser Raumforderungen in parenchymatösem Gewebe oder z. B. einem Transplantatorgan.

Durch die nicht- bzw. minimal-invasive Diagnostik vaskulärer Veränderungen ist mit den aktuell klinisch verfügbaren schnittbildgebenden Verfahren, wie der Computertomographie (CT), der Magnetresonanztomographie (MRT) und dem Ultraschall (US), eine verbesserte und schnelle Diagnostik von Gefäßerkrankungen möglich.

Ziel dieser Habilitationsschrift ist es, die Wertigkeit der kontrastmittelverstärkten Bildgebung zur Darstellung und Beurteilung der physiologischen und pathologischen Gefäßveränderungen unterschiedlicher Größe sowie die Darstellung der vaskulären Perfusion und Mikrozirkulation zu evaluieren. Die Etablierung neuer Methoden ermöglicht hierbei neue Behandlungsansätze vaskulärer und tumoröser Erkrankungen. Zu diesem Zweck wurden, im Rahmen der radiologischen Diagnostik, experimentelle wissenschaftliche Arbeiten sowie retrospektive Studien durchgeführt.

2 Grundlagen der Kontrastmittelverstärkten Bildgebung

Sowohl die Magnetresonanz-Angiographie (MRA) als auch die Computertomographie-Angiographie (CTA) haben in den letzten Jahren eine signifikante technische Verbesserung erlebt und sich dadurch zu präzisen Werkzeugen in der radiologischen Bildgebung entwickelt. Bei CTA und MRA handelt es sich um modernste nichtinvasive vaskuläre Bildgebungsmodalitäten mit umfangreichen diagnostischen Einsatzmöglichkeiten. Zu diesen zählt auch der Einsatz in der experimentellen radiologischen Kleintierbildgebung.

2.1 Computertomographie-Angiographie (CTA)

Das Prinzip der Angiographie mittels CT basiert auf der Aufnahme eines dreidimensionalen (3D) Datensatzes der zu untersuchenden Gefäße während der maximalen Kontrastierungsphase dieser Gefäße nach intravenöser Injektion von iodiertem Kontrastmittel. Um optimale Ergebnisse zu erzielen, müssen dabei die technischen Scanparameter, die Bolusdauer und die Flussrate des Kontrastmittels sowie die Dauer und der Zeitpunkt der Bildakquisition optimiert werden (1).

Durch die Entwicklung der Multizeilendetektor-Computertomographie (MDCT) wurde in der CTA erst das Maß an Genauigkeit erreicht, das heute klinisch genutzt wird. Dabei stellt die Spiral-CT eine Methode der CT-Bilddatenakquisition dar, die auf einer kontinuierlichen Gantry-Rotation und kontinuierlicher Patientenbewegung in der Z-Achse basiert (2, 3). Der Fokus der Röntgenröhre folgt einer spiralförmigen Linie relativ zum Patienten. Ein zusätzlicher Schritt während der Datenvorverarbeitung (Z-Interpolation) ermöglicht die freie und retrospektive Auswahl der gewünschten Positionen für die folgenden Bildrekonstruktionen.

Mit dem Aufkommen von MDCT-Scannern in Verbindung mit der Verfügbarkeit von leistungsstarken und schnellen Computer-Workstations wurde die CTA zu einem sehr leistungsfähigen und effizienten Werkzeug für die Bildgebung der vaskulären Anatomie. Die MDCT-Scanner erreichen dabei eine große anatomische Abdeckung und ermöglichen das Scannen mit isotroper Kollimation (Submillimeter-Voxel) (3-8). MDCT verwendet dabei mehrere Detektorzeilen für die helikale Abtastung, die zusammenschaltet werden können, um mehrere Schichten oder Kanäle gleichzeitig zu scannen.

Je mehr Detektoren ein System nutzt, desto größer ist die Überdeckungsgeschwindigkeit bei gleichzeitig vollständig vergleichbarer oder sogar besserer Bildqualität (4,5,7). Dies führt auch zu verringerten Kontrastmitteldosen. Kürzere Scanzeiten erlauben Untersuchungen in einer Atemphase, was die diagnostische Genauigkeit weiter verbessert (z. B. bei der CTA bei infrage kommender Lungenarterienembolie) (4-7).

Normalerweise wird ein nichtionisches, niedermolekulares Kontrastmittel (KM) mit Jodkonzentrationen von 250–370 mg Jod/ml eingesetzt. Das Kontrastmittel wird als Bolus über einen intravenösen Zugang mithilfe von Hochdruckinjektoren – wegen seiner hohen Viskosität zusammen mit Natriumchlorid (NaCl)-Lösung – injiziert. Die Kontrastmittelinjektion unter Verwendung von Hochdruckinjektoren ist dabei essenziell, um durch eine hohe Injektionsrate eine hohe Kontrastmittelkonzentration im Blut zu erhalten. Diese ermöglicht eine optimale Kontrastierung der Gefäße. Für die meisten Protokolle unserer Klinik variiert die Injektionsrate dabei zwischen 4-6 ml/s mit einer Gesamtbolusmenge von ca. 80-150 ml. Durch die Kontrastmittelverteilung ist eine multiphasische Beurteilung in zeitlich versetzten Scanzeiten sowohl in der arteriellen als auch der venösen Phase möglich (1, 9). Die Konstanz und Intensität der Gefäß-

kontrastierung sind wichtige Kriterien bei der Durchführung einer CTA-Untersuchung. Die Intensität und der Zeitpunkt der maximalen arteriellen Kontrastierung werden sowohl von technischen als auch von physiologischen Faktoren beeinflusst. Der bedeutendste physiologische Faktor ist hierbei das Herzminutenvolumen. Technische Aspekte sind die Jodkonzentration (mg/ml) und die Injektionsgeschwindigkeit des KM (ml/s). Aus diesen beiden Parametern ergibt sich die Jodflussrate (g Jod/s). Die empfohlene Jodflussrate beim Menschen liegt bei 1,2–2,0 g Jod/s (1). Variationen der beiden Ausgangsparameter können die Jodflussrate verändern. So kann eine nachgeschaltete Injektion einer Natrium-Chlorid (NaCl)-Lösung die arterielle Kontrastierung erhöhen und verlängern.

Im Vergleich zur MRA bietet die Multidetektor CTA (MDCTA) kürzere Scanzeiten und eine höhere räumliche Auflösung (10), allerdings unter Verwendung von ionisierender Strahlung und potenziell nephrotoxischem Kontrastmittel.

2.2 Mikro-Computertomographie (Mikro-CT)

In den letzten Jahren wurden besondere Fortschritte im Bereich der experimentellen Kleintierbildgebung (11-13) durch den Einsatz speziell für die In-vivo-Bildgebung kleiner Labortiere entwickelter Geräte erzielt. Diese Geräte, wie z. B. das Mikro-CT, zeichnen sich durch spezielle Lagerungsmöglichkeiten für Kleintiere sowie durch eine höhere räumliche und zeitliche Auflösung aus (13-15).

Die aktuell verfügbaren Mikro-CT unterscheiden sich von den ersten eingesetzten Geräten in den 1980er-Jahren (14, 16). Diese Mikro-CT wiesen ein schlechtes Signal-zu-Rausch-Verhältnis (Signal-to-Noise-Ratio; SNR), eine unzureichende räumliche Auflösung und lange Untersu-

chungszeiten auf.

Durch die Modifizierung des Fächerstrahl-Rekonstruktions-Algorithmus zur Kegelstrahl-Geometrie (14, 16) wurde es möglich, ein größeres Volumen mit nur einer Rotation zu erfassen – anstatt nur eine dünne Schicht, wie bei der Fächerstrahl-CT üblich. Dies führte zu einer deutlichen Reduktion der Akquisitionszeit (schnelle Scanzzeiten zwischen 15 und 33 Sekunden) mit Akquisition von bis zu 1000 Projektionen. Das Verfahren wurde seitdem zunehmend interessant für die In-vivo-Kleintierbildgebung (13, 17, 18).

Das Funktionsprinzip der Mikro-CT-Scanner entspricht prinzipiell dem eines klinischen Computertomographen, kann jedoch – je nach Modell – differieren (12, 14, 16). Generell besteht ein Mikro-CT-Scanner aus einer Röntgenquelle, einem hochauflösenden, digitalen Röntgendetektor und einem computergesteuerten Steuerungssystem (CNC-Positionierungssystem; Computerized Numerical Control).

Die Bildqualität hängt von mehreren Faktoren ab, z. B. der Brennfleckgröße, der Scanzzeit, der Strahlgeometrie, der zeitlichen und räumlichen Auflösung des Detektors, dem Sichtfeld, dem Gewebekontrast und den Parametern der Röntgenröhre sowie der verwendeten Filter (17, 19, 20). Darüber hinaus kann auch die Nachbearbeitung die Bildqualität beeinflussen.

Im Vergleich mit klinischen CT-Scannern kann ein Mikro-CT wesentlich höhere Auflösungen als der klinische CT-Scanner erreichen. Ein weiterer wesentlicher Unterschied besteht darin, dass bei Kleintier-Mikro-CT-Scannern das Kleintier auf einem CNC-angetriebenen Objekthalter befestigt wird und Bewegungen parallel zur x- und y-Achse der Detektoren möglich sind (Abbildung 1). Des Weiteren kann das Objekt näher an den

Detektor oder die Röntgenröhre herangeführt werden. Hierdurch wird es möglich, die Abstände zwischen Objekt und Quelle sowie zwischen Objekt und Detektor zu optimieren und somit den geometrischen Vergrößerungsgrad zu beeinflussen. Darüber hinaus ist es möglich, mit dem Einsatz eines Mikroschrittmotors das Objekt um seine eigene Längsachse mit einer vorgegebenen Geschwindigkeit und einer hohen Positionierungsgenauigkeit (im Mikrometerbereich) zu drehen (21).

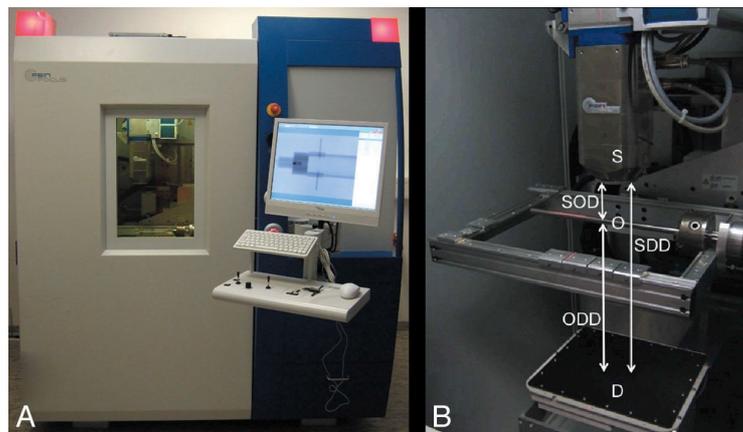


Abbildung 1: A) Das für die Experimente verwendete Mikro-CT. B) Eine Fotografie der Kabineninnenseite zeigt die Multifokus-Röntgenquelle (S), den Detektor (D) unterhalb der Röntgenquelle sowie den Manipulatortisch mit der Rotationsachse. Die Höhe des Detektors und des Manipulators kann frei eingestellt werden, um die von SOD, SDD und ODD betroffenen Vergrößerungsstufen zu optimieren. SOD gibt den Abstand zwischen Quelle und Objekt an; SDD den Quelle-Detektor-Abstand; ODD den Objektdetektorabstand. (Abbildung aus Publikation (b)).

Mikro-CTs verwenden überwiegend Transmissionsröhren, während in klinischen Scannern üblicherweise eine Röntgenröhre mit rotierender Anode verwendet wird. Im Gegensatz zu rotierenden Anodenröntgenröhren ist die Brennfleckgröße von Transmissionsröhren im Wattbereich mit etwa $10\ \mu\text{m}$ relativ klein. Dies erhöht die Bildschärfe bei der Darstellung kleiner Objekte.

Um einen 3D-Datensatz zu erstellen, werden normalerweise Hunderte von 2D-Projektionen aus verschiedenen Winkeln um das Tier herum aufgenommen und mit einem gefilterten Rückprojektionsalgorithmus re-

konstruiert. Der resultierende 3D-Datensatz ist eine Matrix von Voxel, die in jede Orientierung rekonstruiert werden kann, um mehrere Ansichten der Anatomie der Objekte zu erstellen (22).

Bei Verwendung einer Mikro-CT mit einem rotierenden Objekt in Kombination mit einem ausreichend großen digitalen Flachbettdetektor sind hohe geometrische Vergrößerungsstufen der Gehirngefäße von Mäusen in vivo mit einem Durchmesser zwischen 100 und 250 μm (17, 23) darstellbar.

2.3 Magnetresonanz-Angiographie(MRA)

Die Magnetresonanz-Angiographie ist ein Verfahren zur diagnostischen Darstellung von Blutgefäßen, um diese auf Stenosen (abnormale Verengungen), Okklusionen (Gefäßverschlüsse), Aneurysmen (Gefäßwanddilataationen) und Dissektionen zu untersuchen. Die MRA wird häufig verwendet, um die Arterien des Halses und des Gehirns (24), der Brust- und Bauchorta (25, 26), der Nieren und der Beine (25) zu bewerten. Eine Vielzahl von Techniken kann verwendet werden, um diese Bilder zu generieren. Dazu gehören die Verabreichung eines paramagnetischen Kontrastmittels (Lösung von gadoliniumhaltigen Komplexen) oder die Verwendung einer Technik, bei der auf das Kontrastmittel verzichtet werden kann – wie z. B. Time-of-Flight oder die Phasenkontrast-Angiographie (27).

Zur Bildgebung anatomischer Strukturen oder des Blutflusses mittels MRT wird nicht unbedingt Kontrastmittel benötigt, da die unterschiedlichen Eigenschaften des Gewebes oder des Blutes für natürliche Kontraste sorgen. Für spezifischere Bildgebungstypen können exogene Kontrastmittel jedoch intravenös, oral oder intraartikulär verabreicht werden.

Die kontrastverstärkte MRA basiert normalerweise auf einer dreidimensionalen Gradientenechotechnik (FLASH; Fast Low-Angle Shot) (27). T1-gewichtete Gradientenechosequenzen werden in Kombination mit der intravenösen Bolusinjektion eines paramagnetischen Kontrastmittels (die T1-Relaxationszeit von Blut verändernd) verwendet. Analog zur digitalen Subtraktionsangiographie (DSA) wird die Maskensubtraktion verwendet, um den Kontrast der Gefäße durch Entfernen des Hintergrundsignals zu erhöhen (28, 30, 31). Für eine MRA muss die Scan-Verzögerung so gewählt werden, dass das Peak-Enhancement des Zielgefäßes während der Akquisition des Zentrums des k-Raums auftritt.

Die am häufigsten verwendeten intravenösen Kontrastmittel basieren auf Chelaten von Gadolinium (8). Im Allgemeinen haben sich diese Substanzen als sicherer erwiesen als jodhaltige Kontrastmittel, die prinzipiell in der CT verwendet werden. Anaphylaktoide Reaktionen sind selten und treten lediglich in ca. 0,03-0,1 % der Fälle auf (32). Besonders hervorzuheben ist die geringere Inzidenz einer Nephrotoxizität von MRT-Kontrastmitteln im Vergleich zu jodhaltigen Kontrastmitteln, wenn diese in üblichen Dosierungen verabreicht werden. Kontrastmittelverstärkte MRT-Untersuchungen sind auch eine Alternative für Patienten mit Jodallergie, die keine kontrastmittelverstärkte CT erhalten können (32). Wichtig zu erwähnen ist in diesem Zusammenhang die Nephrogene Systemische Fibrose (NSF), eine schwerwiegende Komplikation der Kontrastmittelgabe bei Patienten mit Niereninsuffizienz (32). Hier sind ein Screening auf Nierenerkrankungen in der Anamneseerhebung sowie die eGFR-Bestimmung vor der Untersuchung empfehlenswert (32).

In neueren Studien konnten Ablagerungen von MRT-Kontrastmitteln innerhalb bestimmter Regionen des Gehirns nachgewiesen werden. Eine zuverlässige Aussage über potenziell schädliche Effekte dieser Ablage-

rungen konnte bisher nicht getroffen werden (33).

Die Vorteile der MRT-Scanner gegenüber CT-Scannern bestehen darin, dass keine ionisierende Strahlung angewendet wird und eine Gefäßabbildung mit hoher räumlicher Auflösung möglich ist. Die Nachteile der MRT sind relativ lange Scanzeiten und – im Vergleich zu röntgenbasierten Verfahren – eine geringere räumliche und zeitliche Auflösung.

Die Verwendung von MRA für die Abbildung von kleinen Labortieren hat mit zunehmender Verfügbarkeit von dedizierten Kleintierscannern zugenommen. Da die MRT einen hohen Weichteilkontrast bietet, wurden bereits vor der Verfügbarkeit von Kleintier-MRT-Scannern klinische Scanner für die Bildgebung bei Mäusen und Ratten verwendet (34).

2.4 Digitale Subtraktionsangiographie (DSA)

Die DSA ist eine Technik mit hoher räumlicher und zeitlicher Auflösung zur Darstellung von Blutgefäßen in einer Umgebung von Strukturen mit vergleichbaren oder höheren Dichtewerten, als sie Weichgewebe oder Knochen aufweisen (35).

Während und vor der Injektion eines strahlenundurchlässigen Kontrastmittels werden bei der DSA Durchleuchtungsaufnahmen des zu untersuchenden Gebietes aufgenommen (36). Um gezielt die gewünschten Gefäße aus dem umgebenden Gewebe zu isolieren und sichtbar zu machen, werden die frühen (nativen) Durchleuchtungsbilder von den während der Kontrastmittelinjektion aufgenommenen Bildern subtrahiert. Somit werden nur die kontrastierten Gefäße dargestellt. In kontrollierten Studien (37) wird die Injektion des Kontrastmittels normalerweise mit einem programmierbaren Injektor durchgeführt, der dazu beiträgt, standardisierte Injektionsvolumina, Zeitpunkte und Bedingungen zu generie-

ren.

Die DSA ist technisch gesehen weniger anspruchsvoll als die CT (38). Normalerweise werden 2D-Studien mit verschiedenen Projektionswinkeln durchgeführt, ohne umfangreiche Nachbearbeitungsschritte wie Rekonstruktionen durchführen zu müssen. Ausnahmen hiervon sind der Vorgang der Subtraktion und die 3D-Rotations-DSA (38).

Während die DSA beim Menschen seit langem die Goldstandard-Bildgebung zur Darstellung der intrakraniellen Gefäße darstellt, wurden erste Studien bei Mäusen erst vor wenigen Jahren durchgeführt (Abbildung 2) (37, 39-41). In der Studie von *Kidoguchi et al.* wurden erstmalig

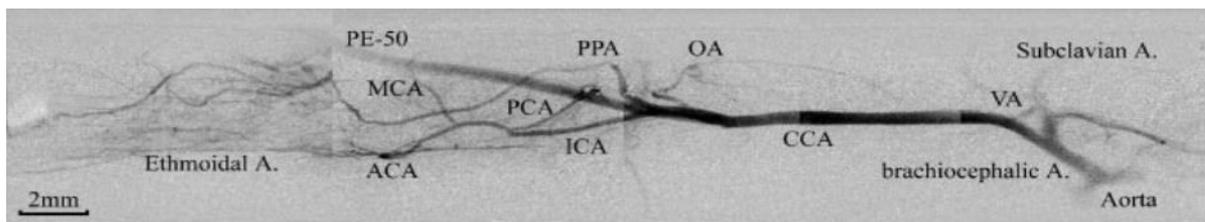


Abbildung 2: Synchrotronstrahlungs-basierte digitale Subtraktionsangiographie der zervikalen und zerebralen Gefäße der Maus (seitliche Ansicht). *Kidoguchi et al.* (47) OA zeigt die Arteria occipitalis an; Ethmoidal A., A. ethmoidalis; VA, A. vertebralis; A. subclavia, A. subclavia; brachiocephalic A., A. brachiocephalica; PCA, A. cerebri posterior; ICA, A. carotis interna; MCA, A. carotis media; ACA, A. cerebri anterior; PPA, A. pterygopalatina; CCA, A. carotis communis; PE-50 gibt den für die Kontrastmittelinjektion verwendeten Polyethylenkatheter an. (Abbildung aus *Kidoguchi K, Tamaki M, et al. In vivo X-ray angiography in the mouse brain using synchrotron radiation. Stroke. 2006;37(7):1856-61.*)

die zervikalen und zerebralen Gefäße der Maus mittels synchrotronstrahlungsbasierter digitaler Subtraktionsangiographie dargestellt. Obwohl in der Studie selbst Synchrotronstrahlung zur Anwendung kommt, konnte hier gezeigt werden, dass auch eine DSA der intrakraniellen Gefäße der Maus möglich ist. Dieser Erkenntnisgewinn diente für viele Forschende als Grundlage für weitere Studien. Auch in unseren Untersuchungen konnten wir auf diese Methodik aufbauen.

2.5 Grundlagen der Kontrastmittelverstärkten Ultraschalldiagnostik

Der Kontrastmittelverstärkte Ultraschall ist eine kostengünstige, breit verfügbare Alternative zu den bereits etablierten schnittbildgebenden Verfahren der Radiologie. Er basiert auf der intravenösen Applikation gasgefüllter Mikrobubbles (MB) in den venösen Kreislauf, die in besonderer Art und Weise mit den ausgesandten Schallwellen des Ultraschallkopfes interagieren (42, 43). Das derzeit in Europa hauptsächlich verwendete Kontrastmittel (Kontrastmittel der zweiten Generation: SonoVue®, - bzw. Lumason® in den Vereinigten Staaten von Amerika – Bracco, Mailand, Italien) enthält gasgefüllte Mikrobubbles mit einem Durchmesser zwischen 2 und 10 µm (42, 43). Die MB bestehen aus Schwefelhexafluorid (SF₆), welches zur Stabilisierung von einer Hülle („shell“) aus Phospholipiden umgeben ist (42, 43). Der Gasanteil des Kontrastmittels wird nach Applikation hauptsächlich respiratorisch eliminiert und die enthaltenen Phospholipide werden dabei endogen metabolisiert. Das verwendete Kontrastmittel hat keinerlei Einfluss auf die Funktion der Schilddrüse oder der Nieren. Die Dosis des applizierten Kontrastmittels variiert je nach Fragestellung zwischen 1,5 und 5,0 ml SonoVue. Das Kontrastmittel wird als Bolus unter Verwendung einer 20-22 Gauge-Kanüle über eine Antekubitalvene (42, 43, 44) injiziert, gefolgt von einer Spülinjektion mit 5 bis 10 ml 0,9 % NaCl (42, 43, 45).

Das Ultraschallkontrastmittel ist aufgrund des geringen Diameters der MB frei kapillargängig und verbleibt im Gefäßsystem (Blutpool-Kontrastmittel). Es tritt im Gegensatz zu den üblichen CT- und MRT-Kontrastmitteln nicht in den interstitiellen Raum über (44).

Moderne Ultraschallsysteme verwenden Ultraschallimpulse mit niedrigem Druck (mechanical index (MI) < 0,2) um eine frühzeitige Zerstörung der Mikrobubbles zu vermeiden. Die Kontrastdarstellung basiert aus-

schließlich auf der nichtlinearen akustischen Interaktion zwischen Ultraschallwellen und stabilisierten MB.

Dadurch werden Echosignale für die kontrastspezifische Bildgebung generiert. Die MB erzeugen, im Gegensatz zum B-Bild, durch nichtlineare Oszillationen einen von der lokalen Durchblutung abhängigen, zusätzlichen Kontrast (42, 43).

Wenn das Signal, das auf die Mikrobläschen trifft, zu hoch ist, können die Mikrobläschen zerstört werden. Dies kann dazu genutzt werden um die parenchymale Perfusion (wiederholte Darstellung von Inflow- und Washout-Phänomenen) zu beurteilen. Die Mikrobläschen werden durch eine kurzzeitige hohe Sendeleistung zerstört und der Wiedereinstrom kann gemessen werden (Flash-/Replenishment-Technik) (44).

3 Präklinische Anwendung der kontrastmittelverstärkten Bildgebung

Sowohl die CTA als auch die MRA dienen der Diagnostik verschiedener Gefäßpathologien (z. B. Stenosen, Okklusionen, Verkalkungen, Dissektionen, Aneurysmen usw.) und zur Bestimmung der Perfusion von tumorösen Raumforderungen oder von Organgewebe. Beide Verfahren haben eine signifikante Rolle in der Diagnostik des ischämischen oder hämorrhagischen Schlaganfalls und dessen ursachenbasierter Therapie inne (46, 47).

In der Schlaganfalldiagnostik liefert die CTA hochauflösende Bilder von intra- und extrakraniellen Blutgefäßen (10, 48). Zusammen mit der Möglichkeit, ischämische und hämorrhagische Hirnareale zu lokalisieren und zu bewerten, erlaubt die CTA eine schnelle und zuverlässige Identifizierung von Arterienstenosen oder Okklusionen (10, 48). Zusätzlich wird die CTA zur Darstellung der Hirnarterien und der zugehörigen Perfusionsgebiete bei Verdacht auf Vasospasmen infolge eines hämorrhagischen Schlaganfalls eingesetzt (49, 50).

Modernste MR-Tomographen ermöglichen eine einfache (kontrastlose) oder kontrastverstärkte Darstellung von intra- und extrakraniellen Blutgefäßen (8, 40), was für die Beurteilung von Patienten mit akutem Schlaganfall essenziell ist. Die MR-Angiographie kann mit diffusionsgewichteten Sequenzen (DWI; Diffusion weighted imaging) und der Perfusions-MR-Bildgebung (PWI; Perfusion weighted imaging) in einem Untersuchungsprotokoll kombiniert werden (52). Damit können innerhalb weniger Minuten umfassende Informationen über ischämische oder hämorrhagische Veränderungen des Hirnparenchyms gewonnen werden. Darüber hinaus ist die kontrastverstärkte MR-Angiographie eine hochsensitive und spezifische nichtinvasive vaskuläre Bildgebungstechnik zur Diagnostik von

Stenosierungen der supraaortischen Gefäße (53, 54).

Die Darstellung der Anatomie, Durchgängigkeit und Durchblutung arterieller und venöser Gefäße ist sehr wichtig, um neurologische Erkrankungen wie die zerebrale Ischämie, die Thrombose der Hirnvenen oder einen Vasospasmus zu erkennen. Mit Hilfe von Kleintiermodellen in präklinischen Studien können Forschende Untersuchungen zur Anatomie und Funktion von arteriellen, kapillären und venösen Gefäßen durchführen, die wiederum zur Weiterentwicklung therapeutischer Strategien führen können. Aufgrund des kleinen Gefäßkalibers der intrazerebralen Arterien der Maus an der Schädelbasis (ca. 100-250 μm) (13, 17, 55) ist eine hohe räumliche Auflösung erforderlich, um anatomische und pathologische Veränderungen dieser Gefäße zu visualisieren. Darüber hinaus erfordert die bei der Maus sehr kurze mittlere Transitzeit von weniger als einer Sekunde ein hohes zeitliches Auflösungsvermögen (17, 55), um Informationen über den intrazerebralen Blutfluss in vivo genau erfassen zu können.

Das Ziel der 5 publizierten experimentellen Studien war es, die kontrastmittelverstärkte Darstellung der murinen extra- und intrakraniellen Gefäße unter Verwendung des Mikro-CT und im Vergleich zu DSA und MRA zu evaluieren. Zusätzlich lag ein Hauptaugenmerk auf der Durchführbarkeit unterschiedlicher Arten der Kontrastmittelgabe (intraarterieller Katheter oder selbstgebautes metallfreies Mini-Portsystem) (21, 56-59).

3.1 Vergleich der DSA, Mikro-CTA und MRA bei der Beurteilung der intrakraniellen Gefäße in lebenden Mäusen (a)

Diese Studie vermittelt einen Überblick über die aktuellen verfügbaren Methoden für die In-vivo-Bildgebung der intrakraniellen Gefäße der Maus und vergleicht die verschiedenen Methoden in Bezug auf ihre Möglichkeiten und Grenzen (56).

Die Hirngefäße der Mäuse (C57BL/6) wurden unter Verwendung des Mikro-CT-Scanners dargestellt. Dafür wurde während der intraarteriellen und intravenösen Gabe eines Kontrastmittelbolus eine Mikro-CTA durchgeführt. Zusätzlich wurde während der intraarteriellen Gabe eines Kontrastmittels eine DSA durchgeführt. Unter Verwendung eines Kleintier-MRT-Scanners (9,4 T) und einer Cryospule wurde eine ToF-MRA durchgeführt.

Die Datensätze wurden auf Scanzeit, Kontrast-Rausch-Verhältnis (CNR), zeitliche und räumliche Auflösung, Strahlungs-dosis, Kontrastmitteldosis und Erkennung von Details der intrakraniellen Strukturen analysiert.

Bei dem Vergleich von DSA, Mikro-CTA und MRA konnte gezeigt werden, dass die höchste räumliche Auflösung in der Kleintierbildgebung von der Mikro-CTA (16-16-16 μm) und der DSA (14-14 μm) erreicht wurde (Abbildungen 3-5). Die DSA lieferte die höchste zeitliche Auflösung (30 Bilder pro Sekunde) zur Analyse des intrakraniellen Blutflusses.

Basierend auf der Kenntnis der Vorteile und Einschränkungen der untersuchten Methoden war es möglich, die am besten geeignete Bildgebungsmodalität für Mäuse für die vorgegebene Fragestellung zu wählen.

Somit wurden durch die Kleintierbildgebung die Grundlagen gelegt, um weitere Studien zur präklinischen Erforschung der intrakraniellen Gefäße, einschließlich des ischämischen Schlaganfalls oder des Vasospas-

mus, durchzuführen.

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

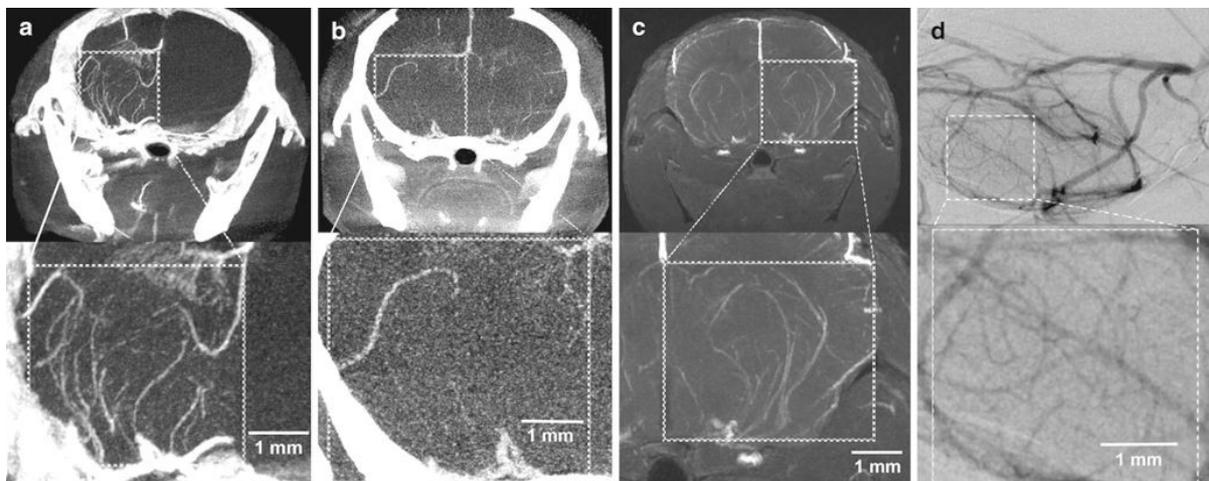


Abbildung 3: Vergleichende Analyse der Bildqualität von Mikro-CTA während intraarterieller (a) oder intravenöser (b) Kontrastmittelgabe, ToF-MRA (Time-of-Flight-MRA) (c) und DSA (d) mit intraarterieller Kontrastmittelgabe. Mikro-CTA und DSA zeigen eine höhere räumliche Auflösung als ToF-MRA bei deutlich kürzeren Erfassungszeiten. (Abbildung aus Publikation (a)).

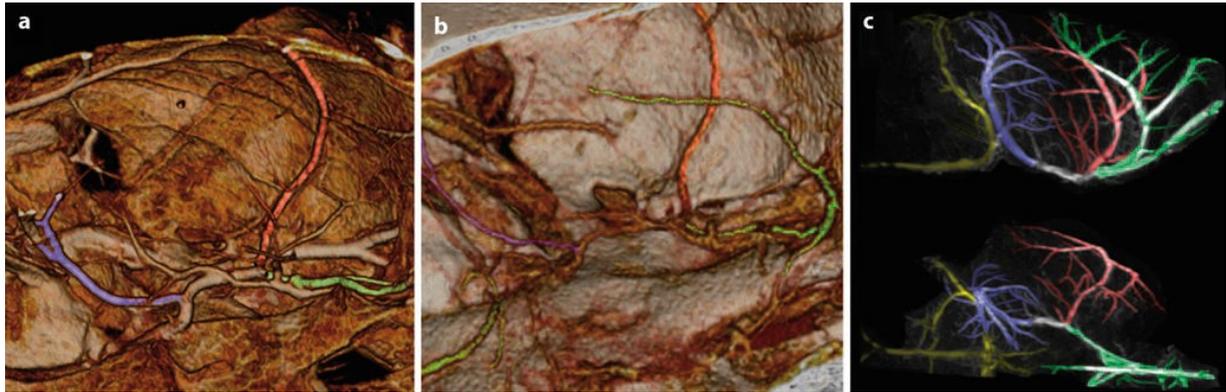


Abbildung 4: Vergleichende Analyse der Bildqualität von Volume Rendering-Rekonstruktionen der Mikro-CTA während intraarterieller (a) und intravenöser (b) Verabreichung von Kontrastmittel und Maximum Intensity Projection (MIP), Rekonstruktionen der ToF-MRA (c). Die ToF-MRA profitiert von der höchsten CNR und zeigt keine Artefakte aus der Schädelkalotte. Damit sind die peripheren Äste der Arteria cerebri media (rot), der Arteria cerebri anterior (grün), der Arteria cerebri posterior (violett) und der A. basilaris mit der Bifurkation in die A. cerebellaris superior (gelb) optimal zu sehen. Das niedrige Kontrast-zu-Rausch-Verhältnis, das bei der Mikro-CTA bei der Kontrastmittelinjektion über die Schwanzvenen (b) auftritt, erlaubt lediglich die Identifizierung des Hauptstammes der jeweiligen Gefäße des Circulus arteriosus Willisii. (Abbildung aus Publikation (a)).

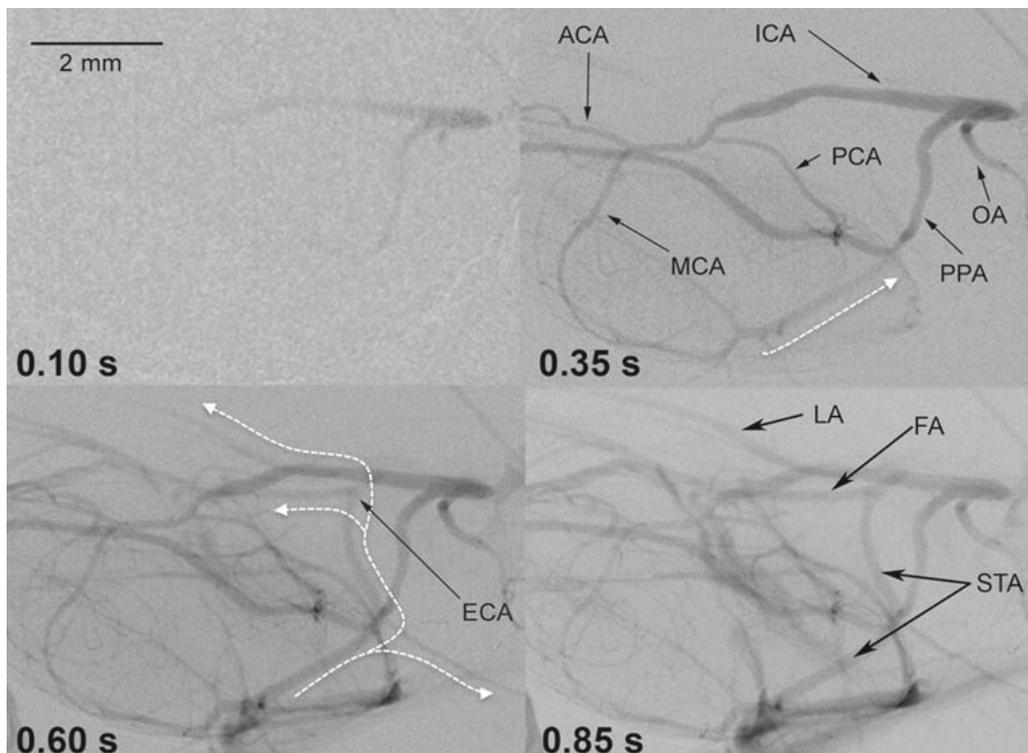


Abbildung 5: Digitale Subtraktionsangiographie (kraniokaudale Projektionen) der intrakraniellen Gefäße einer lebenden Maus. Die hohe zeitliche und räumliche Auflösung erlaubt eine Identifizierung der retrograden Füllung der proximal ligierten A. carotis externa (ECA – external carotid artery) über den distalen und proximalen rostralen Ast der oberflächlichen Temporalarterie (STA – superficial temporal artery). Ret-

rograder Blutfluss innerhalb der STA und eine etwas verzögerte Füllung des occipitalen Astes der STA und der A. facialis (FA – facial artery) und A. lingualis (LA – lingual artery), weiß markierte Pfeile. (ICA- internal carotid artery/A. carotis interna, OA occipital artery/A. occipitalis). (Abbildung aus Publikation (a)).

3.2 In-vivo-digitale Subtraktions- und CT-Angiographie der murinen intrakraniellen Gefäße mittels intraarterieller Kontrastinjektion (b)

Durch die oben erwähnte Arbeit und weitere Vorarbeiten war es möglich, eine Methode zur In-vivo-Bildgebung der intrakraniellen Gefäße mittels Mikro-CT-Angiographie (Abbildung 6) und DSA (Abbildungen 7 und 8) bei intra-arterieller Kontrastmittelgabe in der Maus zu etablieren (56; Publikation a).

Dabei wurde Kontrastmittel intraarteriell verabreicht – für die Darstellung und Analyse der murinen Hirngefäße unter freier Atmung von Raumluft, Hyperkapnie und Hypoxie. Dafür wurde die A. carotis externa bei 5 Mäusen (C57BL/6) katheterisiert und eine DSA nach Kontrastmittelinjektion (30 μ L/1sec) der intra- und extrakraniellen Gefäße durchgeführt. Eine Micro-CTA wurde innerhalb von 20 Sekunden nach der intraarteriellen Kontrastmittelinjektion (220 μ L/20 Sek.) durchgeführt. Die Bildqualität beider Methoden wurde verglichen. Strahlungsdosismessungen wurden mit Thermolumineszenzdosimetern durchgeführt.

Aufgrund des geringen Gefäßdurchmessers war festzustellen, dass die Hochfeld-MRT selbst bei relativ langen Untersuchungszeiten von ca. einer Stunde bei einer Feldstärke von 9,4 Tesla und unter Verwendung einer speziellen Cryospule mit einer Auflösung von 31x31x93 μ m eine für die Analyse von Vasospasmen insuffiziente Auflösung aufweist.

Dagegen erlaubten die DSA oder Mikro-CTA die bei Vasospasmen auf-

tretenen geringen Veränderungen der Gefäßweite zu erfassen. Dies gelingt durch eine hohe zeitliche Auflösung von 30 Bildern pro Sekunde und kleine Voxelgrößen von ca. 15 µm in der DSA. Auch konnten bestehende Kollateralkreisläufe in der lebenden Maus, bei der eine extrem schnelle zerebrale Zirkulationszeit von ca. 0,5 Sekunden vorliegt (Abbildungen 7 und 8), dargestellt werden. Die in dieser Studie zu diesem Zweck durchgeführte Injektion von Kontrastmittel in die A. carotis interna wies bei physiologischen Injektionsdrücken den gravierenden Nachteil auf, dass nur die ipsilaterale vordere Zirkulation, nicht aber die kontralateralen Hirnbasisarterien und der hintere Kreislauf, untersucht werden konnten (21).

Figueiredo G, Boll H, Kramer M, Groden C, Brockmann MA. In vivo X-ray digital subtraction and CT angiography of the murine cerebrovasculature using an intra-arterial route of contrast injection. AJNR Am J Neuroradiol. 2012;33(9):1702-9.

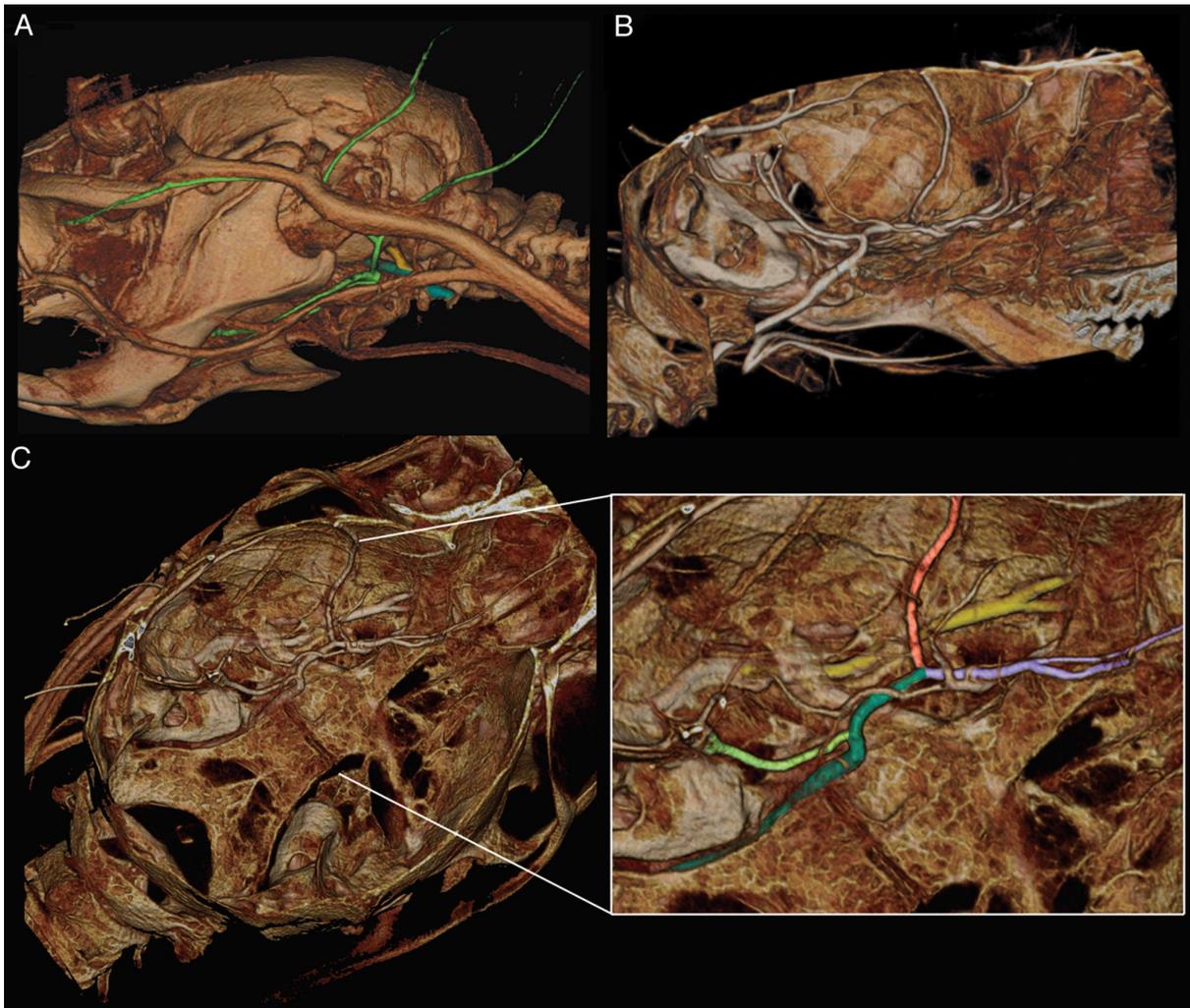


Abbildung 6: Volumen-Rending einer Mikro-CT-Angiographie einer C57BL/6J-Maus. A) Extrakranielle Gefäße: Die A. carotis interna (dunkelgrün) zieht in die Schädelbasis. Die Äste der A. carotis externa sind hellgrün gefärbt und kontrastieren trotz proximaler Ligatur über extrakranielle Anastomosen. B) Sagittalansicht der A. carotis interna durch die Schädelbasis. C) kraniale Ansicht der Schädelbasis mit den intrakraniellen Arterien; eine zusätzliche Nahaufnahme zeigt die A. carotis interna durch die Schädelbasis (dunkelgrün), sowie die A. cerebri posterior (hellgrün), die A. cerebri media (hellrot) und die A. cerebri anterior (hellviolett). Darüber hinaus ist die Arteria pterygopalatina (gelb) entlang der Schädelbasis gekennzeichnet (proximaler Teil mit dünner Knochenbedeckung) und teilt sich in einen lateralen und einen medialen Zweig, der unter anderem die Blutzufuhr für das Auge bzw. die Nasenschleimhaut gewährleistet. (Abbildung aus Publikation (b)).

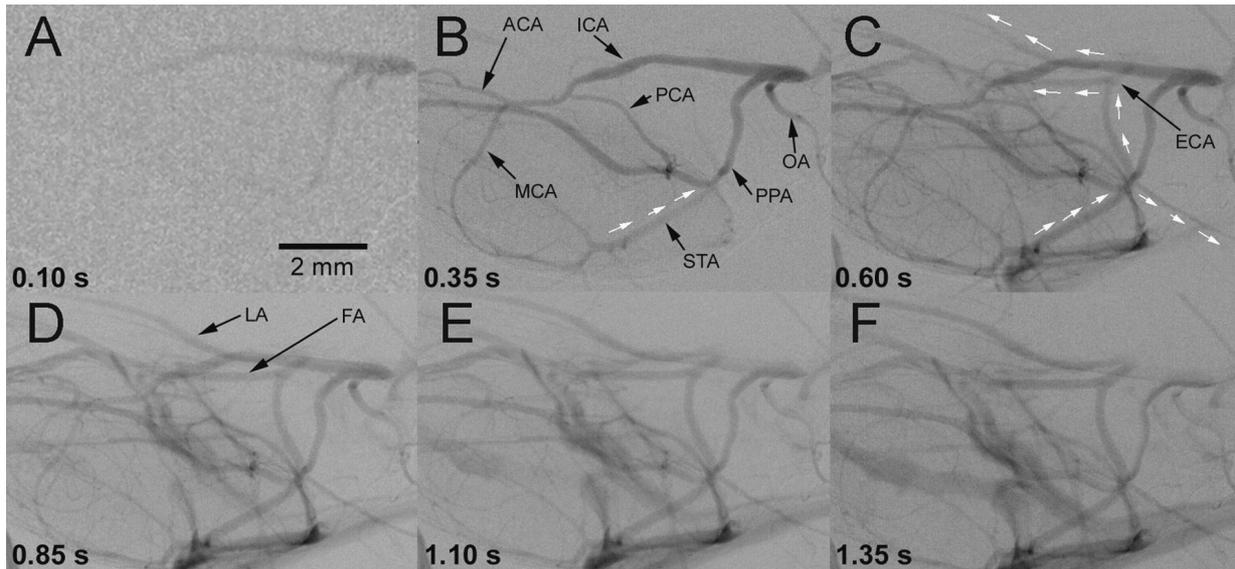


Abbildung 7: Cerebrale In-vivo-DSA der Maus (Übersichtsaufnahme einer Hemisphäre, 30 fps) nach Injektion von 30 μ l lomeprol 300 in die distal ligierte A. carotis externa (ECA). ACA (A. cerebri anterior); ICA (A. carotis interna); PCA (A. cerebri posterior); MCA (A. cerebri media); OA (A. occipitalis); PPA (A. pterygopalatina); STA (A. temporalis superficialis); LA (A. lingualis); FA (A. facialis). Weiße Pfeile zeigen den retrograden Fluss über die STA in die ligierte distale ECA und dann weiter in die FA und LA. (Abbildung aus Publikation (b)).

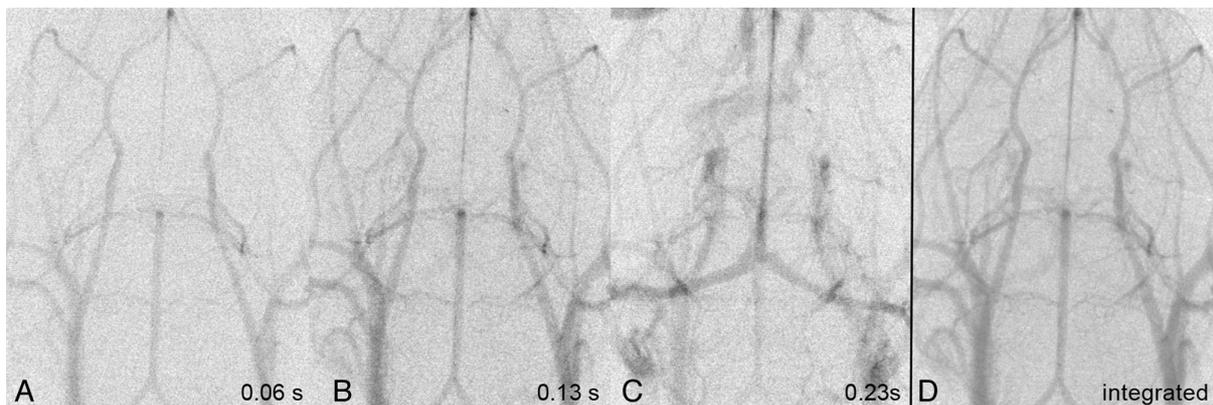


Abbildung 8: In-vivo-DSA der intrakraniellen Gefäße von Mäusen nach Injektion von 100 μ l lomeprol (300 mg /l) innerhalb von 1 Sekunde in die V. cava. A-C zeigen Originalbilder akquiriert bei 30 fps. Im Gegensatz zur intraarteriellen Injektion über die ECA kann der gesamte Circulus arteriosus Willisii beurteilt werden. D, verbesserte Bildqualität nach Integration von 6 Einzelbildern. (Abbildung aus Publikation (b)).

3.3 Vergleich von Fenestra™ LC, ExiTron™ nano 6000 und ExiTron™ nano 12000 für die Mikro-CT-Bildgebung von Leber und Milz in Mäusen (c)

Ziel dieser Untersuchungen war es, verschiedene Kontrastmittel bei der Darstellung der Leber und Milz an einem Mausmodell mit Lebermetastasierungen zu vergleichen, da Lebermetastasen in der CT-Untersuchung nicht sicher abgrenzbar sind. Für die sichere Darstellung der Lebermetastasen in der Maus ist die Verwendung eines leberspezifischen Kontrastmittels notwendig. Dazu wurden folgende Kontrastmittel injiziert: Fenestra™ LC (Advanced Research Technologies Inc, Montreal, Canada), ExiTron™ nano 6000 oder ExiTron™ nano 12000 (Viscover™ ExiTron™ nano; Milteny Biotec, Bergisch-Gladbach, Germany). Das Kontrastmittel ExiTron nano unterscheidet sich von Fenestra LC dahingehend, dass ExiTron nano von den Kupffer-Zellen (Makrophagen der Leber) aufgenommen wird, während Fenestra LC sich in den Hepatozyten anreichert.

Die Eliminationszeiten und die Kontrastverstärkung in Leber und Milz wurden verglichen (Abbildung 9). Bei allen Kontrastmitteln erreichten der Leberkontrast etwa 4 Stunden und der Milzkontrast 48 Stunden nach der Injektion das Optimum. Eine einzelne Dosis von 100 µl ExiTron™ nano 6000 oder 12000 führte zu einer Kontrastierung des Leber- und Milzgewebes für einen Zeitraum von über drei Wochen. Wiederholte Injektionen von 400 µl Fenestra™ LC waren erforderlich, um den Kontrast der Leber/Milz für bis zu 2 bzw. 9 Tage auf einem akzeptablen Niveau zu halten.

Die Untersuchungen konnten zeigen, dass bei Mäusen beide ExiTron™-Nano-Kontrastmittel im Vergleich zu Fenestra™ LC eine längere und stärkere Kontrastverstärkung der Leber und der Milz bewirken, mit einem

75 % niedrigerem Injektionsvolumen im Vergleich zu Fenestra™ LC (57).

Boll H, Figueiredo G*, Fiebig T, Nittka S, Doyon F, Kerl HU, et al. Comparison of Fenestra LC, ExiTron nano 6000, and ExiTron nano 12000 for micro-CT imaging of liver and spleen in mice. Acad Radiol. 2013;20(9):1137-43. *both authors contributed equally*

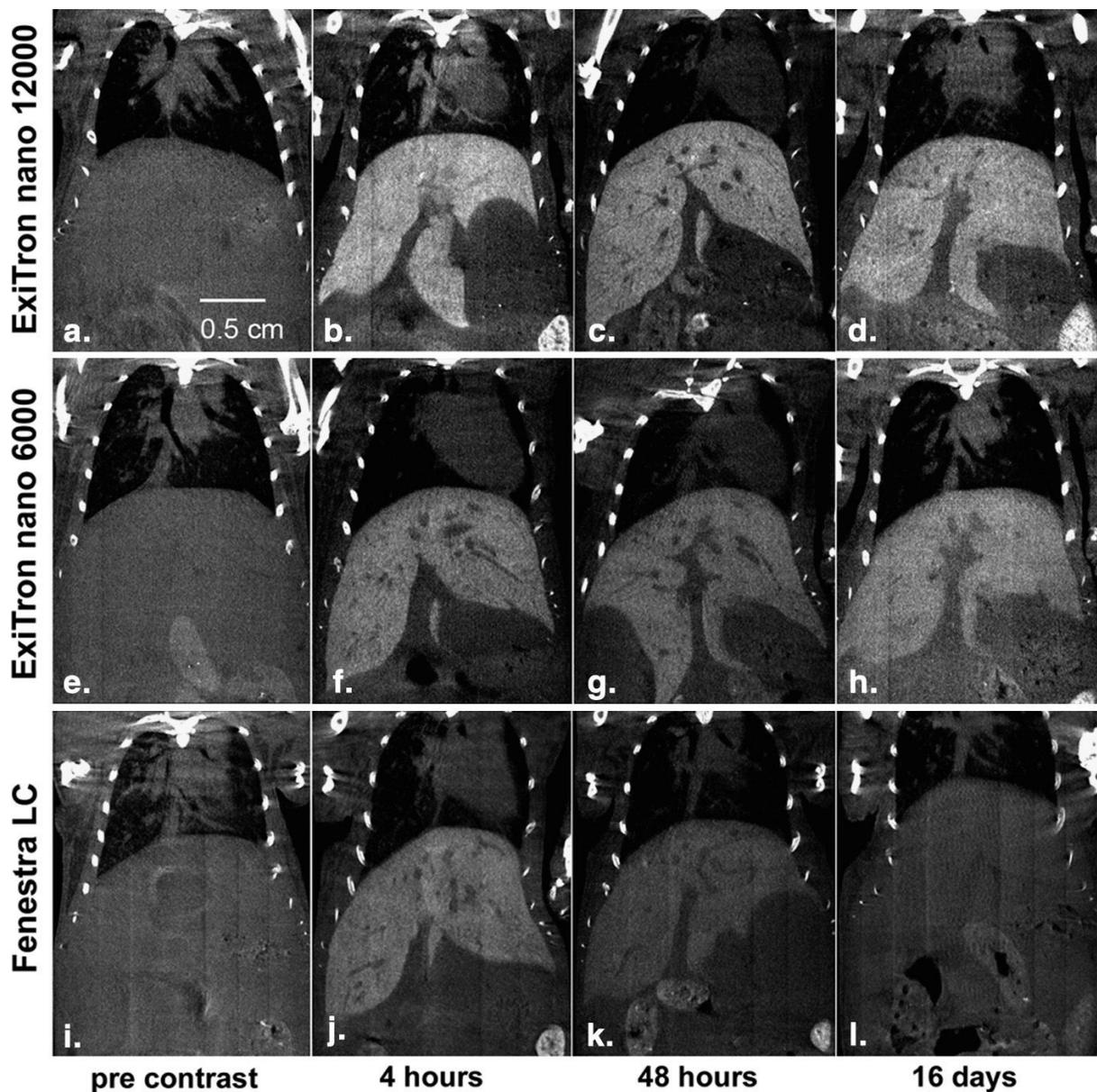


Abbildung 9: Mikro-CT Bilder, die den Zeitverlauf der Kontrastmittelanreicherung des Lebergewebes nach einmaliger intravenöser Injektion von 100 µl ExiTron™ nano 12000 (a – d), 100 µl ExiTron™ nano 6000 (e-h) und 400 µl Fenestra LC (i-l) demonstrieren. Bilder vor der Kontrastmittelgabe (a, e, i), nach 4 Stunden (b, f, j), nach

48 Stunden (c, g, k) und nach 16 Tage (d, h, l). Mikro-CT-Scanparameter: 80 kV, 75 mA; 40 Sekunden Scanzeit; 190° Drehung; 1200 Projektionen. (Abbildung aus Publikation (c)).

3.4 Kostengünstiger, metallfreier Mini-Port für die artefaktfreie Bildgebung und wiederholte Injektionen von Kontrastmittel bei Mäusen (d)

Mini-Ports in Mäusen werden bei experimentellen Untersuchungen zunehmend für die Erprobung von Medikamenten oder für die wiederholte Injektion von Kontrastmitteln verwendet. Allerdings sind die kommerziell erhältlichen Mini-Ports teure Einwegartikel und verursachen Bildartefakte. Ziel unserer Untersuchungen war die Entwicklung und erste präklinische Anwendung eines artefaktfreien und kostengünstigen vaskulären Mini-Ports (VAMP) für Mäuse (Abbildung 10). Des Weiteren sollte die Dichtheit des VAMP durch Hochgeschwindigkeitsbolus-Injektionen verschiedener Kontrastmittel geprüft werden. Die VAMP-induzierten Artefakte wurden mit einem Mikro-CT und einem Kleintier-MRT-Scanner (9,4 T) ex-vivo untersucht (Abbildung 11). Wir konnten bei wiederholten Punktionen des VAMPs keine Hinweise auf Leckagen feststellen. Mit dem VAMP konnten Blutproben entnommen und Kontrastmittel-Injektionen mit Hochdruckinjektor durchgeführt werden. Im Gegensatz zu den getesteten kommerziell verfügbaren Ports verursachte der VAMP keine Artefakte in der MRT- und CT-Bildgebung.

Der neu entwickelte VAMP stellt eine sichere Alternative zu den kommerziell erhältlichen Mini-Ports dar und ist zur weiteren Entwicklung bildgebender Verfahren in der Tierforschung eine effizient anwendbare Methode (58).

Fiebig T*, **Figueiredo G***, Boll H, Kerl HU, Noelte IS, Forster A, et al. A Low Cost Metal-Free Vascular Access Mini-Port for Artifact Free Imaging and Repeated Injections in Mice. PLoS One. 2013;8(6):e65939. *both authors contributed equally

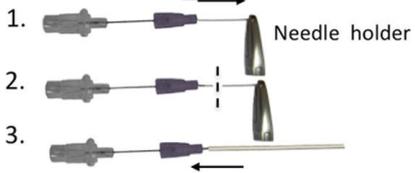
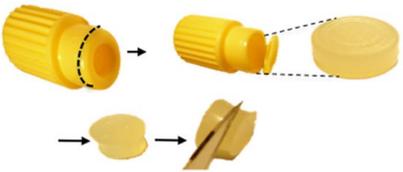
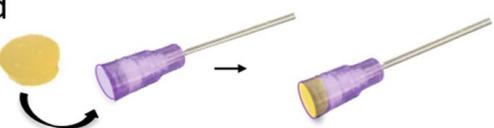
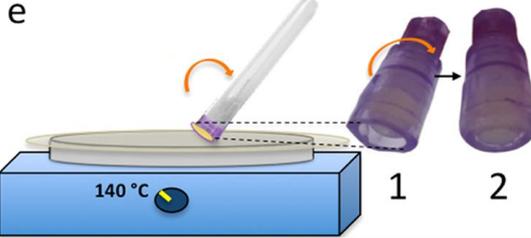
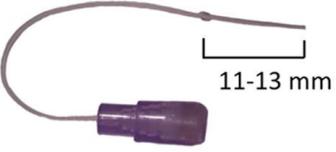
<p>a</p> 	<p>The suture wings and 0.5 cm of the cannula cone are cut (dashed lines).</p>
<p>b</p> 	<p>The blunt stylet of the 26 G venous catheter is inserted into the body of the VAMP (purple) to preserve the lumen of the pre-attached catheter of the 26 G venous catheter while stretching it with a needle holder (1). The stretched catheter is cut (2) to a remaining length of 0.5 cm. A 2 F silicone catheter is pushed over the remaining catheter stub of the 26 G venous catheter (3). The stylet finally is pulled out of the VAMP again.</p>
<p>c</p> 	<p>A rubber membrane is extracted from an injection cap and a smaller rubber disc is excised out of the extracted rubber membrane. The excised disc is cropped by 1 mm to optimally fit into the body of the VAMP (purple).</p>
<p>d</p> 	<p>The rubber membrane is pushed into the shortened cannula cone as far as possible.</p>
<p>e</p> 	<p>The heating plate (135-140°C) of a magnetic stirrer is covered with baking paper. By rolling the edge of the cannula cone over the hot plate the cone is being deformed (1 -> 2), thereby fixing the rubber membrane in place.</p>
<p>f</p> 	<p>A retention bed is built by pulling a 1 mm piece of 3 F silastic tube over the attached catheter.</p>

Abbildung 10: Schematische Beschreibung der Herstellung eines kostengünstigen und metallfreien vaskulären Zugangs-Mini-Ports (VAMP) für Mäuse. (Abbildung aus Publikation (d)).

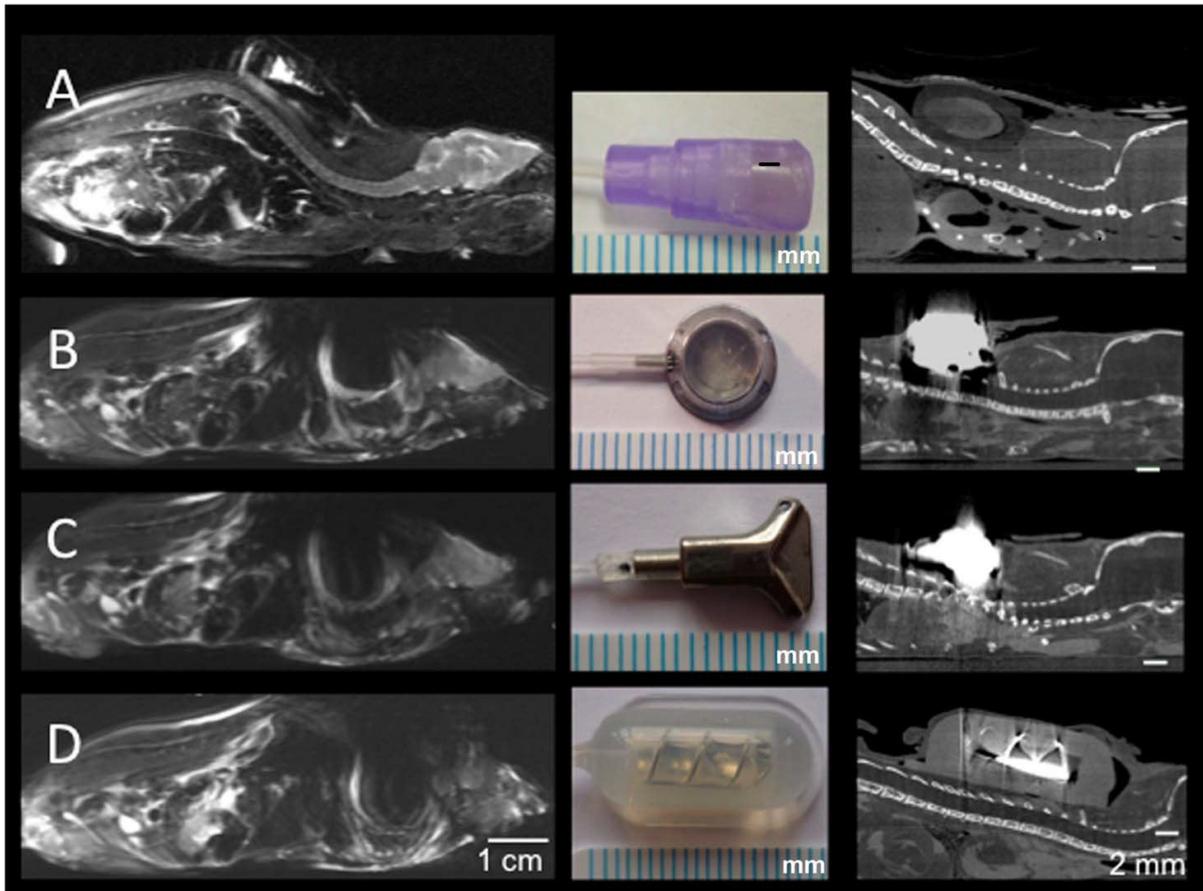


Abbildung 11: Beurteilung der port-induzierten Artefakte bei Mäusen unter Verwendung einer MRT mit hoher Feldstärke (dedizierter Kleintierscanner bei 9,4 T; T2-gewichtete Sequenz) und Mikro-CT. Der neu entwickelte vaskuläre Mini-Port (A) zeigt keine relevanten Artefakte in der MRT oder CT-Bildgebung, während alle im Handel erhältlichen Mini-Ports (B: SoloPort MICRO, C: Microport, D: Penny Mouse-Port) sowohl in der CT-Bildgebung als auch bei der 9,4 T MRT- Bildgebung störende Artefakte verursachen und damit die richtige Abbildung der Strukturen in Mäusen beeinträchtigen. Maßstab unter den Fotos: 1 mm. (Abbildung aus Publikation (d)).

3.5 Minimalinvasive Überwachung von chronischer Durchgängigkeit des zentralen Venenkatheters bei Mäusen mittels DSA (e)

Die Einführung von vaskulären Mini-Ports für Mäuse ermöglicht eine langfristige Katheterisierung eines Gefäßes und damit eine wiederholte Verabreichung von Medikamenten oder Kontrastmitteln. Eine Okklusion des Jugularvenenkatheters ist die häufigste gemeldete Komplikation. Ziel unserer Untersuchungen war es, mittels DSA festzustellen, wie lange die VAMPs durchgängig bleiben. Dazu wurde 23 Mäusen jeweils ein VAMP über die Jugularvene subkutan implantiert. Der VAMP wurde jeden zweiten Tag mit 50 µl heparinierter Kochsalzlösung (25 IE/ml) gespült. Die DSA wurde in Verbindung mit der Injektion von 100 µl eines jodhaltigen Kontrastmittels durchgeführt, sowie 7 ± 2 und 14 ± 2 Tage nach der Implantation.

Die DSA ermöglichte die sichere Lokalisierung der Katheterspitze, die Darstellung von Abknickungen des Katheters bzw. von Katheterokklusionen sowie die Bewertung der Katheterdurchgängigkeit. Darüber hinaus wurden auch ante- und retrograde kollaterale Strömungsmuster bei Jugularvenenverschluss beobachtet (Abbildung 12 und 13). 30 % der Tiere zeigten nach 7 ± 2 Tagen einen Verschluss des punktierten Gefäßes. Noch nach 14 ± 2 Tagen war bei 70 % der implantierten VAMPs eine reguläre intravaskuläre Kontrastmittelinjektion möglich. Ein Verschluss des Kathetersystems selbst wurde in keinem Fall beobachtet (59).

Figueiredo G, Fiebig T, Kirschner S, Nikoubashman O, Kabelitz L, Othman A, et al. Minimally Invasive Monitoring of Chronic Central Venous Catheter Patency in Mice Using Digital Subtraction Angiography (DSA). PLoS One. 2015;10(6):e0130661.

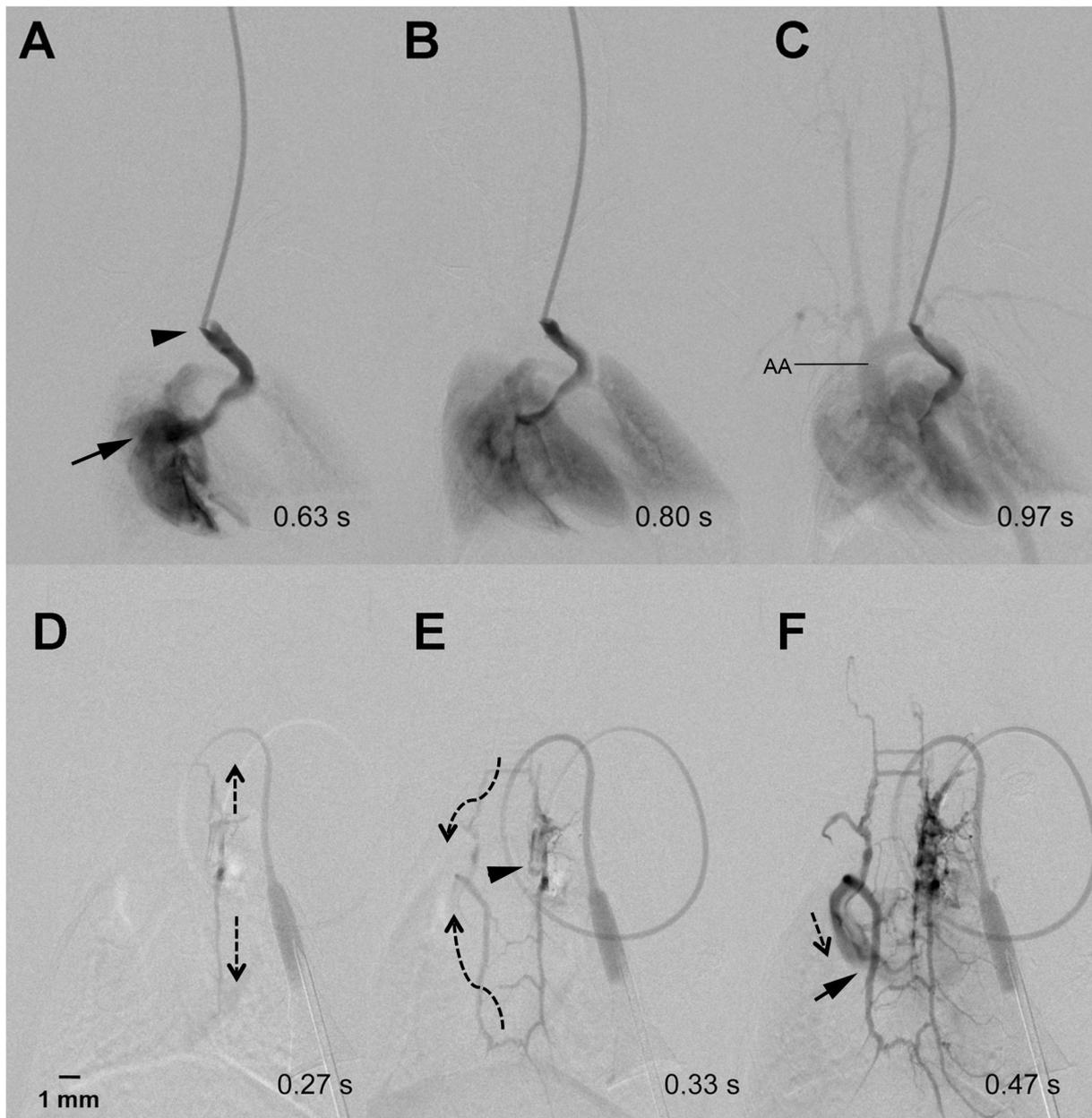


Abbildung 12: A-C antegrades Flussmuster. Die Katheterspitze (Pfeilspitze) befindet sich in der Jugularvene der Maus. Kontrastmittel fließt aus der Jugularvene in den rechten Vorhof (Pfeil) (A). Von dort füllt es die Lungen (B) und den Aortenbogen (AA) einschließlich der supraaortalen Arterien (C). Nach Kontrastmittelinjektion über den implantierten Mini-Port (eine Woche später) zeigt sich eine Okklusion der Jugularvene (D). Stattdessen floss das Kontrastmittel (durch gestrichelte Pfeile angedeutet) über ein „leiterähnliches“ venöses Kollateralnetz (V. Azigos und paravertebrale Venen) (E) mit einiger Verzögerung und verringerter Kontrastintensität in den rechten Vorhof (Pfeil) (F). (Abbildung aus Publikation (e)).

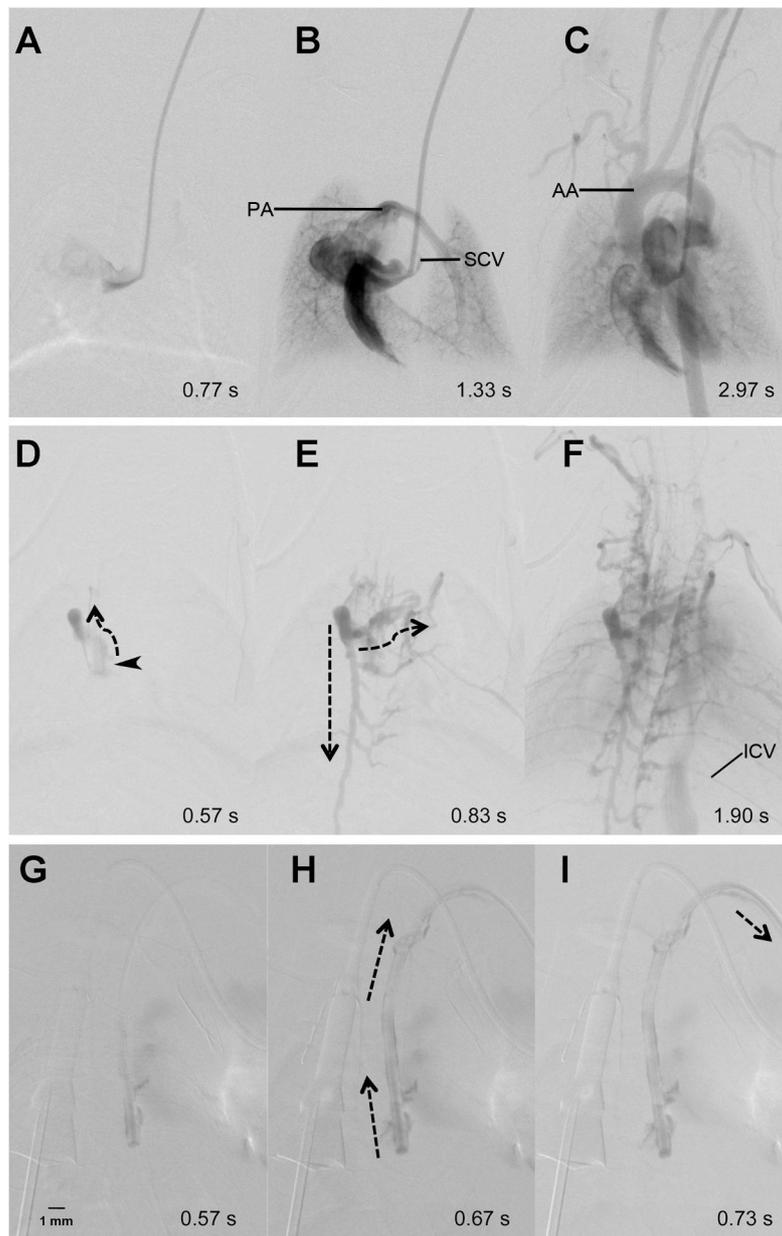


Abbildung 13: Die DSA unmittelbar nach der Implantation eines Katheters zeigt eine zeitgerechte Füllung von Vena cava superior (SCV) (A) am rechten Vorhof, in Ventrikel und Lungenarterien (PA), (B) sowie Aortenbogen (AA) und supraaortalen Arterien (C). Eine Woche später war der SCV an der Stelle der Katheterspitze okkludiert (Pfeilspitze) (D) und der rückläufige Fluss (gestrichelte Pfeile) des Kontrastmittels führte zur Kontrastierung eines „leiterähnlichen perivertebralen“ cervicocollateralen Venensystems (E). Schließlich wurden die Interkostalvenen (ICV) kontrastiert und eine schwache Füllung des rechten Ventrikels und der Lunge beobachtet. Eine Woche später (G-I) ist eine vollständige Okklusion des Hauptgefäßes ersichtlich. Dies führt zu einem retrograden Fluss des Kontrastmittels entlang der Außenseite des Katheters (H und I). (Abbildung aus Publikation (e)).

4 Klinische Anwendung der kontrastmittelverstärkten Bildgebung - Ultraschalldiagnostik

Die Entwicklung eines Ultraschallkontrastmittels, das aus Mikrobläschen besteht, ermöglicht die dynamische Darstellung der Makro- und Mikroperfusion in allen Phasen (z. B. arterielle und portalvenöse Phase und Spätphase bei der Perfusion der Leber). Damit kann der kontrastmittelverstärkte Ultraschall zur Beurteilung der Vaskularisation und der Perfusion von Organen wie z. B. der Leber (Abbildung 14 und 15), der Gallenblase, den Nieren, der Milz, des Pankreas, des Darms, der Prostata, des Hodens, der Brust, sowie der Skelettmuskulatur genutzt werden. Der kontrastmittelverstärkte Ultraschall kann z. B. zur Darstellung einer Hypo- oder Hyperperfusion genutzt werden und wird bei Angiopathien, bei Gefäßdissektionen (Abbildung 16) und Aneurysmen (60-65) eingesetzt. Die Dynamik des Blutflusses lässt sich anhand der Geschwindigkeit des Blutflusses in der arteriellen, portalvenösen und venösen Untersuchungsphase graduieren. Der Grad der Gefäßperfusion wird dabei durch wesentliche Parameter der dargestellten Zielstruktur mitbeeinflusst, etwa der Dichte des Gefäßnetztes und des relativen Blutvolumens.

Besonders in der Leber wird dieses Verfahren häufig eingesetzt, um zwischen benignen und malignen Tumoren differenzieren zu können (Abbildung 14 und 15). Hier erleichtern die Perfusionsparameter unter anderem die Differenzierung von Primärtumoren und Metastasen.

Es wurden im Rahmen dieses Habilitationsprojektes klinische Studien ausgewertet, um die Verwendung des kontrastmittelverstärkten Ultraschalls bei der Diagnostik der Gallenblase zu evaluieren.

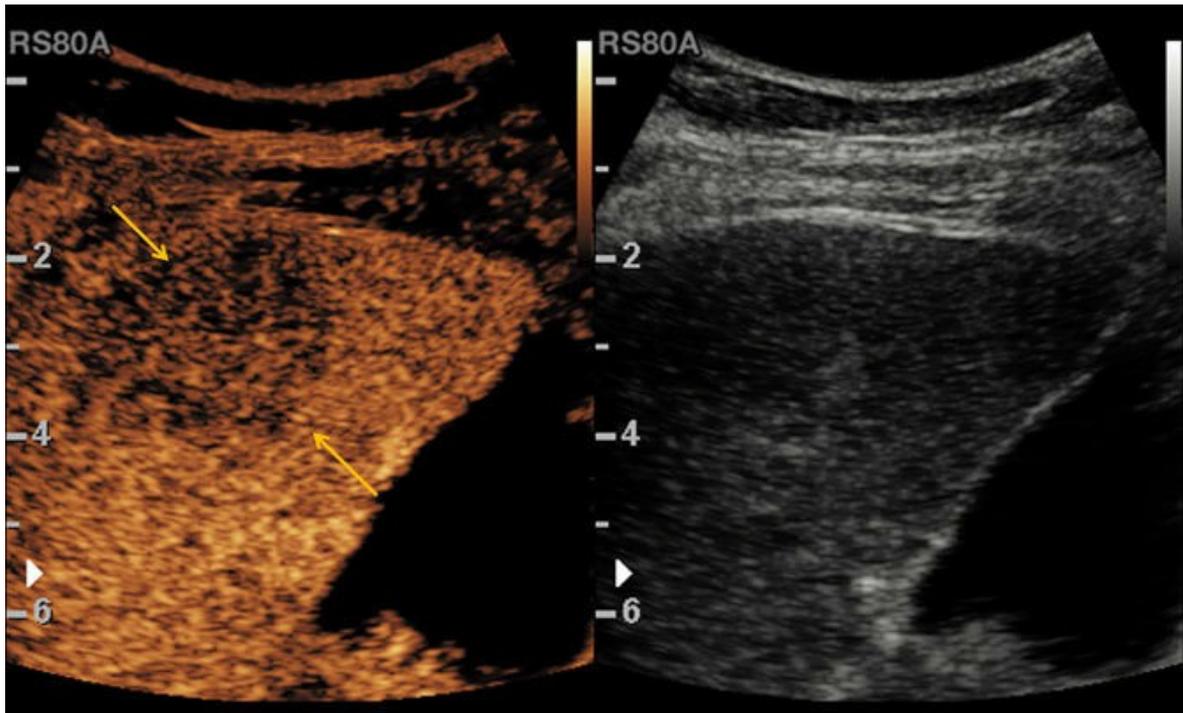


Abbildung 14: Bilder von einer suspekten Leberläsion. In der Spätphase zeigt sich ein zunehmendes, im Vergleich zum umgebenden Lebergewebe deutliches Auswaschen der suspekten Leberläsion (gelbe Pfeile). Die Läsion erfüllt damit die klassischen Kriterien für ein hepatozelluläres Karzinom (HCC). Der Befund bestätigte sich histopathologisch nach Resektion. (Abbildung aus Publikation (f)).

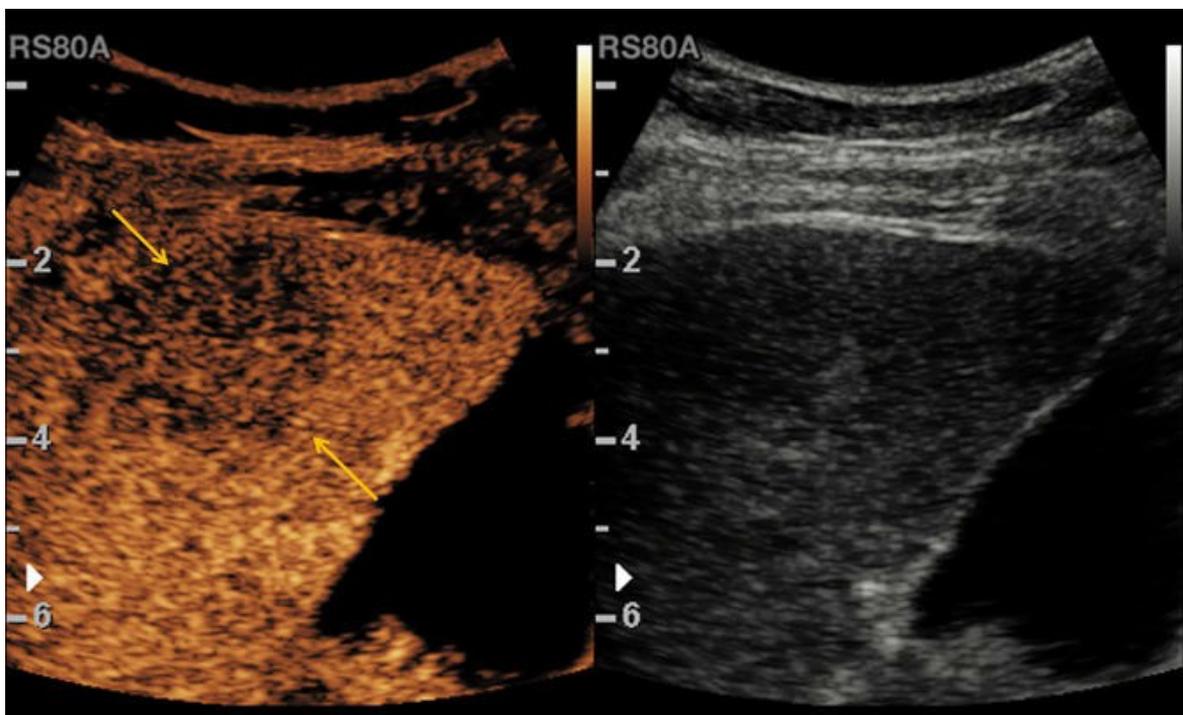


Abbildung 15: In der kontrastmittelverstärkten Sonographie zeigt sich im Seit-zu-Seit-Modus (links CEUS, rechts natives B-Bild) in der arteriellen Anflutungsphase eine vermehrte randständige Kontrastmittelaufnahme der suspekten Leberläsion. Die

zentralen Anteile sind hypoperfundiert, Zeichen von zentral nekrotischen Anteilen oder fibrotischem Umbau der Leberläsion. (Abbildung aus Publikation (f)).

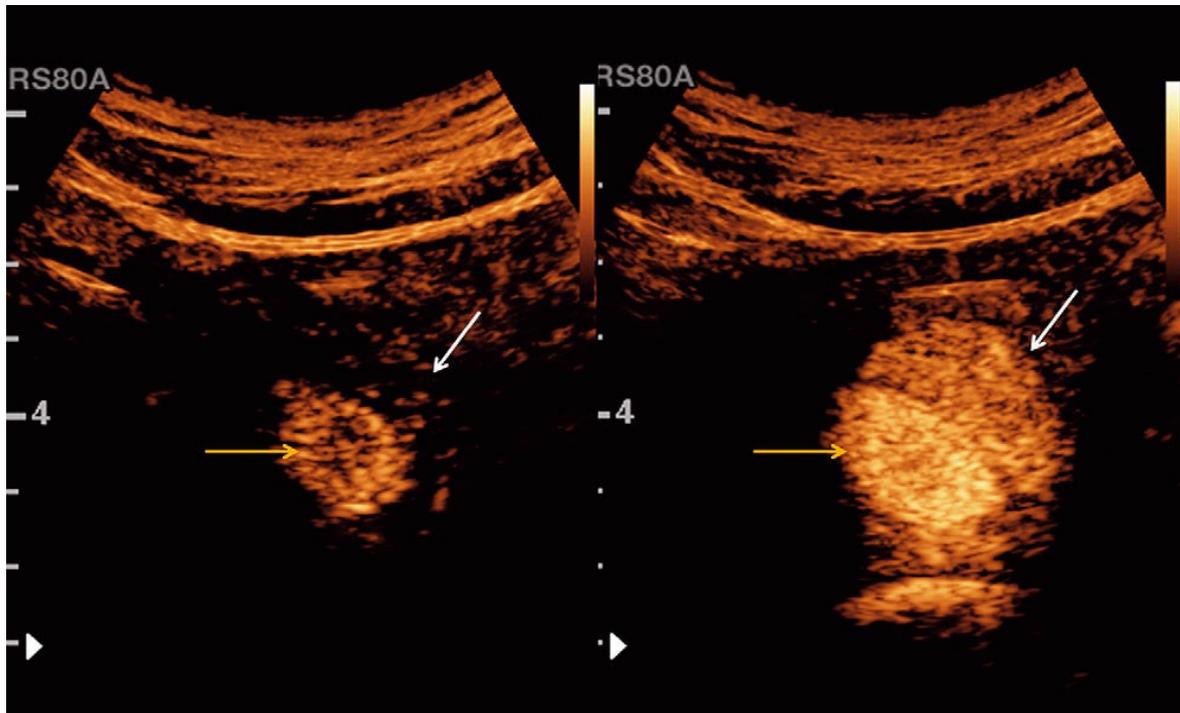


Abbildung 16: Patient mit abdomineller Aortendissektion. Der kontrastmittelverstärkte Ultraschall zeigt eine frühe Kontrastmittelanreicherung des wahren Lumens (gelbe Pfeile) und, Sekunden später, die späte Kontrastierung des falschen Lumens (weiße Pfeile). (Abbildung aus Publikation (g)).

4.1 Gallenblase

Die Gallenblase kann von einer Vielzahl unterschiedlicher Pathologien betroffen sein, die oft mit unspezifischen Zeichen und Symptomen einhergehen. Die Bildgebung spielt eine wichtige Rolle bei der Charakterisierung unklarer Pathologien sowie bei der Therapieplanung. Die Echtzeitsonographie ist hierbei die am häufigsten eingesetzte initiale diagnostische Bildgebung und damit auch das Screening-Verfahren der Wahl. Die Computertomographie oder Magnetresonanztomographie können ergänzend eingesetzt werden, wenn klinische Fragen nach der Ultraschalluntersuchung ungeklärt bleiben bzw. nicht suffizient beantwortet werden können. Das Verständnis der Charakteristika verschiedener Krankheitsmanifestationen der Gallenblase und ihrer Darstellung im kontrastmittelverstärkten Ultraschall können hierbei der Schlüssel für die Diagnose sein.

Mit dem immer öfter zum Einsatz kommenden kontrastmittelverstärkten Ultraschall können Befunde, die in der nativen Ultraschalluntersuchung unklar geblieben sind, weiter abgeklärt werden (66). CEUS ist ein schnelles und einfach durchzuführendes Verfahren, unterliegt dabei jedoch prinzipiell den gleichen methodischen Limitationen der B-Bild- und farbkodierten Duplexsonographie – hierzu zählen insbesondere Ultraschalluntersuchungen bei adipösen oder nicht kooperierenden Patienten. Auch eine erhöhte Menge Darmgas kann die Aussagekraft der Untersuchung stark einschränken. Zudem ist die Qualität der Ultraschalluntersuchung von der Erfahrung des durchführenden Arztes abhängig (66). Die US-Kontrastmittelgabe ermöglicht eine Darstellung des Blutflusses in Gefäßen bis zu einer Größe von nur 40 μm , wobei zwei Perfusionsphasen von essenzieller Bedeutung sind: die arterielle Phase (10-20 Sekunden nach Kontrastmittelinjektion) und die Spätphase (31-180 Sekunden

nach Kontrastmittelinjektion) (67-70).

Der CEUS der Gallenblase kann verwendet werden, um Normvarianten zu identifizieren, Gallenblasengries von neoplastischen Läsionen zu unterscheiden, benigne und maligne Pathologien zu erkennen oder auszuschließen sowie Infektionen, eine Wandruptur oder eine Hämobilie zu diagnostizieren (66).

Nachfolgend wird auf drei unserer publizierten retrospektiven Studien eingegangen:

- Aussagekraft des kontrastmittelverstärkten Ultraschalls in der Diagnostik von Erkrankungen der Gallenblase (68; h),
- kontrastmittelverstärkter Ultraschall in der Bewertung der Erkrankungen der Gallenblase im Vergleich zu den Schnittbildgebungen und histopathologischen Ergebnissen (69; i) und
- kontrastmittelverstärkter Ultraschall bei Erkrankungen der Gallenblase – eine retrospektive monozentrische Analyse der Bildgebung in Korrelation zu der Histopathologie (70; j).

Gemeinsames Ziel der Studien war es, die diagnostische Wertigkeit des CEUS in der Beurteilung von Erkrankungen der Gallenblase durch den Vergleich der Ergebnisse mit CT- und MRT-Befunden und histopathologischen Befunden zu analysieren (68-70).

Dazu wurden die Untersuchungen von 202 Patienten mit unklaren Veränderungen der Gallenblase retrospektiv ausgewertet. Die besagten Untersuchungen wurden zwischen 2009 und 2017 an unserem Institut durchgeführt. Die Patienten waren im Anschluss an eine konventionelle Ultraschalluntersuchung bei Verdacht auf eine tumoröse Veränderung der Gallenblase für die Durchführung einer ergänzenden CEUS-Untersuchung an das Institut überwiesen worden. Aus dieser gesamten

Kohorte wurden folgende unterschiedliche Subgruppen analysiert und deren Ergebnisse publiziert:

- Eine Subgruppe von 24 Patienten mit CEUS-Untersuchungen und zusätzlichen CT-Untersuchungen (68)
- Eine Subgruppe von 37 Patienten mit CEUS-Untersuchungen, zusätzlich CT- und/oder MRT- Untersuchungen und einer Histopathologie zur Feststellung der Diagnose bei allen Patienten (69)
- Eine weitere Subgruppe von 17 Patienten mit CEUS-Untersuchungen und zusätzlich lediglich histopathologischen Ergebnissen (70)

Alle ausgewerteten CEUS-Untersuchungen wurden vom gleichen erfahrenen Arzt durchgeführt und zum Zeitpunkt der Untersuchung interpretiert. Das verabreichte Kontrastmittel war bei allen Patienten ein Blutpoolkontrastmittel der zweiten Generation (SonoVue®, Bracco, Mailand, Italien). In den meisten Fällen wurde für die CEUS-Untersuchung eine Dosis von 1,5 bis 2,4 ml Kontrastmittel (SonoVue®) verwendet. Bei Bedarf wurde die Kontrastmittelgabe bis zu dreimal wiederholt. Bei keinem der Patienten konnten Nebenwirkungen auf die Kontrastmittelgabe festgestellt werden.

In der ersten der genannten Studien zeigten 2 von 24 Patienten einen malignitätssuspekten Befund im CEUS, der durch die CT und die Histopathologie bestätigt werden konnte. Der pathologische Befund ergab die Diagnose eines Adenokarzinoms der Gallenblase. In diesen beiden Fällen konnte in der Gallenblase sowohl in der CT-Untersuchung als auch im CEUS eine intraluminale Masse nachgewiesen werden. In der CT-Untersuchung war diese Masse moderat kontrastiert. Im CEUS zeigte die Gallenblase eine irreguläre Kontrastierung der Wand. In einem weiteren Fall wurde bei der konventionellen Sonographie aufgrund einer foka-

len Raumforderung in der Gallenblase der Verdacht auf einen malignen Tumor geäußert. Dieser Verdacht konnte im CEUS nicht bestätigt werden, da sich die Gallenblasenwand im CEUS intakt und homogen kontrastiert und ohne Nachweis einer suspekten Raumforderung darstellte. Als einziger Befund konnte der CEUS intraluminalen Sludge nachweisen. Sludge besteht aus avitalen Strukturen und nimmt daher kein Kontrastmittel auf. Die ergänzende CT-Untersuchung zeigte eine fokale Raumforderung in der Gallenblase. Aufgrund des unauffälligen klinischen Zustandes des Patienten und der CEUS-Untersuchung wurde eine CT-Verlaufskontrolle nach drei Monaten empfohlen. Die Verlaufs-CT zeigte keinen Hinweis auf eine tumoröse Veränderung der Gallenblase. Die initiale CT-Untersuchung hatte bei diesem Patienten somit einen falsch positiven Befund ergeben, der durch die CEUS-Untersuchung als solcher identifiziert werden konnte. Die übrigen Patienten zeigten im CEUS Veränderungen im Rahmen einer chronischen Cholezystitis, welche auch in den CT-Befunden nachvollziehbar waren. (68).

In der zweiten Studie wurden weitere 37 Patienten mit Gallenblasenveränderungen untersucht, die jeweils eine zusätzliche CT- und/oder MRT-Untersuchung sowie eine Histopathologie erhalten hatten. Bei drei Patienten wurde im CEUS der Verdacht auf ein Malignom der Gallenblase geäußert, da hier eine irreguläre Kontrastmittelanreicherung der Gallenblasenwand, eine tortuöse, verstärkte arterielle Vaskularisation und ein Auswaschen des Kontrastmittels innerhalb der Läsion nachgewiesen werden konnten. In zwei dieser drei Fälle wurde auch in der CT-Untersuchung in der portalvenösen Phase eine diffus verdickte Gallenblasenwand sowie eine fokale, intraluminale Läsion nachgewiesen. In beiden Fällen ergab der histopathologische Befund ein Adenokarzinom. Im dritten Fall wurde die im CEUS detektierte, maligne Gallenblasenveränderung in CT und MRT als auch in der histopathologischen Aufarbei-

tung als Infiltration der Gallenblasenwand durch eine maligne Leber-
raumforderung beschrieben. In diesem Fall war es im CEUS nicht mög-
lich, zwischen einer intraluminalen Raumforderung der Gallenblase
selbst und einer tumorösen Infiltration durch eine Leberaumforderung zu
differenzieren. Dieser Fall zeigt die Grenzen des CEUS und dessen Un-
tersucherabhängigkeit auf. Im Gegensatz zum CEUS konnte in der CT-
und der MRT-Untersuchung eine extraluminale Raumforderung mit zu-
sätzlicher Infiltration der Gallenblasenwand abgegrenzt werden. Darüber
hinaus wurden die Polypen in der Gallenblase durch CEUS dargestellt
und durch den histopathologischen Befund bei 2 Patienten bestätigt. Die
Fälle mit Polypen wurden verlaufskontrolliert, deren Größe veränderte
sich nicht. Das Muster einer Adenomyomatose wurde in CEUS, CT und
MRT dargestellt und in zwei Fällen zusätzlich histopathologisch bestätigt.
In zehn Fällen wurde durch CEUS ein Cholezystitismuster dargestellt. In
allen Fällen konnte dieses auch in der Schnittbildgebung nachgewiesen
und durch die Pathologie bestätigt werden (69).

In die dritte Studie wurden alle 17 Patienten eingeschlossen, bei denen
ein histopathologischer Befund zu den im CEUS beschriebenen Verän-
derungen der Gallenblase vorlag. Bei 2 von 17 Patienten wurde eine ma-
lignomverdächtige, intraluminale Raumforderung der Gallenblase in der
CEUS-Bildgebung dargestellt, diese zeigte ein Auswaschen des Kon-
trastmittels und eine irreguläre Kontrastierung der Gallenblasenwand. In
der Histopathologie wurde jeweils ein Adenokarzinom der Gallenblase
bestätigt. In zwei Fällen wurde im CEUS ein Gallenblasenpolyp mit einer
Größe zwischen 6 und 9 mm ohne kräftige Kontrastmittelanreicherung
nachgewiesen, aufgrund des Risikoprofils der Patienten wurde jedoch zu
einer Cholezystektomie geraten. Die Histologie bestätigte in beiden Fäl-
len die Diagnose eines Cholesteropolypen. In 5 Fällen wurde im CEUS
der Verdacht auf eine Cholezystitis der Gallenblase gestellt. Bei einem

Patienten wurde im CEUS eine Adenomyomatose beschrieben, die anschließend histopathologisch gesichert wurde (70).

Die drei genannten Studien zeigen die häufigsten Erkrankungen der Gallenblase auf: Cholezystitis, Polypen, Adenomyomatose und Adenokarzinome. Das verwendete Kontrastmittel stellt die Vaskularisation einer Läsion in mehreren Phasen da, und hilft dadurch Muster zu erkennen, um die unterschiedlichen Läsionen zu unterscheiden. Durch die Kontrastmittegabe können die Dynamik sowie die Form der An- und Abflutung des Blutes dargestellt werden. Sludge nimmt kein Kontrastmittel auf. Mithilfe einer konventionellen Ultraschalldiagnostik kann nicht zwischen einer fokalen Masse und einem Tumor, Sludge oder Polypen differenziert werden (Abbildungen 17-19).

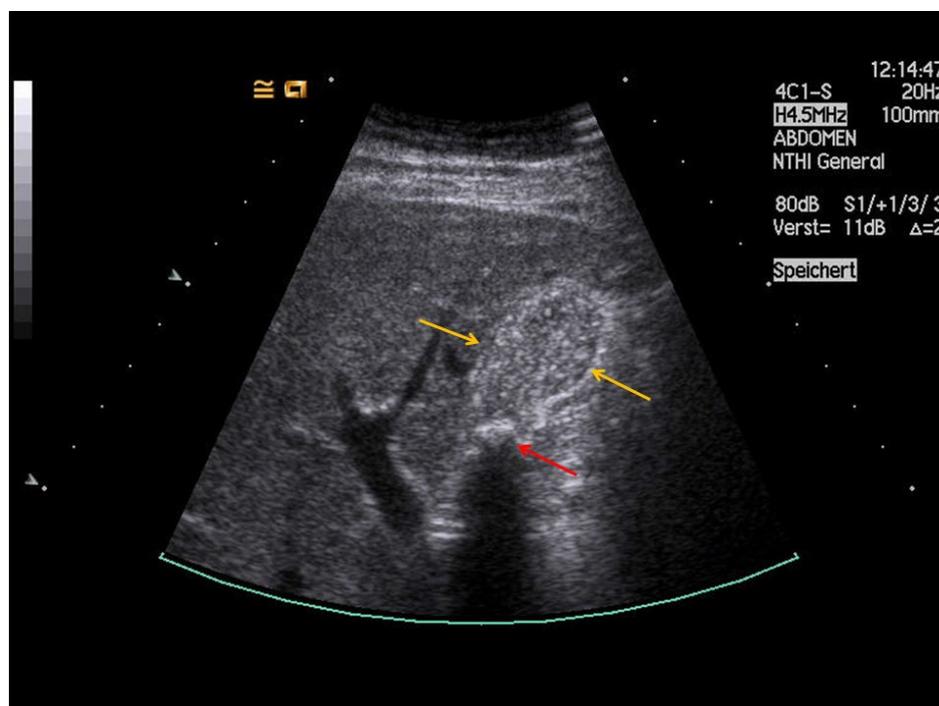


Abbildung 17: Der native B-Bild-Ultraschall stellt eine Gallenblase mit deutlich echoreichem intraluminalen Material (gelbe Pfeile) und einen Gallenstein dar (roter Pfeil). (Abbildung aus Publikation (h)).

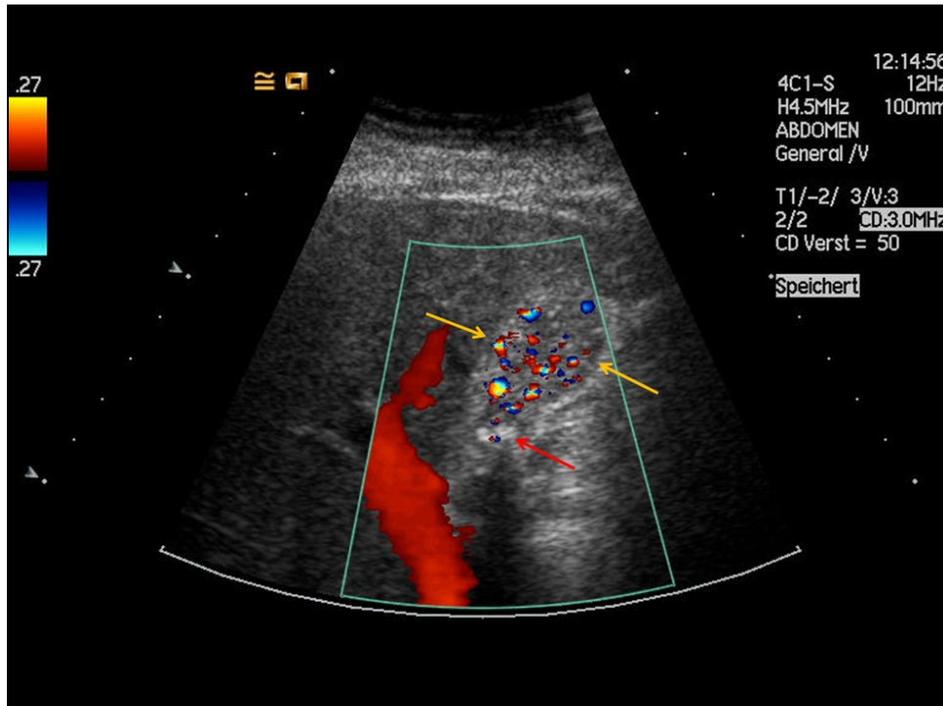


Abbildung 18: Derselbe Patient wie in Abb. 17. Der Farb-Doppler-Modus zeigt “twinkling artifacts”, die auf intraluminalen Sludge hindeuten. Gallenstein (roter Pfeil). Letztlich kann ein maligner Tumor nicht sicher ausgeschlossen werden, da auch Tumorgewebe ein ähnliches Signalmuster zeigen kann. (Abbildung aus Publikation (h)).

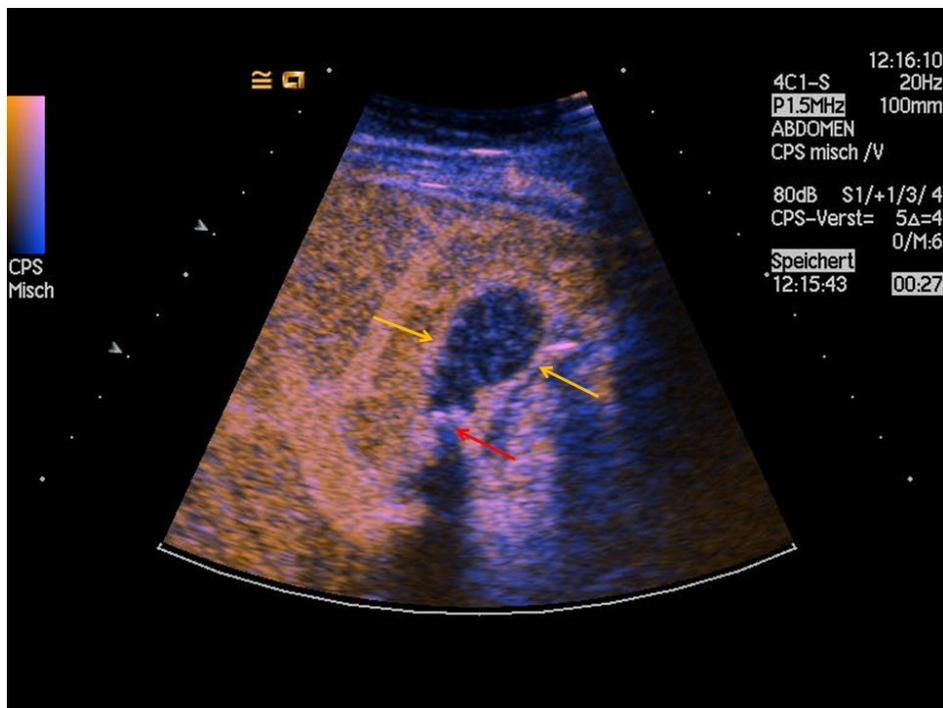


Abbildung 19: Derselbe Patient wie in Abbildung 17 und 18. Der kontrastmittelverstärkte Ultraschall zeigt eine normale Vaskularisation der Gallenblasenwand (gelbe Pfeile) und keine intraluminal Kontrastmittelaufnahme. Gallenstein (roter Pfeil). Ein maligner Tumor kann mit CEUS sicher ausgeschlossen werden. (Abbildung aus Publikation (h)).

Das Gallenblasenkarzinom ist die fünfthäufigste, bösartige Veränderung des Magen-Darm-Trakts (71). Betroffen sind ältere Patienten (> 50–60 Jahre), insbesondere Frauen (F: M = 4: 1) (71). Am häufigsten (90 %) sind hierbei Adenokarzinome (71). Da Gallenblasenkarzinome in der Regel asymptomatisch bleiben, bis sie ein fortgeschrittenes Stadium erreicht haben, ist ihre Früherkennung von entscheidender Bedeutung (72). Die Untersuchung mittels CEUS erleichtert hier die Diagnosestellung einer malignen Läsion durch die Kombination der bildmorphologischen Merkmale wie eine inhomogene, verstärkte arterielle Vaskularisation, intraläsionale, gewundene Gefäße, das Auswaschen von Kontrastmittel innerhalb der Läsion sowie eine irreguläre Kontrastierung der Gallenblasenwand (Abbildung 20). Allerdings haben die Untersuchungen auch gezeigt, dass die oben genannten Merkmale allein kein spezifisches Kriterium für die Malignität einer Läsion sind (73, 74, 75).

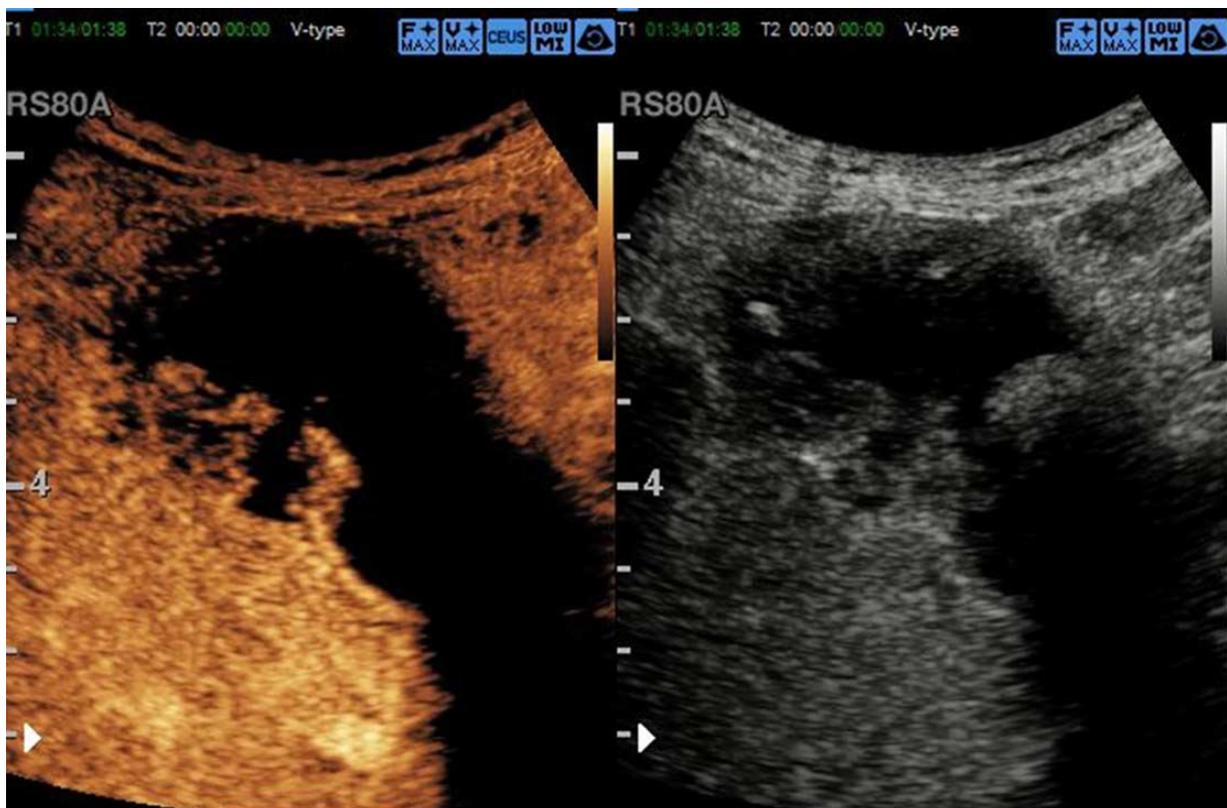


Abbildung 20: Gallenblasenkarzinom eines 91-jährigen Patienten. Der native B-Bild-Ultraschall (rechts) zeigt eine suspekte Formation mit irregulären Konturen, angrenzend an die Wand. CEUS (links) zeigt eine fokale Hyperperfusion der Gallenblasen-

wand. Diese Formation zeigt in der venösen Phase ein pathologisches „wash-out“. (Abbildung aus Publikation (i)).

Gallenblasenpolypen sind kleine, zapfenförmige Erhebungen der Schleimhautoberfläche, die ins Gallenblasenlumen hineinwachsen. Sie sind in der überwiegenden Anzahl der Fälle Zufallsbefunde. Nur <10 % stellen einen potenziellen Risikofaktor für Karzinome dar, sie sollten deswegen abgeklärt und gegebenenfalls im Verlauf kontrolliert werden (76). Die benignen Gallenblasenpolypen, wie Cholesterolpolypen, sind typischerweise arteriell vaskularisiert, gut abgrenzbar und zeigen eine Kontrastierung, die derjenigen der Gallenblasenwand entspricht (76, 77). Malignomsuspekte Polypen weisen ein von der Kontrastierung der Gallenblasenwand abweichendes Muster auf und zeigen meistens eine Hyperkontrastierung. (76, 77). Ein weiteres Merkmal für die Unterscheidung zwischen gut- und bösartigen Gallenblasenpolypen ist die Größe. Studien konnten zeigen, dass Polypen mit einer Größe über 10mm mit hoher Wahrscheinlichkeit maligne sind.

Eine Adenomyomatose stellt sich im CEUS als eine fokale, segmentale oder diffuse Hyperplasie der Gallenblasenwand dar. Die arterielle Phase zeigt einen mottenfraßähnlichen Kontrast der Gallenblasenwand. Im Vergleich zu einem Malignom ist die Kontrastierung der Adenomyomatose gering. Gelegentlich nimmt die Gallenblasenwand die Form einer homogenen „Sanduhr“ an (76, 77).

Andere akute Erkrankungen der Gallenblase, wie beispielsweise die Cholezystitis, sind meist aufgrund ihrer akuten Symptomatik, der Laborwerte und der konventionellen Sonographie nachzuweisen. Die Kombination einer schnellen, homogenen und intensiven Kontrastierung der verdickten Gallenblasenwand in der CEUS-Bildgebung und einem begleitenden Ödem deuten hierbei auf eine Entzündung der Gallenblase

hin (Abbildungen 21 - 24) und tragen in unklaren Fällen zur Diagnosestellung bei.

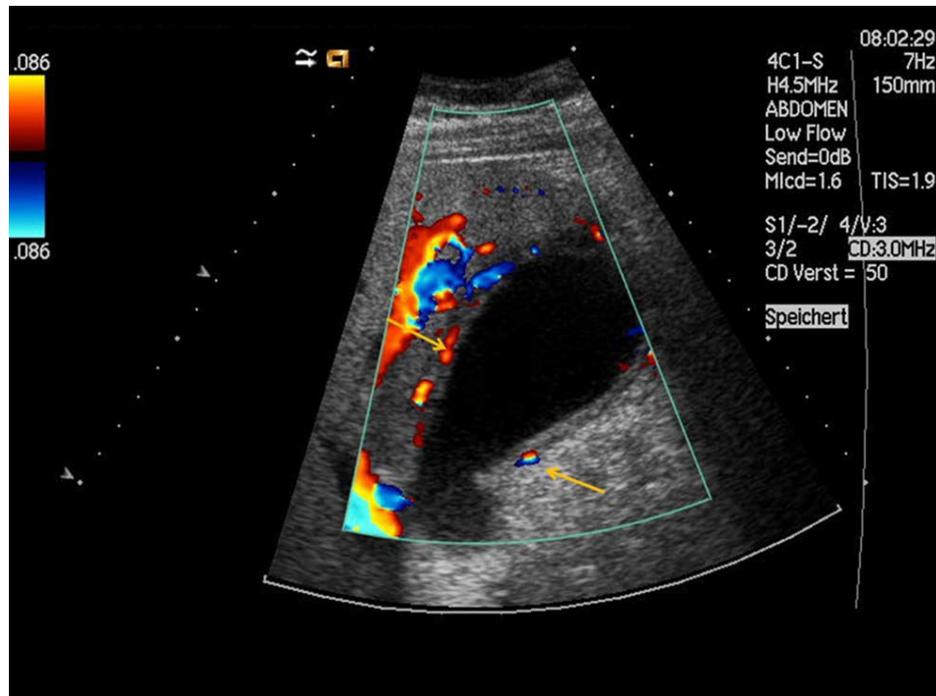


Abbildung 21: Patient mit Bauchschmerzen. Die farbkodierte Duplexsonographie zeigt eine reaktive inflammatorische Hypervaskularisierung der Gallenblasenwand (gelbe Pfeile). (Abbildung aus Publikation (i)).

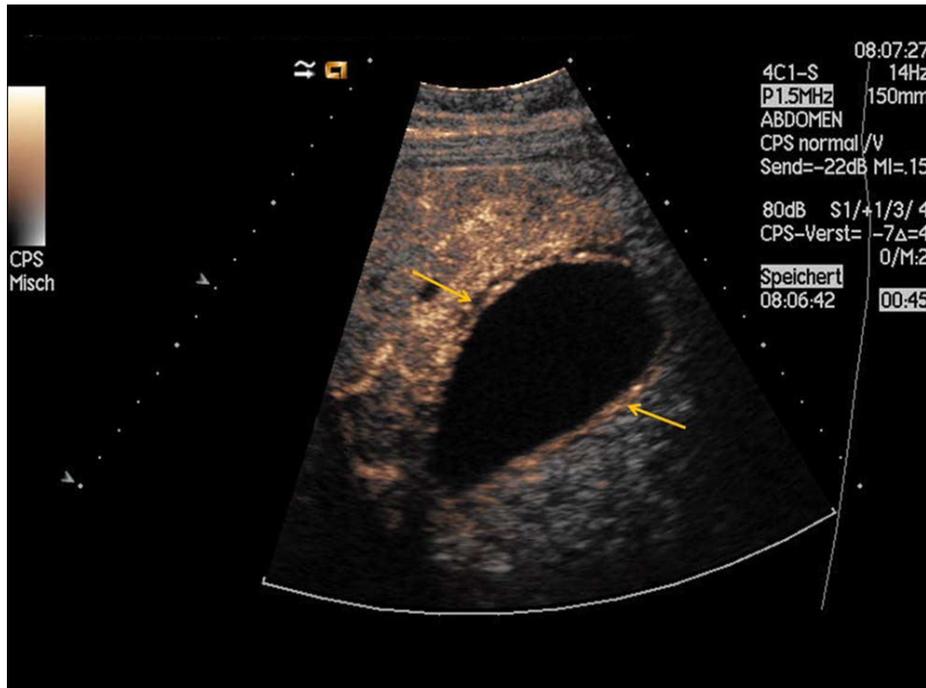


Abbildung 22: Gleicher Patient wie in Abb 21. CEUS kann einen malignen Tumor der Gallenblasenwand anhand des Nachweises einer homogenen Vaskularisation ausschließen, passend zu einer Cholezystitis (gelbe Pfeile). Die Diagnose wurde nach einer Cholezystektomie histopathologisch bestätigt. (Abbildung aus Publikation (i)).



Abbildung 23: Der Power-Doppler zeigt eine marginale Hypervaskularisation innerhalb der verdickten Gallenblasenwand als Zeichen einer Inflammation (gelbe Pfeile). (Abbildung aus Publikation (j)).

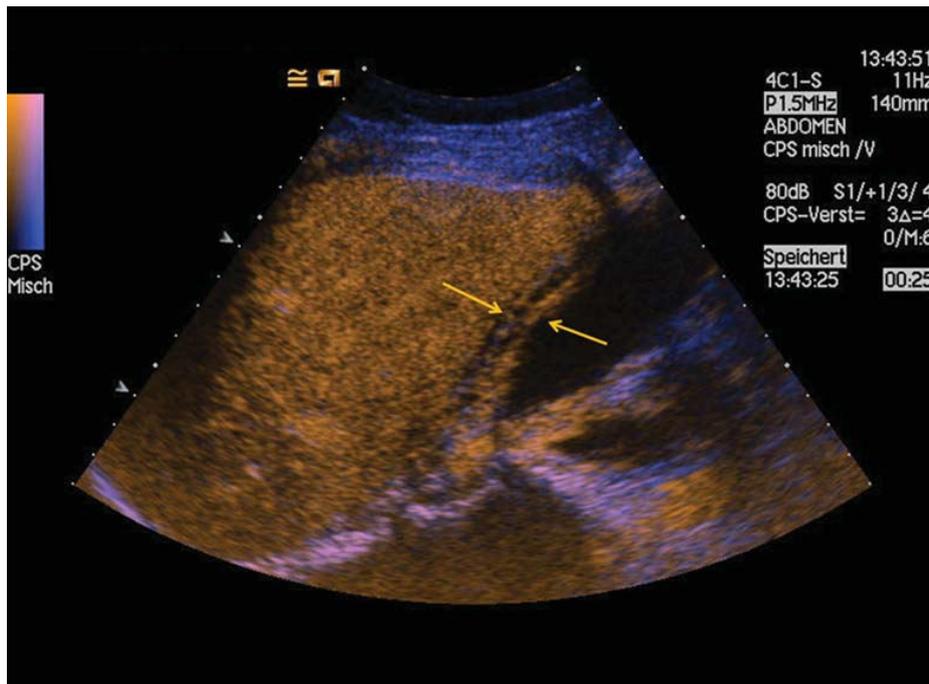


Abbildung 24: Gleicher Patient wie in Abb. 23: CEUS zeigt ein inflammatorisches Vaskularisationsmuster, passend zu einer Cholezystitis (gelbe Pfeile). Es ergeben sich keine Anzeichen auf einen Tumor hinweisender pathologischer Vaskularisation. Ein maligner Tumor kann daher mit Sicherheit ausgeschlossen werden. Die Diagnose wurde histopathologisch nach einer Cholezystektomie bestätigt. (Abbildung aus Publikation (j)).

Zusammenfassend lässt sich bei allen durchgeführten Untersuchungen eine hohe diagnostische Wertigkeit des CEUS feststellen. Der kontrastmittelverstärkte Ultraschall ist demnach ausgezeichnet als Alternative zur Detektion und Bewertung von unklaren Gallenblasenbefunden geeignet, insbesondere wenn andere Methoden wie MRT oder CT nicht verfügbar oder durchführbar sind.

5 Zusammenfassung und Ausblick

Dieses Habilitationsprojekt sollte die Wertigkeit der kontrastmittelverstärkten Bildgebung bei der Beurteilung der physiologischen und pathologischen Perfusion bei Gefäßen unterschiedlicher Größe nachweisen. Zu diesem Zweck wurden im Rahmen der radiologischen Diagnostik experimentelle sowie retrospektive Studien durchgeführt und vorgestellt.

Die durchgeführten präklinischen Studien sind als ein Teilabschnitt der Erforschung neuer Behandlungsverfahren zu sehen und konnten als Teil der klinischen Forschung die Entwicklung neuer Verfahren zur Anwendung am Menschen vorantreiben. Ziel dieser Studien war es daher, mithilfe experimenteller Modelle und der Darstellung von sowohl physiologischen als auch pathologischen Prozessen, neue Methoden im Hinblick auf ein genau definiertes Behandlungsziel ermitteln zu können. Die verschiedenen Bildgebungsmodalitäten erlauben eine longitudinale Evaluation von Krankheitsprozessen sowie die Testung der Wirksamkeit neuer medikamentöser Therapieansätze bei deutlich reduzierter Belastung der Tiere, während gleichzeitig auch die Zahl der dafür notwendigen Tiere reduziert werden konnte.

Die durchgeführten klinischen Studien mit kontrastmittelverstärktem Ultraschall haben die diagnostische Wertigkeit und Akzeptanz dieses Verfahrens weiter steigern können. Der kontrastmittelverstärkte Ultraschall kann zusätzliche relevante diagnostische Informationen darstellen und dient hierbei als wichtige komplementäre Alternative zu den bereits etablierten radiologischen Verfahren. Im besonderen Fokus stand die Anwendung des kontrastmittelverstärkten Ultraschalles an einem bisher nur wenig mittels CEUS erforschten Organ: der Gallenblase. Der kontrastmittelverstärkte Ultraschall der Gallenblase wird als zusätzliche bildgebende Technik zum konventionellen Ultraschall (US) verwendet, um un-

klare Befunde weiter zu charakterisieren, und kann ein alternatives Verfahren zur Schnittbildgebung sein. Die Vorteile der Methode liegen hierbei auf der Hand: Es handelt sich um ein nichtionisierendes Echtzeitbildgebungsverfahren mit einem hohen Sicherheitsprofil des verwendeten Kontrastmittels. Das Verfahren wird, auch dank der hier vorgestellten Studien, zunehmend in der klinischen Routine eingesetzt.

Die vorgestellten Studien und Ergebnisse zeigen und bestätigen die vorhandenen klinischen Möglichkeiten der kontrastmittelverstärkten Bildgebung in der Identifikation und Klassifikation von Perfusionscharakteristika und der Etablierung von neuen Behandlungsansätzen.

6 Abbildungsverzeichnis

- Abbildung 1:** A) Das für die Experimente verwendete Mikro-CT. B) Eine Fotografie der Kabineninnenseite zeigt die Multifokus-Röntgenquelle (S), den Detektor (D) unterhalb der Röntgenquelle sowie den Manipulatortisch mit der Rotationsachse. Die Höhe des Detektors und des Manipulators kann frei eingestellt werden, um die von SOD, SDD und ODD betroffenen Vergrößerungsstufen zu optimieren. SOD gibt den Abstand zwischen Quelle und Objekt an; SDD den Quelle-Detektor-Abstand; ODD den Objektdetektorabstand. (Abbildung aus Publikation (b))..... 12
- Abbildung 2:** Synchrotronstrahlungsbasierte digitale Subtraktionsangiographie der zervikalen und zerebralen Gefäße der Maus (seitliche Ansicht). Kidoguchi et al. (47) OA zeigt die Arteria occipitalis an; Ethmoidal A., A. ethmoidalis; VA, A. vertebralis; A. subclavia, A. subclavia; brachiocephalic A., A. brachiocephalica; PCA, A. cerebri posterior; ICA, A. carotis interna; MCA, A. carotis media; ACA, A. cerebri anterior; PPA, A. pterygopalatina; CCA, A. carotis communis; PE-50 gibt den für die Kontrastmittelinjektion verwendeten Polyethylenkatheter an. (Abbildung aus Kidoguchi K, Tamaki M, et al. In vivo X-ray angiography in the mouse brain using synchrotron radiation. Stroke. 2006;37(7):1856-61)..... 16
- Abbildung 3:** Vergleichende Analyse der Bildqualität von Mikro-CTA während intraarterieller (a) oder intravenöser (b) Kontrastmittelgabe, ToF-MRA (Time-of-Flight-MRA) (c) und DSA (d) mit intraarterieller Kontrastmittelgabe. Mikro-CTA und DSA zeigen eine höhere räumliche Auflösung als ToF-MRA bei deutlich kürzeren Erfassungszeiten. (Abbildung aus Publikation (a)).....22
- Abbildung 4:** Vergleichende Analyse der Bildqualität von Volume Rendering-Rekonstruktionen der Mikro-CTA während intraarterieller (a) und intravenöser (b) Verabreichung von Kontrastmittel und Maximum Intensity Projection (MIP), Rekonstruktionen der ToF-MRA (c). Die ToF-MRA profitiert von der höchsten CNR und zeigt keine Artefakte aus der Schädelkalotte. Damit sind die peripheren Äste der Arteria cerebri media (rot), der Arteria cerebri anterior (grün), der Arteria cerebri posterior (violett) und der A. basilaris mit der Bifurkation in die A. cerebellaris superior (gelb) optimal zu sehen. Das niedrige Kontrast-zu-Rausch-Verhältnis, das bei der Mikro-CTA bei der Kontrastmittelinjektion über die Schwanzvenen (b) auftritt, erlaubt lediglich die Identifizierung des Hauptstammes der jeweiligen Gefäße des Circulus arteriosus Willisii. (Abbildung aus Publikation (a))..... 23
- Abbildung 5:** Digitale Subtraktionsangiographie (kraniokaudale Projektionen) der intrakraniellen Gefäße einer lebenden Maus. Die hohe zeitliche und räumliche Auflösung erlaubt eine Identifizierung der retrograden Füllung der proximal ligierten A. carotis externa (ECA – external carotid artery) über den distalen und proximalen rostralen Ast der oberflächlichen Temporalarterie (STA – superficial temporal artery). Retrograder Blutfluss innerhalb der STA und eine etwas verzögerte Füllung des occipitalen Astes der STA und der A. facialis (FA – facial artery) und A. lingualis (LA – lingual artery), weiß markierte Pfeile. (ICA- internal carotid artery/A. carotis interna, OA occipital artery/A. occipitalis). (Abbildung aus Publikation (a))..... 23
- Abbildung 6:** Volumen-Rendering einer Mikro-CT-Angiographie einer C57BL/6J-Maus. A) Extrakranielle Gefäße: Die A. carotis interna (dunkelgrün) zieht in die Schädelbasis. Die Äste der A. carotis externa sind hellgrün gefärbt und kontrastieren

trotz proximaler Ligatur über extrakranielle Anastomosen. B) Sagittalansicht der A. carotis interna durch die Schädelbasis. C) kraniale Ansicht der Schädelbasis mit den intrakraniellen Arterien; eine zusätzliche Nahaufnahme zeigt die A. carotis interna durch die Schädelbasis (dunkelgrün), sowie die A. cerebri posterior (hellgrün), die A. cerebri media (hellrot) und die A. cerebri anterior (hellviolett). Darüber hinaus ist die Arteria pterygopalatina (gelb) entlang der Schädelbasis gekennzeichnet (proximaler Teil mit dünner Knochenbedeckung) und teilt sich in einen lateralen und einen medialen Zweig, der unter anderem die Blutzufuhr für das Auge bzw. die Nasenschleimhaut gewährleistet. (Abbildung aus Publikation (b)). 26

Abbildung 7: Cerebrale In-vivo-DSA der Maus (Übersichtsaufnahme einer Hemisphäre, 30 fps) nach Injektion von 30 µl Iomeprol 300 in die distal ligierte A. carotis externa (ECA). ACA (A. cerebri anterior); ICA (A. carotis interna); PCA (A. cerebri posterior); MCA (A. cerebri media); OA (A. occipitalis); PPA (A. pterygopalatina); STA (A. temporalis superficialis); LA (A. lingualis); FA (A. facialis). Weiße Pfeile zeigen den retrograden Fluss über die STA in die ligierte distale ECA und dann weiter in die FA und LA. (Abbildung aus Publikation (b))..... 27

Abbildung 8: In-vivo-DSA der intrakraniellen Gefäße von Mäusen nach Injektion von 100 µl Iomeprol (300 mg/l) innerhalb von 1 Sekunde in die V. cava. A-C zeigen Originalbilder akquiriert bei 30 fps. Im Gegensatz zur intraarteriellen Injektion über die ECA kann der gesamte Circulus arteriosus Willisii beurteilt werden. D, verbesserte Bildqualität nach Integration von 6 Einzelbildern. (Abbildung aus Publikation (b))..... 27

Abbildung 9: Mikro-CT Bilder, die den Zeitverlauf der Kontrastmittelanreicherung des Lebergewebes nach einmaliger intravenöser Injektion von 100 µl ExiTron™ nano 12000 (a – d), 100 µl ExiTron™ nano 6000 (c-h) und 400 µl Fenestra LC (i-l) demonstrieren. Bilder vor der Kontrastmittelgabe (a, e, i), nach 4 Stunden (b, f, j), nach 48 Stunden (c, g, k) und nach 16 Tage (d, h, l). Mikro-CT-Scanparameter: 80 kV, 75 mA; 40 Sekunden Scanzeit; 190° Drehung; 1200 Projektionen. (Abbildung aus Publikation (c))..... 29

Abbildung 10: Schematische Beschreibung der Herstellung eines kostengünstigen und metallfreien vaskulären Zugangs-Mini-Ports (VAMP) für Mäuse. (Abbildung aus Publikation (d))..... 31

Abbildung 11: Beurteilung der port-induzierten Artefakte bei Mäusen unter Verwendung einer MRT mit hoher Feldstärke (dedizierter Kleintierscanner bei 9,4 T; T2-gewichtete Sequenz) und Mikro-CT. Der neu entwickelte vaskuläre Mini-Port (A) zeigt keine relevanten Artefakte in der MRT oder CT-Bildgebung, während alle im Handel erhältlichen Mini-Ports (B: SoloPort MICRO, C: Microport, D: Penny MousePort) sowohl in der CT-Bildgebung als auch bei der 9,4 T MRT- Bildgebung störende Artefakte verursachen und damit die richtige Abbildung der Strukturen in Mäusen beeinträchtigen. Maßstab unter den Fotos: 1 mm. (Abbildung aus Publikation (d))..... 32

Abbildung 12: A-C antegrades Flussmuster. Die Katheterspitze (Pfeilspitze) befindet sich in der Jugularvene der Maus. Kontrastmittel fließt aus der Jugularvene in den rechten Vorhof (Pfeil) (A). Von dort füllt es die Lungen (B) und den Aortenbogen (AA) einschließlich der supraaortalen Arterien (C). Nach Kontrastmittelinjektion über den implantierten Mini-Port (eine Woche später) zeigt sich eine Okklusion der

Jugularvene (D). Stattdessen floss das Kontrastmittel (durch gestrichelte Pfeile angedeutet) über ein „leiterähnliches“ venöses Kollateralnetz (V. Azigos und paravertebrale Venen) (E) mit einiger Verzögerung und verringerter Kontrastintensität in den rechten Vorhof (Pfeil) (F). (Abbildung aus Publikation (e)). 34

Abbildung 13: Die DSA unmittelbar nach der Implantation eines Katheters zeigt eine zeitgerechte Füllung von Vena cava superior (SCV) (A) am rechten Vorhof, in Ventrikel und Lungenarterien (PA), (B) sowie Aortenbogen (AA) und supraaortalen Arterien (C). Eine Woche später war der SCV an der Stelle der Katheterspitze okkludiert (Pfeilspitze) (D) und der rückläufige Fluss (gestrichelte Pfeile) des Kontrastmittels führte zur Kontrastierung eines „leiterähnlichen perivertebralen“ cervicocollateralen Venensystems (E). Schließlich wurden die Interkostalvenen (ICV) kontrastiert und eine schwache Füllung des rechten Ventrikels und der Lunge beobachtet. Eine Woche später (G-I) ist eine vollständige Okklusion des Hauptgefäßes ersichtlich. Dies führt zu einem retrograden Fluss des Kontrastmittels entlang der Außenseite des Katheters (H und I). (Abbildung aus Publikation (e)). 35

Abbildung 14: Bilder von einer suspekten Leberläsion. In der Spätphase zeigt sich ein zunehmendes, im Vergleich zum umgebenden Lebergewebe deutliches Auswaschen der suspekten Leberläsion (gelbe Pfeile). Die Läsion erfüllt damit die klassischen Kriterien für ein hepatozelluläres Karzinom (HCC). Der Befund bestätigte sich histopathologisch nach Resektion. (Abbildung aus Publikation (f)). 37

Abbildung 15: In der kontrastmittelverstärkten Sonographie zeigt sich im Seit-zu-Seit-Modus (links CEUS, rechts natives B-Bild) in der arteriellen Anflutungsphase eine vermehrte randständige Kontrastmittelaufnahme der suspekten Leberläsion. Die zentralen Anteile sind hypoperfundiert, Zeichen von zentral nekrotischen Anteilen oder fibrotischem Umbau der Leberläsion. (Abbildung aus Publikation (f)). 37

Abbildung 16: Patient mit abdomineller Aortendissektion. Der kontrastmittelverstärkte Ultraschall zeigt eine frühe Kontrastmittelanreicherung des wahren Lumens (gelbe Pfeile) und, Sekunden später, die späte Kontrastierung des falschen Lumens (weiße Pfeile). (Abbildung aus Publikation (g)). 38

Abbildung 17: Der native B-Bild-Ultraschall stellt eine Gallenblase mit deutlich echoreichem intraluminalen Material (gelbe Pfeile) und einen Gallenstein dar (roter Pfeil). (Abbildung aus Publikation (h)). 44

Abbildung 18: Derselbe Patient wie in Abb. 17. Der Farb-Doppler-Modus zeigt „twinkling artifacts“, die auf intraluminalen Sludge hindeuten. Gallenstein (roter Pfeil). Letztlich kann ein maligner Tumor nicht sicher ausgeschlossen werden, da auch Tumorgewebe ein ähnliches Signalmuster zeigen kann. (Abbildung aus Publikation (h)). 45

Abbildung 19: Derselbe Patient wie in Abbildung 17 und 18. Der kontrastmittelverstärkte Ultraschall zeigt eine normale Vaskularisation der Gallenblasenwand (gelbe Pfeile) und keine intraluminale Kontrastmittelaufnahme. Gallenstein (roter Pfeil). Ein maligner Tumor kann mit CEUS sicher ausgeschlossen werden. (Abbildung aus Publikation (h)). 45

Abbildung 20: Gallenblasenkarzinom eines 91-jährigen Patienten. Der native B-Bild-Ultraschall (rechts) zeigt eine suspekte Formation mit irregulären Konturen,

angrenzend an die Wand. CEUS (links) zeigt eine fokale Hyperperfusion der Gallenblasenwand. Diese Formation zeigt in der venösen Phase ein pathologisches „wash-out“. (Abbildung aus Publikation (i)). 46

Abbildung 21: Patient mit Bauchschmerzen. Die farbkodierte Duplexsonographie zeigt eine reaktive inflammatorische Hypervaskularisierung der Gallenblasenwand (gelbe Pfeile). (Abbildung aus Publikation (i)). 48

Abbildung 22: Gleicher Patient wie in Abb 21. CEUS kann einen malignen Tumor der Gallenblasenwand anhand des Nachweises einer homogenen Vaskularisation ausschließen, passend zu einer Cholezystitis (gelbe Pfeile). Die Diagnose wurde nach einer Cholezystektomie histopathologisch bestätigt. (Abbildung aus Publikation (i)). 49

Abbildung 23: Der Power-Doppler zeigt eine marginale Hypervaskularisation innerhalb der verdickten Gallenblasenwand als Zeichen einer Inflammation (gelbe Pfeile). (Abbildung aus Publikation (j)) 49

Abbildung 24: Gleicher Patient wie in Abb. 23: CEUS zeigt ein inflammatorisches Vaskularisationsmuster, passend zu einer Cholezystitis (gelbe Pfeile). Es ergeben sich keine Anzeichen auf einen Tumor hinweisender pathologischer Vaskularisation. Ein maligner Tumor kann daher mit Sicherheit ausgeschlossen werden. Die Diagnose wurde histopathologisch nach einer Cholezystektomie bestätigt. (Abbildung aus Publikation (j)). 50

7 Literaturverzeichnis mit Fremdliteratur zum Thema

1. Prokop M. Multislice CT angiography. *Eur J Radiol.* 2000;36(2):86-96.
2. Kalender WA, Polacin A. Physical performance characteristics of spiral CT scanning. *Med Phys.* 1991;18(5):910-5.
3. Kalender WA, Seissler W, Klotz E, Vock P. Spiral volumetric CT with single-breath-hold technique, continuous transport, and continuous scanner rotation. *Radiology.* 1990;176(1):181-3.
4. Liang Y, Kruger RA. Dual-slice spiral versus single-slice spiral scanning: comparison of the physical performance of two computed tomography scanners. *Med Phys.* 1996;23(2):205-20.
5. Klingenbeck-Regn K, Schaller S, Flohr T, Ohnesorge B, Kopp AF, Baum U. Subsecond multi-slice computed tomography: basics and applications. *Eur J Radiol.* 1999;31(2):110-24.
6. Hu H, He HD, Foley WD, Fox SH. Four multidetector-row helical CT: image quality and volume coverage speed. *Radiology.* 2000;215(1):55-62.
7. McCollough CH, Zink FE. Performance evaluation of a multi-slice CT system. *Med Phys.* 1999;26(11):2223-30.
8. Prokop M. General principles of MDCT. *Eur J Radiol.* 2003;45 Suppl 1:S4-10.
9. Rankin SC. CT angiography. *Eur Radiol.* 1999;9(2):297-310.
10. de Figueiredo GN, Ertl-Wagner B. MDCT in Neurovascular Imaging. *Medical Radiology*2017.
11. Greschus S, Kiessling F, Lichy MP, Moll J, Mueller MM, Savai R, et al. Potential applications of flat-panel volumetric CT in morphologic and functional small animal imaging. *Neoplasia.* 2005;7(8):730-40.
12. Bag S, Schambach SJ, Boll H, Schilling L, Groden C, Brockmann MA. [Current concepts for experimental micro-CT in small animals]. *Rofo.* 2010;182(5):390-403.
13. Schambach SJ, Bag S, Schilling L, Groden C, Brockmann MA. Application of micro-CT in small animal imaging. *Methods.* 2010;50(1):2-13.
14. Ritman EL. Current status of developments and applications of micro-CT. *Annu Rev Biomed Eng.* 2011;13:531-52.
15. Paulus MJ, Gleason SS, Kennel SJ, Hunsicker PR, Johnson DK. High resolution X-ray computed tomography: an emerging tool for small animal cancer research. *Neoplasia.* 2000;2(1-2):62-70.

16. Ritman EL. Micro-computed tomography-current status and developments. *Annu Rev Biomed Eng.* 2004;6:185-208.
17. Schambach SJ, Bag S, Groden C, Schilling L, Brockmann MA. Vascular imaging in small rodents using micro-CT. *Methods.* 2010;50(1):26-35.
18. Schambach A, Swaney WP, van der Loo JC. Design and production of retro- and lentiviral vectors for gene expression in hematopoietic cells. *Methods Mol Biol.* 2009;506:191-205.
19. Badea CT, Drangova M, Holdsworth DW, Johnson GA. In vivo small-animal imaging using micro-CT and digital subtraction angiography. *Phys Med Biol.* 2008;53(19):R319-50.
20. Yaffe MJ, Rowlands JA. X-ray detectors for digital radiography. *Phys Med Biol.* 1997;42(1):1-39.
21. Figueiredo G, Boll H, Kramer M, Groden C, Brockmann MA. In vivo X-ray digital subtraction and CT angiography of the murine cerebrovasculature using an intra-arterial route of contrast injection. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2012;33(9):1702-9.
22. Paulus MJ, Gleason SS, Easterly ME, Foltz CJ. A review of high-resolution X-ray computed tomography and other imaging modalities for small animal research. *Lab Anim (NY).* 2001;30(3):36-45.
23. Beckmann N, Stirnimann R, Bochelen D. High-resolution magnetic resonance angiography of the mouse brain: application to murine focal cerebral ischemia models. *J Magn Reson.* 1999;140(2):442-50.
24. Marchal G, Michiels J, Bosmans H, Van Hecke P. Contrast-enhanced MRA of the brain. *J Comput Assist Tomogr.* 1992;16(1):25-9.
25. Grist TM. MRA of the abdominal aorta and lower extremities. *J Magn Reson Imaging.* 2000;11(1):32-43.
26. Vymazal J. CE-MRA of the aorta. *Eur Radiol.* 2004;14 Suppl 5:M28-9.
27. Bosmans H, Wilms G, Dymarkowski S, Marchal G. Basic principles of MRA. *Eur J Radiol.* 2001;38(1):2-9.
28. Yang C, Li C, Zeng M, Lu X, Li J, Wang J, et al. Non-contrast-enhanced MR angiography in the diagnosis of Budd-Chiari syndrome (BCS) compared with digital subtraction angiography (DSA): Preliminary results. *Magn Reson Imaging.* 2017;36:7-11.
29. Riederer SJ, Bernstein MA, Breen JF, Busse RF, Ehman RL, Fain SB, et al. Three-dimensional contrast-enhanced MR angiography with real-time fluoroscopic

triggering: design specifications and technical reliability in 330 patient studies. Radiology. 2000;215(2):584-93.

30. Foo TK, Saranathan M, Prince MR, Chenevert TL. Automated detection of bolus arrival and initiation of data acquisition in fast, three-dimensional, gadolinium-enhanced MR angiography. *Radiology. 1997;203(1):275-80.*
31. Earls JP, Rofsky NM, DeCorato DR, Krinsky GA, Weinreb JC. Breath-hold single-dose gadolinium-enhanced three-dimensional MR aortography: usefulness of a timing examination and MR power injector. *Radiology. 1996;201(3):705-10.*
32. Prince MR. Gadolinium-enhanced MR aortography. *Radiology. 1994;191(1):155-64.*
33. Zhang Y, Cao Y, Shih GL, Hecht EM, Prince MR. Extent of signal hyperintensity on unenhanced T1-weighted brain MR images after more than 35 administrations of linear gadolinium-based contrast agents. *Radiology. 2017;282:516–525.*
34. Brockmann MA, Kemmling A, Groden C. Current issues and perspectives in small rodent magnetic resonance imaging using clinical MRI scanners. *Methods. 2007;43(1):79-87.*
35. Buchmann F. Digital subtraction angiography (DSA): new perspectives in angiography. *Neurosurg Rev. 1985;8(1):35-40.*
36. Buzug TM, Weese J. Image registration for DSA quality enhancement. *Comput Med Imaging Graph. 1998;22(2):103-13.*
37. de Lin M, Ning L, Badea CT, Mistry NN, Qi Y, Johnson GA. A high-precision contrast injector for small animal x-ray digital subtraction angiography. *IEEE Trans Biomed Eng. 2008;55(3):1082-91.*
38. Dillo W, Brassel F, Becker H. [Possibilities and limitations of CT angiography in comparison to DSA in intracranial aneurysm]. *Rofo. 1996;165(3):227-31.*
39. Badea CT, Hedlund LW, De Lin M, Boslego Mackel JF, Johnson GA. Tumor imaging in small animals with a combined micro-CT/micro-DSA system using iodinated conventional and blood pool contrast agents. *Contrast Media Mol Imaging. 2006;1(4):153-64.*
40. Kobayashi S, Hori M, Dono K, Nagano H, Umeshita K, Nakamori S, et al. In vivo real-time microangiography of the liver in mice using synchrotron radiation. *J Hepatol. 2004;40(3):405-8.*

41. Kidoguchi K, Tamaki M, Mizobe T, Koyama J, Kondoh T, Kohmura E, et al. *In vivo X-ray angiography in the mouse brain using synchrotron radiation. Stroke.* 2006;37(7):1856-61.
42. Bauer A, Solbiati L, Weissman N. *Ultrasound imaging with SonoVue: low mechanical index real-time imaging. Acad Radiol.* 2002;9 Suppl 2:S282-4.
43. Greis C. *Technology overview: SonoVue (Bracco, Milan). Eur Radiol.* 2004;14 Suppl 8:P11-5.
44. Greis C. *Technical aspects of contrast-enhanced ultrasound (CEUS) examinations: tips and tricks. Clin Hemorheol Microcirc.* 2014;58(1):89-95.
45. Clevert DA, D'Anastasi M, Jung EM. *Contrast-enhanced ultrasound and microcirculation: efficiency through dynamics--current developments. Clin Hemorheol Microcirc.* 2013;53(1-2):171-86.
46. Dhundass S, Savatovsky J, Duron L, Fahed R, Escalard S, Obadia M, et al. *Improved detection and characterization of arterial occlusion in acute ischemic stroke using contrast enhanced MRA. J Neuroradiol.* 2019.
47. Reid M, Famuyide AO, Forkert ND, Sahand Talai A, Evans JW, Sitaram A, et al. *Accuracy and Reliability of Multiphase CTA Perfusion for Identifying Ischemic Core. Clin Neuroradiol.* 2018.
48. Hill MD, Coutts SB, Pexman JH, Demchuk AM. *CTA source images in acute stroke. Stroke.* 2003;34(4):835-7; author reply -7.
49. Wilson CD, Shankar JJ. *Diagnosing Vasospasm After Subarachnoid Hemorrhage: CTA and CTP. Can J Neurol Sci.* 2014;41(3):314-9.
50. Malinova V, Dolatowski K, Schramm P, Moerer O, Rohde V, Mielke D. *Early whole-brain CT perfusion for detection of patients at risk for delayed cerebral ischemia after subarachnoid hemorrhage. J Neurosurg.* 2016;125(1):128-36.
51. Vert C, Parra-Farinas C, Rovira A. *MR imaging in hyperacute ischemic stroke. Eur J Radiol.* 2017;96:125-32.
52. Bateman M, Slater LA, Leslie-Mazwi T, Simonsen CZ, Stuckey S, Chandra RV. *Diffusion and Perfusion MR Imaging in Acute Stroke: Clinical Utility and Potential Limitations for Treatment Selection. Top Magn Reson Imaging.* 2017;26(2):77-82.
53. Lee J, Inoue M, Mlynash M, Mann SK, Cereda CW, Ke M, et al. *MR perfusion lesions after TIA or minor stroke are associated with new infarction at 7 days. Neurology.* 2017;88(24):2254-9.
54. Mandeville ET, Ayata C, Zheng Y, Mandeville JB. *Translational MR Neuroimaging of Stroke and Recovery. Transl Stroke Res.* 2017;8(1):22-32.

55. Schambach SJ, Bag S, Steil V, Isaza C, Schilling L, Groden C, et al. Ultrafast high-resolution in vivo volume-CTA of mice cerebral vessels. *Stroke*. 2009;40(4):1444-50.
56. Figueiredo G, Brockmann C, Boll H, Heilmann M, Schambach SJ, Fiebig T, et al. Comparison of digital subtraction angiography, micro-computed tomography angiography and magnetic resonance angiography in the assessment of the cerebrovascular system in live mice. *Clin Neuroradiol*. 2012;22(1):21-8.
57. Boll H, Figueiredo G, Fiebig T, Nittka S, Doyon F, Kerl HU, et al. Comparison of Fenestra LC, ExiTron nano 6000, and ExiTron nano 12000 for micro-CT imaging of liver and spleen in mice. *Acad Radiol*. 2013;20(9):1137-43.
58. Fiebig T, Figueiredo G, Boll H, Kerl HU, Noelte IS, Forster A, et al. A Low Cost Metal-Free Vascular Access Mini-Port for Artifact Free Imaging and Repeated Injections in Mice. *PLoS One*. 2013;8(6):e65939.
59. Figueiredo G, Fiebig T, Kirschner S, Nikoubashman O, Kabelitz L, Othman A, et al. Minimally Invasive Monitoring of Chronic Central Venous Catheter Patency in Mice Using Digital Subtraction Angiography (DSA). *PLoS One*. 2015;10(6):e0130661.
60. Negrao de Figueiredo G, Muller-Peltzer K, Schwarze V, Rubenthaler J, Clevert DA. Ultrasound and contrast enhanced ultrasound imaging in the diagnosis of acute aortic pathologies. *Vasa*. 2019;48(1):17-22.
61. Negrao de Figueiredo G, Rubenthaler J, Muller-Peltzer K, Clevert DA. Detection and monitoring of postinterventional success and complications of the liver using contrast-enhanced ultrasound (CEUS) - a case report after interventional treatment of a giant hemangioma. *Med Ultrason*. 2018;20(4):536-8.
62. Negrao de Figueiredo G, Muller-Peltzer K, Rubenthaler J, Clevert DA. [CEUS-Diagnostic of malignant liver lesions]. *Radiologe*. 2018;58(6):528-37.
63. Schwarze V, Mueller-Peltzer K, Negrao de Figueiredo G, Lindner F, Rubenthaler J, Clevert DA. The use of contrast-enhanced ultrasound (CEUS) for the diagnostic evaluation of hepatic echinococcosis. *Clin Hemorheol Microcirc*. 2018;70(4):449-55.
64. Mueller-Peltzer K, Negrao de Figueiredo G, Fischereder M, Habicht A, Rubenthaler J, Clevert DA. Contrast-enhanced ultrasound (CEUS) as a new technique to characterize suspected renal transplant malignancies in renal transplant patients in comparison to standard imaging modalities. *Clin Hemorheol Microcirc*. 2018;69(1-2):69-75.

65. Rubenthaler J, Negrao de Figueiredo G, Mueller-Peltzer K, Clevert DA. Evaluation of renal lesions using contrast-enhanced ultrasound (CEUS); a 10-year retrospective European single-centre analysis. *Eur Radiol.* 2018;28(11):4542-9.
66. Badea R, Zaro R, Opincariu I, Chiorean L. Ultrasound in the examination of the gallbladder - a holistic approach: grey scale, Doppler, CEUS, elastography, and 3D. *Med Ultrason.* 2014;16(4):345-55.
67. Sparchez Z, Radu P. Role of CEUS in the diagnosis of gallbladder disease. *Med Ultrason.* 2012;14(4):326-30.
68. Negrão de Figueiredo G, Mueller-Peltzer K, Zengel P, Armbruster M, Rubenthaler J, Clevert DA. Diagnostic performance of contrast-enhanced ultrasound (CEUS) for the evaluation of gallbladder diseases1. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2018;69(1-2):83-91.
69. Negrão de Figueiredo G, Mueller-Peltzer K, Armbruster M, Rubenthaler J, Clevert DA. Contrast-enhanced ultrasound (CEUS) for the evaluation of gallbladder diseases in comparison to cross-sectional imaging modalities and histopathological results. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2019;71(2):141-9.
70. Negrão de Figueiredo G, Mueller-Peltzer K, Zengel P, Armbruster M, Rubenthaler J, Clevert DA. Contrast-enhanced ultrasound (CEUS) and gallbladder diseases - A retrospective mono-center analysis of imaging findings with histopathological correlation. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2019;71(2):151-8.
71. RL E. *Gastrointestinal radiology, a pattern approach.* 4th ed: Lippincott Williams & Wilkins; 2007.
72. Levy AD, Murakata LA, Rohrmann CA, Jr. Gallbladder carcinoma: Radiologic-pathologic correlation. *Radiographics.* 2001;21(2):295-314.
73. Sparchez Z, Radu P. Role of CEUS in the diagnosis of gallbladder disease. *Med Ultrason.* 2012;14(4):326-30.
74. WangW, FeiY, Wang F. Meta-analysis of contrast-enhanced ultrasonography for the detection of gallbladder carcinoma. *Med Ultrason.* 2016;18(3):281-28.
75. Hattori M, Inui K, Yoshino J, Miyoshi H, Okushima K, NakamuraY, et al. Usefulness of contrast-enhanced ultrasonography in the differential diagnosis of polypoid gallbladder lesions. *Nihon Shokakibyō Gakkai Zasshi.* 2007;104(6):790-8.
76. Myers RP, Shaffer EA, Beck PL. Gallbladder polyps: Epidemiology, natural history and management. *Can J Gastroenterol.* 2002;16(3):187-94.

77. Meacock LM, Sellars ME, Sidhu PS. Evaluation of gallbladder and biliary duct disease using microbubble contrastenhanced ultrasound. *Br J Radiol.* 2010;83(991):615-27.
78. Haradome H, Ichikawa T, Sou H, Yoshikawa T, Nakamura A, Araki T, et al. The pearl necklace sign: An imaging sign of adenomyomatosis of the gallbladder at MR cholangiopancreatography. *Radiology.* 2003;227(1):80-8.

8 Originalarbeiten zum Thema als Erstautor

a) **Figueiredo G**, Brockmann C, Boll H, Heilmann M, Schambach SJ, Fiebig T, et al. Comparison of digital subtraction angiography, micro-computed tomography angiography and magnetic resonance angiography in the assessment of the cerebrovascular system in live mice. *Clin Neuroradiol.* 2012;22(1):21-8. DOI: 10.1007/s00062-011-0113-2

b) **Figueiredo G**, Boll H, Kramer M, Groden C, Brockmann MA. In vivo X-ray digital subtraction and CT angiography of the murine cerebrovasculature using an intra-arterial route of contrast injection. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2012;33(9):1702-9. DOI: 10.3174/ajnr.A3071

c) **Boll H***, **Figueiredo G***, Fiebig T, Nittka S, Doyon F, Kerl HU, et al. Comparison of Fenestra LC, ExiTron nano 6000, and ExiTron nano 12000 for micro-CT imaging of liver and spleen in mice. *Acad Radiol.* 2013;20(9):1137-43. DOI: 10.1016/j.acra.2013.06.002

* both authors contributed equally

d) **Fiebig T***, **Figueiredo G***, Boll H, Kerl HU, Noelte IS, Forster A, et al. A Low Cost Metal-Free Vascular Access Mini-Port for Artifact Free Imaging and Repeated Injections in Mice. *PLoS One.* 2013;8(6):e65939. DOI: 10.1371/journal.pone.0065939

*both authors contributed equally

e) **Figueiredo G**, Fiebig T, Kirschner S, Nikoubashman O, Kabelitz L, Othman A, et al. Minimally Invasive Monitoring of Chronic Central Venous Catheter Patency in Mice Using Digital Subtraction Angiography (DSA). *PLoS One.* 2015;10(6):e0130661. DOI: 10.1371/journal.pone.0130661

f) **Negrão de Figueiredo G**, Müller-Peltzer K, Rübenthaler J, Clevert DA. [CEUS-Diagnostic of malignant liver lesions]. *Radiologe.* 2018;58(6):528-37. DOI: 10.1007/s00117-018-0386-4

g) **Negrão de Figueiredo G**, Müller-Peltzer K, Schwarze V, Rübenthaler J, Clevert DA. Ultrasound and contrast enhanced ultrasound imaging in the diagnosis of acute aortic pathologies. *Vasa.* 2019;48(1):17-22. DOI: 10.1024/0301-1526/a000758

h) **Negrão de Figueiredo G**, Müller-Peltzer K, Zengel P, Armbruster M, Rübenthaler J, Clevert DA. Diagnostic performance of contrast-enhanced ultrasound (CEUS) for the evaluation of gallbladder diseases. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2018;69(1-2):83-91. DOI: 10.3233/CH-189116

i) **Negrão de Figueiredo G**, Müller-Peltzer K, Armbruster M, Rübenthaler J, Clevert DA. Contrast-enhanced ultrasound (CEUS) for the evaluation of gallbladder diseases in comparison to cross-sectional imaging modalities and histopathological results. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2019;71(2):141-9. DOI: 10.3233/CH-189404

j) **Negrão de Figueiredo G**, Müller-Peltzer K, Zengel P, Armbruster M, Rübenthaler J, Clevert DA. Contrast-enhanced ultrasound (CEUS) and gallbladder diseases - A retrospective mono-center analysis of imaging findings with histopathological cor-

relation. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2019;71(2):151-8. DOI: 10.3233/CH-189405

k) **de Figueiredo GN**, Ertl-Wagner B. MDCT in Neurovascular Imaging. *Medical Radiology*2017.

l) **Negrão de Figueiredo G**, Rübenthaler J, Müller-Peltzer K, Clevert DA. Detection and monitoring of postinterventional success and complications of the liver using contrast-enhanced ultrasound (CEUS) - a case report after interventional treatment of a giant hemangioma. *Med Ultrason.* 2018;20(4):536-8. DOI: 10.11152/mu-1553

9 Originalarbeiten zum Thema als Koautor

m) Schwarze V, Müller-Peltzer K, **Negrão de Figueiredo G**, Lindner F, Rübenthaler J, Clevert DA. The use of contrast-enhanced ultrasound (CEUS) for the diagnostic evaluation of hepatic echinococcosis. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2018;70(4):449-55. DOI: 10.3233/CH-189310

n) Müller-Peltzer K, **Negrão de Figueiredo G**, Fischereder M, Habicht A, Rübenthaler J, Clevert DA. Contrast-enhanced ultrasound (CEUS) as a new technique to characterize suspected renal transplant malignancies in renal transplant patients in comparison to standard imaging modalities. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2018;69(1-2):69-75. DOI: 10.3233/CH-189114

o) Rübenthaler J, **Negrão de Figueiredo G**, Müller-Peltzer K, Clevert DA. Evaluation of renal lesions using contrast-enhanced ultrasound (CEUS); a 10-year retrospective European single-centre analysis. *Eur Radiol.* 2018;28(11):4542-9. DOI: 10.1007/s00330-018-5504-1

10 Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Dr. h.c. Maximilian F. Reiser für seine großartige Unterstützung sowie für die einzigartige Gelegenheit am Institut für Klinische Radiologie arbeiten zu dürfen.

Ich möchte mich ebenso bei Herrn Prof. Dr. Dirk-André Clevert für die uneingeschränkte Unterstützung des Habilitationsprojektes an der Klinik und Poliklinik für Radiologie der LMU München bedanken.

Weiterhin möchte ich meinen Kollegen Herrn Prof. Dr. Marc Brockmann für die intensive und ausgezeichnete langjährige wissenschaftliche Zusammenarbeit danken.

Darüber hinaus möchte ich mich auch bei Herrn PD Dr. Johannes Rübenthaler bedanken, der mich im Rahmen meines Habilitationsprojektes stets unterstützt hat. Vielen Dank für die erfolgreiche wissenschaftliche Zusammenarbeit sowie für die Gesprächsbereitschaft und die fruchtbaren Diskussionen.

Frau Dr. Katharina Müller-Peltzer und der Forschungsgruppe der Klinik und Poliklinik für Radiologie der LMU sowie der Neuroradiologie des Universitätsklinikums Mannheim und Aachen sowie allen beteiligten klinischen Partnern gilt mein Dank für die hervorragende Zusammenarbeit.

Nicht zuletzt danke ich meiner Familie und meinem Ehemann Dr. Benjamin Miller für die immerwährende Geduld und Unterstützung in all den Jahren.