

Aus der Klinik für Radiologie und Nuklearmedizin
der Medizinischen Fakultät
der Otto-von-Guericke Universität Magdeburg

**Leberfett- und Lebereisenkonzentrationsbestimmung mittels
multiparametrischer Magnetresonanztomografie**

D i s s e r t a t i o n

zur Erlangung des Doktorgrades

Dr. rer. medic.

(doctor rerum medicarum)

an der Medizinischen Fakultät

der Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg

Vorgelegt von: Sebastian Hupfeld

aus: Magdeburg

Magdeburg 2021

Bibliographische Beschreibung:

Hupfeld, Sebastian: Leberfett- und Lebereisenkonzentrationsbestimmung mittels multiparametrischer Magnetresonanztomografie. - 2021. - 105 Bl. 42 Abb., 5 Tab., 3 Anl.

Kurzreferat

Die Fettleber ist weit verbreitet und gilt als Bestandteil des metabolische Syndroms als entscheidender Risikofaktor für koronare Herzkrankheiten und Arteriosklerose. Eine Eisenspeicherkrankheit hingegen ist selten und kann zur Herzinsuffizienz und zur Ausbildung eines hepatozellulären Karzinoms führen. Voraussetzung für eine erfolgreiche Therapie ist die frühzeitige, niederschwellige Diagnose. Die mittels quantitativer Magnetresonanztomografie (MRT) ermöglichte nichtinvasive Leberfett- und eisenkonzentrationsquantifizierung ist seit kurzem kommerziell verfügbar (Siemens LiverLab und Philips LiverHealth) und wurde in dieser Arbeit untersucht. 28 Patienten unterzogen sich Untersuchungen an 1,5 T- und 3 T-MRTs. Ermittelte Fettanteile und Relaxationskonstanten wurden mit histologisch und laborchemisch bestimmten Fettanteilen und Lebereisenkonzentration als Referenz korreliert. Neben den kommerziell verfügbaren Lösungen wurde Eigenimplementierung angewandt und verglichen. Die Praktikabilität im klinischen Arbeitsablauf wurde mit quantitativen Methoden geprüft. Die Ergebnisse der kommerziellen Lösungen zeigen eine hohe Übereinstimmung mit dem bioptisch ermittelten Verfettungsgrad der Hepatozyten und eine sehr hohe Übereinstimmung sowohl untereinander als auch mit der Eigenimplementierung. Das bedeutet, dass bereits klinisch verfügbare IP/OP-Bilder zur Ermittlung des Leberfettanteils genutzt werden können, wenn eine Siderose zuvor ausgeschlossen wurde. Die Spektroskopiemessung erwies sich nicht als zuverlässig. Die automatische Segmentierung muss sowohl in LiverLab als auch in LiverHealth in kritischen Regionen verbessert werden. LiverLab ermöglicht eine gute Integration in vorhandene Arbeitsabläufe, ist jedoch unflexibel. LiverHealth lässt sich flexibel anwenden, integriert sich allerdings schwer in den klinischen Alltag. Beide Lösungen haben das Potential, mit konsequenter Weiterentwicklung den bisherigen Goldstandard abzulösen.

Schlüsselwörter

Magnetresonanztomografie, Hereditäre Hämochromatose, Siderose, Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD), Lebereisenkonzentration, Relaxometrie, Fettleber

Inhaltsverzeichnis

1. Einführung	1
1.1. Leber und Hepatopathien	1
1.2. Verfettung der Leber (Steatose)	2
1.3. Eisenspeicherkrankheit (Siderose)	3
1.4. Diagnostik in der MRT	6
1.5. Übergeordnete Fragestellung der vorliegenden Arbeit	7
2. Material und Methoden	9
2.1. Grundlagen der MRT-basierten Fett- und Eisenbestimmung	9
2.2. Dynamik der Magnetisierung, Echobildung	11
2.3. Quantitative Magnetresonanztomografie (MRT)	12
2.4. MRT-Untersuchung und Auswertung	20
2.5. Biopsieentnahme und Histopathologie	26
2.6. Statistische Methodik	29
3. Ergebnisse	34
3.1. Form der Berichterstellung durch die Softwarelösungen.	34
3.2. Fettquantifizierung	35
3.3. Eisenquantifizierung	42
3.4. Segmentierungsqualität	51
3.5. Fallbeispiele	53
4. Diskussion	57
4.1. Bisherige Arbeiten zur Evaluation von LiverLab und LiverHealth	57
4.2. Fettquantifikation	58
4.3. Relaxometrie und Eisenquantifizierung	63
4.4. Segmentierungsqualität	66
4.5. Weitere Aspekte der Messung und Auswertung	67
4.6. Vor- und Nachteile der parametrischen Leberbildgebung gegenüber der Biopsie	69
4.7. Ausblick	70
5. Zusammenfassung	71
Literatur	72
A. Ergänzende Ergebnisse	86
B. Bildschirmfotos der Softwarelösungen	87
C. SOP zur Wägung der Mikroreaktionsgefäße	92

Abkürzungsverzeichnis

AASLD	American Association for the Study of Liver Diseases	5
CAIPIRINHA	Controlled Aliasing in Parallel Imaging Results in Higher Acceleration	21
CSI	Chemical Shift Imaging	14
CT	Computertomographie	3
CRN	Clinical Research Network	29
Dixon₂	2-Punkt-Dixon-Eigenimplementierung	23
Dixon₃	3-Punkt-Dixon-Eigenimplementierung	24
DICOM	Digital Imaging and Communications in Medicine	20
FDA	Food and Drug Administration	17
FF	Fat Fraction bzw. Fettanteil	12
FLD	Fatty Liver Disease bzw. <i>steatosis hepatis</i>	2
FoV	Field of View bzw. Sichtfeld	16
Gd-EOB-DTPA	Gadolinium-Ethoxybenzyl-Diethylentriaminpentaessigsäure	6
GRAPPA	GeneRalized Autocalibrating Partial Parallel Acquisition	21
GUI	Graphical User Interface	23
HF	Hochfrequenzfeld	9
HFE	High Fe, hereditäres-Hämochromatose-Protein	22
HFE-HC	HFE-Hämochromatose	5
HCC	<i>Carcinoma hepatocellulare</i> bzw. hepatozelluläres Karzinom	7
HHC	Hereditäre Hämochromatose	4
IP	In-Phase	7
IP-OP	In- und Oppose-Phase-Bildgebung mit zwei Echozeiten	7
ICP-MS	Inductively coupled plasma mass spectrometry bzw. Massenspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma	28
ISP	Intellispace Portal	22
MRG	Mikroreaktionsgefäß	26
MRS	Magnetresonanzspektroskopie	13
MPR	Multi-planare Rekonstruktion	24
MR	Magnetresonanz	30
MRT	Magnetresonanztomografie	6
MTRA	Medizinisch-Technischer Radiologieassistent	68
NAFLD	Non-alcoholic fatty liver disease, nichtalkoholbedingte Fettleber	

NASH	Non-alcoholic steatohepatitis bzw. nichtalkoholbedingte Entzündung der Leber	2
NIDDK	National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases . .	5
OP	Oppose-Phase	7
KM	Kontrastmittel	6
LIC	Liver Iron Concentration bzw. Lebereisenkonzentration	4
PACS	Picture Archiving and Communication System	20
ROI	Region of Interest bzw. ein Bereich von Interesse	12
SIR	Signal Intensity Ratio	15
SNR	Signal-to-noise ratio bzw. Signal-zu-Rausch-Verhältnis	16
SENSE	Sensitivity Encoding, eine Beschleunigungstechnik unter Nutzung paralleler Bildgebung	22
SQUID	Superconducting Quantum Interference Device bzw. supraleitende Quanteninterferenzeinheit	6
SOP	Standard Operating Procedure bzw. einheitliches Betriebsverfahren .	27
VS	Voxel size bzw. Voxelgröße	22

1. Einführung

1.1. Leber und Hepatopathien

Die Leber (*Hepar*) ist die größte Drüse im menschlichen Körper und stellt zentrale Funktionen bereit, wozu die Synthese wichtiger Proteine, die Gluconeogenese und die Produktion der Galle gehören. Im enterohepatischen Kreislauf (siehe Bild 1) werden Stoffwechselprodukte, Arzneimittelstoffe und Gifte abgebaut. Des Weiteren erfüllt die Leber Aufgaben zur Speicherung von Glucose in Form von Glykogen und Fett.

Anatomie. Die gesunde Leber ist ein Organ im rechten Oberbauch mit weicher Konsistenz, fester Bindegewebskapsel und rötlich-brauner Färbung. Etwa zwei Drittel der Gesamtmasse von durchschnittlich etwa 1,2 kg (Frauen) bzw. 1,5 kg (Männer) der Leber ist durch die parenchymatösen Zellen gegeben; etwa ein Drittel der Masse machen nichtparenchymatöse (sinusoidale) Zellen aus. Zu letzterer Gruppe zählen Lebermakrophagen (Kupffer-Sternzellen), Fettspeicherzellen (Ito-Zellen) und weitere Zelltypen [24].

Die Blutversorgung der Leber ist entgegen der anderer Organe eingeteilt in einen Zufluss von etwa 25 % bis 33 % über die sauerstoffreiche Leberarterie (*Arteria hepatica propria*) und zu etwa 66 % bis 76 % über die Pfortader (auch Portalvene, *Vena porta hepatis*), die nährstoffreiches Blut vom Darm kommend zur Verfügung stellt. Die von der Leber produzierte Galle gelangt über Kanälchen (*Canaliculi*) und Gallenwege in die Gallenblase und zu den Mahlzeiten in das Duodenum.

Die Leber besteht aus einem rechten und linken Leberlappen, wobei die Unterteilung entlang der Rex-Cantlie-Linie erfolgt, die senkrecht von Gallenblase bis zur unteren Hohlvene verläuft. Sie kann weiter in vier Sektoren eingeteilt werden, die sich nach den Versorgungsarmen der Pfortader richten. Diese können wiederum weiter in acht craniale und caudale Segmente eingeteilt werden, wenn man die Sektoren auf Höhe der Pfortader unterteilt [94].

Hepatopathien. Es gibt eine Vielzahl an Krankheiten und Traumata der Leber. Die häufigsten Krankheiten sind Verfettungen (Steatose), woraus Entzündungen (Hepatitis) und übermäßiges Bindegewebe (Fibrose bzw. Zirrhose) im späteren Krankheitsverlauf hervorgehen. Zu den seltener auftretenden Krankheiten zählt die Eisenspeicherkrankheit (mit mehreren Ursachen, u.a. die Hämochromatose). Die durch diese Krankheiten bedingten Parenchymveränderungen erhöhen das Risiko für die Ausbildung eines hepatozellulären Karzinoms (*carcinoma hepatocellulare*, HCC) [24]. Unabhängig von der konkreten Ursache führt ein Leberversagen zum Ausfall der genannten Funktionen. Die Folgen reichen von Gelbsucht (Ikterus), plasmatischer Gerinnungsstörung (Koagulopathie) und Störungen der Blutgerinnung sowie, im fortgeschrittenen Stadium, zu einem hepatorenalen Syndrom und einer begleitenden Bewusstseinsstörung (Enzephalopathie). Ohne Wiederherstellung der Leberfunktionen führt das Versagen zum Tod. [51]

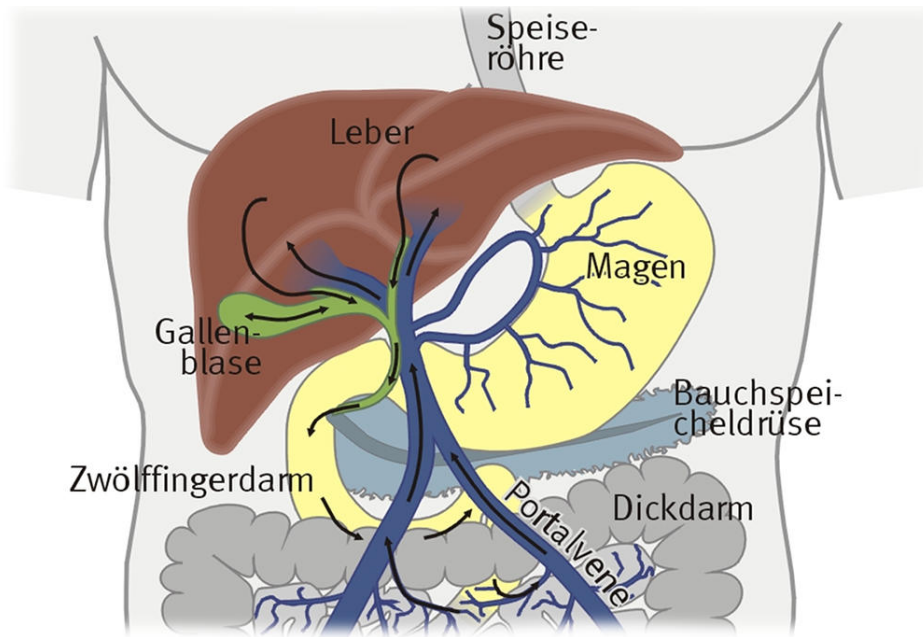


Bild 1: Im enterohepatischen Kreislauf nimmt die Leber über die Portalvene die im Darm resorbierten Stoffe auf und führt mittels Galleproduktion einen Teil hiervon wieder in das Duodenum zurück. [1]

1.2. Verfettung der Leber (Steatose)

Definition und Klinik. Eine der zentralen Aufgaben der Leber besteht in der reversiblen Einlagerung von Triglyceriden in Fettvakuolen in den Hepatozyten, bevor diese weiter im Körper verstoffwechselt werden können. Häufigste Ursache für den Bedarf an dieser Einlagerung liegt der akuten Hyperalimentation – hier dient die Leber als vorübergehender Fettspeicher. Allerdings können insbesondere eine stetige, erhöhte Energiezufuhr, seltener aber auch genetisch bedingte Stoffwechselstörungen, Diabetes mellitus, ein Alkoholabusus und weitere Einflüsse zu einer chronischen Überlastung der Fettspeicherfunktion (Steatose) führen. [18, S. 1260–1262] Während der Fettanteil der Leber bei gesunden Menschen bei etwa 5 % liegt, kann bei Vorliegen einer Steatose bis zu 50 % betragen [84, S. 491].

Die Fatty Liver Disease bzw. *steatosis hepatis* (FLD) lässt sich in eine die alkoholbedingte und die nichtalkoholbedingte (NAFLD) Fettleber einteilen. Als Bestandteil des metabolischen Syndroms ist sie neben bestehender Insulinresistenz, Adipositas und Bluthochdruck ein entscheidender Risikofaktor zur späteren Ausbildung der koronaren Herzkrankheit und Arteriosklerose. Hiervon ist vor allem die Bevölkerung in den Industriestaaten betroffen [14]. Insbesondere in der Region Sachsen-Anhalt beträgt die mittlere Prävalenz des metabolischen Syndroms 24,7 % bei Männern bzw. 23,2 % bei Frauen [73]. Die akute Steatose ist vollständig reversibel. Erst die chronische Überladung der Leber mit einem hohen Fettanteil führt zu einer Hepatitis, also zu kontinuierlichen Entzündungsreaktionen. Die Non-alcoholic steatohepatitis bzw. nichtalkoholbedingte Entzündung der Leber (NASH) wiederum kann zur Fibrosierung, d.h. eine chronische, größtenteils reversible Bindegewebsvermehrung, führen. Mit fortschreitender Fibrose kann die Reversibilität nicht mehr aufrecht erhalten werden, so dass es zur

1. Einführung

Zirrhose kommt [18]. Kontrollierte Studien finden in Patienten mit diagnostizierter NAFLD eine signifikant erhöhte Sterblichkeit, allerdings nur, wenn mit ihr eine Vernarbung, d.h. eine Fibrose einhergeht (siehe hierzu Bild 2).

Diagnostik. Die frühzeitige Diagnose und Feststellung des Schweregrades der FLD ist von hoher Bedeutung, um patientenspezifisch angepasste Therapien bzw. eine angepasste Lebensweise einzuleiten. Eine Möglichkeit zur Diagnose einer FLD ist die Sonografie, bei der die Echogenität der Leber mit der Niere verglichen wird. Die fetthaltige Leber ist hier echogener als die Niere [86]. Auch in der Computertomographie (CT) lässt sich eine fortgeschrittene FLD feststellen: Hier wird von einer FLD gesprochen, sollte das Leberparenchym Dichtewerte von 10 Hounsfield-Einheiten oder mehr unterhalb derer der Milz aufweisen. Beide Modalitäten weisen hohe Spezifitäten von über 95 % auf, liegen jedoch bei der Sensitivität zurück (CT nativ: 43 %, Sonografie: 60 %) [22]. In beiden Modalitäten ist eine Einteilung des Schweregrades der FLD schwierig. Der Goldstandard für eine Bestätigung einer FLD ist die invasive Biopsie mit folgender histologischer kritischer Stellungnahme [20]. Zusätzlich lassen sich gleichzeitig eine Entzündung (Steatohepatitis) sowie eine Zirrhose feststellen. Ein Nachteil der Biopsie ist der erhebliche Sampling-Error, der durch das Volumenverhältnis der Probe zur Gesamtleber von über 50.000 bis zu 1.000.000 beträgt. In Arbeiten hierzu wurden Diskordanzen im NASH-Staging von 1 oder mehr in über 40 % der Patienten festgestellt [81]. Eine Biopsie geht des Weiteren als invasive Methode mit Risiken für Blutungen und Komplikationen einher [77].

Therapie. Die Wahl der Therapie ist ursachenorientiert und frühzeitig anzusetzen. Im Falle von Adipositas ist in der Regel ein einschneidender Wandel in der Lebensweise notwendig. Hierzu gehören eine minderkalorische Diät in Verbindung mit mehr Bewegung, um mittels einer negativen Energiebilanz die Fettspeicher im gesamten Körper zu leeren und eine Insulinresistenz, soweit möglich, abzubauen. Ein wirksames Pharmakon zur Behandlung der NAFLD ist derzeit nicht verfügbar [20]. Bei toxisch bedingten Verfettungen wie beispielsweise Alkoholabusus und Abhängigkeit von anderen Substanzen besteht die vordergründige Therapie in der Bekämpfung des Abhängigkeitssyndroms. Bei ausschließlich hereditären Ursachen steht die Veränderung der Lebensweise hingegen im Hintergrund. Hier muss auf die konkrete ursächliche Erkrankung eingegangen werden. In jedem Fall ist eine frühzeitige Diagnose der NAFLD für die Prognose des Patienten entscheidend.

1.3. Eisenspeicherkrankheit (Siderose)

Definition und Klinik. Der menschliche Körper nimmt in der üblichen Diät etwa 10 bis 20 mg/d an Eisen auf, wovon nur 1 mg/d bis 2 mg/d im Duodenum absorbiert werden. Es liegt ein Eisenspeicher von etwa $m_{\text{Fe}} = 4 \text{ g}$ vor, wovon im Transferrin-Kreislauf etwa 1800 mg in den Erythrozyten, 600 mg in der Milz und 300 mg im Knochenmark vorliegen. Hinzu kommen Einlagerungen im Gewebe von Muskeln und der Leber. Da die Menge eingespeicherten Eisens ohne Abnormitäten konstant ist, ist der Verlust an Eisen ähnlich groß wie die Absorption [8]. Die überhöhte Eisenspeicherung wird als Siderose bezeichnet. Sie lässt sich in die primäre und

1. Einführung

sekundäre Siderose unterteilen.

Die Hereditäre Hämochromatose (HHC) als primäre Eisenüberladung ist die häufigste Ursache für eine Siderose und hat ihre Ursache in einer autosomal-rezessiv vererbten Mutation des HFE-Gens [31]. Neben dieser klassischen Form, die in über 90 % der Fälle einer HHC vorliegt, gibt es mehrere seltene hereditäre Formen [79].

Sekundäre Eisenüberladungen treten bei einer chronisch erhöhten Speicherung von Eisen im Körper aufgrund zu hoher Zufuhr auf. Die Ursachen sind hierbei vielfältig. Beispielsweise erfordern Thalassämie, Sichelzellanämie und weitere Hämopathien regelmäßige Bluttransfusionen, welche Eisenüberschüsse im Gewebe verschiedener Organe hervorrufen [95]. Bei Alkoholikern fand man eine erhöhte Liver Iron Concentration bzw. Lebereisenkonzentration (LIC) gegenüber einer Kontrollgruppe, allerdings nicht in demselben Maße wie in Patienten mit HHC [15]. Bei Alkoholikern mit HHC jedoch steigert der regelmäßige Alkoholgenuß den Grad der Siderose [36]. Die Ursache hierfür ist derzeit noch unklar. Letztlich können alle äußerlich bedingten, dauerhaften Zuführungen von Eisen (beispielsweise mittels Eisenpräparaten) in entsprechender Dosierung zu einer Siderose führen.

Als klinische Befunde liegen in 75 % der Fälle eine Hepatomegalie und in 70 % eine rötliche Hautpigmentierung vor. Die Patienten mit Symptomen klagen über Müdigkeit und Gelenkschmerz in etwa der Hälfte der Fälle. Weitere Symptome reichen bis zum Verlust der Libido (28%) und diffusen Bauchschmerzen. Die durchschnittliche Dauer zwischen dem Auftreten erster Symptome und der Diagnose einer Siderose wurde mit zehn Jahren berichtet [69]. Die überhöhte Eisenspeicherung führt zu weitreichenden Veränderungen: Eine Siderose bewirkt Organschädigungen, insbesondere in der Leber, im Pankreas, im Herzen, in Gelenken, in der Milz und in der Haut. Abhängig vom betroffenen Organ unterscheiden sich die Symptome. Beispielsweise kann eine Siderose der Inselzellen der Pankreas endokrine Funktionsstörungen verursachen. Der Pankreasdiabetes ist zu 6,3 % durch eine HHC bedingt [59, 78]. Eine fortgeschrittene Myokardsiderose erhöht das Risiko einer Kardiomyopathie, Herzrhythmusstörungen und einer Herzinsuffizienz [40]. Eine dauerhafte Siderose der Leber verursacht Entzündungsreaktionen und erhöht das Risiko für fortschreitende Fibrose, daraus folgender Zirrhose und führt im schwersten Fall zum Ausbilden eines Leberzellkarzinoms.

In der Leber lassen sich im vergleichsweise frühen Stadium bereits abnorme Eisenkonzentrationen nachweisen, was die Bedeutung der LIC als Prognosewert hervorhebt [9]. Eine klinisch relevante Myokardsiderose ist beispielsweise in einer Studie bei lediglich einem von 19 Patienten mit einer LIC von weniger als $350 \mu\text{mol/g}$ aufgetreten [56, 11]. Die HHC weist eine Prävalenz von 2 bis 5 von 1000 auf [33], wovon jedoch nicht alle Betroffenen eine Siderose und Organschädigung entwickeln: Dies betrifft insbesondere Männer in 28,4% der Fälle im Vergleich zu lediglich 1,2% bei Frauen [2], was mit der Monatsblutung zusammenhängt. Niederau *et al.* fanden bei Patienten mit HHC eine gegenüber der allgemeinen Bevölkerung eine erhöhte Sterblichkeit (siehe hierzu Bild 2). Diese lässt sich allerdings nur bei Patienten mit folgender Fibrose bestätigen. Deshalb und wegen des Umstands, dass der menschliche Körper nach derzeitiger Kenntnis über keinen Mechanismus zur aktiven Ausscheidung überschüssigen Eisens verfügt, betonen die Autoren, dass eine frühe Diagnose und dem Grad der Siderose

1. Einführung

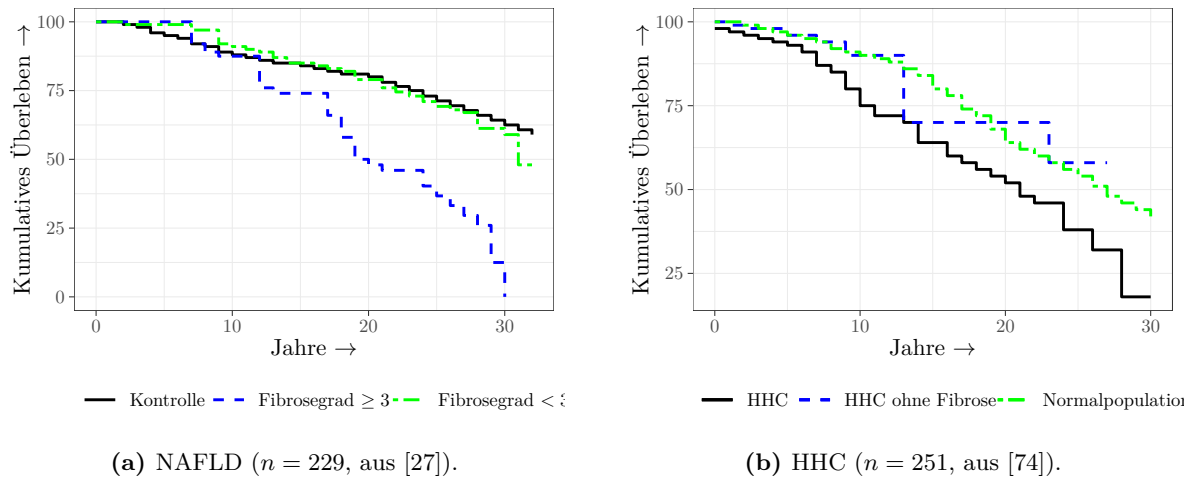


Bild 2: Vergleich des kumulativen Überlebens von Patienten mit diagnostizierter NAFLD bzw. HHC mit einer alters- und geschlechts-angepassten Normalpopulation bzw. Kontrollgruppe.

entsprechende Therapie das Überleben entscheidend beeinflusst [52, 74].

Diagnostik. Bereits 2003 stellte das National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases (NIDDK) fest, dass ein klarer klinischer Bedarf für quantitative, nichtinvasive, sichere und präzise Bestimmung von Eisenkonzentrationen im Körper vorliegt [9]. Die American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD) empfahl im Jahr 2011, dass Patienten mit abnormer LIC auch ohne Anwesenheit von Symptomen eine Diagnostik analog zu solcher mit bestätigter Hämochromatose bekommen. Des Weiteren empfehlen sie, dass alle Patienten mit Leberkrankheiten auf Hämochromatose getestet werden sollten, ebenso alle Verwandten ersten Grades von Patienten mit hereditärer Hämochromatose [3]. Während die Ursache für die HFE-Hämochromatose (HFE-HC) über eine Genanalyse für die Punktmutation $C282Y$ erfolgt, lässt sich die Diagnose der ausgebildeten Krankheit erst durch eine Feststellung von erhöhter Eiseneinlagerung im Körper stellen. Ein Hilfsmittel zur Diagnose ist der Parameter Ferritin im Blutbild ($> 300 \text{ ng/mL}$). Die Transferrinsättigung soll nicht als Surrogat für eine erhöhte Eisenspeicherung herangezogen werden. Der Nachweis einer durch die HFE-HC bedingten Eisenüberladung durch Serumferritin ist von hoher Sensitivität, allerdings geringer Spezifität, so dass Bedarf für den Ausschluss anderer Ursachen für einen erhöhten Wert besteht. Des Weiteren spiegelt der Ferritinwert keine Gewebekonzentrationen in eventuell belasteten Organen wider. Als erstes kommt hier die Diagnostik in der Leber über den LIC-Wert in Frage, da sie den höchsten Prognosewert hat.

Die Erfassung der LIC erfolgt mittels mehrerer Methoden mit anschließender quantitativer Auswertung. Eine Möglichkeit besteht in einer invasiven Leberbiopsie mit kritischer Stellungnahme und gleichzeitiger quantitativer Messung der Eisenkonzentration, wobei auch eine eventuell vorliegende Entzündung oder Fibrose des Gewebes festgestellt werden kann. Michael Barry setzte 1971 einen biopsiegestützten Goldstandard für die Quantifizierung der LIC [4]. Er fand, dass die Ergebnisse seiner Methodik in hoher Übereinstimmung mit der Konzentration

1. Einführung

des chelatierten Eisens im Urin nach einer Chelattherapie sind. Die LIC nach Barry wird immer auf die Trockenmasse der Biopsieprobe normiert. Der Trockenmasse-bezogene Eisengehalt beträgt in gesunden Erwachsenen etwa 1 mg/g , kann in Patienten mit HHC 10 mg/g überschreiten und Werte von 22 mg/g sind direkt mit Fibrose und Zirrhose assoziiert [64, S. 908].

Eine weitere Möglichkeit besteht in der Nutzung eines Superconducting Quantum Interference Device bzw. supraleitende Quanteninterferenzeinheit (SQUID). Diese Sensoren können extrem geringe Magnetfeldänderungen mittels eines supraleitenden Ringes messen, womit sich eine Suszeptibilitätsänderung proportional zum Eisengehalt in der Leber nichtinvasiv feststellen lässt. Auch wenn eine Validierung des Messverfahrens gelungen ist, wird es sich in der klinischen Routine kaum durchsetzen, da es sehr gering verfügbar und sehr teuer ist. Einen Nachteil hat diese Technik mit der im folgenden Abschnitt behandelten Biopsie gemein: Die SQUID verfügt nicht über eine Möglichkeit der Bildgebung und kann lediglich den oberflächennahen Teil der Leber berücksichtigen, hat also einen Sampling Error. Durch die wesentlich höhere Verfügbarkeit und weiterer Vorteile (s. Abschnitt 1.4) wird die Magnetresonanztomografie (MRT) als vielversprechende Alternative gesehen [31].

Therapie. Eine *frühzeitige* Diagnose einer Siderose kann in der Regel mittels Aderlasstherapie (Phlebotomie) und einer entsprechenden Diät wirksam behandelt werden. Hierbei ist eine auftretende Fibrose teils reversibel [32]. Eine Unterstützung bei der Behandlung zeigt die Verabreichung von Protonenpumpenblockern [96], so dass weniger Aderlässe nötig sind. Unter Phlebotomie ließ sich das 5-Jahresüberleben von Patienten mit diagnostizierter HHC von 48 % auf 93 % und das 10-Jahresüberleben von 32 % auf 78 % anheben [72]. Bei komplizierten Fällen wie einer exzessiven Siderose mit gleichzeitig kontraindizierter Aderlasstherapie (beispielsweise durch Herzinsuffizienz) ist ein Ausweg eine Chelat-Therapie.

1.4. Diagnostik in der MRT

Die MRT ist ein etabliertes Verfahren und wird mit ihrem hohem Weichteilkontrast zur Abklärung von Lebertumoren und weiteren pathologischen Veränderungen der Leber eingesetzt. Üblich sind dabei sogenannte T_1 - und T_2 -gewichtete Kontraste in den Bildern, wobei der Kontrast von den Gewebeeigenschaften, dem Timing und weiteren Parametern der Akquisition abhängt. Kontrastmittel (KM) enthalten in der Regel chelatiertes Gadolinium und verkürzen die T_1 -Zeit, was auf T_1 -gewichteten Bildern zu einer hyperintensiven Darstellung führt. Sie werden eingesetzt, um die Dynamik des Blutflusses und Anreicherungen des KM darzustellen. Sie arbeiten dabei allgemein auf extrazellulärer Basis. Daher werden sie nicht verstoffwechselt und besitzen keine Gewebespezifität. Neben diesen gibt es für spezifische Gewebearten entwickelte KM. Ein Vertreter dieser Gruppe ist Gadolinium-Ethoxybenzyl-Diethylentriaminpentaessigsäure (Gd-EOB-DTPA). Es ist durch den Ethoxybenzylrest im Molekül hepatozytengängig und wird daher insbesondere in der Leberdiagnostik eingesetzt. Gd-EOB-DTPA wird zu etwa der Hälfte aktiv über Gallentransporte und das biliäre System, zur anderen Hälfte über die Nieren ausgeschieden. Das gegenüber dem hyperintens zur Geltung kommende Leberparenchym hypointense Tumorgewebe erlaubt eine Detektion auch kleiner Läsionen. Die dynamische

Darstellung des KM-Flusses innerhalb einer Läsion ermöglicht eine Differentialdiagnose bzgl. der Malignität. Eine inhomogene Anreicherung im Parenchym oder die eingeschränkte bzw. ausbleibende Darstellung der Gallenwege erlaubt weiter die Einschätzung der Leberfunktion [19].

Die MRT soll im Gegensatz zu den zuvor vorgestellten Methoden die Fett- und Eisenbestimmung im Leberparenchym ermöglichen. In der klinischen Praxis wird üblicherweise eine In- und Oppose-Phase-Bildgebung mit zwei Echozeiten (IP-OP) durchgeführt. Bekannt ist, dass eine Mehrspeicherung von Fett im Leberparenchym in der Oppose-Phase-Bildgebung (OP) zu einem Signalabfall führt, während die Signalintensität In-Phase (IP) unbeeinflusst bleibt. Erhöhte Eisenkonzentrationen führen hingegen bei Messungen sowohl IP als auch Oppose-Phase (OP) zu einem Signalabfall. Beide Effekte lassen eine Quantifizierung mittels parametrischer Bildgebung zu, was die nichtinvasive Diagnostik ohne Sampling Error und mit feinteiliger Feststellung des Schweregrades erlaubt.

Diese Messmethoden sind bereits seit drei Jahrzehnten Gegenstand intensiver Forschung [41, 30]. Die zugrunde liegenden Messprinzipien werden im Kapitel 2 erläutert. Neu hingegen ist jedoch die Möglichkeit, zertifizierte Produkte von den MRT-Herstellern zu erwerben und am Patienten ohne Einschluss in eine Studie nutzen zu können. Gegenstand dieser Arbeit ist daher die Evaluation von zwei kommerziell verfügbaren Lösungen: Die MR-Bildgebungssequenz *qDIXON* in Verbindung mit dem Auswertungspaket *LiverLab* vom Hersteller Siemens Healthcare (Erlangen, Deutschland) sowie die Sequenz *mDIXON-Quant* in Verbindung mit dem Auswertungspaket *LiverHealth* vom Hersteller Philips Healthcare (Best, Niederlande).

1.5. Übergeordnete Fragestellung der vorliegenden Arbeit

Die Diagnose einer Steatose oder Siderose der Leber hat bedeutende klinische Konsequenzen, wozu unter ausbleibender Therapie eine Fibrosierung mit potentieller Zirrhose und zu einem erhöhten Risiko für die Entwicklung eines *Carcinoma hepatocellulare* bzw. hepatozelluläres Karzinom (HCC) zählen. In beiden Fällen ist eine frühe Diagnose der Krankheiten daher für den Patienten von entscheidender Bedeutung. Die Diagnose und die Kontrolle eines Therapieerfolgs beider Krankheitsbilder soll durch neue, kommerziell verfügbare Medizinprodukte in der MRT möglich sein.

Ziel dieser Arbeit ist deshalb nachzuweisen, dass die Softwarelösungen *LiverLab* und *LiverHealth* unter klinischen Bedingungen verlässlich eine erhöhte Fettdeposition feststellen und quantifizieren können, auch wenn eine Siderose gleichzeitig vorliegt. Der Nachweis soll anhand der bisherigen Goldstandards erfolgen. Im Fall der Steatose ist dies die histologische Untersuchung des Verfettungsgrades und bei der Siderose die Bestimmung der Liver Iron Concentration bzw. Lebereisenkonzentration (LIC) in Bezug auf die Trockenmasse. Beiden Lösungen ist gemein, dass der Fettanteil im Gewebe direkt, die LIC jedoch nur indirekt über die Relaxationskonstante ermittelt werden kann. Der Zusammenhang zwischen der Relaxationskonstante und der LIC soll deshalb evaluiert werden. Die in der klinischen Bildgebung übliche IP-OP-Messung ermöglicht prinzipiell ebenso eine Fettquantifizierung der Leber. In mehreren Aspekten ist sie jedoch nicht auf diese Aufgabe ausgelegt. Daher soll evaluiert werden, ob

1. Einführung

diese Bildgebungssequenz vergleichbare Ergebnisse bietet oder geringfügig angepasst werden kann, um vergleichbare Ergebnisse liefern zu können. Die Integration aller untersuchten MR-basierten Quantifizierungsmethoden in die klinischen Arbeitsabläufe soll ebenfalls evaluiert werden.

2. Material und Methoden

2.1. Grundlagen der MRT-basierten Fett- und Eisenbestimmung

Die MRT eignet sich als Methode zur Erfassung räumlich aufgelöster Karten, mit der die Fett- und Eisenkonzentration im Gewebe nichtinvasiv quantifiziert werden kann. In dieser Arbeit sollen nur die für die Eisen- und Fettkonzentrationsbestimmung wesentlichen Aspekte der Signalakquisition rekapituliert und quantenmechanische Aspekte sowie die Ortskodierung und Bildrekonstruktion außer Acht gelassen werden. Für einen Überblick über die biomedizinische Technik der Magnetresonanztomografie bietet sich ein Blick in das gleichnamige Buch vom Herausgeber Olaf Dössel an [26]. Für die physikalischen Grundlagen eignet sich in erster Linie das als Standardwerk geltende Buch vom Herausgeber E. Mark Haacke [45].

Ein MRT besteht grundsätzlich aus drei wesentlichen Komponenten:

1. ein statischer Magnet,
2. Hochfrequenz (HF)-Magnetfeldspulen,
3. Gradientenfeld-Spulen

Die in der vorliegenden Arbeit genutzten Tomographen (siehe Bild 7) haben als geschlossene MRTs eine zylindrische Form, wobei das Gradientensystem und die Anregungs-Hochfrequenzfeld (HF)-Spule in die Öffnung des Magneten eingelassen und von außen nicht ersichtlich sind. In die übrige Öffnung wird der Patient mit Empfänger-HF-Spulen platziert.

Wird eine Probe mit dessen zahlreichen Atomkernen in ein externes Magnetfeld gebracht, werden die magnetischen Momente \vec{m} der Kerne um die Achse des externen Magnetfeldes präzedieren. Der fundamentale, lineare Zusammenhang der Präzessionsfrequenz $\vec{\omega}$ des zu beobachtenden Kerns (in der klinischen MRT das Wasserstoffproton) und dem äußeren Magnetfeld \vec{B} ist durch die Larmor-Bedingung gegeben:

$$\vec{\omega} = -\gamma\vec{B} \quad (1)$$

Hier ist γ das gyromagnetische Verhältnis, das für Wasserstoffprotonen etwa $\gamma_H \approx 42,16 \text{ MHz/T}$ beträgt. Das äußere Magnetfeld \vec{B} ist von der Umgebung des Protons abhängig. Es ändert sich bspw. in Lipidmolekülen aufgrund der Bindungspartner oder unter Anwesenheit von Suszeptibilitätsschwankungen in der lokalen Umgebung (verursacht bspw. durch Eisen).

In dem Gewebe des Patienten bildet sich unter Anwesenheit des statischen Magnetfeldes \vec{B}_0 eine Nettomagnetisierung $\vec{M} = \sum_i \vec{m}_i \parallel \vec{B}_0$, verursacht durch i Wasserstoff-Kerne, aus. Diese vollführt jedoch noch keine Interaktion mit der Umgebung. Sie kann also nicht gemessen werden. Im Folgenden wird angenommen, dass das externe Magnetfeld entlang der \hat{z} -Achse orientiert ist. Ein elektromagnetisches Hochfrequenzfeld (HF) $\vec{B}_1 \perp \vec{B}_0$ kann diese Nettomagnetisierung wiederum verkippen, wenn hierbei die Larmor-Bedingung eingehalten wird. Dann präzediert die Magnetisierung um das Hochfrequenzfeld, so lang dieses aktiv ist. Sie kann nach dem Abschalten des Hochfrequenzfeldes beispielsweise senkrecht zum statischen Magnetfeld orientiert sein und in der dadurch gebildeten Präzessionsebene (der \hat{x} - \hat{y} -Ebene) weiter präzedieren. Zur Vereinfachung soll dieses Vorgehen als *HF-Puls* mit einem Flipwinkel

2. Material und Methoden

von $\alpha = 90^\circ$ bezeichnet werden. Nach diesem Prozess ist es möglich, ein Signal proportional zur Größe der Nettomagnetisierung zu messen. Dazu haben die HF-Spulen in unmittelbarer Nähe des Patienten ihre Öffnung senkrecht auf das externe Magnetfeld. Die Nettomagnetisierung erzeugt einen magnetischen Fluss durch diese HF-Spulen, der proportional zu den Flächen der Spulen und der Nettomagnetisierung ist. Die Änderung dieses Flusses durch die präzedierende Magnetisierung nimmt die Spule als Spannung auf, welche zeitabhängig aufgezeichnet wird. Das Spannungssignal ist in der MRT in den meisten Anwendungsbereichen sehr gering, so dass es eine technische Herausforderung ist, das Rauschen weit unter dem Nutzsignal zu drücken. Ein Schlüssel im Erreichen dieses Ziels ist die Verwendung mehrerer Spulen mit geringerem Durchmesser und damit geringerer Eindringtiefe. Das Gesamtsichtfeld wird dann auf die dann als *Spulenelemente* bezeichneten Teilspulen aufgeteilt (das fertige Produkt mit allen kombinierten Spulenelementen inkl. der vorverarbeitenden Elektronik und Gehäuse wird dann als Spule bezeichnet). Ein Spulenelement mit der nachgeschalteten Auswerteelektronik wird als *Kanal* bezeichnet. Dieses Vorgehen hat zwei Vorteile: Zum einen nimmt eine Spule mit geringerer Eindringtiefe weniger Rauschen aus ihrer Umgebung auf. Zum anderen lässt sich eine Beschleunigung der Messung durch *parallele Bildgebung* einführen, die die Messzeit drastisch senkt. Dabei kann der Messprozess stärker parallelisiert werden, wenn mehr Spulenelemente und damit Kanäle zur Verfügung stehen. Für das korrekte Zusammensetzen der gleichzeitig aufgenommenen Bilder sind verschiedene, proprietäre Algorithmen der Hersteller zuständig. Der Fokus der vorliegenden Arbeit liegt jedoch nicht in der Bildrekonstruktion, weshalb nicht näher auf Details der Beschleunigungstechniken eingegangen werden soll. Der Prozess der Signalaufnahme Prozess soll rigoros vereinfacht werden. Die Eingangsspannung wird als das Signal s bezeichnet und man geht von einer einzigen Spule aus.

$$s(t) \propto M_x \cos(\omega t) - M_y \cos(\omega t + \pi/2) \quad (2)$$

Leicht erkennbar ist, dass sich das Signal aus einer Summe aus zwei Komponenten zusammensetzt. Beim Vorgang der Quadraturamplitudendemodulation (QAD) wird das Signal aufgesplittet und mit zwei Referenzsignalen multipliziert. Diese liegen auf der Frequenz ω_0 sind allerdings um $\pi/2$ phasenverschoben. Mittels eines Tiefpasses werden dabei entstehende Summenfrequenzen entfernt. Lediglich Differenzfrequenzen werden beibehalten. Das resultierende Signal S lässt sich als komplexe Zahl beschreiben. Der Realteil ist proportional zum Anteil der Magnetisierung in \hat{x} - und der Imaginärteil proportional zum Anteil der Magnetisierung in \hat{y} -Richtung

$$S \propto M_{\mathbb{R}} + M_{\mathbb{I}}. \quad (3a)$$

Das Signal lässt sich ebenfalls in der eulerschen Polarform darstellen

$$M_x + iM_y = Ae^{i\varphi}. \quad (4)$$

Hier ist $A = |S| = \sqrt{M_x^2 + M_y^2}$ die Amplitude, φ die Phase des Signals S . Durch die Bildrekonstruktion, auf die nicht näher eingegangen werden soll, kann dementsprechend ein Magnituden- und ein Phasenbild (aber auch der Real- und Imaginärteil) der Spindichte im zu untersuchenden

Volumen dargestellt werden. Die medizinische Bildgebung nutzt in der überwältigenden Mehrheit die Magnitudeninformation. Das Phasenbild gewinnt jedoch an Bedeutung. Teils gehen Phaseninformationen in Rekonstruktionsalgorithmen zur Verbesserung von Magnitudenkarten ein. Beispielsweise wird in der noch zu erläuternden Fettbestimmung die Phaseninformation genutzt, um zwischen Fett- und Wassersignal zu differenzieren. Teils werden reskalierte Phasendaten direkt zur Befundung genutzt, beispielsweise in der Flussquantifizierung oder suszeptibilitätsgewichteten Gewichtung. Die Darstellung von Real- und Imaginärteil hat hingegen keinen praktischen Nutzen.

2.2. Dynamik der Magnetisierung, Echobildung

Relaxation. Nach dem bereits erwähnten Anregungspuls gibt es einen Effekt, der für die Eisenquantifikation relevant ist. Durch die leicht variierende Magnetfeldstärke B in der Umgebung jedes an der Nettomagnetisierung beteiligten Protons unterscheidet sich ebenso dessen Präzessionsfrequenz nach Gl. (1). Die Unterschiede führen dazu, dass die magnetischen Momente zunehmend inkohärent sind und die Nettomagnetisierung in der \hat{x} - \hat{y} -Ebene (und damit das gemessene Signal) abnimmt. Dieser als $T_2^{(*)}$ -Relaxation (Transversalrelaxation) bezeichnete Prozess wird von der Eisenkonzentration im Voxel zusätzlich beschleunigt. Eisen-Atome beeinflussen aufgrund ihrer Elektronenkonfiguration ihre Umgebung und sorgen so für eine verstärkte Transversalrelaxation. Mathematisch lässt sich das Zeitverhalten des messbaren Signals folgendermaßen beschreiben

$$S(t) = S_0 e^{-t/T_2^{(*)}} = S_0 e^{-R_2^{(*)}t}. \quad (5)$$

Der Gewebe- und eisenkonzentrationsabhängige Parameter $R_2^{(*)}$ und dessen inverse Entsprechung $T_2^{(*)}$ heißen Relaxationskonstante bzw. Relaxationszeit.

Echobildung. Die Messung des Signals lässt sich in der Magnetresonanztomografie nicht direkt nach der Anregung umsetzen, da für die Ortskodierung zusätzliche Schritte erfolgen müssen. Man bedient sich zweier sogenannter echogenerierender Techniken, dem Gradienten- und dem Spin-Echo. Die eingangs erwähnten Gradientenspulen dienen vorrangig der Ortskodierung und deren erzeugtes Magnetfeld lässt sich zeitlich wie räumlich variieren. Das von ihnen erzeugte Magnetfeld kann auf makro- und mesoskopischer Ebene die Magnetisierung refokussieren. Auf der Ebene der direkten Interaktion zwischen benachbarten Protonen hingegen kann nur ein Spin-Echo zu einer Refokussierung führen, welches auf dem gleichen Prinzip wie bei der ursprünglichen Anregung beruht (d.h., HF-Felder zur Manipulation der Ausrichtung der Magnetisierung nutzt). Allerdings ist das Feld von der doppelten Amplitude oder Dauer. Dieses Vorgehen führt zu einem 180° -Puls. Beide Methoden bewirken durch die Wiederausbildung der Kohärenz der magnetischen Momente ein Ansteigen des Signals. Das Maximum des Signals beobachtet man zur Echozeit T_E . Beide Methoden lassen sich mit veränderten Echozeiten wiederholen und auch die Generation mehrerer Echos nach einer einzigen Anregung (Multi-Echo) ist möglich. Da die Spin-Echo-Technik auch die mikroskopische Refokussierung

erlaubt, sind die beobachteten Relaxationskonstanten bei Spin-Echos (R_2) kleiner als die bei Gradientenechos (R_2^*).

Die Gründe, weshalb ein Spin-Echo allerdings nicht die gesamte eisenkonzentrationsabhängige Relaxation wieder refokussieren kann, sind allerdings noch nicht vollständig verstanden. Eine vornehmlich akzeptierte Erklärung ist eine Diffusion der Protonen, die einen eisenkonzentrationsbedingten B_0 -Gradienten erfahren [91, 43], während der Echobildung.

2.3. Quantitative MRT

Die klassische, klinisch überwiegende Bildgebung in der MRT ist im Gegensatz zur CT *a priori* keine quantitative Technik, da die Signalintensität, die von variablen Parametern wie der zeitlichen Abfolge von bildgebenden Techniken (*Sequenzen*), der räumlich abhängigen Spulensensibilität und weiteren Faktoren abhängig ist. Kriterien für die Malignität einer Raumforderung und anderer Fragestellungen werden in der Regel anhand von Kriterien wie der Texturierung, der Form und dem Kontrastverhältnis zu umliegenden Geweben festgelegt. Im Gegensatz hierzu erstellen *Mapping*-Sequenzen quantitative *Karten*, die innerhalb gewisser Grenzen geräteunabhängig vergleichbar sind und klar definierte Größen wiedergeben. In diesen Karten lässt sich eine Region of Interest bzw. ein Bereich von Interesse (ROI) festlegen und mit statistischen Methoden analysieren. Dabei muss diese ROI nicht mit anderen ROIs räumlich oder zeitlich in Verbindung gebracht werden, um vergleichbar zu sein. Für diese Arbeit wird auf die Erstellung von Karten für den Fettanteil am Signal und Relaxationszeit des Signals eingegangen.

2.3.1. Fettbestimmung in der MRT

Die Wasserstoffprotonen in Fett (F) und Wasser (W) tragen in jedem Volumen V entsprechend ihrem Anteil an der Gesamtzahl der Protonen zum gemessenen Signal S bei

$$S \propto \int_V \omega_0(\vec{r}) e^{t/T_2^*} (\hat{\rho}_F + \hat{\rho}_W) dV. \quad (6)$$

Das Ziel der Fettbestimmung ist, das Verhältnis des Fettsignals zum Gesamtsignal zu der im Folgenden als Fat Fraction bzw. Fettanteil (FF) bezeichneten Größe zu bestimmen.

$$FF = \frac{\hat{\rho}_F}{\hat{\rho}_F + \hat{\rho}_W}. \quad (7)$$

Da Protonen abhängig von ihrer Bindung zu Lipiden bzw. Wassermolekülen oder als freie Protonen unterschiedliche Resonanzfrequenzen aufweisen [47], lassen sich die Anteile der gebundenen Protonen in der MRT mit unterschiedlichen Ansätzen quantifizieren. Diese sollen im Folgenden kurz vorgestellt werden. Dabei ist es ein glücklicher Zufall, dass die auf das Volumen und die Masse bezogene relative Protonendichte von Fett und Wasser fast gleich sind. Theoretisch und experimentell in Fett-Wasser-Emulsionen konnte gezeigt werden, dass die ermittelten Fettanteile aus dem MR-Signal auf 5% Genauigkeit dem Verhältnis der Volumina von Fett und Wasser entsprechen. Dabei müssen zusätzlich beeinflussende Faktoren, die in den folgenden Abschnitten benannt werden, berücksichtigt werden [82].

Spektroskopie. In der Magnetresonanzspektroskopie (MRS) erfolgt die Anregung eines vorher festgelegten Voxels. Dabei wird die in Abschnitt 2.2 beschriebene Echobildung mit einem gleichzeitig aktiven, linearen Gradienten kombiniert. Nur die Magnetisierung, für die die Larmor-Bedingung erfüllt wird, wird durch einen 180° -Refokussierungspuls ein Echo generiert. Bei Nutzung eines linearen Gradienten ist dies eine Ebene. Die Echogeneration wiederholt man mit aktivem Gradienten in den übrigen Raumrichtungen und refokussiert so die Magnetisierung eines Voxels. Das Volumen des Voxels entspricht dem Schnittvolumen der drei Ebenen. Das resultierende Signal wird aufgezeichnet und gegebenenfalls für mehrere Echozeiten erfasst. Da hierbei lediglich ein Voxel angeregt wird und keine weitere Ortskodierung innerhalb des Voxels erfolgt, lässt sich hieraus kein Bild rekonstruieren. Die inverse Fouriertransformation des Signals S erlaubt die Darstellung eines Spektrums (siehe Bild 3a), welches die unterschiedlichen Resonanzfrequenzen von Fett- und wassergebundenen Protonen darstellt. Das Verhältnis der Flächen unter dem Wasser- und Lipidsignal entspricht dem Verhältnis der in dem Voxel enthaltenen fett- und wassergebundenen Protonen. Ein Vorteil der Spektroskopie gegenüber den anderen Verfahren zur Fettbestimmung ist die Darstellung der einzelnen Metaboliten. Aus diesen lassen sich noch weitere Informationen, bspw. über tumorentitätsspezifische Einlagerungen in Läsionen, gewinnen. Die Anwendung der MRS in der Leber ist jedoch noch im Forschungsstadium und hat sich klinisch noch nicht durchgesetzt [34].

Die relativen Frequenzunterschiede $\frac{\Delta\nu}{\nu}$ von einer vordefinierten Referenzsubstanz und den Metaboliten liegen im Bereich einiger ppm

$$\delta = \frac{\nu_{\text{H,Probe}} - \nu_{\text{H,Standard}}}{\nu_{\text{H,Standard}}}. \quad (8)$$

Als Standard dienen in Tetramethylsilan $\text{Si}(\text{CH}_3)_4$ gebundene Wasserstoffprotonen. Das Spektrum mit der Signalamplitude $a(\delta)$ wird in einen Lipid- und einen Wasseranteil mit meist vorher festgelegten Intervallen eingeteilt. Die FF berechnet sich dann nach

$$\text{FF} = \frac{\int_{-\infty}^{3 \text{ ppm}} a(\delta) d\delta}{\int_{-\infty}^{\infty} a(\delta) d\delta}. \quad (9)$$

Da ein typisches Spektroskopievoxel ein Volumen von einem bis zu einigen Kubikzentimetern aufweist hat sie einen geringeren Sampling Error als eine histopathologische Biopsieprobe. Dennoch deckt sie keinen wesentlichen Teil der Leber ab.

Fettunterdrückung. Die spektrale Abhängigkeit der fett- und wassergebundenen Protonen lässt sich ausnutzen, indem mit schmalbandigen Anregungspulsen gearbeitet wird. Dabei können die lipidgebundenen magnetischen Momente vor der eigentlichen Bildgebung so inkohärent präpariert werden, dass sie zur direkt darauffolgenden Bildgebung kein Signal beitragen. Durch die Aufnahme eines ebenso nicht-fettgesättigten Bildes lässt sich voxelweise der Fettanteil analog zu Gl. (7) bestimmen

$$\text{FF}(\vec{r}) = \frac{S_{\text{FW}}(\vec{r}) - S_{\text{W}}(\vec{r})}{S_{\text{FW}}(\vec{r})}. \quad (10)$$

Hierbei ist S_{FW} das Signal von Fett und Wasser, S_{W} das Signal des fettgesättigten Signals, welches konsequent als Wassersignal bezeichnet wird. Wesentliche Nachteile dieser Technik lassen sich in drei Gruppen einteilen. Für die erfolgreiche Selektion ist eine schmale Bandbreite

des Anregungspulses auf die tatsächliche Bandbreite des Fettsignals notwendig, was zu langen und gegebenenfalls SAR-intensiven¹ Messungen führt. Des Weiteren wird eine sehr homogene Magnetfeldverteilung im zu untersuchenden Volumen gefordert, da diese die Präzessionsfrequenz direkt beeinflusst (siehe Gl. (1)). Schlussendlich benötigt der Fettunterdrückungspuls zusätzliche Zeit, was kleine Repetitionszeiten unmöglich macht. Durch diese Artefakte und Randbedingungen bedingt wird diese Technik nicht von den kommerziellen Anbietern zur Fettquantifizierung angeboten, aber in der Diskussion vergleichend betrachtet.

Chemical Shift Imaging und Dixon-Methode. Grundlage des Chemical Shift Imaging (CSI) ist die zwischen Anregung und Echo akkumulierende Phasenverschiebung durch den Unterschied in der Präzessionsfrequenz $\Delta\nu = \Delta\omega/2\pi$ von Signal aus Fett und Wasser

$$\Delta\varphi = T_E \cdot \Delta\nu. \quad (11)$$

Der relative Frequenzunterschied beträgt $\Delta\nu/\nu = 3,35$ ppm. Bei bekannter Magnetfeldstärke ist der absolute Frequenzunterschied mit

$$\Delta\nu = \frac{\gamma}{2\pi} \cdot 1,5 \text{ T} \cdot \frac{\Delta\nu}{\nu} = 214 \text{ Hz} \quad (12)$$

gegeben. Bei 3-Tesla-Systemen verdoppelt sich die Frequenzdifferenz dementsprechend [45, S. 422]. Das Reziproke der Frequenz ergibt die Zeiten nach der Anregung, zu der Fett- und Wassersignal zueinander in- bzw. außerphasig vorliegen. Aufgrund der Größenordnung des Effektes lässt sich dieser in der klinischen Bildgebung sinnvoll nutzen. Bei $B_0 = 1,5 \text{ T}$ sind die Signale zur Anregungszeit $t = 0$ in Phase, zur Zeit $t = 1/2 \cdot 214 \text{ Hz} = 2,272 \text{ ms}$ gegenphasig (*OP-Bild*) sowie zur Zeit $t = 4,54 \text{ ms}$ wieder in Phase (*IP-Bild*). Bereits im Jahr 1984 schlug W. Thomas Dixon vor, mit dem einfachen Ansatz

$$\begin{aligned} S_{\text{IP}} &= S_{\text{W}} + S_{\text{F}} & \implies & S_{\text{W}} = 1/2 (S_{\text{IP}} + S_{\text{OP}}) \\ S_{\text{OP}} &= S_{\text{W}} - S_{\text{F}} & & S_{\text{F}} = 1/2 (S_{\text{IP}} - S_{\text{OP}}) \end{aligned} \quad (13)$$

ein Wasser- und ein Fettbild zu berechnen. Hierbei ist S das gemessene Signal im betreffenden Voxel, W steht für Wasser, F für Fett. Aktuell klinisch verfügbare MR-Systeme lassen die Bildgebung zu jeder dieser genannten Zeiten zu. Alle Bildgebungen zu verschiedenen Echozeiten T_E (kurz *Echos*) lassen sich sogar in einem Zug auslesen, was kurze Messzeiten bei hohen Auflösungen verspricht.

Diese ursprüngliche Form der Dixon-Bildgebung wird als 2-Punkt-Methode bezeichnet, da diese mit zwei Echos als Stützpunkte arbeitet. Mehrere Limitationen schränken die klinische Anwendung ein. Zum einen werden lediglich Fett und Wasser als unabhängige Komponenten berücksichtigt. Zum anderen ist der ermittelte Fettanteil aus Gleichung (13) nicht eindeutig. Er beträgt immer zwischen 0 und 50 %, auch wenn er in Wirklichkeit größer ist. Dies wird in der Leberbildgebung erst problematisch, sobald man sich einem Fettanteil von 50 % annähert.

¹SAR: Specific Absorption Rate, gewichtsbezogene Leistung, die (bedingt durch das Hochfrequenzfeld) in das Patientengewebe deponiert wird.

Um den Wertebereich des Fettanteils auf 100% zu erhöhen, lässt sich in der Rekonstruktion die Phase des Signals durch das Bild verfolgen und eine Eindeutigkeit herstellen. Das System muss hierzu allerdings noch wissen, welches das Fett- und welches das Wassersignal ist. Hierzu bestehen verschiedene vollautomatische Ansätze, bspw. durch Nutzung von Machine Learning- und Region-Growing-Algorithmen [68]. Inzwischen sehr selten sind sogenannte Fat-Water-Swaps, bei denen Fett- und Wassersignal vollständig vertauscht sind. Des Weiteren führt eine erhöhte Eisenkonzentration im Gewebe zu einer Fehleinschätzung des Fettgehaltes. Dabei ist entscheidend, ob das IP- oder OP-Echo zuerst aufgenommen wird. Ersterer Fall führt dann zu einer Über- zweiterer Fall zu einer Unterschätzung. Den ursprünglich hohen Anforderungen an die Feldhomogenität werden aktuelle MR-Systeme weitestgehend gerecht, so dass die Dixon-Methode inzwischen eine sehr robuste, hochqualitative und schnelle Alternative zur Fettsättigung darstellt. Die Markennamen für diese verbesserten Methoden lauten eDIXON (Siemens Healthcare) bzw. m-DIXON (Philips Healthcare). Diese Methode lässt sich durch Aufnahme zusätzlicher Echos erweitern, worauf in Abschnitt 2.3.4 eingegangen wird.

2.3.2. Eisenbestimmung

Grundsätzlich basiert die MR-basierte Eisenquantifikation immer auf der Bestimmung des durch die Transversalrelaxation der Magnetisierung bedingten Signalabfalls nach der Anregung (siehe Abschnitt 2.2). Ein Teil der Methoden berechnet dabei voxelweise einen Näherungswert für die Relaxationskonstante (nachfolgend parametrische Bildgebung bezeichnet). Ein gegensätzlicher Ansatz arbeitet direkt mit dem gemessenen Signalabfall und setzt diesen mit dem Signalabfall in anderen Referenzgeweben, die ein mutmaßlich festes Relaxationsverhalten an den Tag legen, ins Verhältnis (Signal Intensity Ratio (SIR)). In der vorliegenden Arbeit wird in der Bildgebung ausschließlich mit Gradientenechos gearbeitet, in der Spektroskopie mit Spin-Echos.

Nicht-parametrische Bildgebung. In ersten Arbeiten zur Eisenquantifikation in der Leber aus dem Jahr 1994 bestätigten Gandon *et al.* einen Zusammenhang zwischen der transversalen Relaxationszeit T_2^* und der Lebereisenkonzentration [37]. Hier konnte bereits an der als Goldstandard geltenden Biopsie gezeigt werden, dass das Verhältnis des Signals der Leber zum Signal des oberflächlichen Fetts (L/F) in T_2^* -gewichteten Aufnahmen ein weit besserer Indikator für eine Eisendeposition in der Leber ist als die Bestimmung der Eisenkonzentration im Blutserum (siehe Bild 4). Später wurde als Referenz das paraspinale Muskelgewebe eingesetzt. Hierbei werden drei ROIs im Lebergewebe und jeweils eine ROI im paraspinalen Muskelgewebe gesetzt [44]. Das Signalverhältnis von Leber zum Muskelgewebe (SIR) berechnet sich dann zu

$$\text{SIR} = \frac{2 \sum_{i=1}^3 S_{L,i}}{3 \sum_{i=1}^2 S_{M,i}}, \quad (14)$$

wobei S_L und S_M die Mittelwerte der Signalintensitäten in den ROIs in der Leber und Muskel sind (siehe Bild 3b) [44].

Beiden Techniken ist gemein, dass sie kein parametrisches Mapping betreiben, sondern Signalintensitäten in den ROIs verschiedener Gewebe ins Verhältnis setzen. Daher gibt es hier

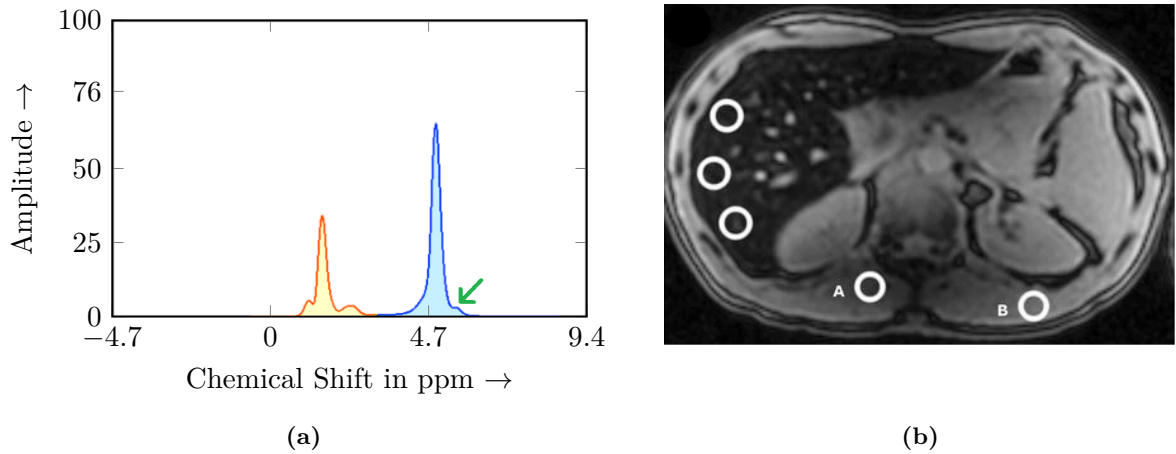


Bild 3: (a) Exemplarisches NMR-Spektrum der Leber (Siemens MAGNETOM Sola, Siemens Healthcare, Erlangen, Deutschland, Grafik nachbearbeitet). Der Fettanteil bestimmt sich hier nach dem Flächenverhältnis zwischen dem Fett- und Wasserpeak in Orange und Blau zu $FF = 35,6\%$. Der beobachtete Frequenzunterschied beträgt hier 3,41 ppm in guter Übereinstimmung mit dem Literaturwert von 3,35 ppm [45]. Mit grünem Pfeil ist eine spektrale Fettkomponente markiert, die von der Software als Wassersignal interpretiert wird. (b) Ein Beispiel für eine Evaluation von drei Leber-ROIs mit den paraspinalen Muskeln als Referenzgewebe. Inhomogenitäten (vgl. ROI A und B) führen zu Abweichungen in der SIR und LIC (Referenz ROI A: LIC = $190 \mu\text{mol/g}$, ROI B: LIC = $390 \mu\text{mol/g}$) [75].

auch keine Kartierung der Relaxationskonstanten. Anhand von Tabellen und einem auf der Website der Forschergruppe um Gandon verfügbaren Rechner mit Kalibrationswerten [80] konnte anhand der SIR die Lebereisenkonzentration abgeschätzt werden. Der wesentliche Nachteil dieser Technik ist, dass durch die räumliche Abhängigkeit der Spulensensitivitäten und den ebenso verwendeten Beschleunigungstechniken teils starke Inhomogenitäten verursacht werden, welche in dieser Berechnung nicht korrigiert werden (siehe Bild 3b). Die Autoren ließen deshalb eine Auswertung nur unter Verwendung der Body-Spule, die in das MRT selbst integriert ist, als Sende- und Empfangsspule zu, da diese aufgrund ihrer Größe eine starke Homogenität im Field of View bzw. Sichtfeld (FoV) aufweist. Dies geht mit einem wesentlich schlechteren Signal-to-noise ratio bzw. Signal-zu-Rausch-Verhältnis (SNR) einher, so dass diese Messung nicht als Teil der klinischen Routine mit auswertbar ist, sondern dediziert der Bestimmung der LIC dient [75].

Parametrische Bildgebung. Ein alternativer Ansatz ist, von der Relaxationskonstanten auf die LIC zu schließen. Dazu werden zwei Echos zu verschiedenen Echozeiten aufgenommen. Diese sollten bei möglicher Verfettung beide IP-Echos sein. Es ist möglich, diese zwei Echos in zwei getrennten Sequenzen aufzunehmen, zwischen denen man die Echozeit variiert. Schneller und robuster gegen Bewegungsartefakte ist allerdings die direkte Aufnahme zweier Echos nach

2. Material und Methoden

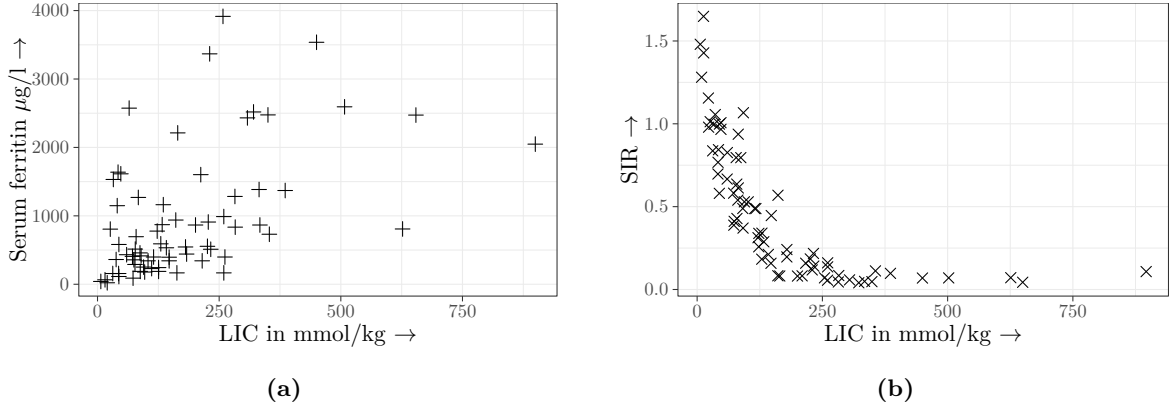


Bild 4: (a) Korrelation zwischen Serum-Ferritin und Lebereisenkonzentration. (b) Korrelation zwischen beobachtetem Leber-zu-Fett-Signalverhältnis zur bioptisch bestimmten Lebereisenkonzentration (aus [37]).

einer Anregung. Mit dem Gleichungssystem

$$S(\vec{r}, t = T_{E,IP1}) = S(\vec{r}, t = 0)e^{-R_2^{(*)}T_{E,IP1}} \quad (15a)$$

$$S(\vec{r}, t = T_{E,IP2}) = S(\vec{r}, t = 0)e^{-R_2^{(*)}T_{E,IP1}} \quad (15b)$$

ergibt sich

$$T_2^*(\vec{r}) = (T_{E,IP2} - T_{E,IP1}) \ln \frac{S(\vec{r}, t = T_{E,IP1})}{S(\vec{r}, t = T_{E,IP2})}. \quad (16)$$

$R_2^{(*)}$ bezeichnet dabei die Transversal-Relaxationskonstante für ein Spin-Echo (R_2) bzw. für ein Gradienten-Echo (R_2^*). Es lassen sich mehr als zwei IP-Echos aufnehmen, wodurch sich ein überbestimmtes Gleichungssystem ergibt. Dabei muss das hinterlegte Modell entsprechend angepasst werden. Mit einem Least-Squares-Ansatz lässt sich dann auch das Bestimmtheitsmaß für $R_2^{(*)}$ berechnen. Für die Eisenquantifikation aus den ermittelten Relaxationskonstanten eignet sich sowohl die Spin-Echo- als auch die Gradientenecho-Technik. Die Spin-Echo-Technik wurde von einer Gruppe um R. Lindemann gegen Biopsieproben aus der Leber verifiziert [92] und das Produkt Ferriscan[®] von der Food and Drug Administration (FDA) zugelassen. Der Zusammenhang zwischen R_2 und der LIC ist nicht linear und wird von der vorgenannten Gruppe durch eine Gleichung mit vier Freiheitsgraden beschrieben [92]. Für die Bestimmung der Eisenkonzentration in der Leber eines Patienten werden die patientenbezogenen Bilddaten pseudonymisiert an den Anbieter gesandt und dort verarbeitet und bewertet. Die Vergütung für die Nutzung geschieht pro Untersuchung. Aufgrund der hohen Kosten und der Notwendigkeit einer regelmäßigen Kalibrierung mittels eines Phantoms wird Ferriscan[®] in Deutschland nur in 15 Radiologiezentren angeboten und hat sich bisher nicht in der Breite durchgesetzt [85]. Zudem werden die Kosten für Ferriscan[®] von deutschen Krankenkassen nicht übernommen. Die Mehrheit der Forschergruppen berichtet jedoch von Methoden unter Nutzung von Gradientenechos, da diese den Berichten nach sensitiver seien [97, 46, 39, 49]. Der Zusammenhang zwischen R_2^* und der LIC ist linear [57] und zusätzlich von der Feldstärke B_0 abhängig. Storey

et al. fanden 2007, dass sich die Relaxationskonstante bei einer Verdopplung der Feldstärke von $B_0 = 1,5 \text{ T}$ auf $B_0 = 3 \text{ T}$ ebenfalls verdoppelt [93]. Dies gilt nach ihren Ergebnissen für ein breites Intervall beobachteter Relaxationskonstanten ($(57 \pm 2) 1/\text{s}$ bis $(1560 \pm 120) 1/\text{s}$). Sie ermittelten die Parameterkarten für R_2^* mittels Postprocessing in Matlab.

Multi-Echo-Spektroskopie. Siemens integriert in der HISTO-Messung zusätzliche Echozeiten, zu denen das Spektrum bestimmt wird. Die Relaxationszeit wird dabei ermittelt, indem über mehrere Echozeiten der Signalabfall über der Echozeit nach Gleichung (5) gefittet wird. Das Signal wird dabei analog zu Gl. (9) anhand der Fläche in Fett- und Wassersignal unterteilt. Dementsprechend kann auch eine fett- und wasserspezifische Relaxationszeit berechnet werden. Mit diesen lässt sich eine gewebespezifische Relaxationskorrektur des Signals durchführen, so dass man ein synthetisches Spektrum bei $T_E = 0 \text{ ms}$ errechnen kann. Da die Relaxation herausgerechnet wurde, lässt sich so FF relaxationskorrigiert nach Gl. (7) bestimmen [83].

2.3.3. Gleichzeitige Bestimmung von Fettanteil und Relaxation

In der Zeit zwischen den zwei Echos, die in Abschnitt 2.3.1 angesprochen wurden, erfolgt neben der Phasenverschiebung zwischen den Kompartimenten die im vorherigen Abschnitt abgehandelte Relaxation. Nimmt man dort das IP/OP-Echo zuerst auf, wird durch Relaxation bedingt der Fettanteil am Signal über-/unterschätzt. Mit der Kenntnis des Relaxationsverhaltens lässt sich der Ansatz (13) um den Relaxationsterm erweitern:

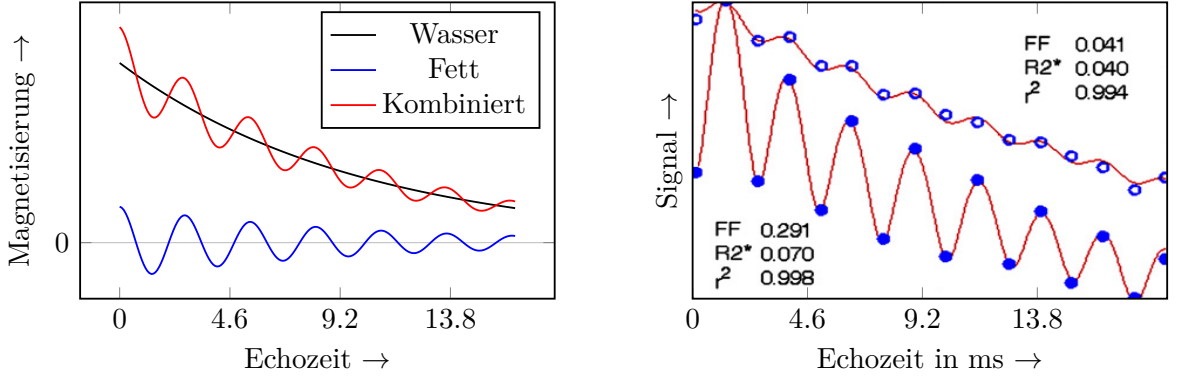
$$\begin{aligned} S_{\text{IP}} &= (S_{\text{W}} + S_{\text{F}}) e^{-\frac{T_{\text{E,IP}}}{T_2^*}} \\ S_{\text{OP}} &= (S_{\text{W}} - S_{\text{F}}) e^{-\frac{T_{\text{E,OP}}}{T_2^*}} \end{aligned} \quad (17)$$

Der zeitliche Verlauf des Signals von der Anregung bis zum Auslesen als Echo ist in Bild 5 dargestellt. Dieser lässt sich nach Kenntnis der Relaxationszeit T_2^* korrigieren, indem einfach mit dem inversen Relaxationsterm multipliziert wird. Dazu muss eine Kartierung der Relaxationszeit vorliegen. Eine einfache Implementierung liegt darin, dass ein zusätzliches In-Phase-Echo aufgenommen wird. Durch diese Relaxationskorrektur (da die Relaxation besonders durch Eisen bedingt ist, wird sie auch als Eisenkorrektur bezeichnet) wird eine Karte mit der Relaxationskonstanten verfügbar. Ein Beispiel für eine unkorrigierte sowie korrigierte FF-Karte mit der zur Korrektur benötigten Relaxationskonstanten-Karte ist in Bild 6 zu finden.

2.3.4. Multi-Kompartiment-Methode auf Basis von CSI

Allen bisher erläuterten, CSI-basierten Techniken war gemein, dass Fett und Wasser als jeweils eine Komponente mit jeweils einer distinkten Resonanzfrequenz beschrieben werden. Allerdings besteht Körperfett aus gemischten Anteilen von unterschiedlich strukturierten Fettsäuren (nachfolgend Fettkomponenten oder -kompartimente genannt) [60]. Bereits in Bild 3a ist offensichtlich, dass neben den zwei größten noch mindestens drei weitere signalgebende Kompartimente berücksichtigt werden können.

2. Material und Methoden



(a) Darstellung des Signalverlaufes aus theoretischer Überlegung (nach [25]).

(b) Das gemessene Signal (mit zwei unterschiedlichen Fettanteilen) bestätigt diesen Zusammenhang [13].

Bild 5: Zusammensetzung des Signalverlaufes bei Anwesenheit von Fett- und Wassersignal bei gleichzeitiger Transversalrelaxation.

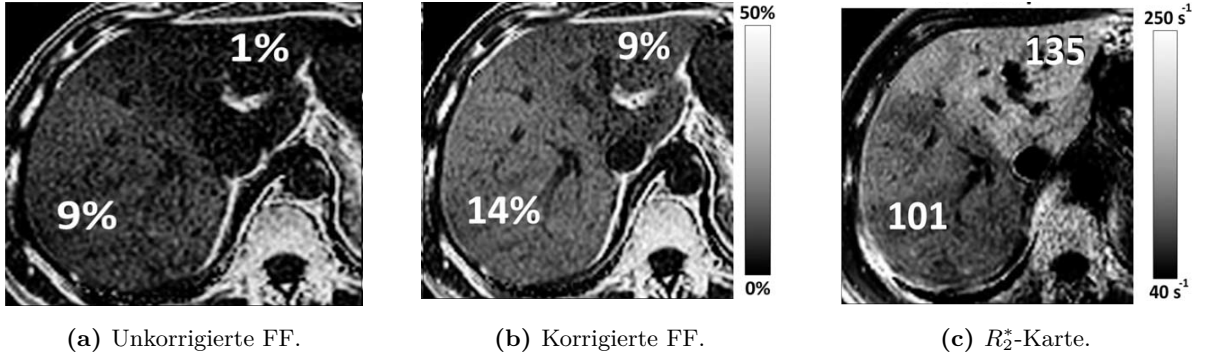


Bild 6: Korrektur des Fettanteils um die Relaxation. Als Nebenprodukt entsteht eine Karte der Relaxationskonstanten [83].

Möchte man M Fettkomponenten neben der Wasserkomponente berücksichtigen, müssen mindestens $i = [1 \dots M + 1]$ Echos mit der Echozeit $T_{E,i}$ aufgenommen werden, da das Wasser als unabhängige Komponente mitbestimmt werden muss. In diesem Modell lässt sich das Signal jeder Fettkomponente a_j durch den Modellansatz [83]

$$S(\vec{r}, t) = \int_V \left(\hat{\rho}_W(\vec{r}) + \hat{\rho}_F(\vec{r}) \left(\sum_{j=1}^M a_j \cdot e^{i2\pi f_j T_{E,i}} \right) \right) e^{-\frac{T_{E,i}}{T_2^*}} e^{i2\pi \varphi T_{E,i}} dV \quad (18)$$

rekonstruieren. Die Echozeiten $T_{E,i}$ müssen nicht gezwungenermaßen auf in- und außerphasigen Zeiten der einzelnen Komponenten liegen, sondern können beispielsweise kürzestmöglich akquiriert werden, um möglichst viel Signal zu nutzen. Eine Aufnahme einer Vielzahl (d.h., sechs bis 15) an Echos wurde in der Literatur beschrieben, jedoch konnte oberhalb einer Zahl von sechs Echos kein zusätzlicher Informationsgewinn nachgewiesen werden [99].

Die Implementierung der Messequenz von Siemens Healthcare trägt den Namen q-DIXON, das äquivalente Produkt von Philips Healthcare heißt mDIXON Quant. Während beide Sequenzen eine Inline-Rekonstruktion anbieten, folgt eine weitergehende Auswertung der Kar-

ten für Fettgehalt und Relaxationskonstante in den entsprechenden Softwarepaketen LiverLab (vollautomatisch) und LiverHealth (teilautomatisiert) als Teil der Intellispace Portal (ISP). Beide Sequenzen arbeiten mit sechs Echos.

2.4. MRT-Untersuchung und Auswertung

Für die Datenerhebung wurde die zustimmende Bewertung des Vorhabens von der Ethik-Kommission der Otto-von-Guericke-Universität an der Medizinischen Fakultät und am Universitätsklinikum Magdeburg A.ö.R. eingeholt. Patienten, die zur medizinisch indizierten Biopsie der Leber (zur Abklärung der Malignität einer zuvor festgestellten Läsion) eingeplant werden, können hierbei eingeschlossen werden. Bei diesem Eingriff wurde eine Probe aus der suspekten Läsion entnommen, die nicht Gegenstand dieser Arbeit, aber Voraussetzung für den Einschluss in die Studie ist. Ausschlusskriterien sind alle allgemeinen Kontraindikationen gegen eine allgemeine MRT-Untersuchung sowie jene gegen eine perkutane Intervention. Die Patienten müssen für den Einschluss volljährig sein. Sie wurden ausführlich über die Inhalte und Risiken der Studie aufgeklärt und unterschrieben das entsprechende Patienteneinwilligungsformular.

2.4.1. Untersuchung

Die Patienten wurden nach der Aufklärung jeweils einer MRT-Untersuchung im 1,5 T-MRT (MAGNETOM Sola, Siemens Healthcare, Erlangen, Deutschland) und im 3 T-MRT (Achieva, Philips Healthcare, Best, Niederlande) unterzogen. Beide Geräte sind in Bild 7 dargestellt. Die Patienten wurden mit dem Kopf zuerst und in Rückenlage im MRT gelagert. Bei einem Teil der Patienten wurde ein Phantomgürtel mit Röhrchen, gefüllt mit bekanntem Lipidvolumenanteil (0% bis 30%), angelegt. Der Gürtel entstammt einer Auftragsstudie. Die genannten Lipidvolumenanteile konnten nicht verifiziert werden. Die Untersuchung wurde gegebenenfalls mit einer ohnehin indizierten Untersuchung kombiniert, wobei die studienrelevanten Sequenzen vor der klinischen Untersuchung stattfanden, um die Ergebnisse durch eventuell eingesetztes Kontrastmittel nicht zu beeinflussen. Innerhalb eines Zeitfensters von zwei Werktagen folgte die Biopsie (siehe Abschnitt 2.5.1). Im Anschluss an die Messungen wurden die Daten im Picture Archiving and Communication System (PACS) der Radiologie archiviert. Die Bilddaten liegen dabei nach dem Standard Digital Imaging and Communications in Medicine (DICOM), der breite Anwendung in der medizinischen Bildgebung findet, vor.

Alle nachfolgenden Untersuchungssequenzen inklusive der Spektroskopiemessung wurden mit angehaltenem Atem durchgeführt. Die verwendeten Protokolle wurden von den herstellerseitig vorinstallierten Untersuchungs-Parameterkarten abgeleitet. Dabei wurde Wert darauf gelegt, dass ein T_1 -Durchscheinen, wie in der Literatur erwähnt, nicht auftritt. Dieser Effekt tritt ein, wenn die Magnetisierung zwischen den Messwiederholungen, die für die Gesamtaufnahme des Bildes notwendig sind, nicht wieder vollständig in ihr Gleichgewicht (entlang der Longitudinalachse zum Magnetfeld) zurückgekehrt ist. Zum Vermeiden des Effektes wird der Flipwinkel reduziert bzw. die Repetitionszeit, soweit vertretbar, größtmöglich gewählt. Um eine größtmögliche Kooperation der Patienten und eine kürzestmögliche Akquisitionszeit zu erreichen, wurde angestrebt, alle Messungen mit nur einem Atemkommando abzuschließen.

2. Material und Methoden



Bild 7: Fotos der verwendeten MRTs mit zylindrischem Phantom in der HF-Körperspule. **(a)** Siemens MAGNETOM Sola 1,5 T mit Body-18-Spule (weitere Spulen in den Tisch integriert). **(b)** Philips Achieva 3 T mit Torso-XL-Spule (16 Kanäle).

Dies reduziert das Risiko von atembedingten Bewegungsartefakten und erleichtert den Patienten die Untersuchung. Nicht zuletzt reduziert sich die Gesamtuntersuchungszeit, was den Patientendurchsatz erhöht und die Untersuchungsmethoden klinisch anwendbar macht. Bei notwendigem Vergrößern des FoV wurde die Schichtanzahl ggf. reduziert, damit die Patienten das Atemkommando sicher schaffen. In jedem Fall musste die Biopsiestelle durch im FoV aller bildgebenden Sequenzen enthalten sein. Die wesentlichen Parameter der Untersuchungsprotokolle sind in Tabelle 1 aufgeführt.

Siemens Sola. Für die Untersuchung wurden die 18-Kanal-Body-Spule sowie die im Patiententisch integrierten Spine-Spulen 1 bis 3 genutzt, womit eine Abdeckung der gesamten Leber möglich wurde. Die Sequenz eDIXON setzt hierbei den DIXON-Ansatz aus Abschnitt 2.3.1 um und q-DIXON die Multikompartiment-Methode nach Abschnitt 2.3.4. In beiden Sequenzen wurden zusätzlich Beschleunigungstechniken eingesetzt. In eDIXON ist dies Generalized Autocalibrating Partial Parallel Acquisition (GRAPPA), in q-DIXON ist es Controlled Aliasing in Parallel Imaging Results in Higher Acceleration (CAIPIRINHA). Beide Methoden verkürzen die Akquisitionszeit, indem sie parallele Bildgebung betreiben (s. Abschnitt 2.1). Sie wurden beide mit einem Beschleunigungsfaktor von 4 eingesetzt. Beide Sequenzen wurden in 3D-Akquisition betrieben. Zusätzlich kam bei der eDIXON eine Partial-Fourier-Akquisition mit einem Faktor von $7/8$ in Phasenkodier- und $6/8$ in Schichtkodierrichtung zum Einsatz. Dadurch ließen sich Akquisitionszeiten von weniger als 16 Sekunden in jeder der genannten Sequenzen erreichen, was dazu führt, dass Patienten nur ein einziges Mal pro Sequenz die Luft anhalten mussten. Die VS in der q-DIXON- und eDIXON-Sequenz wurde bei der Rekonstruktion auf die doppelte Auflösung interpoliert. Alle Messungen erfolgten mit einer Mittelung. Das FoV wurde ggf. in Phasenkodierrichtung (anterior-posterior) angepasst, um die Dauer der Messungen und die Zeit, die die Patienten den Atem anhalten müssen, zu reduzieren. Die Position des FoV und die Abdeckung wurden, soweit möglich, zwischen den Protokol-

2. Material und Methoden

Tabelle 1: Wesentliche Parameter zur Bildgebung und Spektroskopie an beiden MRTs. Die Voxel size bzw. Voxelgröße (VS) bezieht sich auf Auslese-, Phasen- und Schichtkodierrichtung. Die High Fe, hereditäres-Hämochromatose-Protein (HFE)-Spektroskopie ist mit kürzerem Echo-Spacing auf erhöhte Eisenkonzentrationen optimiert. BW: Bandbreite.

Name	T_R	n_E	$T_{E,1}$	ΔT_E	α in $^\circ$	BW in Hz	VS in mm^3	FoV in mm^2
<u>Siemens Sola</u>								
T2w HASTE	1800	1	96	-	90	580	$1,4 \cdot 1,4 \cdot 6$	$350 \cdot 350$
eDIXON	6,63	2	2,39	2,39	10	470	$2,0 \cdot 2,0 \cdot 6$	$384 \cdot 384$
q-DIXON	9	6	1,05	1,15	4	1080	$2,4 \cdot 2,4 \cdot 7$	$384 \cdot 384$
Spektroskopie	2600	5	12	12	90	1200	30^3	-
HFE-Spektrosk.	3000	5	12	3	90	1200	30^3	-
4TE-Mevis	133	4	2,38	2,38	15	1241	$3,5 \cdot 3,5 \cdot 6$	$350 \cdot 350$
<u>Philips Achieva</u>								
T_2 w SSH	750	1	80	-	90	533	$1 \cdot 1 \cdot 5$	$350 \cdot 350$
mDIXON-Quant	6,2	6	1,01	0,7	3	2530	$2,5 \cdot 2,5 \cdot 6$	$350 \cdot 350$
4TE-Mevis	133	4	1,15	1,15	15	1241	$3,5 \cdot 3,5 \cdot 6$	$350 \cdot 350$

len übernommen. Bevor die q-DIXON-Messung starten konnte, musste die ROI-Position zur Evaluation festgelegt werden, da LiverLab die Auswertung in die Rekonstruktion integriert. Hierfür wurden zusätzliche Hinweise und Leitfäden in die Protokolle integriert. Die kreisförmige ROI hat grundsätzlich einen Durchmesser von 20 mm und eine Fläche von 315 mm^2 . Das Siemens-Paket LiverLab beinhaltet eine spektroskopiebasierte Quantifizierung des Fettgehaltes und der Transversal-Relaxationszeit T_2 . Diese wird als HISTO-Messung bezeichnet. Die Voxelpositionierung erfolgt anhand zuvor aufgenommener Bilddaten und lässt sich seit dem Update auf die Version VA20A auch retrospektiv, allerdings nicht im PACS, überprüfen. Die Position des Spektroskopievoxels musste manuell festgelegt werden. Alle Positionen wurden ins Parenchym in die Nähe der beabsichtigten Punktionsstelle gelegt. Dabei war darauf zu achten, dass ausreichend Abstand zu Fett, Gefäßen, Läsionen sowie der Leberkapsel gegeben ist.

Philips Achieva. Zur Untersuchung wurde die 16-Kanal-Torsospule verwendet. Zur Verringerung der Akquisitionsdauer der Sequenz mDIXON Quant wurde Sensitivity Encoding, eine Beschleunigungstechnik unter Nutzung paralleler Bildgebung (SENSE) mit einem Faktor von 2 eingesetzt. Die Akquisitionszeiten konnten in allen Sequenzen auf unter 15 s reduziert werden. Eine Festlegung der Ziel-ROI während der Untersuchung erfolgte nicht. Allerdings musste sichergestellt werden, dass die Zielregion von allen Sequenzen abgedeckt wird. Die aus der mDIXON Quant generierten Serien enthalten ein Wasser- und Fettbild, quantitative Karten für den Fettanteil sowie eine quantitative Karte der Relaxationskonstante. Zusätzlich wurden die Einzelechos in einer eigenen Serie archiviert. Die Bilddaten wurden im Anschluss an die Untersuchung sowohl in das PACS als auch in die Datenbank der Intellispace Portal (ISP) gesendet.

2.4.2. Auswertung

Nach erfolgter Biopsie wurde die dokumentierte Biopsiestelle mit den ROI- und Voxelpositionen verglichen und bei einer Abweichung von weniger als 4 cm für gültig erklärt, andernfalls wurde die ROI-Analyse für diesen Patienten ausgeschlossen.

MeVisLab. Für die in den Abschnitten 2.3.1 und 2.3.3 genannten 2- und 3-Punkt-DIXON-Techniken wurde eine selbstständig implementierte Auswertungssoftware eingesetzt, die unabhängig vom Hersteller arbeitet. Hierfür wurde das Framework MeVisLab (MeVis Medical Solutions AG, Bremen, Deutschland) in Version 3.0.1 genutzt. Die Oberfläche des Graphical User Interface (GUI) ist in Bild 37 bis 39 und beispielhafte Ergebnisse sind in Bild 36 im Anhang dargestellt. Eine Anbindung an das PACS ist im Rahmen dieser Arbeit nicht genutzt worden, lässt sich dabei leicht integrieren. Die Auswertung kann unter den Betriebssystemen Windows, Linux sowie Mac OS X erfolgen. Dafür müssen alle Systeme als 64-Bit-Version vorliegen.

Die 2-Punkt-DIXON-Auswertung lässt die Auswahl von getrennten oder innerhalb einer Sequenz aufgenommener Echos zu. Sie lässt sich also auch mit klinisch aufgenommenen Bilddaten verwenden, sofern Bilddaten mit Fett und Wasser in und außer Phase vorliegen. Sie ordnet, reskaliert und normiert die Bilddaten, extrahiert die Echozeiten automatisiert und gibt die Parameterkarte von FF aus Gleichung (13) direkt aus. Zur Auswertung selektiert der Nutzer die DICOM-Daten im Dateisystem und lässt diese in das MeVisLab-Datenformat konvertieren. Aus den konvertierten Daten lässt sich direkt ein Patient auswählen. Mit dem Doppelklick auf eine Untersuchung ist die Auswertung im Hintergrund in weniger als einer Sekunde erfolgt. Die verschiedenen Parameterkarten sowie die Wasser- und Fettbilder lassen sich via Doppelklick auf die entsprechenden Knöpfe direkt öffnen. Als Messwerkzeuge lassen sich verschiedene ROI-Formen wählen. In der vorliegenden Arbeit wurde allerdings nur die ellipsenförmige ROI eingesetzt. Aus der Histogrammanalyse lassen sich Mittelwert, Varianz und Standardabweichung des Fettanteils innerhalb der ROI ermitteln. Weiter stehen Minimum, Maximum und Volumen der ROI zur Verfügung. Neben der Parameterkarte lassen sich auch Wasser- und Fettbilder anzeigen. Diese Auswertung soll im Folgenden als 2-Punkt-Dixon-Eigenimplementierung (Dixon₂) bezeichnet werden.

Die 3-Punkt-DIXON-Auswertung ist auf eine Akquisition durch die in Tabelle 1 spezifizierte Sequenz 4TE-Mevis angewiesen. Diese ist allerdings nicht herstellerspezifisch und lässt sich auf gängigen MRT-Systemen in Grundausstattung konfigurieren. Sie erfasst die gleichen Größen und bietet die gleichen Funktionen wie die zuvor erläuterte Dixon₂-Implementierung. Sie quantifiziert jedoch zusätzlich die Relaxationskonstante R_2^* mit einem monoexponentiellen Ansatz und korrigiert mit dieser voxelweise die FF-Karte um die Relaxation zwischen den Echozeiten, wie in Abschnitt 2.3.3 erläutert. Die ermittelte Relaxationskonstante wird analog zur kommerziellen Philips-Lösung auf das Intervall $R_2^* \geq 20 \text{ 1/s}$ begrenzt, da Lebergewebe ein $R_2^* = (23 \pm 3) \text{ 1/s}$ aufweist [42]. Für diese Auswertung müssen keine zusätzlichen Schritte gegenüber der Dixon₂-Methode durchgeführt werden. Die Relaxationskorrektur lässt sich mit vier Klicks deaktivieren, so dass die Auswirkung der Korrektur schnell visualisiert werden

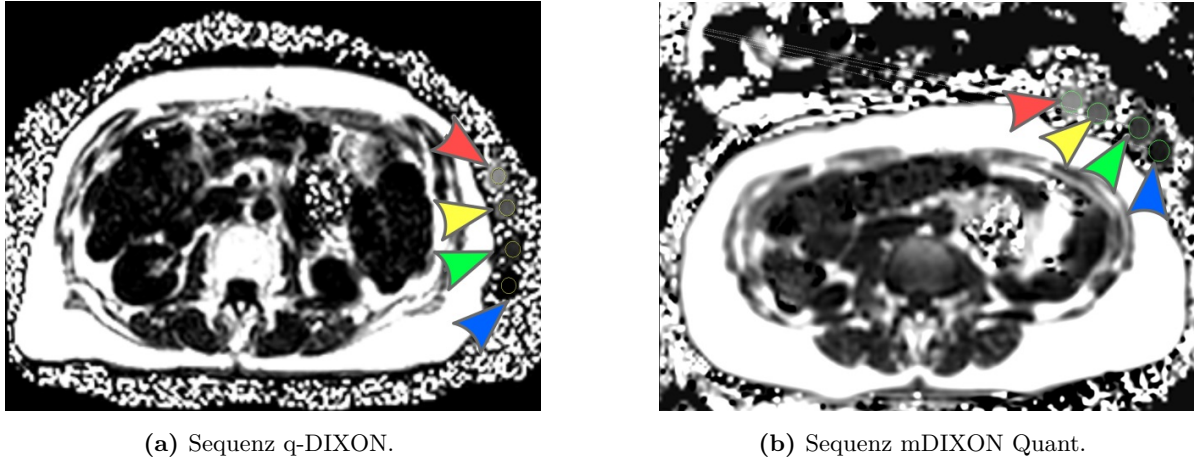


Bild 8: ROI-Analyse, um FF in den einzelnen Röhrcchen mit beiden Sequenzen zu bestimmen. Die Teströhrcchen sind dabei längs caudal-cranial ausgerichtet. Der rote/gelbe/grüne/blau Pfeil zeigt in den Bildern auf ein Röhrcchen mit Referenz-Lipidvolumenanteil von 30/20/10/0 %.

kann. Diese Auswertung soll im Folgenden als 3-Punkt-Dixon-Eigenimplementierung (Dixon_3) bezeichnet werden.

Siemens Sola. Siemens verfolgt mit LiverLab den Ansatz, mithilfe der während der Untersuchung festgelegten ROI und der automatischen Segmentierung der Ganzleber einen voll-automatischen Bericht über die Parameter zu erstellen. Dieser Bericht wird zusammen mit den Bildserien ins PACS gesandt. Aus der QDIXON-Messung werden folgende Serien generiert: Je eine Serie für die sechs aufgenommenen Echos, Wasser- und Fettbild, Karten mit quantitativem Wasser- und Fettanteil, Transversalrelaxationskonstante und -zeit, eine Karte mit der Qualität des modellbezogenen Fits sowie eine sagittale und coronare Multi-planare Rekonstruktion (MPR) des Wasserbildes. Die Fettanteil-Karte ist zusätzlich mit einer Segmentierungskarte verschachtelt, auf der die gesetzte ROI-Position dokumentiert ist. In die FF-Karte wurden kreisförmige ROIs in die Röhrcchen des Fettgürtels eingezeichnet und der Mittelwert von FF in der jeweiligen ROI notiert (siehe hierzu Bild 8a).

Für die QDIXON-Messung wurden die Mittelwerte und Standardabweichungen aus ROI und automatisch segmentiertem Volumen erfasst. Für die Spektroskopien wurden Fettsignalanteil (inkl. angegebenem 95%-Konfidenzintervall) sowie Relaxationskonstanten für Fett- und Wassersignal und den Korrelationskoeffizienten erfasst, welche sich aus Anpassung des zeitlichen Signalverlaufes an das Modell in Gleichung (5) ergeben. Lediglich die Relaxationskonstante des Wassersignals $R_{2,W}$ wurde für die statistische Analyse herangezogen. Für jede Untersuchung wurde zusätzlich das Spektrum des ersten Echos bei $T_E = 12 \text{ ms}$ und ein Graph mit Darstellung des Signal-Zeit-Verlaufes dokumentiert. Die Qualität der automatisierten Segmentierung der Leber wurde in vier Regionen subjektiv mit null bis drei Punkten bewertet: Cranial, Caudal, Peripher und Hilus. Damit ergibt sich eine Maximalpunktzahl von 12. Nach Abschluss der Auswertung wurden diese Daten zur statistischen Auswertung (siehe Abschnitt 2.6) herangezogen.

Philips Achieva. Im Gegensatz zum Produkt von Siemens ist zur Segmentierung und Auswertung der mDIXON Quant-Serien das LiverHealth-Paket als Teil der Auswerte-Workstation ISP notwendig. Hier wurde die Untersuchung in das Modul LiverHealth geladen. Für jeden Patienten musste manuell der Datentyp der Parameterkarten (FF-Karte, R_2^* -Karte, T_2^* -Karte) den Serien zugeordnet werden. Die anschließende semiautomatische Segmentierung der Ganzleber erfolgte anhand einer Wasser- oder T_1 -gewichteten Aufnahme, welche zu den Parameterkarten semiautomatisch registriert werden musste. Die vorgeschlagene Segmentierung wurde ohne weitere Korrektur übernommen, um Vergleichbarkeit zu gewährleisten, kann jedoch angepasst werden. Weiter besteht die Möglichkeit der unterstützten, aber manuellen Einteilung des Lebervolumens in zwei bis neun Untersegmente für die folgende Analyse. Im Anschluss erfolgte ein Ausschluss von Voxeln, für die die Kriterien

$$\begin{aligned} 1 \text{ ms} < T_2^* < 55 \text{ ms} \\ -200 \% < \text{FF} < 55 \% \end{aligned} \tag{19}$$

nicht erfüllt sind. Diese Parameter sind für jede Auswertung individuell abänderbar. Es wurde nach Empfehlung des Herstellers der vordefinierte Wert beibehalten. Nach der Segmentierung wurde eine ROI-Messung analog zum Vorgehen im vorherigen Abschnitt durchgeführt. In die errechnete FF-Karte wurden kreisförmige ROIs in die Röhren des Fettgürtels eingezeichnet und der Mittelwert von FF der jeweiligen ROI notiert (siehe hierzu Bild 8b).

2.4.3. Automatische Segmentierung

Die Softwarelösungen LiverLab und LiverHealth bieten eine vollautomatische Segmentierung der Ganzleber an und können basierend auf dieser Segmentierung einen Bericht mit der parenchymatösen LIC und FF ausgeben. Im Fall von LiverHealth kann die Segmentierung abgeändert werden. Eine explizite Bestätigung der Lebersegmentierung ist ebenfalls erforderlich. Des Weiteren sind bei LiverHealth Untersegmente semiautomatisch einzeichnbar. Das Ergebnis der automatischen Segmentierung wurde mit einem subjektiven Maß (ganzzahliger Score von 0 bis 3) für vier Regionen (Hilus mit Gefäßen, periphere bzw. distale Region, kranial mit dem Dom sowie caudal ins Intestinum) getrennt bewertet. Hierbei steht 0 für einen großvolumigen Ausschluss des Parenchyms der Leber bzw. den Einschluss wesentlicher Teile eines anderen Organs und eventueller Gefäße und kommt somit einem Totalversagen des Algorithmus gleich. Ein Score von 1 steht für partielle Einschnitte, die einen wesentlichen Einfluss auf die Fett- und Eisenbestimmung haben. Dazu gehören bspw. viszerales oder oberflächliches Fett, aber auch große Gefäße im Bereich des Hilus. Ein Score von 2 beschreibt nur nicht-wesentliche Einschlüsse nichtparenchymatösen Gewebes bzw. anderer Organe. Ein Score von 3 wurde bei einer für die Ermittlung der LIC und FF vollkommen geeigneten Segmentierung vergeben. Insgesamt wurde ein Einschluss von Fremdgewebe kritischer gesehen als ein Ausschluss eines Teils des Parenchyms.

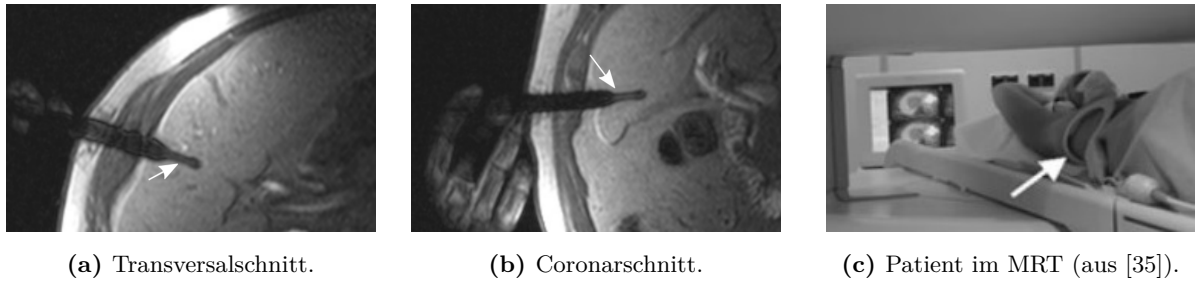


Bild 9: (a,b) Beispiel für eine Dokumentation der Biopsiestelle. Der Biopsiezylinder wird mit einem dünneren Artefakt (weißer Pfeil) dargestellt. Durch die Darstellung in zwei Ebenen lässt sich der Biopsieort eindeutig festlegen. (c) Patient im offenen MRT. Der weiße Pfeil zeigt auf die geplante Biopsiestelle, im Hintergrund ist der Interventionsmonitor mit Darstellung der Schnittbildebene zu sehen [35].

2.5. Biopsieentnahme und Histopathologie

2.5.1. Probenentnahme

An die Bildgebung anschließend wurden den Patienten am offenen MRT der Klinik (Philips Panorama HFO, Philips Healthcare, Best, Niederlande) durch einen Interventionalisten mit über zehnjähriger Erfahrung in MRT-gestützter Biopsie drei Proben aus der Leber entnommen (siehe Bild 9). Dabei erfolgte als erstes die Entnahme aus der fragwürdigen Läsion sowie anschließend aus dem gesunden Parenchym die Entnahme für die Histopathologie und zuletzt die Entnahme einer Probe zur Eisenquantifikation. Für die Biopsie wurde eine 18G-Nadel (Innovative Tomography Products, Bochum, Deutschland) genutzt. Die damit entnommenen Biopsiezylinder hatten, wenn sie nicht fragmentierten, eine Länge von 5 mm. Eventuell auftretende Blutungen und Komplikationen wurden dokumentiert. Die Dokumentation der Biopsiestelle ist durch die MRT-geführte Biopsie mit anschließender Archivierung im PACS gegeben. Die Proben für die histopathologische Untersuchung wurden in Formalin gegeben. Die zur Eisenquantifikation dedizierten Proben wurden mittels Skalpell (Feather® No. 11, Feather® Safety Razor Co., Ltd, Osaka, Japan) in entsprechend vorbereitete Mikroreaktionsgefäße (MRGs) (Sarstedt AG & Co., Nümbrecht, Deutschland) gegeben. Anfangs wurden hierfür MRGs mit einem Volumen von 1,5 mL und einer Masse von etwa 1 g verwendet, wobei sich nach erster Auswertung heraus stellte, dass sich Fehler aus der Tarierung und Trocknung der zur Probe vergleichsweise sehr großen Gefäße ergaben (siehe Abschnitt 2.5.2). Daher wurden im Folgenden MRGs mit einem Volumen von 0,5 mL und einer Masse von etwa 180 mg verwendet und die größeren MRGs für chirurgisch entnommene Gewebeprobe zurückgelegt.

2.5.2. Eisenbestimmung

Literatur. Die LIC wird in der Literatur vorzugsweise durch die Bildung des Verhältnisses von Gesamteisengehalt und Masse der luftgetrockneten Biopsieprobe bestimmt

$$\text{LIC} = \frac{\text{Eisenmasse in der Probe } (m_{\text{Fe}})}{\text{Trockenmasse der Probe } (m_{\text{DW}})}. \quad (20)$$

Die große Mehrheit der Artikel bezieht sich direkt oder indirekt auf eine Veröffentlichung im Lancet aus dem Jahr 1971, in dem Barry und Sherlock [4] die Messung der LIC in Biopsieproben beschreiben. Die Proben wurden hierzu in eisenfreien Behältnissen aufbewahrt. Anschließend wurden sie bei 120 °C getrocknet und die Trockenmasse jeder Probe bestimmt. Nach dem Aufschluss chemischer Bindungen in der Probe mittels konzentrierter Schwefel- und Salpetersäure wurde Bathophenanthrolin-Disulfonat als Chelator hinzugegeben. Er bindet an das freie Eisen und schließt es ein. Die Reaktion führt zu einer eisenkonzentrationsabhängigen Farbänderung, welche mittels Spektrometrie quantifiziert werden kann. Eine Kalibrierung anhand von Referenzlösungen führt zur gesuchten LIC [5]. Barry und Sherlock verglichen die Ergebnisse ihrer Methodik mit einem etablierten Chelat-Test (Diethylentriaminpentaessigsäure), der Auskunft über die Gesamtspeicherung von Eisen im Patientenkörper gibt und fanden eine sehr gute Übereinstimmung.

Die Angabe der LIC wird in der Literatur unterschiedlich gehandhabt. Einheitlich ist der Bezug der Konzentration auf die Trockenmasse des Gewebes. Meist wird der relative Massenanteil in mg/g angegeben (so auch in der grundlegenden Arbeit zur Bestimmung der LIC [4]). Teils sind aber auch Angaben in $\mu\text{mol}/\text{mg}$ üblich. Letztere lassen sich durch die Beziehung

$$[\text{LIC}] = 1 \text{ mg/g} = 17,91 \text{ mmol/g} \quad (21)$$

umrechnen, da die Atommasse von Eisen 55,85 u beträgt [70].

Bestimmung der Probenmasse. Für die Einwägung der Trockenmassen der Biopsieproben wurde ein eigenes Protokoll entwickelt. Zum Einsatz kam hierbei eine elektronische Feinmesswaage vom Typ SC2-0CE (Sartorius Lab Instruments GmbH & Co. KG, Göttingen). Diese wurde vor Beginn der Datenerhebung durch den Deutschen Kalibrierdienst am 6.2.2020 kalibriert. Sie hat eine Beladungsgrenze von 2100 mg und eine Ablesbarkeit von $d = 0,0001 \text{ mg}$. Zahlreiche Faktoren, wie elektrostatische Aufladung, Temperaturschwankungen und mechanische Einflüsse spielen bei der Trockenmassebestimmung eine wesentliche Rolle. Daher wurde eine Standard Operating Procedure bzw. einheitliches Betriebsverfahren (SOP) erarbeitet, die eine zuverlässige Wägung ermöglicht. Nach dieser wurden sowohl die Leermasse als auch die Masse der gefüllten MRGs zweifach bestimmt. Nach der Probenentnahme (siehe Abschnitt 2.5.1) wurde die Probe in einem Trockenschrank (neoLab Migge GmbH, Heidelberg, Deutschland) für 24 Stunden bei 100 °C luftgetrocknet. Der Einfluss der Lufttrocknung auf die Masse eines MRG wurde anhand von sechs MRGs bestimmt. Dazu wurden die Massen dieser MRGs vor und nach der Lufttrocknung jeweils zweifach bestimmt. Die durchschnittliche, minimale und maximale Abweichung aufgrund der Trocknung wurde bestimmt. Die durchschnittliche Änderung der Trockenmasse der leeren MRGs wurde herangezogen, um die Nettomassenänderung aufgrund der Trocknung der Proben zu korrigieren.

Nach abgeschlossener Massebestimmung wurden die MRG verschlossen und mittels Parafilm (Bemis Company, Neenah, USA) abgedichtet, um ein Eindringen von Feuchtigkeit und anderen Stoffen bestmöglich zu vermeiden. Die SOP, nach der die Handhabung und Wägung der Biopsieproben erfolgte, ist in den Bildern 40 bis 42 im Anhang zu finden. Bei einem Patienten wurden zwei Gewebeproben für die Bestimmung der LIC nicht bioptisch, sondern chirurgisch

entnommen. Die Trockenmasse dieser Proben waren dementsprechend etwa hundertfach größer als diejenige der bioptisch entnommenen Proben.

Bestimmung der Eisenmasse. Die Bestimmung der Eisenmasse in der Probe erfolgte durch ein externes Institut (Institut Kuhlmann GmbH, Ludwigshafen). Dazu wurde die Gewebeprobe dem MRG entnommen und im Institut eingewogen. Anschließend wurde sie mittels Salpetersäure (Suprapur[®] 65 %) und Wasserstoffperoxid (30-prozentige Konzentration) versetzt und durch Druckaufschluss in einer Labormikrowelle mineralisiert. Die daraus resultierende klare Lösung wurde in einen Kunststoffmesskolben überführt und zu einer standardisierten Probelösung mit 1-prozentiger Salpetersäure verdünnt. Anschließend erfolgte die Eisenquantifikation mittels Inductively coupled plasma mass spectrometry bzw. Massenspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma (ICP-MS). Diese Technik kann aufgrund ihrer zugrundeliegenden Methodik Nachweisgrenzen von 200 µg/L erreichen [53]. Genutzt wurde ein Agilent ICP-MS 7900 mit Autosampler, integriertem Massenspektrometer und der nötigen Auswertesoftware. Letztere bestimmt den Gesamteisengehalt anhand mehrerer zuvor hergestellten und vermessenen Kalibrierungslösungen in einer Verdünnungsreihe. Der Analysenbefund enthält die Eisenkonzentration der Probe sowie den Gesamteisengehalt und die Einwaage. Die Übereinstimmung der durch uns bestimmten Massen mit denen durch das Insitut Kuhlmann bestimmten wurde untersucht.

Die MRGs wurden in zwei Gruppen nach ihrem Nennvolumen eingeteilt. Die Massen der zu Beginn genutzten MRGs mit einem Nennvolumen von 1,5 mL streuten aufgrund von Einflussfaktoren wie statischer Aufladung und Temperaturschwankungen zu sehr zwischen den jeweiligen Erst- und Zweitmessungen trotz der vorgenannten Vorkehrungen. Ab der siebten Probe wurden daher MRGs mit 0,5 mL Nennvolumen für Biopsien genutzt. Zwei Proben wurden chirurgisch entnommen. Sie wurden aufgrund ihrer Größe in ein 1,5 mL-MRG gegeben. Durch die etwa 50-fach höhere Nettomasse dieser Proben sind die vorgenannten Schwankungen in der Bruttomasse zwischen den Messungen nicht bedeutsam (siehe die nachfolgende Fehleranalyse).

Fehleranalyse der LIC. Aus der linearen Fehlerfortpflanzung von Gl. (20) leitet sich direkt der Fehler der LIC ab zu

$$\Delta \text{LIC} = \left| \frac{\partial \text{LIC}}{\partial m_{\text{DW}}} \right| \Delta m_{\text{DW}} + \left| \frac{\partial \text{LIC}}{\partial m_{\text{Fe}}} \right| \Delta m_{\text{Fe}} \quad (22a)$$

$$= \frac{m_{\text{Fe}}}{m_{\text{DW}}^2} \Delta m_{\text{DW}} \left[+ \frac{m_{\text{Fe}}}{m_{\text{DW}}} \Delta m_{\text{Fe}} \right]. \quad (22b)$$

Die Fehlergröße für die Eisenmasse ist nicht bekannt, da sie uns vom externen Institut vorgespielt wird. Der entsprechende Term wurde in eckigen Klammern notiert und muss in der folgenden Betrachtung vernachlässigt werden.

2.5.3. Histopathologische Untersuchung

Die extraläsionale Leberparenchymprobe wurden durch das Institut für Pathologie im Universitätsklinikum histopathologisch untersucht. Im Bericht über die Begutachtung mit kritischer

Stellungnahme werden drei Parameter im semiquantitativen Scoringsystem [66, 61] erfasst:

1. Der hepatozelluläre Grad der Siderose (0-4)
2. Der Steatosegrad aus dem NASH Clinical Research Network (CRN) (0-3)
3. Die prozentuale Hepatozytenverfettung FF^H

Die Wertebereiche der Scores werden in Klammern angegeben. Die hepatozelluläre Siderose wird dabei in fünf Grade eingeteilt: 0 bedeutet maximal eine kaum sichtbare Verfärbung in Berliner-Blau-Färbung, 1 eine milde Siderose (wahrnehmbar bei einer Vergrößerung von 250:1) und 2 eine mäßige Siderose mit leicht sichtbaren Hämosideringranula (bereits ab einer Vergrößerung von 100:1). Für den Score 3 (schwere Siderose) müssen Hämosideringranula bei 25-facher Vergrößerung sowie ein portozentraler Gradient sichtbar sein. Für den maximalen Score (4, Eisenexzess) müssen Hämosideringranula bereits mit geringer Vergrößerung sichtbar und der portozentrale Gradient aufgehoben sein [66, 87]. Der Verfettungs- bzw. Steatosegrad aus dem NASH CRN ist nicht gleich dem nichtalkoholischen Aktivitäts-Score (NAS), der eine Summe aus dem Verfettungsgrad, dem Grad der azinären Entzündung und der hepatozellulären Ballonierung darstellt. Der Steatosegrad teilt das Vorliegen einer Steatose nach den Kriterien <5% als Grad 0, 5-33% als Grad 1, 33-66% als Grad 2 und >66% als Grad 3 [61] ein. Die Angabe der prozentualen Leberzellverfettung bezieht sich hierbei ausschließlich auf den relativen Anteil der verfetteten Hepatozyten im Gewebe und soll im Folgenden FF^H genannt werden. Unter der Annahme, dass die hepatozellulären Fettvakuolen die primären Fettspeicher im Lebergewebe sind, liegt der histopathologisch ermittelte Wert also grundsätzlich über dem Volumenfettanteil im Gesamtgewebe der Leber. Im Unterschied zur im vorigen Abschnitt abgehandelten Ermittlung der LIC spielt beim Siderose-Score nur der hepatozelluläre Eisenbefall eine Rolle. Eine Kupferzellsiderose oder der Befall anderer Zelltypen geht in den histopathologischen Siderose-Score nicht ein, wird in der kritischen Stellungnahme allerdings deskriptiv dargelegt.

2.6. Statistische Methodik

Die gesamte statistische Analyse erfolgte in R (Version 4.0.3 vom 10.10.2020) mit den zusätzlichen Paketen `car` (Version 3.0-10), `ggplot2` (Version 3.3.2), `ggpubr` (Version 0.4.0), `tikzDevice` (Version 0.12.3.1), `gap` (Version 1.2.2), `dplyr` (Version 1.0.2), `DescTools` (Version 0.99.40) und `units` (Version 0.6-7) [55].

Da die Erhebung der Daten nur jeweils ein mal pro eingeschlossenem Patienten erfolgte und kein Segment der Leber bevorzugt biopsiert wurde, kann von einer Unabhängigkeit der Observierungen ausgegangen werden. Alle statistisch untersuchten Variablen wurden prospektiv erfasst. Die erhobenen Merkmale haben die in Tabelle 2 genannten Skalenniveaus. Eine Übersicht der erhobenen Messdaten ist in Bild 10 zu finden. Bei allen Vergleichsuntersuchungen von gepaarten Messwerten in Voxeln und ROIs wurden diejenigen Wertepaare von der statistischen Analyse ausgeschlossen, bei denen die ROI-Positionen beider Messpositionen mehr als 4 cm entfernt ist. Alle intraindividuell verknüpften Werte setzen voraus, dass diese der gleichen Region (d. h. Ort der Biopsie, ROI in der bildbasierten Analyse, Voxelposition in der

Spektroskopie) im Parenchym entspringen. Andernfalls wurden die Werte nicht für die statistische Analyse herangezogen. Für die spektroskopiebasierte Quantifikation wurde vom Hersteller keine Standardabweichung, sondern nur das Bestimmtheitsmaß aus der Analyse nach Gl. (5) angegeben. In diesem Fall wurden ermittelte Werte mit einem Bestimmtheitsmaß ($r^2 < 0,98$) zusätzlich markiert.

Untersuchung der Beziehung zu Referenzgrößen Bei gegebenem Goldstandard (bspw. Steatosegrad, FF^{H} oder LIC) oder einer als Referenz angenommenen Größe (bspw. der Siderose-Score) wurde zunächst die Spearman'sche Rangkorrelation ρ bestimmt. Mittels eines Permutationstests wurde zudem die Nullhypothese $H_0 : \rho = 0$ gegen die Alternative $H_1 : \rho \neq 0$ geprüft. Bei Unterschreiten eines Signifikanzniveaus von $p = 0,05$ wurde die Nullhypothese verworfen und der Zusammenhang als signifikant gewertet. Werte für $p < 0,001$ wurden als hoch signifikant bewertet. Anschließend wird aus einer Korrelationsanalyse nach Pearson das Bestimmtheitsmaß (d. h. das Quadrat des Bravais-Pearson-Korrelationskoeffizienten r^2) bestimmt. Der hierbei untersuchte Zusammenhang wird durch die Gleichung $y = bx + a$ beschrieben, wobei y die abhängige und x die unabhängige (Referenz-)Größe darstellt. b ist demnach der Anstieg und a der Ordinatenabschnitt der so definierten Ausgleichsgeraden in den zugehörigen Graphen. Die p -Werte für die Nullhypothese, dass der Ordinatenabschnitt bzw. der Anstieg verschwindet, wird ebenfalls angegeben. Auch hier wird das Signifikanzniveau bei $p < 0,05$ festgelegt und die Nullhypothese abgelehnt, d. h. der Ordinatenabschnitt bzw. der Anstieg ist von Null verschieden. Für die untersuchten MR-basierten Messmethoden wird in der Literatur ein monotoner (und linearer) Zusammenhang zwischen FF und FF^{H} sowie zwischen $R_2^{(*)}$ und LIC beschrieben. In diesen Fällen wird der entsprechende Ordinatenabschnitt und Anstieg angegeben, um einen Literaturvergleich zu ermöglichen.

Methodenvergleiche. Die Magnetresonanz (MR)-basierten Quantifizierungslösungen wurden mit zwei Ansätzen verglichen. Der erste Ansatz prüft, ob die MR-basierten Methoden gleiche Ergebnisse bezüglich einer bioptisch ermittelten Referenzgröße liefern. Der zweite Ansatz soll die Ergebnisse der MR-Methoden direkt miteinander vergleichen.

Für den ersten Ansatz wurde der Chow-Test [16] genutzt. Er vergleicht den Anstieg der zuvor ermittelten Ausgleichsgeraden nach Pearson. Die Nullhypothese lautet hierbei, dass die Anstiege beider Regressionsgeraden gleich sind. Bei einem Signifikanzniveau von $p < 0,05$ wird die Nullhypothese verworfen und es liegen signifikant unterschiedliche Anstiege vor.

Für den zweiten Ansatz des direkten Vergleiches der MR-basierten Lösungen miteinander wurden Analysen nach Bland und Altman [6] durchgeführt. Sie schlugen 1990 vor, die Differenzen über dem Mittelwert beider Methoden für jeden gepaarten Messwert aufzutragen. Zusätzlich werden drei Horizontalen in den Graphen mit aufgenommen. Sie sind definiert durch den Mittelwert der Differenzen (systematischer Unterschied) sowie den Mittelwert der Differenzen minus und plus dem 1,96-fachen der Standardabweichung der Differenzen (unteres und oberes Übereinstimmungsniveau). Nach Aussagen der Autoren eignet sich dieses Vorgehen besser als Korrelationsanalysen, um zu beurteilen, ob zwei Methoden in der Praxis als äquivalent zu betrachten sind.

2. Material und Methoden

Eine Konkordanz-Korrelationsanalyse nach Lawrence Lin wurde ebenfalls durchgeführt und der entsprechende Koeffizient

$$\varrho_c = \frac{2\sigma_{12}}{\sigma_1^2 + \sigma_2^2 + (\mu_1 - \mu_2)^2} \quad (23)$$

zusammen mit der Offset- und Skalierungs-Abweichung u und v

$$\begin{aligned} u &= \frac{\mu_1 - \mu_2}{\sqrt{\sigma_1\sigma_2}} \\ v &= \frac{\sigma_1}{\sigma_2} \end{aligned} \quad (24)$$

angegeben [65]. In den Gleichungen ist σ_{ij} die Kovarianz der Verteilungen i und j und μ_i der Erwartungswert der Verteilung i der Messwerte. Während der Pearson-Korrelationskoeffizient ein Maß für die Abweichungen der Observierungen von der Ausgleichsgeraden ist, zeigt ϱ_c die Abweichung von der identischen Abbildung an. Letztere ist definiert durch $y = x$, d. h. den Anstieg 1 und den Ordinatenabschnitt 0 und soll fortan mit *Identität* abgekürzt werden. Entsprechend ist ϱ_c erst ± 1 , wenn Erwartungswerte und Varianzen beider Zufallsvariablen gleich *und* der Pearson-Korrelationskoeffizient ± 1 ist. Dies heißt, dass sie nicht zueinander verschoben sind und auch keinen unterschiedlichen Anstieg aufweisen.

Die Relaxationskonstante ist nach Storey *et al.* bei $B_0 = 3\text{ T}$ doppelt so groß wie bei $B_0 = 1,5\text{ T}$ (siehe hierzu auch *Parametrische Bildgebung* in Abschnitt 2.3.2). Dies wurde geprüft, indem die ermittelten Relaxationskonstanten bei $B_0 = 3\text{ T}$ halbiert und mittels obiger Methoden mit denjenigen bei $B_0 = 1,5\text{ T}$ verglichen wurden.

Bestimmung des Einflusses von erhöhter Eisenkonzentration auf die Fettbestimmung. Die mittels der Eigenimplementationen Dixon₂ und Dixon₃ in MeVisLab ermittelten Ergebnisse wurden übereinander dargestellt. Eine biopsie- wie auch bildgebungstechnisch ermittelte Siderose in der untersuchten ROI wurde im Graph hervorgehoben. Dabei wurde eine histologisch bestätigte Siderose ab dem Score 2 (mäßige Siderose) definiert und eine bildgebungstechnisch bestätigte Siderose ab $R_2^* > 75\text{ 1/s}$ bei 1,5 T bzw. $R_2^* > 150\text{ 1/s}$ bei 3 T. Für die letztere Gruppe wurde der durchschnittliche, minimale und maximale Unterschied zwischen den FF-Ergebnissen bei beiden Feldstärken bestimmt.

Eisenquantifikation. Die Trockenmasse ist eine wesentliche, potentiell fehlerbehaftete Einflussgröße für die LIC. Daher wurde die durch das externe Institut bestimmte Trockenmasse über der eigenbestimmten Masse dargestellt. Beide Größen sollten idealerweise gleich sein, d. h. die Punkte auf einer Gerade liegen, die durch die Identität definiert ist. Der Zusammenhang wurde mit den Methoden nach Pearson untersucht, d. h. die Signifikanz und der Betrag des Ordinatenabschnitts und des Anstiegs analog zu den vorgenannten Analysen bestimmt. Ausreißer wurden festgestellt und von der weiteren Auswertung ausgeschlossen. Da die chirurgisch entnommenen Proben aufgrund ihrer um Größenordnungen größeren Masse die Statistik dominieren, wurden sie im Anschluss ausgeschlossen und die statistische Analyse wiederholt. Mit den großen MRGs wurde ebenso entsprechend vorgegangen.

2. Material und Methoden

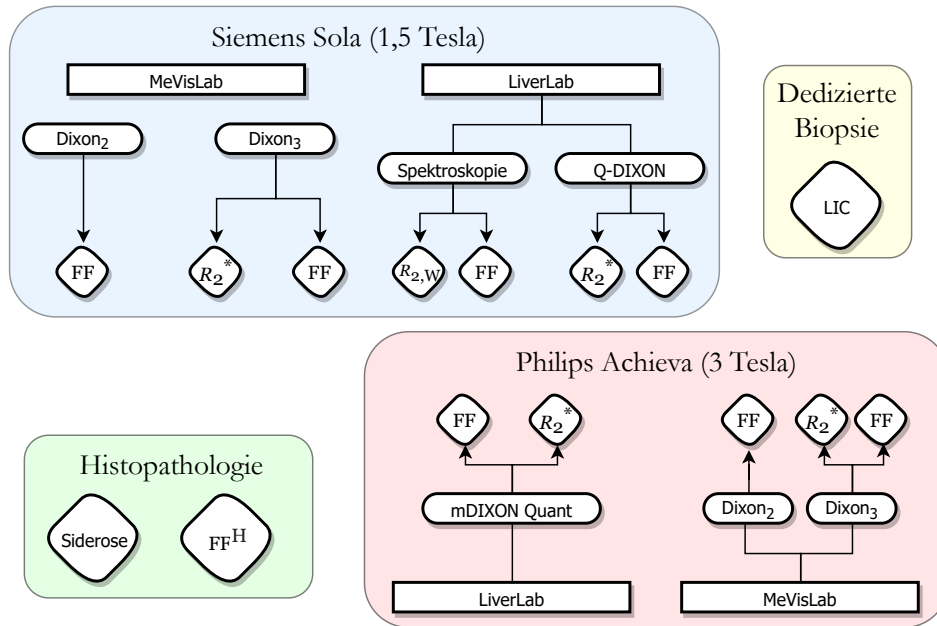


Bild 10: Übersicht der erhobenen Werte für einen Patienten. Der Patient nahm an den MR-Messungen in nicht festgelegter Reihenfolge innerhalb eines Tages teil. Innerhalb von drei Werktagen erfolgte die Biopsie am offenen MRT. Eine Probe aus dem Parenchym wurde der Histopathologie überlassen und eine weitere diente der LIC-Bestimmung. FF = Volumenfettanteil und FF^H = Prozentuale Verfettung der Hepatozyten.

Tabelle 2: Übersicht über erfasste Daten. Insgesamt wurden 28 Patienten eingeschlossen.

Erfasste Größe	Skalenniveau	n
<u>Aus Histopathologie</u>		
Steatosegrad	Ordinal	25
FF ^H	Metrisch	25
Siderose-Score	Ordinal	25
<u>Aus dedizierter Eisenbiopsie</u>		
LIC	Metrisch	22
<u>MRT-Untersuchung</u>		
FF (Dixon ₂ und Dixon ₃ bei 1,5 T/3 T)	Metrisch	28/26
FF (CSI-basiert, LiverLab/LiverHealth)	Metrisch	28/21
FF (Spektroskopie)	Metrisch	25
R ₂ [*] (CSI-basiert, LiverLab/LiverHealth)	Metrisch	28/21
R ₂ (Spektroskopie, LiverLab HISTO)	Metrisch	25
Segmentierungsqualität (LiverLab/LiverHealth)	Ordinal	28/19

Segmentierungsqualität. Für die vier benannten Regionen (siehe Abschnitt 2.4.3) wurde die Anzahl des Totalversagens (Score = 0) und der fehlerfreien Segmentierung (Score = 3) festgestellt sowie der Median als auch der arithmetische Mittelwert der vergebenen Scores berechnet. Ebenso wurde mit der intraindividuellen Summe aller Scores vorgegangen. Bei den gegebenen subjektiven Scores kann nicht von einer metrischen Größe mit der Bedingung, dass die Abstände zwischen den Bewertungsniveaus gleich sind, ausgegangen werden. Daher wurde ein Wilcoxon-Mann-Whitney-Test zum Test auf Gleichheit der Scores bei beiden Softwarelösungen für jede Region und die Gesamtsumme aus allen Regionen durchgeführt. Der Test ist auch als U-Test bekannt und ist parameterfrei, setzt also keine spezielle Verteilungsform voraus. Als Nullhypothese wird die Gleichheit der erreichten Punktzahl festgelegt. Sie wird abgelehnt, wenn das Signifikanzniveau von $p = 0,05$ unterschritten wird.

3. Ergebnisse

3.1. Form der Berichterstellung durch die Softwarelösungen.

LiverLab. Wie in Abschnitt 2.4.2 erwähnt, ist der Auswerteprozess vollautomatisiert und eine Einflussnahme nicht möglich. Bild 35 im Anhang stellt einen beispielhaften Ergebnis-Report von LiverLab dar, der aus den Bilddaten der QDIXON-Sequenz und den Spektroskopiedaten erstellt wurde. Im automatisch erstellten Bericht der q-DIXON wird ein je ein Mittelwert und eine Standardabweichung für FF und R_2^* angegeben. Dies erfolgt sowohl für die automatisch segmentierte Leber als auch für die während der Untersuchung selektierte ROI. Die Zahl der eingeschlossenen Voxel wird ebenso ausgegeben und lag in den Ergebnissen immer über 190. Auf einer zweiten Seite erfolgt die Darstellung zweier Histogramme für die Parameter FF und R_2^* . In einem Fall konnte die ROI neu nach der Messung positioniert und manuell im PACS ausgemessen werden, da sie in einem großen Gefäß fehlplatziert war. Die Werte aus dem automatisch erstellten Bericht bleiben jedoch erhalten. Die vollautomatische Segmentierung der Leber lässt sich nicht weiter beeinflussen, so dass bei Fehlschlägen der Segmentierung die Gesamtleber mit der Nutzung von Drittsoftware manuell neu segmentiert werden muss. Dies kam ein Mal vor. In den spektroskopiebasierten Berichten erfolgt die Angabe von FF und $R_{2,W}$. Weiterhin wird dort das 95%-Konfidenzintervall für FF und das Quadrat eines nicht näher spezifizierten Korrelationskoeffizienten für $R_{2,W}$ angegeben. Des Weiteren werden die Signalintensitäten für alle Echos für Fett und Wasser sowie die echozeitabhängige FF für alle Echozeiten dargestellt. Auch für das Fettsignal erfolgt eine Angabe des ermittelten $R_{2,F}$ mit zugehörigem Quadrat des Korrelationskoeffizienten (Bild 35c). Auf einem zusätzlichen Bild folgt abschließend die Darstellung des Spektrums für die erste Echozeit sowie das relative Signal von Fett und Wasser im Zeitverlauf (siehe Bild 35d). Farbliche Skalen in den Berichten erleichtern dem befundenden Arzt, die Ergebnisse einzuordnen. Die grün bzw. blau gekennzeichneten Bereiche reichen bis $R_2^* < 60 \text{ 1/s}$, $FF < 7 \%$, $R_{2,W} < 30 \text{ 1/s}$. Nähere Informationen über Normwerte und deren Grenzen zur Siderose gehen aus dem Bericht nicht hervor. Es kam bei einem Patienten mit extremer Siderose dazu, dass die Skala überschritten wurde (siehe Abschnitt 3.5). Die Visualisierung der vollautomatischen Lebersegmentierung ist in die Bildserie der QDIXON-Sequenz verschachtelt. Beim Blättern durch den Datensatz sieht man daher alternierend die annotierte Schicht mit Segmentierung (als -Bild) und die DICOM-konforme Darstellung der nicht-annotierten Schicht. Nur in den monochromen DICOM-Bildern sind ROI-Analysen möglich.

LiverHealth. Nach dem in Abschnitt 2.4.2 beschriebenen Vorgehen zur Auswertung zeigt Bild 34 im Anhang R_2^* - und FF-Parameterkarten. Hier steht eine ellipsenförmige ROI-Funktion zur Verfügung. Die Erstellung eines umfassenden Berichts zum Export ist nicht möglich. Lediglich Teilergebnisse lassen sich exportieren. Dazu zählen Werte für FF, R_2^* , T_2^* inklusive ihrer Standardabweichung sowie die Volumina der Leber und ihrer ggf. definierten Untersegmente. Eine Histogrammdarstellung erfolgt ausschließlich im Segmentierungsmodul der Applikation. Die weitere Dokumentation erfolgt über die Definition von Schlüsselbildern und anschließendem

3. Ergebnisse

Export ins PACS. Aufgrund dieses Arbeitsablaufs gibt es auch keine persistente Dokumentation der Lebersegmentierung. Sie wird bei jedem Öffnen der Untersuchung neu durchgeführt und kann sich ggf. durch ein Softwareupdate ändern.

MeVisLab-Eigenimplementierung. In der Dixon₃-Eigenimplementierung lassen sich Parameterkarten für R_2^* , T_2^* und FF auf Basis der vier gemessenen Echos ausgeben. Als nichtparametrische Datensätze lassen sich weiter das Fett- und Wasserbild sowie die OP-/IP-Bilder ausgeben. Bild 36 im Anhang zeigt die Ergebnisse einer ROI-Analyse in der Eigenimplementierung. Als ROI-Formen lassen sich Polygone, Polygon-Splines und Rechtecke definieren. ROIs lassen sich in einem ROI-Manager verwalten. Die Helligkeit und der Kontrast als Teil der Fensterung lassen sich zwischen Fett- und Wasserbild und dem In- und Oppose-Bild synchronisieren. Dies gilt für das Fett- und Wasserbild sowie für das OP/IP-Bild, so dass sich diese leichter vergleichen lassen. Der modulare Ansatz von MeVisLab (siehe Bilder 38 bis 39) ermöglicht eine Modifikation der Rekonstruktionspipeline mit instantaner Rückmeldung in den rekonstruierten Bildern, ohne fortgeschrittene Kenntnisse in einer Programmiersprache vorauszusetzen. Es besteht derzeit noch keine Exportmöglichkeit und eine automatisierte Segmentierung wird nicht angeboten. Eine Anbindung an das PACS zur Dokumentation der erstellten Bildserien erfolgte im Rahmen dieser Arbeit nicht, ist in MeVisLab aber in wenigen Schritten implantierbar.

3.2. Fettquantifizierung

3.2.1. Histologische Stellungnahme

In fünf Proben wurde ein Steatosegrad von 0, in zwölf Proben von 1 festgestellt. In zwei Fällen wurde der Score 2 und vier Mal der Score 3 vergeben. Repräsentative Schnitte für die angewandte Graduierung nach Brunt *et al.* [10] sind in Bild 11 zu finden. In Bild 11 b ist zu erkennen, dass die Verteilung der Fettvakuolen in einigen Fällen inhomogen ist. Ein Fall mit besonders inhomogener Verfettung und diskrepantem Ergebnis im Vergleich zwischen der MRT- und histologiebasierten Methoden ist in Bild 14 dargestellt.

3.2.2. Fettquantifizierung durch CSI am *in-vitro*-Modell

Bei $n = 18$ Patienten wurde der Lipidgürtel in beiden MRTs angelegt und mitgemessen. Bei zwei Patienten war eine Auswertung in LiverHealth aufgrund technischer Probleme nicht möglich. Der Gürtel befand sich grundsätzlich am Rand des FoV. Während alle 68 ROIs in der q-DIXON im Randbereich immer auswertbar waren, ist dies in der mDIXON Quant in 13 von 60 ROIs nicht der Fall. Hier kam es zu offensichtlich falschen Werten, die um Größenordnungen abwichen sowie unterschiedlichen Werten in unterschiedlichen Schichten. In Bild 12 sind die ermittelten Werte für FF in den vier ROIs, jeweils für die Sequenzen q-DIXON und mDIXON Quant, dargestellt. Für ROI 1 und 2 konnte hier ein signifikanter Unterschied zwischen den Sequenzen festgestellt werden. In allen Fällen liegt der Mittelwert und das untere Quartil über dem Lipidanteil, so dass von einer Überbestimmung von FF ausgegangen werden kann. Der Mittelwert liegt durchschnittlich 12 % (LiverLab) bzw. 20 % (LiverHealth) über dem am

3. Ergebnisse

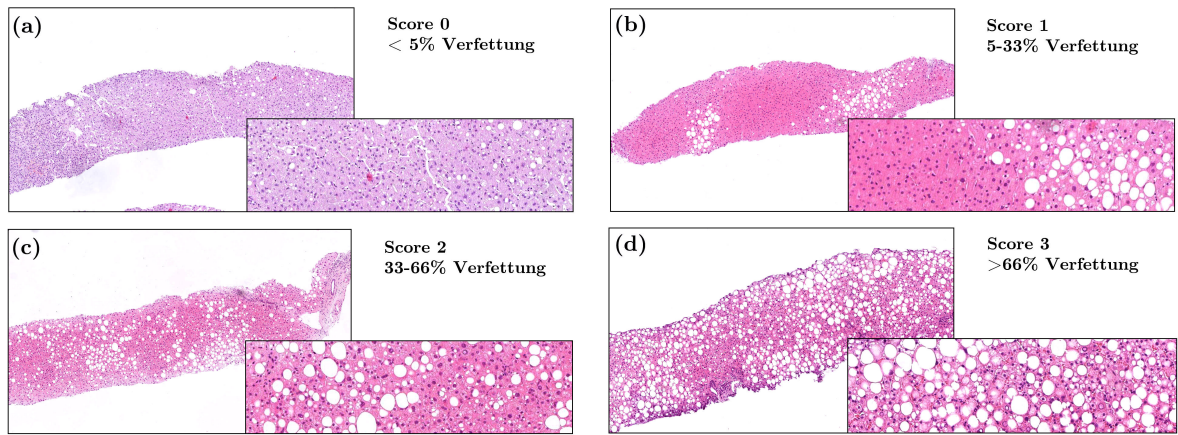


Bild 11: Darstellung repräsentativer Schnitte der Biopsiezylinder für jeden vergebenen Steatosegrad nach NASH CRN [10]. Fettvakuolen werden hier weiß dargestellt. Der Anteil der Zahl der verfetteten Hepatozyten an allen Hepatozyten entscheidet über die prozentuale Verfettung und dieser führt zum vergebenen Score. Das Verhältnis der Fläche von Fettvakuolen zur Gesamtfläche ist nicht untersucht worden.

Vial angegebenen Wert. Aus der Konkordanz-Korrelationsanalyse ergibt sich ein Konkordanz-Korrelationskoeffizient von $\rho_c = 0,94$ für die Ergebnisse aus LiverHealth und $\rho_c = 0,98$ für LiverLab.

3.2.3. Vergleich Kommerzieller Lösungen mit Histologisch Ermittelte Hepatozytenverfettung

Erfasste Daten. Zur Auswertung kommen 25 Steatosegrade und dazugehörige prozentuale Fettwerte aus der Histologie, 25 (20) Werte aus der ROI-Analyse der bildgebungs-basierten Lösungen LiverLab (LiverHealth) sowie 16 Fettwerte aus der Spektroskopie, bei denen das Voxel an der Biopsiestelle unter Aussparung von Gefäßen und Fetträndern positioniert wurde. Für den Vergleich der bildgebungs-basierten Lösungen mit dem histologischen Steatosegrad kommt eine Schnittmenge von 23 (19) Wertepaaren für die LiverLab (LiverHealth) in Frage, für die Spektroskopie sind es 15 Wertepaare mit korrekter Voxelposition. Aus den Auswertungen der eigenimplementierten 2- und 3-Punkt DIXON-Methode liegen 28 (26) für das Philips Achieva (Siemens Sola) Ergebnisse vor. In Kombination mit einem erhobenen LIC-Wert ergeben sich 20 (19) Wertepaare.

CSI-basierte Fettquantifizierung. Für LiverLab ergibt sich der Spearman'sche Rangkorrelationskoeffizient zu $\rho = 0,81$ und $p < 1 \cdot 10^{-5}$, für LiverHealth ist $\rho = 0,69$ und $p < 0,005$. Da die Steatosegrade und die prozentualen Angaben für die histologische Untersuchung der Gewebeprobe gleich angeordnet sind, sind die Werte für ρ und p identisch. Eine signifikante positive Rangkorrelation zwischen der Anordnung der Wertepaare ist damit erwiesen.

Aus der linearen Regression ergibt sich ein signifikanter ($p < 1 \cdot 10^{-5}$) Anstieg, jedoch kein signifikanter Ordinatenabschnitt ($p > 0,2$) für beide Herstellerlösungen, sowohl unter Nutzung des Steatosegrades als auch der prozentualen Angabe der Leberzellverfettung FF^H als Refe-

3. Ergebnisse

Tabelle 3: Statistische Parameter im *in-vitro*-Modell. LA = Lipidvolumenanteil im Phantom. Die p -Werte beziehen sich auf den Wilcoxon-Rangsummentest wie in Bild 12, wurden jedoch zusätzlich mit der Methode nach Bonferroni-Holm korrigiert.

Röhrchen	LA in %	ROI	n	$\overline{FF} \pm \sigma$ in %	$\left(\frac{\overline{FF}}{LA}\right) - 1$ in %	p
1	30	QD1	17	$33,93 \pm 0,92$	+ 13	0,0178
		mDQ1	11	$35,0 \pm 2,3$	+ 17	
2	20	QD2	17	$21,60 \pm 0,92$	+ 8	0,0043
		mDQ2	12	$24,2 \pm 2,2$	+ 21	
3	10	QD3	17	$11,44 \pm 0,63$	+ 14	0,085
		mDQ3	11	$12,1 \pm 2,3$	+ 21	
4	0	QD4	17	$0,92 \pm 0,71$	/	0,41
		mDQ4	11	$1,8 \pm 1,8$	/	

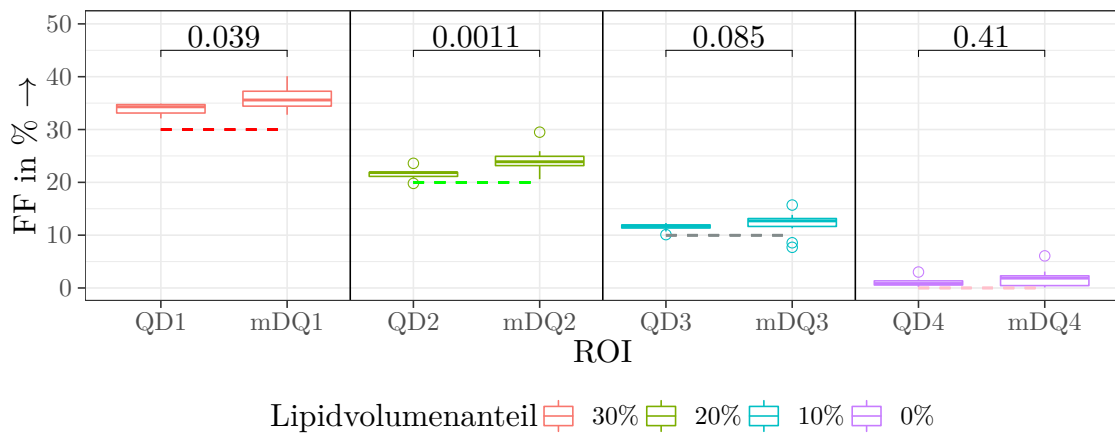


Bild 12: Boxplots der ermittelten Fettanteile in den vier Röhrchen für die Sequenzen QD = q-DIXON und mDQ = mDIXON Quant. Im Boxplot gibt der dicke Strich den Median und die Box die Grenze zwischen erster und dritter Quartile an. Die senkrechten Antennen haben die Länge des 1,5-fachen der Interquartilllänge. Damit entsprechen sie dem 95%-Konfidenzintervall. Ausreißer werden mit einem o dargestellt. Die Zahl in der ROI-Bezeichnung auf der Abszisse steht für die ausgemessene ROI-Nummer in Tabelle 3. Gestrichelt ist die Angabe des Lipidvolumenanteils auf dem jeweiligen Vial. Das Ergebnis des Wilcoxon-Rangsummentests zwischen den gepaarten Stichproben ist oberhalb der Boxplots angegeben.

3. Ergebnisse

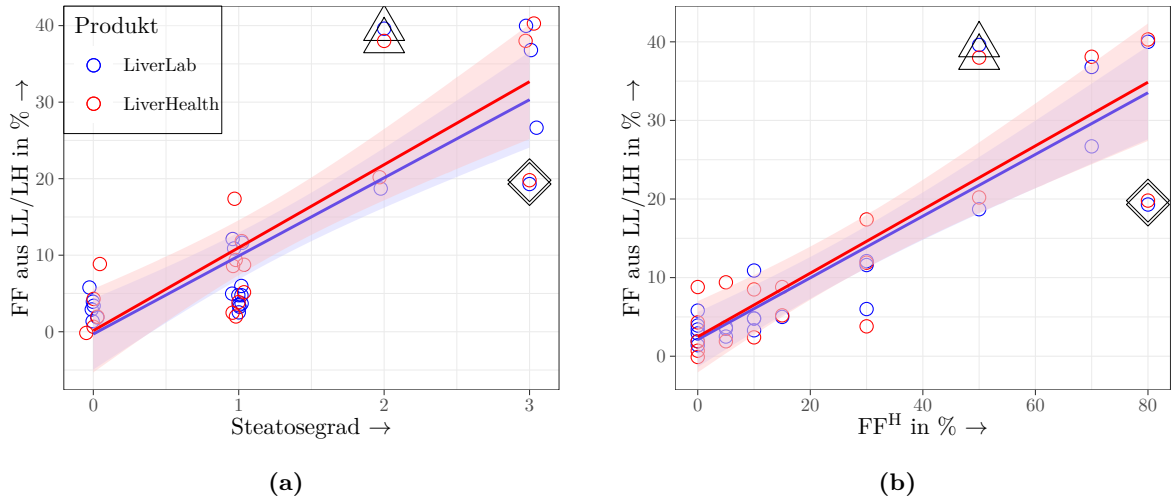


Bild 13: Vergleich des Fettanteils aus der CSI-Bildgebung mit dem histopathologisch bestimmten (a) Steatosegrad und (b) Verfettungsanteil der Hepatozyten als Referenz. Die 95%-Konfidenzintervalle aus den Unsicherheiten von Anstieg und Ordinatenabschnitt nach Pearson sind als Schattierungen dargestellt. Die mit Dreiecken markierten Punkte gehören zur Biopsieprobe in Bild 14 und haben eine nachweislich inhomogene Verfettung. Die mit Rauten markierten Punkte entstammen einem stark fragmentierten Biopsiezylinder.

renzgröße. In Bild 13 ist der Zusammenhang dargestellt. Der Anstieg bzgl. der prozentualen Hepatozytenverfettung beträgt $b = 0,391 \pm 0,045$ (LiverLab) bzw. $b = 0,403 \pm 0,066$ (LiverHealth), d.h. eine histologisch bestimmte Leberzellverfettung von 100% entspräche dem linearen Modell nach einem Protonendichte-basierten Fettanteil von etwa 40%. Der zum Vergleich der Bildgebungen durchgeführte Chow-Test ergibt mit dem Steatosegrad $p = 0,85$. Mit FF^H als Referenz ergibt er $p = 0,95$. Damit liegen keine signifikanten Unterschiede in den Anstiegen vor.

Spektroskopie. Die Spektroskopie-Methode bedingt prinzipiell eine Festlegung der Voxelposition während der Untersuchung, die sich *a posteriori* nicht korrigieren lässt. LiverLab schlägt hierbei eine Positionierung vor, die aktiv korrigiert werden muss, damit sie der Biopsiestelle entspricht. Eine Fehlpositionierung des Voxels kam in sechs Fällen vor. Die entsprechenden Wertepaare wurden von den statistischen Betrachtungen ausgenommen, sind aber in Bild 15 gesondert dargestellt. Die entsprechenden Voxel enthielten zumeist Viszeral- oder Subkutanfett, weshalb sie erhöhte Fettanteile aufweisen.

Der Spearman'sche Rangkorrelationskoeffizient ergibt sich für die Spektroskopie mit dem Steatosegrad als Referenz (bzw. mit prozentualer Angabe) zu $\rho = 0,79$ und $p < 1 \cdot 10^{-4}$ ($\rho = 0,83$ und $p < 1 \cdot 10^{-4}$). Ein hoch signifikanter Zusammenhang zwischen der Anordnung der Wertepaare ist damit für alle Wertepaare erwiesen.

Aus der angewandten linearen Regression ergibt sich ein hoch signifikanter Anstieg ($p < 1 \cdot 10^{-5}$), jedoch kein signifikanter Ordinatenabschnitt ($p > 0,85$), sowohl unter Nutzung des Steatosegrades als auch der prozentualen Angabe der Leberzellverfettung als Referenzgröße.

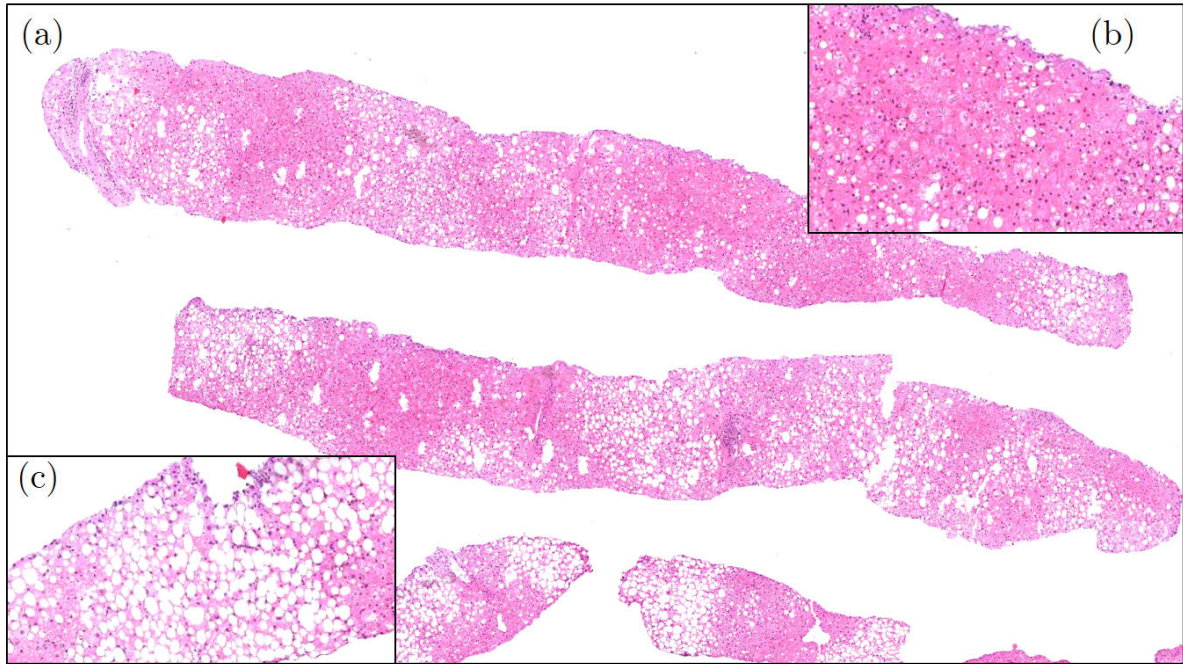


Bild 14: Histologischer Schnitt der Biopsieprobe an der Stelle der in den Bildern 13a und 15 eingekreisten Datenpunkte. (a) Inhomogene makrovesikuläre Verfettung längs der fragmentierten Probe. (b) Beispielhafte geringgradige Verfettung in einem Ausschnitt. (c) Hochgradige Verfettung in einer anderen Region der gleichen Probe.

ße. Der Anstieg bzgl. der prozentualen Referenz beträgt $b = 0,38 \pm 0,05$, d.h. eine histologisch bestimmte Leberzellverfettung von 100% entspräche dem linearen Modell nach einem Protonendichte-basierten Fettanteil von etwa 38%. In Bild 15 ist der Zusammenhang dargestellt. Der Chow-Test ergibt im Vergleich der Spektroskopie mit der CSI-basierten QDIXON $p = 0,98$ (nicht signifikant).

Die Ergebnisse der Spektroskopie mit verkürztem Echo-Spacing (HFe-Spektrum) sind in Bild 33 im Anhang zu finden. Im Vergleich mit den Ergebnissen der HISTO-Messung ohne verkürztes Echo-Spacing ergibt sich nach Wilcox-Vorzeichen-Rang-Test sich $p > 0,74$, d. h. kein signifikanter Unterschied.

3.2.4. Vergleich der MR-basierten Ergebnisse.

CSI-basierte Fettquantifizierung in beiden kommerziell verfügbaren Produkten. Die Gegenüberstellung der Dixon-basierten FF-Werte für die Herstellerlösungen LiverLab und LiverHealth führt zu einer Spearman-Rangkorrelation von $\rho = 0,86$ bei $p < 1 \cdot 10^{-5}$. Im linearen Modell ergibt sich ein hoch signifikanter Anstieg ($p < 1 \cdot 10^{-12}$), jedoch kein signifikanter Ordinatenabschnitt ($p > 0,7$). Der Anstieg beträgt hierbei $b = 0,97 \pm 0,05$. Die Ergebnisse sowie der entsprechende Bland-Altman-Plot sind in Bild 16a zu finden. Aus der Bland-Altman-Analyse bei einem angenommenen Signifikanzniveau von $p = 0,95$ ergibt sich eine mittlere systematische Abweichung von $(0,66 \pm 0,66) \%$, ein unteres Übereinstimmungsniveau von $-4,84 \%$ und ein oberes Übereinstimmungsniveau von $6,16 \%$. Die Konkordanz-Korrelationsanalyse ergibt

3. Ergebnisse

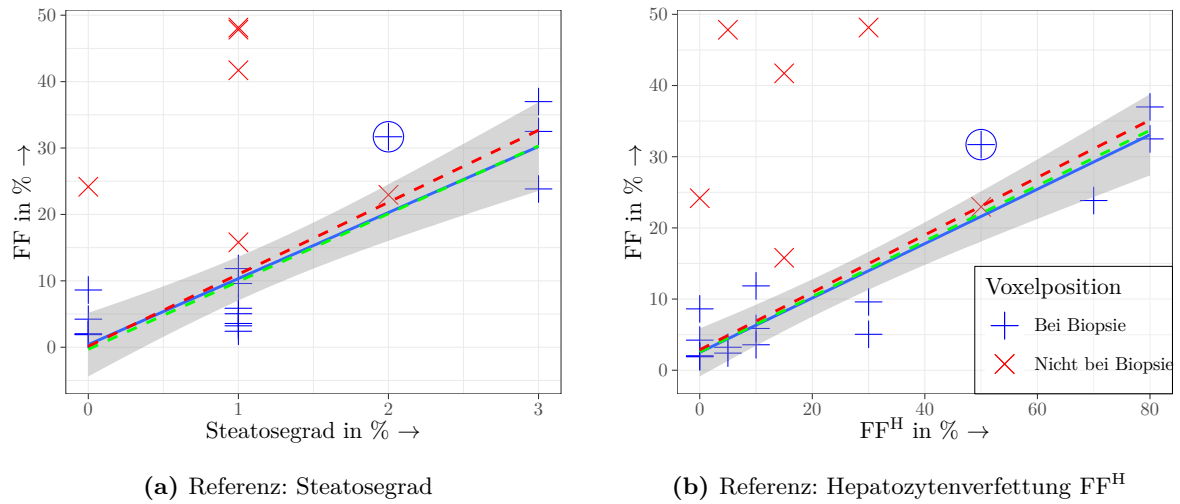


Bild 15: Darstellung des Fettanteils aus der Spektroskopie i.A. vom erhobenen Wert aus der Histopathologie in Blau. Rote Kreuze entspringen fehlpositionierten Voxeln und enthalten potentiell Viszeral- oder Subkutanfett. Die eingekreisten Punkte gehören zur Biopsieprobe in Bild 14. Die 95%-Konfidenzintervalle aus den Unsicherheiten von Anstieg und Ordinatenabschnitt nach Pearson sind als Schattierungen dargestellt. Zum Vergleich sind die Ausgleichsgeraden der CSI-basierten Lösungen q-DIXON in Grün und mDIXON Quant in Rot gestrichelt eingezeichnet.

$$\rho_c = 0,98, v = 1,01, u = 0,055.$$

CSI-basierte gegen spektroskopiebasierte Fettquantifizierung. Die Gegenüberstellung der FF-Werte aus der q-DIXON und der Spektroskopie führt zu einer Spearman-Rangkorrelation von $\rho = 0,89$ bei $p < 3 \cdot 10^{-6}$. Im linearen Modell ergibt sich ein hoch signifikanter Anstieg ($p < 2 \cdot 10^{-6}$), jedoch kein signifikanter Ordinatenabschnitt ($p > 0,7$). Der Anstieg beträgt hierbei $b = 0,94 \pm 0,12$. Die Ergebnisse sowie der entsprechende Bland-Altman-Plot sind in Bild 16c und 16d zu finden. Aus der Bland-Altman-Analyse bei einem angenommenen Signifikanzniveau von $p = 0,95$ ergibt sich eine mittlere systematische Abweichung von $(0,06 \pm 1,41) \%$, ein unteres Übereinstimmungsniveau von $-11,0 \%$ und ein oberes Übereinstimmungsniveau von $11,2 \%$. Die Konkordanz-Korrelationsanalyse ergibt $\rho_c = 0,90, v = 0,95, u = -0,005$.

3.2.5. Gegenüberstellung der Eigenimplementierung zu den kommerziellen Lösungen.

Siemens Sola. Bild 17a stellt die mittels der Dixon₃-Methode bestimmten FF-Werte bei $B_0 = 1,5 \text{ T}$ über den im kommerziellen Produkt LiverLab dar. Die Spearman-Rangkorrelation ergibt mit $p < 1 \cdot 10^{-8}$ und $\rho = 0,89$ einen hoch signifikanten Zusammenhang. Im linearen Modell ergibt sich ein Pearson-Korrelationskoeffizient von $r^2 = 0,91$. Auch hier ist der Anstieg mit $p < 5 \cdot 10^{-13}$ hoch-, der Ordinatenabschnitt mit $p = 0,41$ nicht signifikant. Der Anstieg ergibt sich zu $b = 0,91 \pm 0,05$. Das heißt, dass die ermittelten Fettwerte aus MeVisLab systematisch gegenüber denjenigen aus LiverLab unterschätzt werden. Die Konkordanz-Korrelationsanalyse ergibt $\rho_c = 0,95, v = 1,05$ und $u = 0,002$. Die durchschnittliche (sowie minimale bis maxi-

3. Ergebnisse

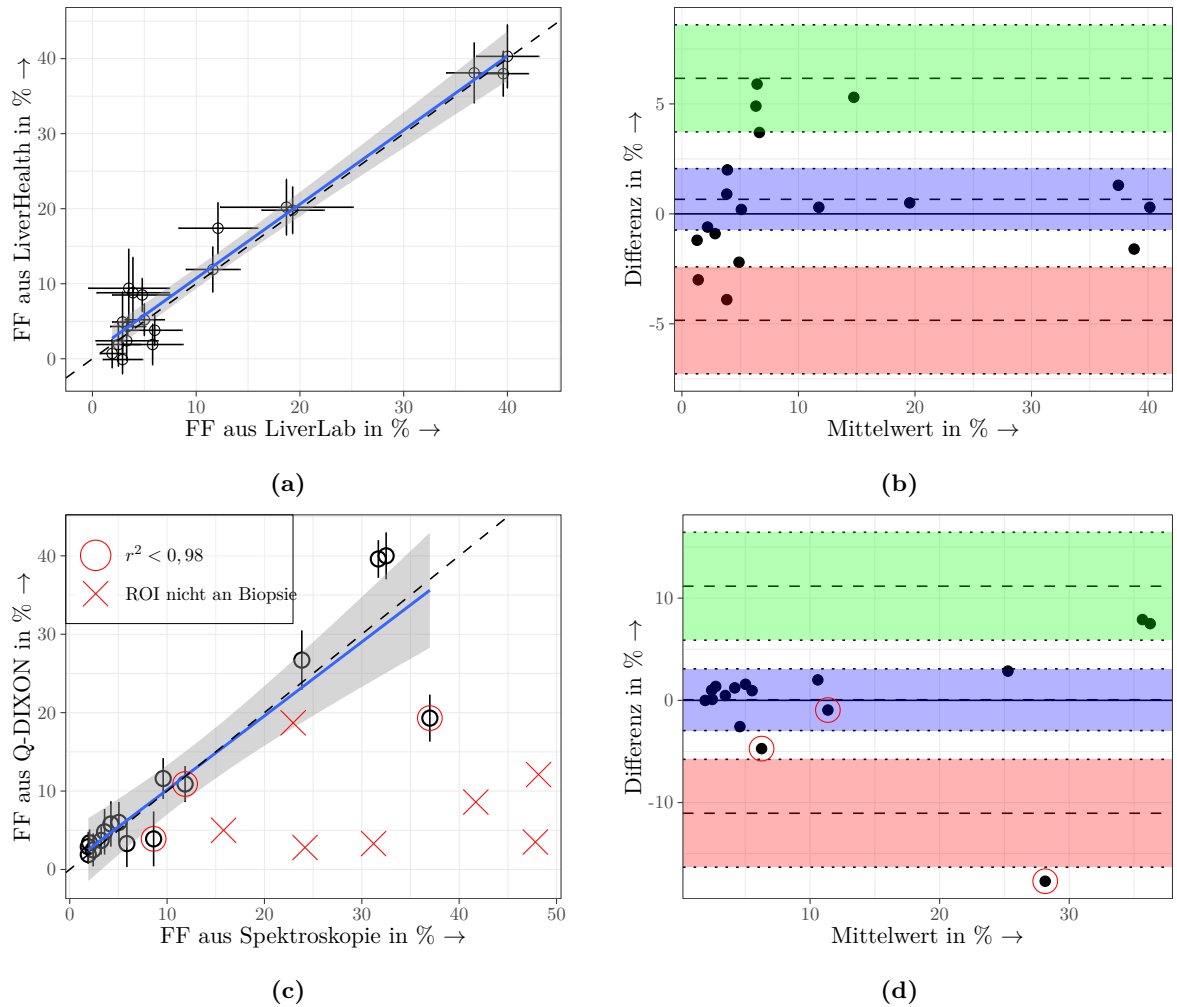


Bild 16: (a) Vergleich der FF aus LiverLab und LiverHealth. Die Identität ist gestrichelt eingezeichnet. Soweit aus ROI-Analysen verfügbar, wurden die Standardabweichungen als Fehlerbalken in die Graphen eingezeichnet. Die 95%-Konfidenzintervalle aus den Unsicherheiten von Anstieg und Ordinatenabschnitt nach Pearson sind als Schattierung dargestellt. (b) Zu (a) gehöriger Bland-Altman-Plot. Die mittlere Abweichung sowie das untere und obere Niveau der Übereinstimmung sind gestrichelt gekennzeichnet. Die Unsicherheiten dieser Größen sind blau, rot und grün schattiert. (c) Ermittelte FF aus Spektroskopie und q-DIXON im Vergleich. Messwerte, für die ein Korrelationskoeffizient $0,87 < r^2 < 0,98$ im Modellfit nach Gl. (18) vorliegt, sind rot eingekreist. Dies weist auf ein schwaches Signal hin. Für alle übrigen war laut Bericht $r^2 = 1$. (d) Zu (c) gehöriger Bland-Altman-Plot. Wertepaare, bei denen die Voxelposition nicht an der Biopsiestelle ist, wurden in Bild (d) nicht dargestellt.

3. Ergebnisse

male) Abweichung der Dixon₂- zur Dixon₃-Methode unter den Siderosefällen liegt bei 12,1 % (1,6 % bis 21,4 %).

Philips Achieva. Bild 17c stellt die mittels der Dixon₃-Methode bestimmten FF-Werte bei $B_0 = 3 \text{ T}$ über den im kommerziellen Produkt LiverHealth dar. Die Spearman-Rangkorrelation ergibt mit $p < 5 \cdot 10^{-8}$ und $\rho = 0,90$ einen hoch signifikanten Zusammenhang. Im linearen Modell ergibt sich ein Pearson-Korrelationskoeffizient von $r^2 = 0,93$. Hier ist der Anstieg mit $p < 1 \cdot 10^{-11}$ hoch signifikant und der Ordinatenabschnitt mit $p = 0,049$ signifikant. Der Anstieg ergibt sich zu $b = 0,73 \pm 0,05$ und der signifikante Ordinatenabschnitt zu $a = (1,76 \pm 0,83) \%$. Die Konkordanz-Korrelationsanalyse ergibt $\rho_c = 0,92$, $v = 1,32$ und $u = 0,14$. Das heißt, dass der Erwartungswert der in MeVisLab ermittelten Fettwerte unter demjenigen der Verteilung aus LiverHealth liegt. Die Verteilungen sind auch unterschiedlich skaliert. Die durchschnittliche (sowie minimale bis maximale) Abweichung der Dixon₂- zur Dixon₃-Methode unter den Siderosefällen liegt bei 7,89 % ($-0,06 \%$ bis 16,49 %).

Einfluss einer Siderose auf die 2-Punkt basierte Fettquantifizierung. Bild 18a stellt die mittels der Dixon₂- über denjenigen mittels der Dixon₃-Methode bestimmten FF-Werte bei $B_0 = 1,5 \text{ T}$ dar. Bild 18c zeigt den gleichen Zusammenhang bei $B_0 = 3 \text{ T}$. Eine Siderose aufgrund des histopathologischen Befundes (Siderose-Score ≥ 1) wurde ebenso wie eine solche auf Basis der in MeVisLab ermittelten Relaxationsrate ($R_2^* > 75 \text{ 1/s}$ bei $B_0 = 1,5 \text{ T}$ und $R_2^* > 150 \text{ 1/s}$ bei $B_0 = 3 \text{ T}$) gesondert eingezeichnet. Die Siderose eines Patienten mit bekannter, weit fortgeschrittener Hämochromatose konnte bioptisch nicht bestätigt werden. Durch die hohe Eisenkonzentration bedingt schlug die Quantifizierung mittels MeVisLab bei $B_0 = 1,5 \text{ T}$ fehl und wurde daher in Bild 18a zusätzlich markiert (siehe hierzu auch Fallbeispiel 2 auf Seite 53). Die Ausgleichsgerade in den Darstellungen wurde unter Ausschluss der Siderosefälle eingezeichnet. Die Konkordanz-Korrelationsanalyse ergibt für $B_0 = 1,5 \text{ T}$ $\rho_c = 0,99$, $u = 0,037$ und $v = 0,91$. Die Korrelationsanalyse nach Pearson ergibt einen hoch signifikanten Anstieg ($p < 1 \cdot 10^{-16}$) von $b = 1,09$ und einen signifikanten Ordinatenabschnitt ($p < 0,01$) von $a = -1,77 \%$. Bei $B_0 = 3 \text{ T}$ ergibt sich $\rho_c = 0,964$, $u = 0,264$, $v = 1,02$ sowie nach Pearson ein hoch signifikanter Anstieg und Ordinatenabschnitt (für beide $p < 1 \cdot 10^{-7}$) von $b = 0,978$ und $a = -2,36 \%$.

Am Fallbeispiel 3 auf Seite 55 ist der Einfluss einer inhomogenen Siderose auf die FF-Karte unter Verwendung der Dixon₂ und Dixon₃-Methode zu sehen. Dort korrelieren starke Eiseninlagerungen mit erhöhten FF-Werten bei Verwendung der Dixon₂-Methode. Dieser Effekt lässt sich durch die Relaxationskorrektur beseitigen.

3.3. Eisenquantifizierung

Erfasste Daten. Die Trockenmasse und die LIC wurden für 22 Proben bestimmt. Ein histologischer Siderosescore lag für 25 Proben vor. Insgesamt lagen 28,(21) Werte für R_2^* in den Produkten LiverLab (LiverHealth) vor. Des Weiteren wurden 28 (26) R_2^* -Werte aus mit den

3. Ergebnisse

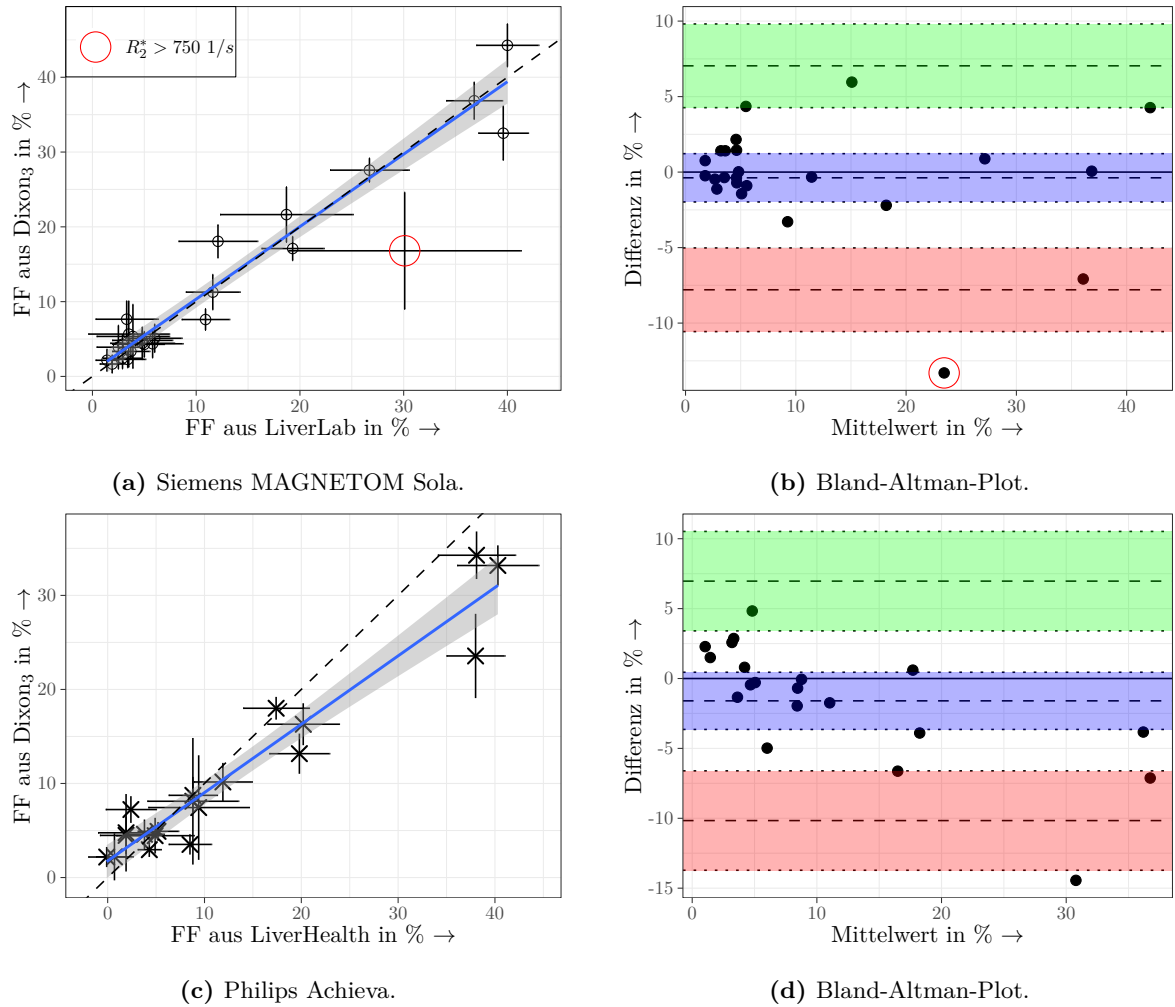
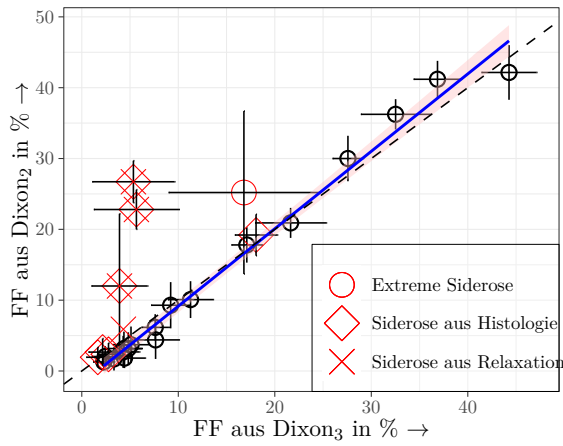
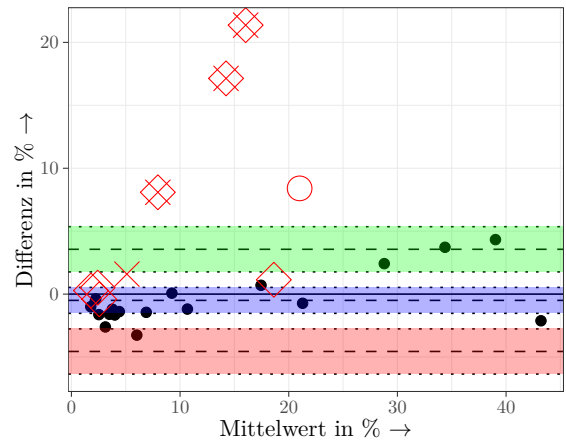


Bild 17: (a) Darstellung der Ergebnisse der eigenimplementierten Dixon₃ gegen die Ergebnisse aus LiverLab unter Nutzung der q-DIXON-Sequenz bei $B_0 = 1,5\text{T}$. Gestrichelt ist die Identität dargestellt. Die 95%-Konfidenzintervalle aus den Unsicherheiten von Anstieg und Ordinatenabschnitt nach Pearson sind als Schattierung gekennzeichnet. (b) Zu (a) gehöriger Bland-Altman-Plot. Die mittlere Abweichung sowie das untere und obere Niveau der Übereinstimmung sind gestrichelt gekennzeichnet. Die Unsicherheiten dieser Größen sind farbig schattiert. Der rot eingekreiste Punkt ist als Fallbeispiel extremer Siderose in Abschnitt 3.5 vorgestellt und nicht in die Ermittlung der Ausgleichsgerade eingegangen. (c) Darstellung der Ergebnisse der eigenimplementierten Dixon₃-Auswertung gegen die Ergebnisse aus LiverHealth bei $B_0 = 3\text{T}$. (d) Zu (c) gehöriger Bland-Altman-Plot.

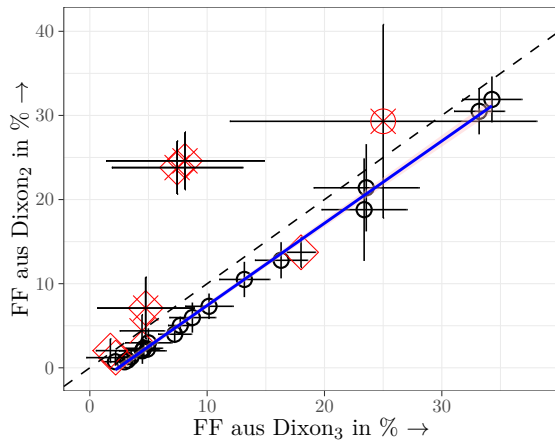
3. Ergebnisse



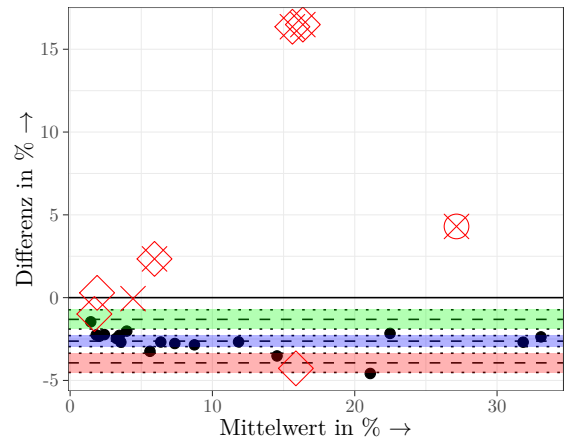
(a) Siemens MAGNETOM Sola ($B_0 = 1,5$ T).



(b) Bland-Altman-Plot.



(c) Philips Achieva ($B_0 = 3$ T).



(d) Bland-Altman-Plot.

Bild 18: (a,c) Darstellung der Ergebnisse der Dixon₂-Methode im Vergleich zu denjenigen der Dixon₃-Methode für $B_0 = 1,5$ T (a) bzw. $B_0 = 3$ T (c). Fehlerbalken kennzeichnen die einfachen Standardabweichungen aus der ROI-Analyse. Gestrichelt ist die Identität dargestellt. Die 95%-Konfidenzintervalle aus den Unsicherheiten von Anstieg und Ordinatenabschnitt nach Pearson sind als Schattierungen gekennzeichnet. (b,d) Bland-Altman-Plots zu den Bildern (a,c). Die Mittlere Abweichung sowie das untere und obere Niveau der Übereinstimmung sind gestrichelt gekennzeichnet. Die Unsicherheiten dieser Größen sind blau, rot und grün schattiert. Bei $B_0 = 3$ T liegen die mittels Dixon₂-Technik ermittelten Werte systematisch unter denjenigen der Dixon₃-Methode.

3. Ergebnisse

Dixon₂/Dixon₃-Methoden vom Siemens Sola (Philips Achieva) und 25 R_2 -Werte mittels Spektroskopie ermittelt.

3.3.1. Massebestimmung der Biopsieproben

Tarierung der MRG. Die an zwei aufeinanderfolgenden Tagen durchgeführte Leermassebestimmung von sechs neu beschrifteten MRG ergab Massen von durchschnittlich 177,5705 mg (min. 173,1584 mg, max. 179,0527 mg) mit einer maximalen Abweichung zwischen den zwei Messungen von 3,4 µg. Nach der Trocknung ergaben sich Trockenmassen von durchschnittlich 177,1756 mg (min. 172,7773 mg, max. 179,4062 mg) mit einer maximalen Abweichung zwischen den zwei Messungen von 8,1 µg. Die durch die Trocknung bedingte Massenveränderung der MRG beträgt durchschnittlich (-394 ± 12) µg (min. $-377,0$ µg, max. $-410,2$ µg). Der relative Unterschied betrug durchschnittlich $(-0,223 \pm 0,004)$ %. Diese Massendifferenz entspricht bei der angenommenen Masse einer Biopsieprobe von 1 mg etwa 39 %. Aufgrund des großen Einflusses durch die Trocknung sind die folgenden eigenbestimmten Trockenmassen um diesen Mittelwert korrigiert worden.

Massenvergleich. Die im externen Institut bestimmten Massen sind in Bild 19 gegen die eigenbestimmten Massen aufgetragen. Zwei chirurgisch entnommene Proben weisen hierbei eine wesentlich höhere Masse auf als die übrigen Biopsieproben. Da sie die Statistik stark dominieren, wurden sie in der Folgebetrachtung zur Massebestimmung ausgeschlossen (woraus sich der Plot nach Bild 19b ergibt). Die eingangs verwendeten großen MRGs weisen eine größere Streuung in der Massebestimmung der Nettomasse als die kleinen MRG auf. Sie sind daher gesondert markiert. Ein Ausreißer unter Verwendung der kleinen MRG konnte festgestellt werden. Es kann davon ausgegangen werden, dass die Probe nicht vollständig aus dem MRG entnommen wurde, weshalb diese Probe für die Eisenquantifizierung ausgeschlossen wurde. Die statistischen Kennzahlen für die Zusammenhänge unter den soeben genannten Ausschlusskriterien sind in Tabelle 4 zusammengefasst.

Verhältnis Nass- zu Trockenmasse. Anhand von zehn Proben wurde eine mittlere Nassmasse von (7137 ± 1350) µg sowie eine mittlere Trockenmasse von (1903 ± 324) µg bestimmt. Die Abhängigkeit der Trockenmasse von der Nassmasse wurde mit den Korrelationsanalysen nach Spearman und Pearson analog zur *Untersuchung der Beziehung zu Referenzgrößen* im

Tabelle 4: Statistische Kennzahlen zur Massebestimmung. Ein Ausschlusskriterium beinhaltet hierbei die in den Zeilen darüber genannten Kriterien.

Ausschlusskriterium	$p (b = 0)$	$p (a = 0)$	b	a in µg
-	$< 2 \cdot 10^{-16}$	$>0,48$	$1,0006 \pm 0,0020$	64 ± 88
Chirurgische Proben	$< 0,0006$	$>0,11$	$0,73 \pm 0,17$	560 ± 330
+ große MRG	$< 0,005$	$>0,76$	$0,90 \pm 0,25$	163 ± 520
+ 1 Ausreißer	$< 1 \cdot 10^{-5}$	$>0,86$	$1,05 \pm 0,12$	-40 ± 250

3. Ergebnisse

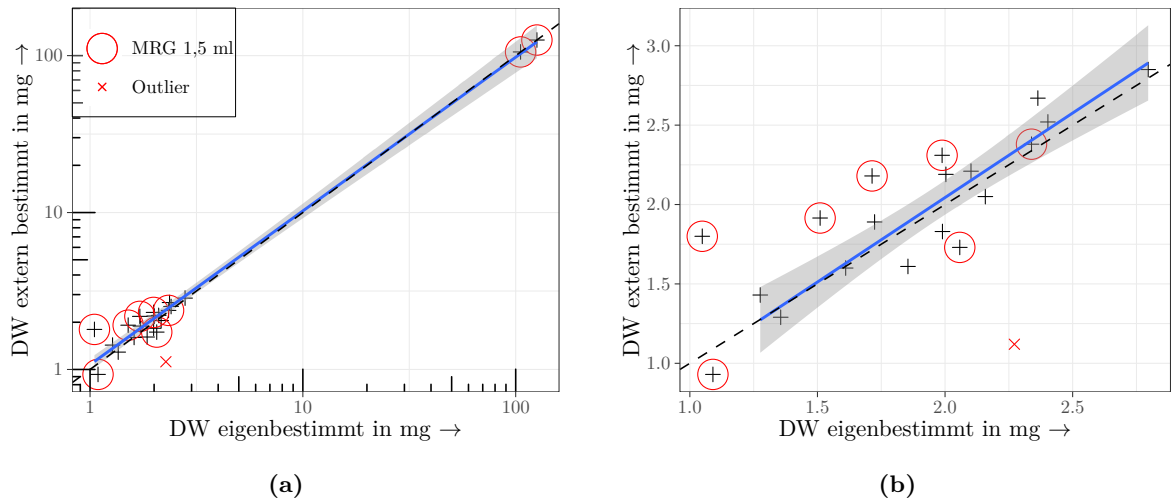


Bild 19: (a) Zusammenhang zwischen der im externen Institut und der eigenbestimmten Masse. (b) Vergrößerter Ausschnitt unter Ausschluss der chirurgisch entnommenen Proben. Unter Ausschluss aller in Tabelle 4 genannten Kriterien wurde eine Ausgleichsgerade eingezeichnet. Die 95%-Konfidenzintervalle aus den Unsicherheiten von Anstieg und Ordinatenabschnitt nach Pearson sind als Schattierung gekennzeichnet.

Abschnitt 2.6 untersucht. Die ermittelten Korrelationskoeffizienten sind vom Betrag kleiner als 0,1 ($p(\text{Anstieg} \neq 0) > 0,75$). Die Größen demnach nicht voneinander abhängig. Das durchschnittliche Verhältnis von der Trocken- zur Nassmasse ist $0,266 \pm 0,072$.

3.3.2. Histologische Stellungnahme

Unter den 25 histologisch untersuchten Biopsieproben befinden sich 18 Proben mit einer nicht erkennbaren bis milden Siderose, fünf Proben mit mäßiger bis schwerer Siderose und zwei Fälle mit einem Eisenexzess. In Bild 20 ist ein repräsentatives Beispiel eines histologischen Schnittes für jeden vergebenen Siderose-Score gegeben.

3.3.3. Vergleich Kommerzieller Lösungen mit Bioptisch Bestimmter LIC und Histologischem Siderose-Score

CSI-basierte Eisenquantifizierung. Unter Nutzung der LIC als Referenz ergibt sich eine Spearman-Rangkorrelation für LiverLab (LiverHealth) von $p = 0,28$ und $\rho = 0,29$ ($p = 0,11$ und $\rho = 0,43$), was nicht signifikant ist. Es ergibt sich nach Pearson-Korrelationsanalyse für LiverLab (LiverHealth) ein hoch signifikanter Anstieg mit $p < 1 \cdot 10^{-7}$ ($p < 1 \cdot 10^{-6}$) bei nicht signifikantem Ordinatenabschnitt mit $p > 0,06$ ($p > 0,3$). Der Anstieg beträgt $b = (26,9 \pm 2,3) \text{ g/s mg}$ ($b = (53,3 \pm 5,4) \text{ g/s mg}$). Die Ergebnisse beider Hersteller sind in Bild 21a dargestellt. Der Chow-Test gibt nach Halbierung der Relaxationsraten bei $B_0 = 3 \text{ T}$ kei-

3. Ergebnisse

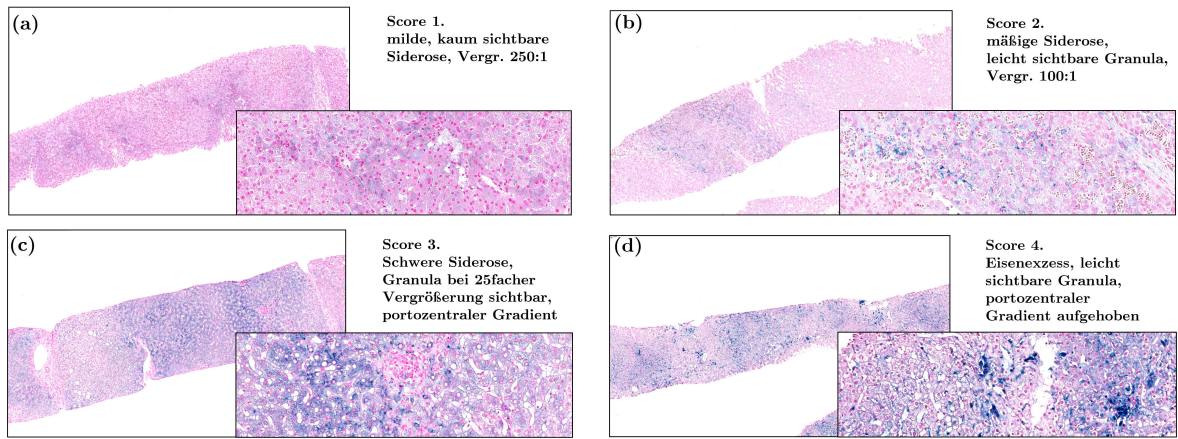


Bild 20: Repräsentative Schnitte der vergebenen Siderose-Scores. In Blau sind die Eiseneinlagerungen erkennbar. Die Färbung durch die Berliner-Blau-Reaktion erfolgte nach M. Perls 1867 [76] *et al.* 1962 [87].

nen signifikanten Unterschied in den Anstiegen ($p = 0,72$) an.

Mit dem Siderose-Score als Referenz ergibt sich eine Spearman-Rangkorrelation für LiverLab (LiverHealth) von $p < 0,001$, $\rho = 0,66$ ($p < 0,0004$, $\rho = 0,73$), was hoch signifikant ist. Im linearen Regressionsmodell ergibt sich für LiverLab (LiverHealth) ein signifikanter Anstieg mit $p < 0,001$ ($p < 0,002$) bei nicht signifikantem Ordinatenabschnitt mit $p > 0,17$ ($p > 0,5$). Der Chow-Test gibt nach Halbierung der Relaxationsraten bei $B_0 = 3\text{ T}$ keinen signifikanten Unterschied in den Anstiegen ($p = 0,88$) an. Die Ergebnisse beider Hersteller sind in Bild 21b dargestellt.

Spektroskopie. Für den Fall bekannter LIC und durchgeführter Spektroskopie gibt es fünf Fälle, in denen die ROI-Position nicht an der Biopsiestelle lag. Für die verbleibenden elf Wertepaare ergibt sich für die Spearman-Rangkorrelation $\rho = 0,25$ bei $p = 0,46$ (nicht signifikant). Die erhobenen Datenpaare sind in Bild 22a dargestellt.

Unter den Patienten mit bekanntem Siderose-Score und durchgeführter Spektroskopie gibt es fünf Fälle, in denen die ROI-Position nicht an der Biopsiestelle lag. Für die verbleibenden 16 Wertepaare ergibt sich für die Spearman-Rangkorrelation $\rho = 0,51$ bei $p = 0,04$ (signifikant). Die erhobenen Datenpaare sind in Bild 22b dargestellt.

3.3.4. Vergleich der MR-basierten Relaxationsraten.

CSI-basierte Quantifizierung in beiden kommerziell verfügbaren Produkten. Die Gegenüberstellung der R_2^* -Werte aus den Herstellerlösungen LiverLab und LiverHealth führt zu einer Spearman-Rangkorrelation von $\rho = 0,72$ bei $p < 1 \cdot 10^{-3}$. Im linearen Modell ergibt sich ein hoch signifikanter Anstieg ($p < 1 \cdot 10^{-16}$) und Ordinatenabschnitt ($p < 0,0002$). Der Anstieg beträgt hierbei $b = 2,006 \pm 0,050$ und der Ordinatenabschnitt $a = (-26,6 \pm 6,0) 1/s$. Die Ergebnisse sowie der entsprechende Bland-Altman-Plot sind in Bild 23 zu finden. Aus der Bland-Altman-Analyse bei einem angenommenen Signifikanzniveau von $p = 0,95$ ergibt sich

3. Ergebnisse

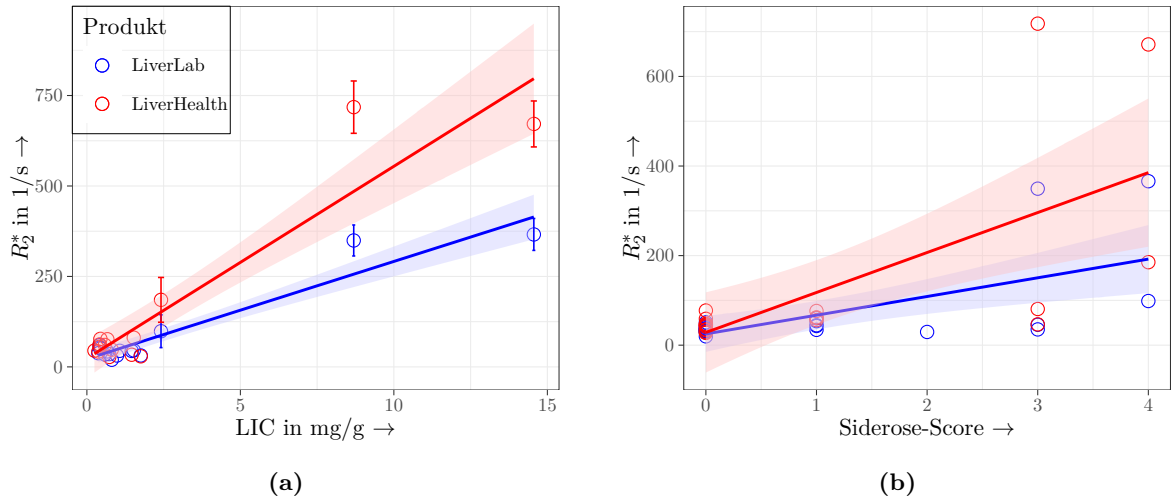


Bild 21: (a) Darstellung der ermittelten Relaxationsraten über LIC für LiverLab (blau) und LiverHealth (rot). (b) Gleiche Darstellung mit dem Siderose-Score als Referenzgröße. Die 95%-Konfidenzintervalle aus den Unsicherheiten von Anstieg und Ordinatenabschnitt nach Pearson sind als Schattierungen gekennzeichnet.

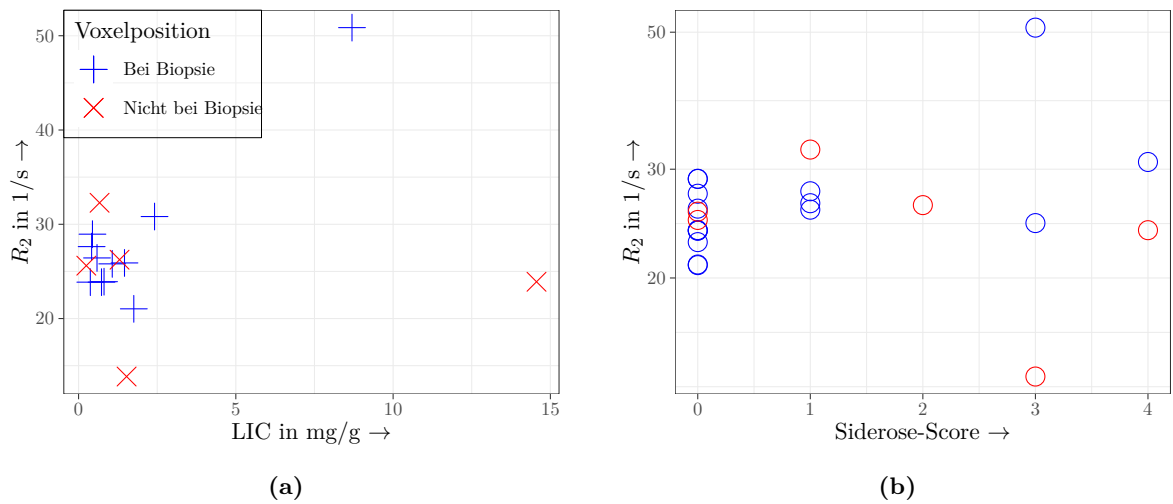
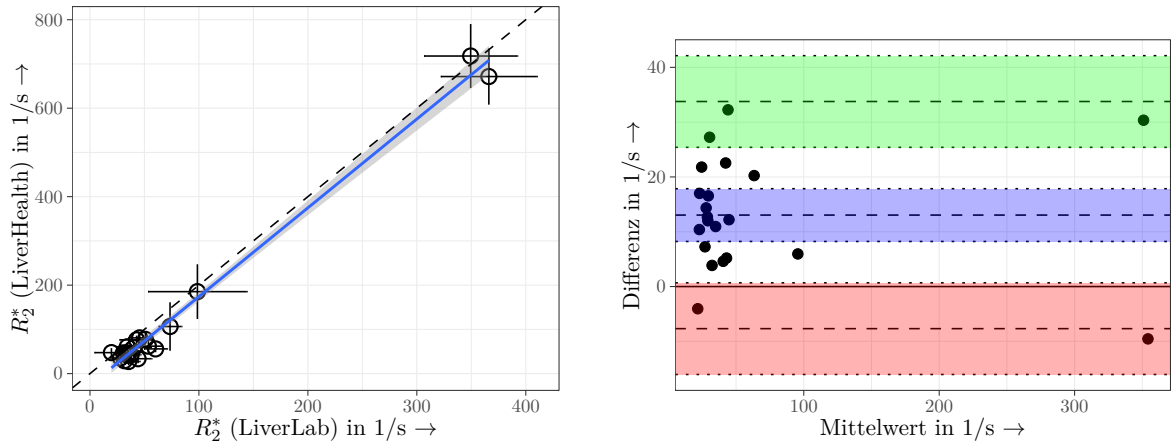


Bild 22: Darstellung der in der Spektroskopie ermittelten Relaxationsraten über (a) LIC und (b) Siderose-Score. Datenpunkte, bei denen die ROI-Position nicht der Biopsiestelle entspricht, wurden von der Korrelationsanalyse ausgeschlossen.

3. Ergebnisse

eine mittlere Abweichung von $(13,0 \pm 2,3) 1/s$, ein unteres Übereinstimmungsniveau von $-7,6 1/s$ und ein oberes Übereinstimmungsniveau von $33 1/s$. Die Konkordanz-Korrelationsanalyse ergibt $\rho_c = 0,75$, $v = 2,0$ und $u = 0,35$.



(a) R_2^* aus Dixon-basierten Ergebnissen von LiverLab und LiverHealth.

(b) Bland-Altman-Plot zu Bild (a).

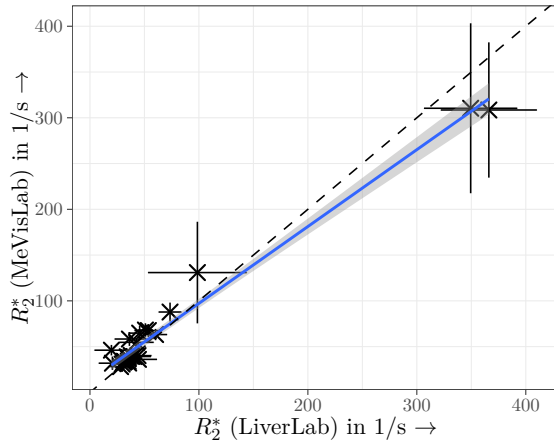
Bild 23: (a) Vergleich der Relaxationsraten aus beiden Herstellerlösungen, die Funktion $R_{2,LH}^* = 2 \cdot R_{2,LL}^*$ ist gestrichelt eingezeichnet. Die 95%-Konfidenzintervalle aus den Unsicherheiten von Anstieg und Ordinatenabschnitt nach Pearson sind als Schattierung gekennzeichnet. (b) Zugehöriger Bland-Altman-Plot. In diesem wurden die Relaxationsraten bei $B_0 = 3 T$ vor Auftragen der Werte halbiert (siehe *Parametrische Bildgebung* in Abschnitt 2.3.2). Die mittlere Abweichung sowie das untere und das obere Niveau der Übereinstimmung sind gestrichelt gekennzeichnet. Die Unsicherheiten dieser Größen sind blau, rot und grün schattiert.

3.3.5. Gegenüberstellung der Eigenimplementierung zu den kommerziellen Lösungen.

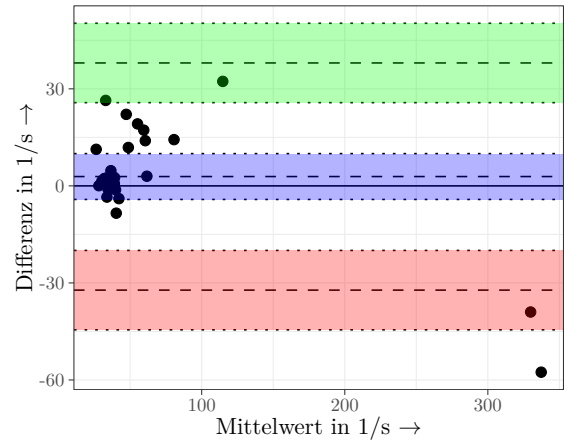
Siemens Sola. Bild 24a stellt die mittels der Dixon₃-Methode bestimmten R_2^* -Werte bei $B_0 = 1,5 T$ über den in LiverLab ermittelten Werten dar. Die Spearman-Rangkorrelation ergibt mit $p < 5 \cdot 10^{-8}$ und $\rho = 0,84$ einen hoch signifikanten Zusammenhang. Im linearen Modell beträgt der Pearson-Korrelationskoeffizient $r^2 = 0,98$. Sowohl der Anstieg als auch der Ordinatenabschnitt sind mit $p < 2 \cdot 10^{-5}$ hoch signifikant. Der Anstieg ergibt sich zu $b = 0,840 \pm 0,026$ und der Ordinatenabschnitt zu $a = (13,3 \pm 2,8) 1/s$. Die Konkordanz-Korrelationsanalyse ergibt $\rho_c = 0,97$, $v = 0,85$ und $u = 0,037$.

Philips Achieva. Bild 24c stellt die mittels der Dixon₃-Methode bestimmten R_2^* -Werte bei $B_0 = 3 T$ über den im kommerziellen Produkt LiverHealth dar. Die Spearman-Rangkorrelation ergibt mit $p < 2 \cdot 10^{-6}$ und $\rho = 0,84$ einen hoch signifikanten Zusammenhang. Im linearen Modell ergibt sich ein Pearson-Korrelationskoeffizient von $r^2 = 0,97$. Hier ist der Anstieg mit $p < 4 \cdot 10^{-16}$ hoch signifikant und der Ordinatenabschnitt mit $p = 0,0067$ ebenso signifikant. Der Anstieg ergibt sich zu $b = 0,900 \pm 0,034$ und der Ordinatenabschnitt zu $a = (23,9 \pm 7,9) 1/s$. Die Konkordanz-Korrelationsanalyse ergibt $\rho_c = 0,98$, $v = 0,91$ und $u = 0,065$.

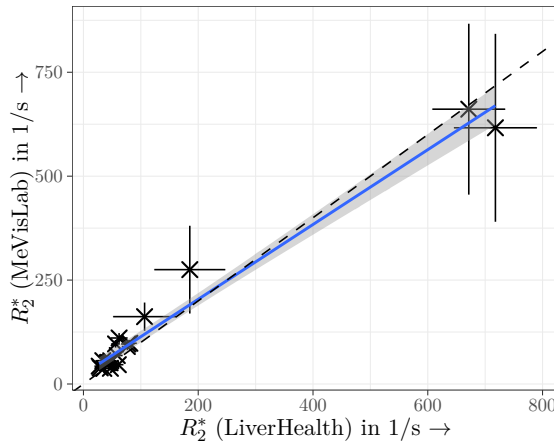
3. Ergebnisse



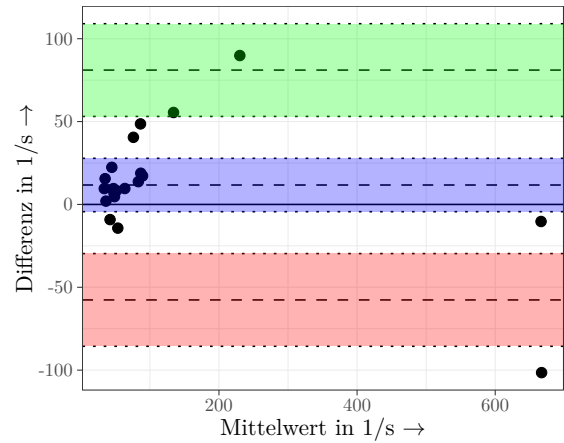
(a) Siemens Sola.



(b) Bland-Altman-Plot zu (a).



(c) Philips Achieva.



(d) Bland-Altman-Plot zu (c).

Bild 24: Darstellung der eigenimplementierten 3-Punkt-DIXON gegen die Ergebnisse aus LiverLab (a) (LiverHealth, (c)) unter Nutzung der q-DIXON (mDIXON-Quant)-Sequenz bei $B_0 = 1,5\text{T}$ ($B_0 = 3\text{T}$). Gestrichelt ist die Identität dargestellt. Die 95%-Konfidenzintervalle aus den Unsicherheiten von Anstieg und Ordinatenabschnitt nach Pearson sind als Schattierung gekennzeichnet. Ein Wert wurde von der Analyse ausgeschlossen (siehe Fallbeispiel 27). (b,d) Zu (a,c) gehöriger Bland-Altman-Plot. Die mittlere Abweichung sowie das untere und obere Niveau der Übereinstimmung sind gestrichelt gekennzeichnet. Die Unsicherheiten dieser Größen sind blau, rot und grün schattiert.

3.4. Segmentierungsqualität

In Tabelle 5 sind die statistischen Parameter der vergebenen Scores aus den Segmentierungen aufgeführt. Bei einem Patienten lag ein starker Aszites vor, so dass die Lebersegmentierung in beiden Produkten nicht möglich war. Bilder dieses Patienten sind in Bild 30 auf Seite 56 zu sehen. Diese Untersuchung wurde bei beiden Produkten ausgeschlossen. Die Segmentierung in Philips LiverHealth war in neun Fällen nicht möglich, da die notwendige Serie mit Wasserbild zum Zeitpunkt der Auswertung nicht vorlag. Die Ergebnisse zeigen in beiden Softwarelösungen die geringste Quote eines Totalversagens im cranialen und peripheren Bereich der Leber. Die höchste Quote ist hingegen im Bereich des Hilus, wo oft große Gefäße eingeschlossen wurden. Im kaudalen Bereich wurden hingegen Einschlüsse von Viszeralfett sowie der rechten Niere beobachtet. Ein Beispiel für eine Fehlsegmentierung im kaudalen Bereich und im Hilus ist in Fallbeispiel 3 in Bild 28 auf Seite 55 dargestellt.

Bild 25 zeigt Boxplots für jede Region sowie die Summe der Scores aller Regionen. Es zeigt sich im Mann-Whitney-U-Test, dass ein signifikanter Unterschied im Hilus sowie in der peripheren Region vorliegt. Der Unterschied ist so stark, dass er sich in die Summe der Scores über alle Regionen als signifikanter Unterschied mit $p = 0,014$ fortpflanzt. In allen signifikanten Unterschieden erreicht die Segmentierung von LiverLab höhere Scores als diejenige von LiverHealth.

3. Ergebnisse

Tabelle 5: Segmentierungsqualität bei einem Bewertungsmaß von 0 bis 3 Punkten pro Region, also insgesamt 12 erreichbaren Punkten. n bezeichnet die Zahl der Untersuchungen, für die eine Segmentierung durchgeführt werden konnte. Ein Score von 0 Punkten bezeichnet das Totalversagen des Algorithmus in der Region. Die grafische Auswertung erfolgt in Bild 25.

Software	LiverLab ($n = 25$)					LiverHealth ($n = 20$)				
Region	Cran	Cau	Hilus	Periph	Σ	Cran	Cau	Hilus	Periph	Σ
Score = 0	4%	16%	25%	4%	–	10%	20%	45%	10%	–
Score = 3	76%	20%	12%	88%	–	45%	56%	0%	25%	–
Median	3	1	1	3	8	2	2	0	2	6
Mittel	2,6	1,5	1,1	2,7	7,9	2,3	1,8	0,5	1,7	6,4

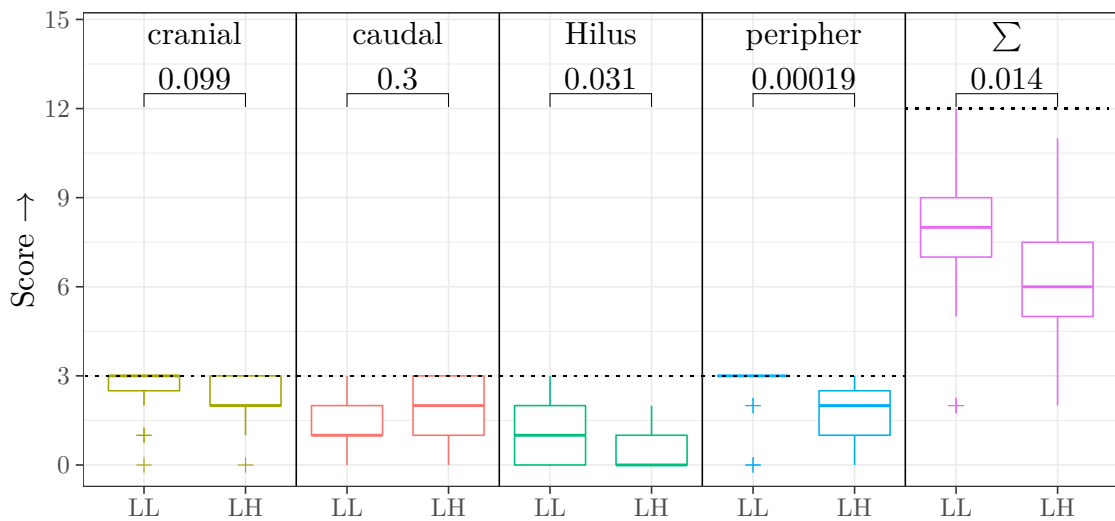
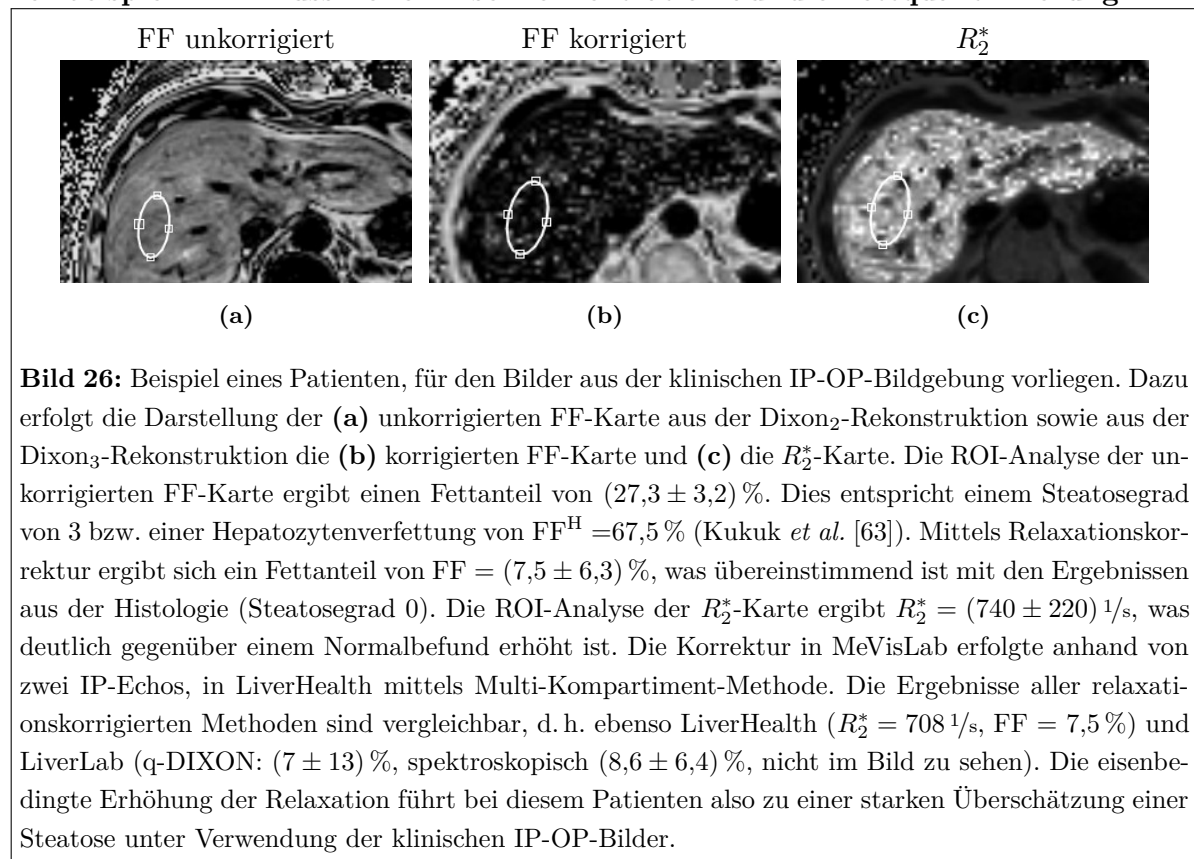


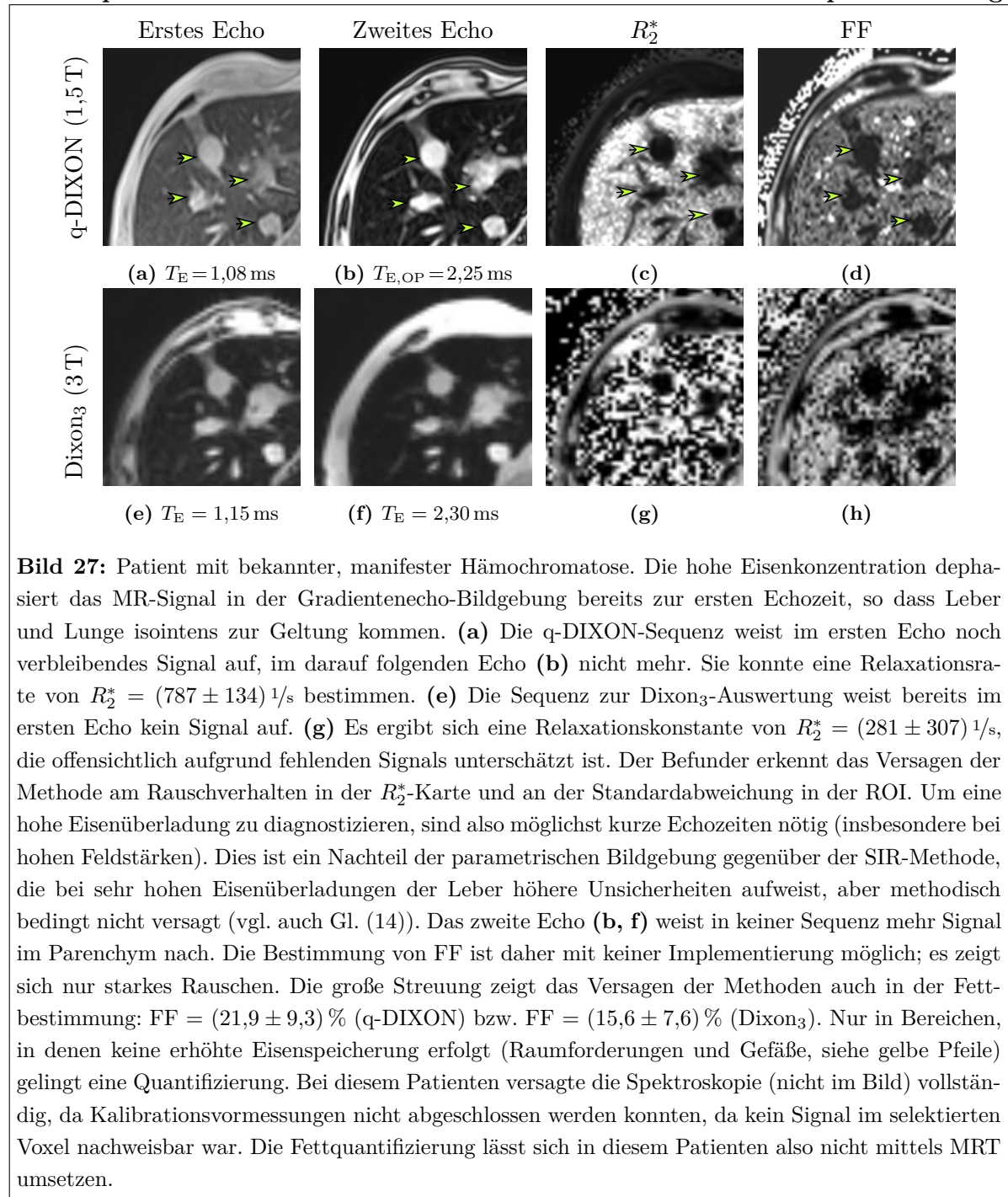
Bild 25: Vergleich der Segmentierungsqualität beider Softwarelösungen, jeweils ohne Nachbearbeitung. Im Boxplot gibt der dicke Strich den Median und die Box die Grenze zwischen erster und dritter Quartile an. Die senkrechten Antennen haben die Länge des 1,5-fachen der Interquartillänge. Damit entsprechen sie dem 95 %-Konfidenzintervall. Ausreißer werden mit einem o dargestellt. Angegeben sind die p -Werte für jede Region und die Gesamtsumme für den durchgeführten Mann-Whitney-U-Test. Gestrichelt dargestellt ist der Maximalwert für jeden Score (3 für eine Region, 12 für die Gesamtwertung).

3.5. Fallbeispiele

Abschließend für den Ergebnisteil werden Fallbeispiele für die Fett- und Eisenquantifizierung sowie die Qualität der Segmentierung vorgestellt.

Fallbeispiel 1: Einfluss hoher Eisenkonzentration auf die Fettquantifizierung.



Fallbeispiel 2: Einfluss sehr hoher Eisenkonzentration auf die Fettquantifizierung.

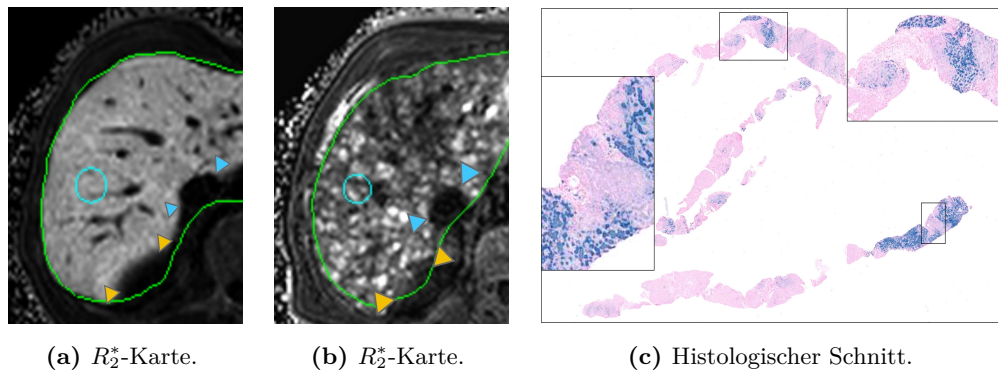
Fallbeispiel 3: Inhomogene Eisenspeicherung und Einfluss auf FF-Bestimmung.

Bild 28: Vergleich einer homogenen mit einer inhomogenen Siderose bei $B_0 = 1,5$ T unter Verwendung der q-DIXON-Sequenz. (a) Ausgeprägte, homogene Siderose. (b) Sehr inhomogene Eiseneinlagerungen. (c) Zum Vergleich der histologische Schnitt zu Bild (b) bei fragmentierter Probe und fokaler Eisenspeicherung. Der Fall der inhomogenen Siderose veranschaulicht die Rolle des Sampling Errors bei der Biopsie, denn bereits nur wenige Millimeter zwischen zwei Biopsieorten entscheiden über eine hohe oder geringe Eisenkonzentration. Mittels hochauflösender Kartierung der Relaxationskonstanten lassen sich zusätzlich Texturierungscharakteristika gewinnen.

Ebenfalls zu sehen: Die Segmentierung (grüne Umrandung) ist in (a) und (b) in der peripheren Region erfolgreich, im Bereich der angrenzenden Niere (orangene Pfeile) sowie an der *Vena cava* (blaue Pfeile) jedoch unzureichend. Dies ist beispielhaft für die Ergebnisse in Bild 25.

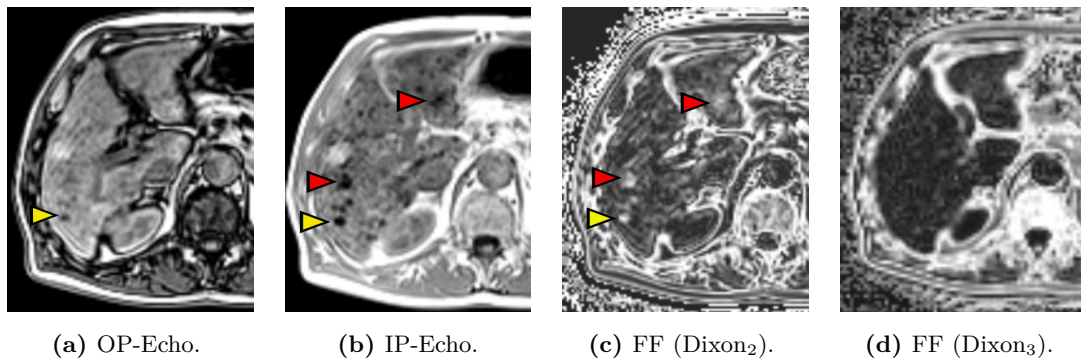


Bild 29: Einfluss der Relaxation auf die FF-Bestimmung bei $B_0 = 1,5$ T bei Verwendung klinischer 2-Echo-Bilder. (a) Das erste Echo (OP) zeigt einen fokussierten, relaxationsbedingten Signalausfall schon bei $T_E = 2,4$ ms (gelber Pfeil). (b) Zur Echozeit $T_E = 4,8$ ms (IP-Echo) zeigen sich weitere Signalabfälle (rote Pfeile) und eine insgesamt inhomogenere Textur des Parenchyms. (c) Die Unkorrigierte FF-Karte weist an den betroffenen Stellen höhere Werte für FF auf. (d) Die mit drei Echos relaxationskorrigierte und zu Bild (c) gleich gefensterte FF-Karte weist die relaxationsbedingten Pseudo-Verfettungen nicht auf. Dieses Beispiel veranschaulicht damit die Überschätzung des Fettanteils in Regionen mit erhöhter Relaxationskonstante, bedingt durch die lokal auftretende Siderose und zeigt die erfolgreiche voxelweise Korrektur. Dies repräsentiert die Ergebnisse in Bild 18a.

Fallbeispiel 4: Einfluss eines schweren Aszites auf die Quantifizierung.

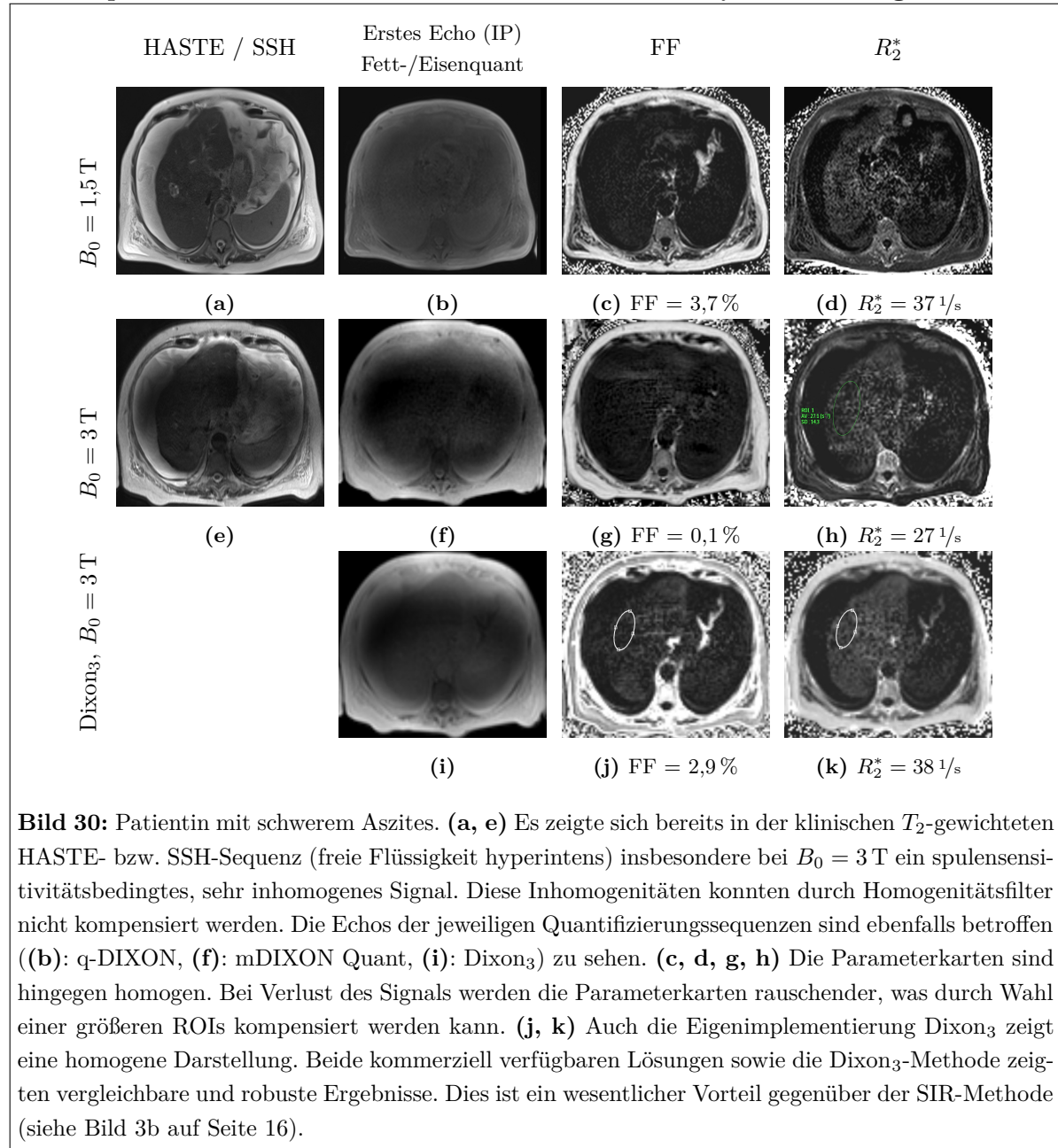


Bild 30: Patientin mit schwerem Aszites. (a, e) Es zeigte sich bereits in der klinischen T_2 -gewichteten HASTE- bzw. SSH-Sequenz (freie Flüssigkeit hyperintens) insbesondere bei $B_0 = 3\text{ T}$ ein spulensensitivitätsbedingtes, sehr inhomogenes Signal. Diese Inhomogenitäten konnten durch Homogenitätsfilter nicht kompensiert werden. Die Echos der jeweiligen Quantifizierungssequenzen sind ebenfalls betroffen ((b): q-DIXON, (f): mDIXON Quant, (i): Dixon₃) zu sehen. (c, d, g, h) Die Parameterkarten sind hingegen homogen. Bei Verlust des Signals werden die Parameterkarten rauschender, was durch Wahl einer größeren ROIs kompensiert werden kann. (j, k) Auch die Eigenimplementierung Dixon₃ zeigt eine homogene Darstellung. Beide kommerziell verfügbaren Lösungen sowie die Dixon₃-Methode zeigten vergleichbare und robuste Ergebnisse. Dies ist ein wesentlicher Vorteil gegenüber der SIR-Methode (siehe Bild 3b auf Seite 16).

4. Diskussion

4.1. Bisherige Arbeiten zur Evaluation von LiverLab und LiverHealth

LiverLab und LiverHealth sind die in der Klinik für Radiologie und Nuklearmedizin zur Verfügung stehenden verfügbaren kommerziellen Applikationen zur Fett- und Relaxationskonstantenbestimmung mittels MRT. Für die Diskussion der Ergebnisse erfolgte neben der allgemeinen Literaturrecherche eine gezielte Suche nach Evaluationen der Applikationen auf der Website der nationalen medizinischen Bibliothek der Vereinigten Staaten (<https://pubmed.gov>). Dies soll die Einordnung der Ergebnisse der vorliegenden Arbeit ermöglichen.

q-DIXON in Verbindung mit LiverLab. Zur Siemens-Lösung LiverLab liegen mehrere Artikel über initiale Erfahrungen in der herstellereigenen Zeitschrift vor [90, 23]. Die vom Hersteller auf Anfrage zur Verfügung gestellte Veröffentlichung stellt lediglich einen Leitfaden zur Nutzung, jedoch keine klinische Prüfung dar [88]. Hierzu gehört ebenso eine Notiz zur Abschätzung der LIC anhand der Relaxationskonstanten [57]. Eine nicht weiter eingeschränkte Suche nach ("qdixon") OR ("liverlab") OR ("q-dixon") auf pubmed.gov am 1.12.2020 brachte zwei Veröffentlichungen hervor. Boudinaud *et al.* verglichen in einer Arbeit aus dem Jahr 2019 einen Vorgänger der q-DIXON (ohne CE-Kennzeichnung oder FDA-Zulassung) mit drei anderen, ebenfalls nicht gegen die Biopsie evaluierten MR-Sequenzen an 60 Patienten. Bei den Sequenzen handelte es sich um eine 3-Echo- und eine 11-Echo-Bildgebungssequenz sowie einer Spektroskopie. Anhand einer Biopsieprobe ermittelten sie zusätzlich den Grad einer Steatose ohne Angabe einer prozentualen Verfettung. Sie führten hierbei keine biopsiegestützte Eisenquantifizierung durch. Das Ergebnis aus einer nicht-zugelassenen MR-gestützten Eisenquantifizierung wurde zur Subgruppeneinteilung genutzt. Die Subgruppen wurden dabei anhand der Relaxationskonstante in Siderose- und Nicht-Siderose-Patienten eingeteilt. Boudinaud *et al.* kamen zu dem Ergebnis, dass sich die genannten Sequenzen und die Spektroskopie zur Fettquantifikation in der Leber eignen – auch wenn eine MRT-gestützte Diagnose einer HHC vorlag [7]. Eine Veröffentlichung aus dem September 2020 befasst sich näher mit der Eisenquantifizierung in der Siemens-Lösung. Henninger *et al.* verifizierten in dieser Arbeit die Siemens-Implementierung q-DIXON an 369 Patienten gegen eine als verifiziert und etabliert bezeichnete 2D-Multi-Gradientenecho-Sequenz [50]. Diese Sequenz wurde im Jahr 2015 von der gleichen Gruppe an einer 17 Patienten umfassenden Kohorte gegen die biopsiegestützte Eisenquantifizierung geprüft [49]. Sie unterscheidet sich in mehreren wesentlichen Aspekten von q-DIXON: Die 2D-Multi-Gradientenecho-Sequenz arbeitet in einer 2-dimensionalen Akquisition, nimmt zwölf statt sechs Echos auf und arbeitet nicht mit dem DIXON-Ansatz, sondern mit einer spektralen Fettsättigung („CHESS“). Die korrekte Fettquantifikation, insbesondere unter Anwesenheit einer Siderose, wurde in beiden Arbeiten von Henninger *et al.* nicht untersucht.

mDIXON Quant in Verbindung mit LiverHealth als Teil der Intellispace Portal. Eine Suche auf pubmed.gov nach "liverhealth" OR "mdixon-quant" am 19.12.2020 führte zu 16 Ergebnissen. Lediglich zwei hiervon hatten die Leber als Organsystem untersucht. Keine

Studie führte eine Evaluation anhand einer Biopsieprobe durch. Ein Einfluss einer Eisenspeicherung auf den ermittelten Fettanteil wurde in den zwei Studien mit Bezug zur Leber nicht näher untersucht. Eine Studie, die mDIXON Quant in Verbindung mit LiverHealth mit einer klassischen Multiecho-Bildgebung an insgesamt 109 Patienten retrospektiv miteinander vergleicht, liegt ebenso vor [89]. Diese arbeitet allerdings mit einer ebenfalls nicht verifizierten Gradientenecho-Technik als Referenz und beschränkt sich auf Kinder und Heranwachsende mit einem Durchschnittsalter von 12,4 Jahren.

4.2. Fettquantifikation

4.2.1. Analyse der MR-Methoden mit der Biopsie als Referenzgröße

CSI-basierte Fettquantifikation im *in vitro*-Modell. Die Abweichungen der Fettanteile aus LiverHealth und LiverLab von der Referenzangabe im Lipidgürtel von maximal 5% liegen außerhalb der 95%-Konfidenzintervalle. Daher kann man davon ausgehen, dass dies systematische Fehler sind. LiverLab und LiverHealth zeigten in zwei von vier Referenzlipiden eine gute Übereinstimmung, was sich auch in den *in vitro*-Messungen (siehe Bild 16a) widerspiegelt. Eine Möglichkeit zur Verifikation der Lipidvolumenanteile im Phantom gab es zum Zeitpunkt der Auswertung nicht. Daher liegen auch keine systematischen Fehler für die hier genutzte Referenz vor. Deshalb ist nicht ausgeschlossen, dass die Abweichungen von Ungenauigkeiten in der Referenz herrühren.

Problematisch zu werten ist, dass die ROI-Analyse in insgesamt 13 Fällen im Achieva 3T mit der mDIXON Quant nicht möglich war. Das kann damit zusammenhängen, dass die Positionierung des Gürtels in der unmittelbaren Nähe der Spulenelemente zu Kopplungserscheinungen zwischen den Elementen führt. Eine weitere Analyse muss zeigen, ob diese Probleme durch Repositionierung des Gürtels behoben werden können. Innerhalb der Leber der Patienten wurden vergleichbare Artefakte nicht beobachtet. Die mittlere Abweichung von der Referenz und die Streuung der Messwerte war ebenfalls in für alle vier ROIs höher als unter Verwendung der q-DIXON.

Die Ergebnisse der Konkordanz-Korrelationsanalyse der ermittelten Fettanteile im Vergleich mit der Referenzangabe auf dem Lipidgürtel ergaben $\rho_c > 0,93$. Dies ist eine wesentlich höhere Übereinstimmung als Arbeiten vorwiesen, die die Ergebnisse zwischen Histologen verglichen ($\rho_c < 0,8$) [21, 67, 28]. Die Verifikation der Bestimmung des Lipidfettvolumenanteils ist damit gelungen.

CSI-basierte Methoden. Die signifikanten Spearman- und hochsignifikanten Pearson-Korrelationskoeffizienten zeigen eine starke Abhängigkeit der gemessenen FF-Werte beider CSI-basierter Herstellerlösungen von den erhobenen Steatosegraden an. Der Achsenabschnitt weist hingegen keine Signifikanz auf. Dies ist in Übereinstimmung mit den bereits erwähnten, bisherigen Arbeiten zu sehen [57]. Die beobachteten Streuungen in der Bestimmung des Fettanteils entsprechen den Ergebnissen einer Arbeit, die mit dem Steatosegrad als Referenzgröße arbeitet [71]. Die mutmaßlich biopsiebedingten Streuungen lassen sich in dem anschließenden

Methodenvergleich nicht beobachten. Daher kann davon ausgegangen werden, dass die Streuung erheblich durch den Sampling-Error und die Methodik in der Schätzung des Anteils der verfetteten Hepatozyten bedingt ist. Mittels erweiterter Bildverarbeitungstechniken konnten Hatta *et al.* den Anteil des Fettvolumens im Gesamtgewebe anhand der Flächenverhältnisse im Histologieschnitt bestimmen. Dieses Vorgehen ermöglicht, die Streuung der MRT-basierten Ergebnisse bzgl. der so ermittelten Fettanteile wesentlich zu verringern und ein feineres Grading zu erreichen [48]. Dies war im Rahmen dieser Arbeit jedoch nicht möglich.

Die Aufstellung der durch die MR-basiert bestimmten Fettanteile über der prozentualen Verfettung der Hepatozyten (FF^H) und anschließende Extrapolation auf einen theoretischen Verfettungsgrad von 100% führt zu Werten von FF von 38 bis 40 Prozent in allen kommerziell erhältlichen Lösungen. Kukuk *et al.* schlugen anhand einer Kohorte von 59 Patienten und linearer Korrelationsanalyse der zugehörigen Ergebnisse einen Konversionsfaktor von 2,5 zwischen der semiautomatischen Histo-Schnitt-Quantifizierung und der histologisch bestimmten Hepatozytenverfettung (FF^H) vor [63]. Sie berichten von einem Patienten mit einem MR-gestützt bestimmten Leberfettanteil von 45%. Dieser hatte in einer semiautomatischen Quantifizierung des Histo-Schnittes eine Verfettung von 39% und FF^H von 95%. Bei dem bekannten Anteil der Hepatozyten am Parenchym der Leber [24] sowie der Annahme, dass der Anteil der Fettvakuole in einem Hepatozyten immer unter 100% liegt, wird die Validität der Daten dieser Arbeit gestützt. Kukuk *et al.* fanden eine sehr gute Übereinstimmung zwischen den semiautomatischen Histo-Schnitt-Quantifizierungen und den Ergebnissen aus der Dixon-basierten und spektroskopiebasierten Ergebnissen [63]. In der vorliegenden Arbeit untersuchten MR-basierten FF-Quantifizierungsmethoden wurde ein Konversionsfaktor analog zu Kukuk *et al.* von $2,47 \pm 0,05$ (LiverLab) und $2,55 \pm 0,06$ (LiverHealth) gefunden. Die vorliegenden Ergebnisse bestätigen den Zusammenhang zwischen FF^H und den Verfettungsgraden aus der CSI-basierten Bildgebung.

Spektroskopiebasierte HISTO-Messung. Die Möglichkeiten und auch die Limitationen der Anwendung der Spektroskopie war bereits Gegenstand zahlreicher Arbeiten, was u. a. daran liegt, dass die Spektroskopie wesentlich früher als die Dixon-basierte Quantifikation zur Verfügung stand. Der größte Vorteil der Spektroskopie liegt in der hohen spektralen Auflösung. Man kann deshalb die einzelnen Fettkomponenten sehr differenziert darstellen und quantifizieren. Bis allerdings die klinische Bedeutung bestimmter Fettkomponenten für die Entwicklung von relevanten Krankheiten gegeben ist, sind die Anteile der Fettkomponenten noch hintergründig. Aus diesem Grund werden die einzelnen Fettkomponenten derzeit auch nicht in dem Bericht der HISTO-Messung aufgeschlüsselt, sondern der Gesamtfettanteil am Signal angegeben. Auch wird mutmaßlich aus Gründen der Robustheit ein Fett-Peak im Histogramm, der nah am Wasser-Peak liegt, durch die HISTO-Messung mit als Wassersignal interpretiert (siehe Bild 3a).

Die HISTO-Messung zeigt nach den vorliegenden Daten eine gute qualitative und quantitative Übereinstimmung zu den CSI-basierten Methoden. Das gilt allerdings nur unter der Voraussetzung, dass alle (in Bild 15 rot markierten) Wertepaare herausgenommen werden, bei

denen festgestellt wurde, dass sie an das Parenchym angrenzendes Fett enthalten. Eine genaue Positionierung des Spektroskopievoxels ist anhand der vorliegenden Ergebnisse sehr wichtig. In allen Fällen, in denen eine spektroskopisch festgestellte Verfettung nicht in der histopathologischen Untersuchung bestätigt werden konnte, wurde eine zumindest teilweise Positionierung des Voxels in Viszeralfett nachgewiesen (siehe Bild 15). In einem Voxel mit ansonsten fettfreiem Parenchym, in dem beispielsweise Viszeralfett ein Viertel des Volumens ausmacht, würde ein fälschlicher Verfettungsgrad von 25 % ermittelt werden. Das bedeutet, dass im klinischen Alltag die Voxelposition bestenfalls anhand eines zuvor aufgenommenen Fettbildes (aus der Dixon-Bildgebung) erfolgen sollte. Dies impliziert, dass eine Dixon-Bildgebung zuvor in jedem Fall erfolgen muss und die Spektroskopie damit als Ergänzung zu betrachten ist, welche die Bildgebung nicht ersetzen kann. Die Voxelposition lässt sich in der derzeitigen Implementierung nicht im PACS dokumentieren. Sie muss rechtzeitig am MRT überprüft werden, bevor der Ringspeicher des MRT-Hosts die Messung verwirft. Fehlplatzierungen ließen sich anfangs gar nicht und in der derzeitigen Implementierung nur mit zahlreichen zusätzlichen Schritten am MRT-Host feststellen. Eine Kontrolle der Positionierung benötigt zusätzliche, nicht verzeichnungskorrigierte Serien. Eine Positionskontrolle war anfangs offensichtlich gar nicht vorgesehen.

Während in der Literatur die spektroskopiebasierte Fettquantifikation oft als Referenz zur Evaluation bildgebungsbasierter Methoden genutzt wird, kann sie nur bei sorgsamer Positionierung des Voxels verlässliche Ergebnisse liefern. Die Äquivalenz in der Bestimmung des Gesamtfettanteils beider Methoden wurde in zahlreichen Arbeiten bestätigt [98, 13, 7]. Dies deckt sich mit den erhobenen Daten. Die Verwendung beider Methoden muss in der klinischen Anwendung unter den Aspekten der Wirtschaftlichkeit und Toleranz des Patienten für ohnehin relativ lange MRT-Untersuchungen kritisch betrachtet werden. Deshalb stellt sich die Frage, welche klinischen Vorteile die spektroskopiebasierte Fettquantifikation gegenüber den CSI-basierten Methoden hat und welche klinisch relevanten, zur CSI-basierten Messung komplementären Informationen sich aus dieser gewinnen lassen. Allein schon unter dem Aspekt der Robustheit gewinnt hier die q-DIXON-Sequenz eindeutig gegenüber der HISTO-Messung: Eine veratmete Aufnahme lässt sich noch während der Untersuchung erkennen und wiederholen, während dies in einer Spektroskopie-Messung nicht möglich ist. Bei nicht zu vermeidenden Bewegungsartefakten lassen sich in der bildgebenden Fettquantifikation zumindest die Regionen des Parenchyms einer ROI-Analyse unterziehen, die minimal von den Artefakten betroffen sind. In den Methodenvergleichen sind die Unterschiede zwischen q-DIXON und HISTO-Messung nicht signifikant – allerdings nur unter Ausschluss der zahlreichen vorgenannten Fehlplatzierungen. Unter Berücksichtigung der vorgenannten Aspekte sollte in der klinischen Routine daher die CSI-basierte Methode mit hoher Ortsauflösung und größtmöglicher Robustheit bevorzugt werden.

Methodenvergleich und Relation zur Inter-Reader-Korrelation in der Histologie. Zur Einschätzung der Variabilitäten der MR-basierten Fettquantifikation ist ein Überblick über die Variabilität bei der histopathologischen Untersuchung hilfreich. Mehrere Studien ergeben mit-

tels Kappa-Analyse eine maßgebliche Übereinstimmung ($\kappa = 0,61$ bis $0,8$) [21]. Dies ist in Übereinstimmung mit den vorliegenden Schnitten in Bild 11 zu sehen. In allen vier exemplarischen Beispielen für verschiedene Steatosegrade (Scores) sind Inhomogenitäten zu sehen. Bei fragmentierten Proben ergeben sich daher potentiell große Variabilitäten. Die Länge des untersuchten Biopsiezylinders ist für die Repräsentativität des Histologiebefundes entscheidend. Eine weitere Fehlerquelle neben der genannten Inhomogenitäten sind Unterschiede in der Beurteilung durch die Pathologen. Eine Arbeit von El Badry *et al.* korrelierte in einer Inter-Reader-Analyse die Befunde von erfahrenen und bekannten Pathologen aus vier Zentren in Europa und Nordamerika, welche bereits im Steatose-Forschungsfeld publizierten. Hierfür wurden ihnen identische histologische Schnitte in digitaler Form vorgestellt, so dass Unterschiede aufgrund des Sampling-Errors ausgeschlossen sind. Zwischen den Ergebnissen fanden die Autoren bedenklich große Variabilitäten zwischen den Befundern bei einem Intraklassen-Korrelationskoeffizienten von nur $0,57$ [28]. Vertreter des NASH CRN empfehlen für die Grundlage einer klinischen Studie ein Vier-Augen-Prinzip bei der histologischen Untersuchung und betonen die Wichtigkeit der Größe der Biopsieprobe. Sie schränken die Bedeutung der histologischen Untersuchung als Goldstandard allerdings nicht ein [67]. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit war die Umsetzung eines Vier-Augen-Prinzips nicht möglich.

Die CSI-basierten, kommerziellen Lösungen weisen im Vergleich zu den gemeldeten Variabilitäten in der Histologie eine sehr hohe Übereinstimmung in der Fettbestimmung auf. Die Abweichungen von der Identität in Bild 16a sind in fast jedem Punkt innerhalb der Standardabweichungen aus der Histogrammanalyse der ROIs. Auch aus der Bland-Altman-Analyse erkennt man geringe Abweichungen zwischen den Softwarelösungen in Relation zu Ergebnissen aus Inter-Reader-Analysen in der Biopsie. Die bildbasierten Softwarelösungen kommen in unseren Daten auf einen Konkordanz-Korrelationskoeffizienten von $\rho_c > 0,95$. Dies gilt über unterschiedliche Hersteller, Magnetfeldstärken und sogar die Eigenimplementierung hinweg. Auch unter Nutzung der Spearman-Rangkorrelation mit niedrigeren Anforderungen an die Qualität der Daten sind die entsprechenden Korrelationskoeffizienten durchgehend $\rho > 0,8$. Insgesamt wird also durch die Daten bestätigt, dass die Fettquantifikation mit allen vorgestellten bildbasierten Methoden eine sehr hohe Konkordanz aufweist, die für die klinische Anwendung mehr als ausreichend ist.

Die zuvor gemachten Aussagen zur spektroskopiebasierten HISTO-Messung treffen auch für den Methodenvergleich zu. Unter Ausschluss der Wertepaare, bei denen die ROI nicht an der Biopsiestelle lokalisiert ist, ergibt sich in Bild 16d eine hohe Übereinstimmung mit den Ergebnissen der q-DIXON. Die Übereinstimmungsintervalle sind dennoch wesentlich größer als in den bildbasierten Methoden untereinander. Auch abseits der vorgenannten positionsbedingten Ausreißer wurden drei weitere Punkte geringer Übereinstimmung identifiziert. Als Gemeinsamkeit wurde festgestellt, dass der im HISTO-Bericht gegebene Korrelationskoeffizient entsprechend dem Fit nach Gleichung (5) kleiner als $0,98$ war. Dies ist am ehesten damit zu begründen, dass der Spektroskopievoxel mehrere Gewebe enthielt. Dies trifft beispielsweise auf Gefäße zu, die eine wesentlich längere T_2 -Zeit aufweisen. Es ist also neben den bereits erwähnten Kriterien zusätzlich noch wichtig, dass der Voxel abseits von Gefäßen platziert wird.

Es ergab sich eine hohe Übereinstimmung der Eigenimplementierung mit den Ergebnissen aus der kommerziellen Lösung q-DIXON bei $B_0 = 1,5 \text{ T}$. Die Übereinstimmungsintervalle sind dabei vergleichbar mit denjenigen zwischen beiden kommerziell erhältlichen Lösungen. Der markierte Ausreißer ist als Fallbeispiel 2 (Eisenexzess) vorgestellt worden. Die starke Standardabweichung in der ROI in diesem Fall kennzeichnet die Unsicherheit der Messung und gibt dem Befunder einen direkten Hinweis, dass die Messung fehlerbehaftet ist. Denkbar und leicht umzusetzen wäre eine Überlagerung der Ergebniskarte, die unsichere Bereiche zusätzlich hervorhebt. In der Auswertung der Daten bei $B_0 = 3 \text{ T}$ liegt ein Skalierungsunterschied vor, der bei $B_0 = 1,5 \text{ T}$ nicht nachgewiesen wurde. Die Sequenz wurde auf beiden Systemen mit $T_R = 133 \text{ ms}$ und $\alpha = 15^\circ$ parametrisiert, so dass der Verdacht in einem T_1 -Durchschein-Effekt lag. Dieser Effekt führt bei T_1 -Wichtung (d. h. Flipwinkel bei oder oberhalb des Ernst-Winkels bei kleinem T_R) zu einer Überschätzung des Fettanteils [62]. Allerdings ist dieser Effekt den hier beobachteten Daten entgegengesetzt. Daher konnte die Ursache nicht abschließend geklärt werden.

4.2.2. Nutzung einer Fettquantifikation aus klinisch verfügbaren in- und oppose-Phasen-Bildern

Statistische Analyse. Bild 18 verdeutlicht bei beiden Feldstärken, dass der Fettanteil bei Verwendung der Dixon₂-Methode gegenüber der Dixon₃-Methode bei erhöhten Relaxationskonstanten (hervorgehobene Punkte bekannter Siderose) überschätzt wird. Dieser ist in jedem Fall zu beobachten, in dem die Siderose anhand der Relaxationskonstanten festgestellt wurde. Dies trifft nicht auf jeden Fall histologisch bestätigter Siderose zu. Dies ist in Übereinstimmung mit der Literatur zu werten [83]. Wenn man die Fälle histologisch bekannter Siderose und bildgebungs-basiert festgestellter erhöhter Relaxationskonstanten ausschließt, ergibt sich eine hohe Übereinstimmung in den Korrelationsanalysen nach Lin und Pearson bei $B_0 = 1,5 \text{ T}$. Die Bland-Altman-Analyse bestätigt das Verhalten mit Übereinstimmungsintervallen, die in der gleichen Größenordnung liegen wie beim Vergleich der kommerziellen Lösungen miteinander. Bei $B_0 = 3 \text{ T}$ ergibt sich ebenfalls eine hohe Pearson-Korrelation, allerdings ist eine globale Unterschätzung des Fettanteils festzustellen, die sich im Ordinatenabschnitt nach Pearson und in der Offset-Abweichung nach Lin ergibt. Diese globale Unterschätzung ergibt sich, da das Signal nicht nur durch das Fett-Wasser-Verhältnis bedingt abfällt, sondern zusätzlich durch Relaxation zwischen den IP- und OP-Echos. Würde in der Untersuchung zuerst das IP-Echo (bspw. bei $T_E \approx 2,3 \text{ ms}$) gemessen werden und erst im Anschluss das OP-Echo (bei $\approx 3,45 \text{ ms}$, ist eine Umkehr des Effektes zu erwarten. Dieser Aspekt wird nur in den Methoden unter Nutzung von mindestens drei Echos korrigiert. Die Beobachtung ist in sehr guter Übereinstimmung mit Ergebnissen von Kukuk *et al.* (2015) bei $B_0 = 3 \text{ T}$ zu sehen [63]. Die Autoren kamen ebenso auf eine statistisch hochsignifikante aber geringfügige Unterschätzung von 1,0 %. In den vorliegenden Daten ist nach Pearson die konstante Unterschätzung aus dem Achsenabschnitt bei 2,3 % anzusetzen. Bei $B_0 = 1,5 \text{ T}$ ist dieser Effekt aus den erhobenen Daten allerdings nicht festzustellen (siehe Bild 18a). Bei Nutzung der klinischen IP/OP-Bilder mit vergleichsweise starker T_1 -Wichtung wurde zunächst ein T_1 -Durchschein erwartet, welches zu einer

Überbestimmung des Fettanteils führt [62]. Die Auswirkung dieses Effektes auf den ermittelten Fettanteil lässt sich mit Kenntnis der Repetitionszeit, dem Flipwinkel sowie den T_1 -Zeiten von Fett und Wasser in der Leber korrigieren [58]. Dies wurde bereits in der Leber erfolgreich demonstriert [62]. Entgegen der Erwartungshaltung konnte jedoch kein entsprechendes Verhalten in den Daten nachgewiesen werden. Deshalb ist zumindest bei Anwendung der in der vorliegenden Arbeit verwendeten Sequenzparameter für die klinische IP/OP-Bildgebung keine Korrektur notwendig. Das auf Seite 55 vorgestellte Fallbeispiel 3 zeigt, dass die räumlich sehr fokal erhöhte Eisenkonzentration im Parenchym des Patienten bei Nutzung der klinisch verfügbaren IP/OP-Bilder in Verbindung mit der Dixon₂-Methode zu fokalen Spots mit fälschlich erhöhtem Fettanteil führt. Die kommerziellen Lösungen sind ebenso wie die Dixon₃-Methode nicht beeinflusst (siehe Bild 28). Dabei erreichen die Abweichungen aufgrund fehlender Relaxationskorrektur fokal bis zu einem Betrag von 25 %, sind also klinisch hochgradig bedeutsam. Es muss deshalb dringend dazu geraten werden, eine (gegebenenfalls auch nur fokale) Siderose im Vorhinein auszuschließen. In guter Übereinstimmung mit der Literatur [63] ist festzustellen, dass die höchsten Werte für FF bei etwa 40 bis maximal 45 % liegen, was einer Hepatozytenverfettung von 100 % entspricht. Dies bedeutet, dass eine kritische Unterschätzung des Fettanteils aufgrund der in den Grundlagen beschriebenen Nichteindeutigkeit keine klinische Relevanz hat.

Insgesamt ist also eine Quantifikation des Leberfettanteils zuverlässig möglich, wenn eine Siderose in der Leber des Patienten ausgeschlossen werden kann. In diesem Fall liegt eine größere Konkordanz der Dixon₂-Methode mit LiverHealth und LiverLab vor, als dies unter verschiedenen Histologen der Fall ist.

4.3. Relaxometrie und Eisenquantifizierung

4.3.1. Patientenakquise

Die Siderose ist eine wesentlich seltenere Erkrankung der Leber als die Fettleber. Die Inkludierungskriterien hatten keinen besonderen Fokus auf Patienten mit Verdacht auf Siderose oder anderen Kriterien, die sehr spezifisch für Patienten mit Siderose sind. Nach der ermittelten LIC konnten im Studienzeitraum daher nur drei Patienten mit einem klinisch bedeutsamen Grad an Siderose eingeschlossen werden. Die statistischen Konsequenzen aus der geringen Fallzahl schränkt die Aussagekraft der nachfolgend diskutierten Ergebnisse wesentlich ein.

4.3.2. Bestimmung der LIC.

Die Bestimmung der Lebereisenkonzentration ist historisch auf das Vorgehen von Barry (1971) [4] zurückzuführen. Zahlreiche Veröffentlichungen zitieren dieses Verfahren, gehen allerdings nicht auf die genaue Implementierung und auch auf die Verteilung der Biopsiemassen ein. Emond *et al.* wiesen nach, dass bioptisch entnommene Proben höhere Streuungen im gleichen Organ aufweisen als chirurgisch entnommene Resektionsproben. Ihre Schlussfolgerung ist, idealerweise mehrere Biopsieproben zu entnehmen, um einen repräsentativen Mittelwert und die Streuung bestimmen zu können [29]. Dies war im Rahmen des vorliegenden Ethikvotums allerdings nicht möglich. Die Problematik der Massebestimmung bei so kleinen Proben wurde

bereits früh erkannt, weshalb ein besonderes Augenmerk auf die Überprüfung der Konsistenz der Daten zur Massebestimmung gelegt wurde. Mit einem fortlaufend verbesserten Verfahren und der Fixierung dessen in einer SOP stand ab dem siebten eingeschlossenen Patienten ein Vorgehen zur Verfügung, das robuste und konsistente Ergebnisse liefern konnte.

Die Massebestimmungen erfolgten innerhalb klar definierter Zeitfenster nach der Trocknung der Proben. Nach der Wägung verging jedoch eine schwankende Zeitspanne von einigen Tagen bis zu drei Monaten für die Sammlung und den Versand der Proben. In dieser Zeit waren die MRGs zwar mittels Parafilm versiegelt, allerdings kann ein Eindringen von Luftfeuchte über diese Zeitspanne nicht ausgeschlossen werden, was zu einer Masseerhöhung führen würde. Dies spiegelt sich in den vom externen Institut bestimmten, leicht erhöhten Massen wider.

4.3.3. Analyse der MR-Methoden mit der Biopsie als Referenzgröße

Insgesamt sind die Ergebnisse zur Relaxationskonstantenbestimmung unter Nutzung der LIC als Referenz sehr ermutigend. Die Spearman-Rangkorrelation ist deshalb nicht signifikant, da die überwiegende Mehrheit der Messdaten von Patienten stammen, die keine LIC-bestätigte Siderose haben. Die geringe Fallzahl von nur drei Patienten mit klinisch relevanter LIC ergeben hingegen bereits mit der Literatur vergleichbare Relaxationskonstanten (siehe Bild 31). Wie S. Kannengiesser 2016 berichtete, unterscheiden sich die ermittelten Kalibrationskurven insbesondere aufgrund zweier Gründe: 1. Unterschiedliche Methodiken in der LIC-Bestimmung, 2. Umgang mit Rauschen im Postprocessing der Software.

Auf den ersten Punkt bezieht sich Bild 31. In diesem Graph finden sich Ausgleichsgeraden aus fünf Veröffentlichungen der letzten zwölf Jahre als Vergleich zu den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit. Die im Ergebnisteil der Arbeit vorgestellten Graphen beziehen sich immer auf die Trockenmasse, die intern ermittelt wurde. Als Vergleich wurde die LIC auf Basis der durch das externe Institut ermittelten Trockenmasse (m_{IK}) neu bestimmt. Die im externen Institut bestimmten und mutmaßlich durch Luftfeuchte bedingt erhöhten Trockenmassen bewirken einen höheren Anstieg in der Ausgleichsgeraden. Die entsprechende Ausgleichsgerade wurde in Bild 31 mit dem Index m_{IK} zusätzlich dargestellt. Die Anstiege beider Ausgleichsgeraden decken die Ergebnisse aller in der Literatur gefundenen Ergebnisse mit ab. Das verdeutlicht, dass die Aufbereitung der Proben eine ebenso bedeutsame Rolle spielt wie die korrekte Auswertung der Ergebnisse aus der MRT. Ein Teil der Forschergruppen arbeitete mit Proben, die in Paraffin-Blöcken aufbewahrt wurden. Butensky *et al.* berichten allerdings, dass Proben aus Paraffin-Blöcken eine systematisch höhere LIC aufweisen als solche, die nicht in Paraffin-Blöcken eingeschlossen wurden [12]. In der vorliegenden Arbeit wurden die Proben nicht in Paraffin oder anderen Substanzen eingeschlossen. Um die Quantifizierung der LIC mittels MRT voranzutreiben, ist also nicht nur eine Einigung in der Relaxationskonstantenbestimmung nötig, sondern auch ein klar definierter Goldstandard.

Der zweite Punkt bezieht sich auf den Einschluss auch negativer Signalwerte in den Magnitudendaten, die dem Kartieralgorithmus zugeführt werden. Negative Signalintensitäten sind für die parametrische Bildgebung notwendig, damit bei einer mathematischen Operation zur Herleitung der Zielgröße das potentiell in negative Wertebereiche dringende Rauschen

4. Diskussion

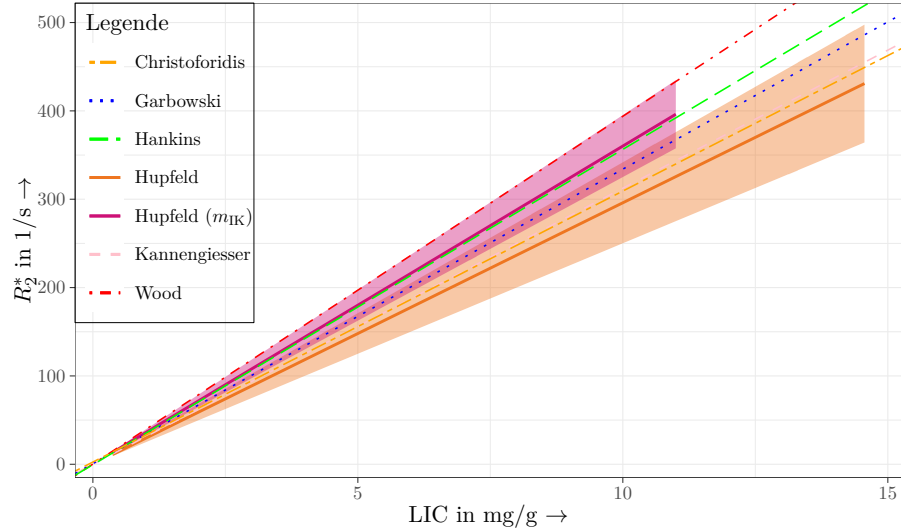


Bild 31: Darstellung der Relaxationskonstanten R_2^* in Abhängigkeit von der bioptisch bestimmten LIC mit direkt nach Trocknung bestimmter Masse (orange, durchgezogene Linie) bzw. von der im Institut Kuhlmann bestimmten LIC (lila, durchgezogene Linie). Im Vergleich die Ergebnisse von Christophoridis *et al.* (2009, [17]), Garbowski *et al.* (2009, [38]), Hankins *et al.* (2009, [46]) und Kannengiesser (2016, [57]). Die 95%-Konfidenzintervalle aus den Unsicherheiten von Anstieg und Ordinatenabschnitt nach Pearson (s. Abschnitt 3.3.3) sind als Schattierung gekennzeichnet.

nicht durch Betragsbildung im Vorhinein manipuliert wird. Das transversalrelaxationsbedingte Abfallen des MR-Signals beispielsweise würde unter Rauschen ohne negative Werte auch für $T_E \rightarrow \infty$ nicht auf Null abfallen. In LiverHealth wurden deshalb erst in einem finalen Schritt Voxel anhand von Wertebereichen ausgeschlossen bzw. maskiert (siehe Gl. (19)). Auch LiverLab arbeitet in der Rekonstruktion nicht nur auf den Magnitudendaten, sondern bezieht die Phasendaten mit ein und kann daher das Rauschverhalten korrigieren. In die Eigenimplementierung Dixon₃ wurden hingegen ausschließlich Rohdaten mit Wertebereichen größer Null geladen, die im PACS zur Verfügung stehen. Ein Bias lässt sich daher in dieser Implementierung nicht vermeiden. Aufgrund der geringen Fallzahl lässt sich allerdings keine Aussage treffen, ob dies eine Auswirkung auf die ermittelten Relaxationskonstanten hat.

Mit Bezug auf den Siderose-Score sind die Ergebnisse hingegen weniger ermutigend. Trotz der geringen Fallzahl zeigten die Spearman- und Pearson-Analysen einen teils hoch signifikanten Zusammenhang zwischen dem Siderose-Score und der ermittelten Relaxationskonstanten. Eine Abgrenzbarkeit zwischen den Siderose-Scores anhand der Relaxationskonstanten kann anhand der Fallzahl nicht nachgewiesen werden. Der Vergleich der ermittelten Relaxationskonstanten aus LiverLab und LiverHealth gibt eine weitgehende Übereinstimmung.

Die spektroskopiebasierte HISTO-Messung konnte lediglich zwei Mal erfolgreich zur Quantifizierung einer klinisch relevanten Siderose eingesetzt werden. Der in der Literatur angegebene Zusammenhang zwischen der Spin-Echo-Relaxationskonstante R_2 und der LIC ist nicht linear [92] und konnte anhand der vorliegenden Daten nicht bestätigt werden, da zu wenig Daten vorliegen. Die in der Bestimmung des Fettanteils erwähnten Limitationen der Spektroskopie

im klinischen Alltag treffen auch auf die Bestimmung der Relaxationskonstanten zu. Ein angepasstes Protokoll für Patienten mit bekannter Hämochromatose ist in der Protokoll Datenbank des MRT zu finden und wurde ebenfalls gemessen. Der wesentliche Unterschied in diesem Protokoll liegt in einem verkürzten Echo-Spacing. Die minimale Echozeit des ersten Echos lässt sich nicht weiter verringern. In keinem Fall, auch mit bekannter Siderose, meldete diese angepasste Variante einen besseren Korrelationskoeffizienten als die standardmäßige HISTO-Messung. Beim Fallbeispiel mit besonders hochgradiger Siderose versagten beide Varianten der HISTO-Messung schon in den Kalibrierungsvormessungen. Dies lag mutmaßlich daran, dass die Sequenzen zur Kalibrierung des Messsystems im selektierten Voxel kein Signal messen konnten, da es aufgrund der kurzen Relaxationszeit bereits abgeklungen war. Aus den Daten konnten insgesamt keine klinisch relevanten Vorteile der Spektroskopiemethode gegenüber den Dixon-Methoden erkannt werden.

4.4. Segmentierungsqualität

Die Segmentierungsqualität wurde beurteilt, um die Nutzbarkeit der Anwendungen LiverLab und LiverHealth in der klinischen Anwendung zu prüfen. Für die erste Einschätzung des Zustandes der Leber eines Patienten ist die Kenntnis der Durchschnittswerte von Leberfettanteil und Relaxationskonstante ein hilfreicher Indikator. Dies ist allerdings nur gegeben, wenn dieser Wert repräsentativ für die Leber ist. Das trifft in der Regel nicht zu, wenn neben dem Parenchym andere Strukturen (Gefäße, Viszeralfett oder andere Organe) in die Bildung des Durchschnittes einbezogen werden. Der Durchschnitt als Lageparameter einer statistischen Verteilung ist empfindlich gegenüber Ausreißern. Die angrenzenden (und teils mit eingelagerten) Gewebe unterscheiden sich teils erheblich vom Leberparenchym im Fettanteil und in der Relaxationskonstanten. Beispielsweise kann bereits ein kleines eingeschlossenes Volumen Viszeralfett daher den Gesamtleberfettanteil erheblich beeinflussen. Deshalb ist ein Ausschluss dieser Strukturen kritisch. Beide Softwarelösungen wiesen insbesondere im caudalen Bereich, wo sich vergleichsweise viel Viszeralfett befindet, erhebliche Schwächen auf. Dort zeigt ein durchschnittlich vergebener Score von 1,8 (LiverHealth) bzw. 1,5 (LiverLab) von maximal 3 Punkten und ein Totalversagen bei 16 % bis 20 % der Patienten, dass Verbesserungsbedarf besteht. Im Hilus sind große Gefäße gelagert, die in ihren Parametern stark vom Parenchym abweichen. Dort ist die Situation noch schlechter: Die Scores liegen noch unter denjenigen in der caudalen Region und das Totalversagen lag bei 25 % bis 45 %. Die Segmentierung in der peripheren und cranialen Region ist in beiden Softwarelösungen besser. Dies liegt wahrscheinlich auch an der geringeren Komplexität der Anatomie in diesen Regionen. LiverLab konnte in beiden Regionen wesentlich bessere Ergebnisse als LiverHealth vorweisen. Die automatische Segmentierung und Gesamtleber-Evaluation ist ein grundsätzlich richtiger Ansatz. In dieser Form ist von einer Nutzung dieser Funktion jedoch noch abzuraten. Die Gesamtbewertung der Segmentierungsqualität bei LiverHealth liegt unter derjenigen von LiverLab. Allerdings ist es hier möglich, an der Workstation IntelliSpace Portal noch nachträgliche Änderungen an der Segmentierung vorzunehmen. Die Ergebnisse der Gesamtleber-Evaluation werden daraufhin automatisch angepasst.

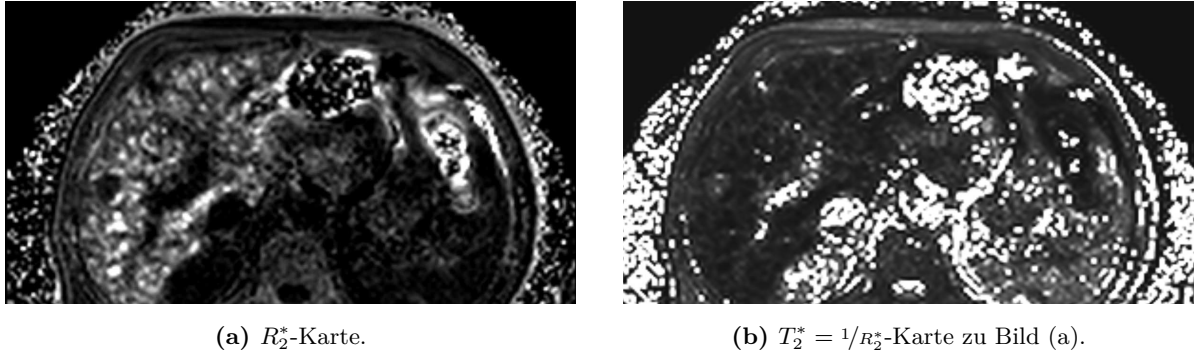


Bild 32: Direkter Vergleich der R_2^* - und T_2^* -basierten Karten (Sequenz q-DIXON). Die T_2^* -Werte divergieren für Bereiche hohen Rauschens (bspw. im Gastrointestinalraum), während die R_2^* -Werte gegen Null konvergieren. Die Bereiche hoher Eisenkonzentration im Leberparenchym sind in der R_2^* -Karte ebenfalls leichter durch hyperintense Darstellung (hier fleckig, da Patient aus Bild 28) zu erkennen.

4.5. Weitere Aspekte der Messung und Auswertung

Keine der Messungen musste wegen atembedingten Bewegungsartefakten abgebrochen oder verworfen werden. Dies ist der Fall, obwohl die Patienten teils schwer krank waren. Dies liegt sicher auch daran, dass alle Messungen so entworfen wurden, dass sie mit einem einigen Atemkommando abgeschlossen werden konnten. Teils waren Bewegungsartefakte sichtbar, allerdings konnte in jedem Fall das Artefakt in der ROI-Analyse vermieden werden. Die Dixon-basierten Messsequenzen sind insgesamt sehr gut in den klinischen Arbeitsfluss integrierbar. Während im Rahmen der Studie eine Mehrzahl an Sequenzen gemessen wurde, ist im klinischen Alltag für die Bestimmung des Leberfettanteils und der Relaxationskonstanten lediglich ein Atemkommando bei zugleich hoher Auflösung und guter Abdeckung der Leber nötig. Während der Studie wurden zahlreiche Bildserien mit den Ursprungsdaten und parametrischen Daten erzeugt, die für die befundenden Ärzte zum großen Teil unnötig sind. Diese lassen sich jedoch für die klinische Nutzung flexibel selektieren bzw. abwählen.

Darstellung der Relaxationskonstanten oder Relaxationszeiten. Sowohl LiverLab als auch LiverHealth können die Größen R_2^* und T_2^* als Parameterkarten ausgeben. Von der Evaluation anhand von T_2^* -Karten wird allerdings abgeraten. Rein subjektiv sind die zur LIC direkt proportionalen R_2^* -basierten Karten intuitiver zu verstehen, denn hier deutet eine hyperintense Darstellung im Vergleich zu den umgebenden Organen direkt auf eine Eisenüberlagerung hin. Des Weiteren ist die Fensterung der T_2^* -Karten problematisch, da in Bereichen mit geringem Signal $R_2^* \rightarrow 0$ konvergiert, aber $T_2^* \rightarrow \infty$ divergiert, was durch einen hohen, endlichen Wert in der Darstellung abgefangen wird (siehe Bild 32). Auch freie Flüssigkeiten mit sehr großen Relaxationskonstanten irritieren in der T_2^* -Karte bei der klinischen Anwendung, während sie bei R_2^* -Karten dunkel dargestellt werden (siehe Bild 30).

Vor- und Nachteile der Arbeitsabläufe in LiverLab und LiverHealth. Der Ansatz, eine vollautomatische Auswertung direkt bei während der Untersuchung durchzuführen, hat einen Vorteil: Die Ergebnisse können vom Arzt ohne weitere Nutzung einer speziellen Auswertesoftware im PACS oder mit einem DICOM-Betrachter befundet werden. Dies ermöglicht eine bessere Integration in bestehende Arbeitsabläufe und gegebenenfalls eine schnellere Auswertung. Als Nachteil ist zu sehen, dass bereits während der Messung abseits der rekonstruierten Bilder wesentliche Ergebnisse fixiert werden und sich nur durch Wiederholung der Messung anpassen lassen. Dazu gehören als wichtigste Faktoren die Auswahl der Auswerte-ROI und die Lebersegmentierung. Die ROI-Position wird dabei in der klinischen Praxis von der Medizinisch-Technischer Radiologieassistent (MTRA) am Gerät festgelegt, die dementsprechend zusätzlich geschult werden muss. Auch ein Verschieben der Position direkt nach der Messung (bspw. aufgrund von Bewegung des Patienten) ist nicht mehr möglich. Eine nachträgliche ROI lässt sich zwar im Bilddatensatz ausmessen, das Ergebnis dieser Messung wird allerdings nicht im Bericht von LiverLab festgehalten, sondern muss unabhängig davon dokumentiert werden. Insbesondere bei einem Fall wie in Bild 28 ist die ROI-Positionierung entscheidend. Vor dem Hintergrund der Ergebnisse der Segmentierungsqualität stellt sich zudem die Frage, wie mit einer fehlgeschlagenen Segmentierung in auch nur einer Region umgegangen werden soll, da der Einschluss von Viszeralfett den durchschnittlichen FF-Wert des Leberparenchyms stark anheben kann. Nach Angaben der Dokumentation wird der auf Ausreißer empfindliche arithmetische Mittelwert ausgegeben. Die Angabe des Medians wäre in diesem vollautomatischen Segmentierungsvolumen angebrachter. Für die spektroskopiebasierten Messungen stellt sich die Frage des Arbeitsablaufs in der Form nicht, da die Voxelposition nur während der Messung festgelegt werden kann.

Das gegensätzliche Arbeitsfluss-Konzept von Philips ermöglicht eine Akquisition durch die MTRA ohne zusätzliche Einweisung, da der Messablauf mit der mDIXON Quant analog zu anderen klinisch üblichen Sequenzen ist. Die Auswertung und Erstellung des Befundes erfolgt in LiverHealth als Teil der Workstation IntelliSpace Portal, was das Ausmessen der ROI erst zu diesem Zeitpunkt durch den qualifizierten Arzt ermöglicht. Es ist ebenfalls möglich, mehrere ROIs in den Befundbericht einzuschließen, was bei inhomogenen Eisen/Fett-Einlagerungen notwendig ist. Die Lebersegmentierung lässt sich hier anpassen; eine Korrektur in einer Schicht passt die Segmentierung in anderen Schichten mit an, so dass sich eine hochqualitative Segmentierung semiautomatisch erreichen lässt. Auch eine Unterteilung der Leber in ihre funktionellen Segmente ist semiautomatisch möglich; eine entsprechende Statistik erfolgt für alle erstellten Segmente und ROIs. Die Applikation ermöglicht allerdings keine Rekonstruktion zusätzlicher Kontraste oder Parameterkarten; bspw. lässt sich kein Wasserbild nachberechnen, wenn dieses auf dem MRT nicht bereits berechnet wurde. So müssen in der Sequenz mDIXON Quant bereits alle potentiell benötigten Kontraste aktiviert werden. Die FF-karten aus LiverHealth enthielten teilweise negative Werte. Dieser zunächst irritierende Fakt ist für ROI-Analysen vorteilhaft: Werden negative Werte mit dem Wert 0 abgeschnitten, bildet sich ein *noise bias* aus, der zu einer Überschätzung des Fettanteils führt [83], denn rauschende Bilder mit dem Mittelwert 0 müssen dementsprechend negative Werte enthalten. In q-DIXON ist dies nicht der

Fall. Ein entsprechendes Verhalten konnte für kleine Werte in Bild 16a und auch im Lipidgürtel (siehe Tab. 3 für Röhren 4) allerdings nicht festgestellt werden, da die durch LiverHealth ermittelten Werte über denen von LiverLab liegen. Der Ausschluss von Voxeln nach Gl. (19) in LiverHealth ist sinnvoll, da nur so kleinere Gefäße wie in den Bildern 34 und 28 zu sehen ist, ausgeschlossen werden können. Sowohl der Fettanteil als auch die Relaxationskonstante in den Gefäßen unterscheiden sich erheblich von den Werten im Parenchym. In der Auswertung des automatisch segmentierten Volumens wird der leicht durch Ausreißer beeinflusste Mittelwert ausgegeben. Eine Anwendung des für nicht-normalverteilte Werte robustere Median erscheint hier sinnvoller. In jedem Fall lohnt sich bei der Auswertung ein Blick in das Histogramm (siehe Bild 35b).

Auswertung mit der Eigenimplementierung in MeVisLab. Größter Vorteil der Eigenimplementierung ist die Flexibilität bei der Auswertung. So lassen sich durch das Framework von MeVisLab bedingt alle Schritte der Datenverarbeitung anschaulich nachvollziehen und gegebenenfalls anpassen, wobei eine Anpassung instantan die rekonstruierten Karten und Bilder beeinflusst (visuelles Feedback). Es ist ebenso um Funktionalitäten aus dem Framework erweiterbar, wozu Filter, Maskierungen und weitere Module gehören. Mit vergleichsweise geringem Zeitaufwand ist eine Integration von MeVisLab in die Arbeitsabläufe in der Klinik möglich, wozu eine Einbindung in das PACS und weiter automatisierte Vorgänge innerhalb der Software zählen.

Freilich erfüllt die Lösung nicht die Anforderungen für eine Marktzulassung. Hierzu sind neben den nötigen regulatorischen Erfordernissen auch inhaltliche Anforderungen zu erfüllen. Dazu gehört insbesondere eine erfolgreich abgeschlossene klinische Prüfung. Das genutzte MeVisLab-Framework ist für die Forschung kostenlos verfügbar, muss allerdings zur klinischen Anwendung kostenpflichtig lizenziert werden. Mit der Lizenzierung steht sodann ebenso die Erstellung einer festen Programmoberfläche und die Erstellung einer abgeschlossenen Softwarelösung zur Verfügung.

4.6. Vor- und Nachteile der parametrischen Leberbildgebung gegenüber der Biopsie

Die MRT ermöglicht einerseits eine Auftrennung des Signals von Lipiden und Wasser, andererseits eine quantitative Bestimmung gewebespezifischer Relaxationszeiten, welche invers proportional zur Eisenkonzentration ist. Sie ist also ein potentiell geeigneter Kandidat für die frühzeitige Erkennung der genannten Erkrankungen.

Vorteile. Die Vorteile der MRT gegenüber der Biopsie liegen insbesondere im nichtinvasiven Prozedere. Dies bedeutet einen Ausschluss von bereits erwähnten Risiken für Blutungen und Komplikationen. Sie ist ambulant durchführbar, ermöglicht eine vollständige Abdeckung der Leber und ermöglicht für jeden erfassten Voxel ein sehr feines, quasikontinuierliches Grading. Die räumliche Darstellung der Parameterkarten ermöglicht, inhomogene Einlagerungen von Fett und Eisen zu beurteilen: Dies kann die Texturierung der Einlagerungen als auch eine

segmentspezifische Angabe von Durchschnittswerten bedeuten. Die Ergebnisse liegen innerhalb von Sekunden nach Abschluss der Messung vor und können durch den durchführenden Arzt direkt befundet werden.

Nachteile. Die Nachteile liegen insbesondere in allgemein bekannten Kontraindikationen für die MRT vor. Dies betrifft insbesondere MR-unsichere Implantate. Auch bedingt MR-sichere Implantate stellen teils eine Herausforderung dar, jedoch lässt sich hier meist unter Beachtung der konkreten Messbedingungen eine Untersuchung durchführen. Weitere Kontraindikationen können mit Schwierigkeiten bei der Atemanhaltefähigkeit und im Falle einer Klaustrophobie beim Patienten liegen. Die zur Eisen- und Fettquantifikation notwendigen Sequenzen benötigen allerdings nur sehr kurze Messzeiten von unter zwölf Sekunden, die meist innerhalb eines einfachen Atemanhaltens durchgeführt werden können und von den meisten Patienten toleriert werden. Da die in dieser Arbeit angesprochenen Messungen nativ durchgeführt werden, sind Kontrastmittelallergien nicht als Kontraindikation zu sehen. Gegen den Einsatz der MRT als Screening-Methode spricht ihre Verfügbarkeit in der Breite und die Kosten einer Untersuchung. Dies hängt besonders an den hohen Investitionskosten für Hochfeld-MRT-Systeme.

4.7. Ausblick

Der Kernpunkt der vorliegenden Arbeit ist die Prüfung der klinischen Applikation der MR-basierten Fett- und Eisenquantifikation. Die Fallzahlen eignen sich in Kombination mit vorhergehenden Arbeiten über die zugrundeliegenden Methoden der Softwarelösungen für eine fundierte Aussage bei der Fettquantifikation. Für zukünftige Arbeiten ist allerdings in erster Linie eine Erhöhung der Fallzahl sinnvoll. Während für die Fettquantifikation statistisch belastbare Ergebnisse erzielt werden konnten, ist dies für die Eisenquantifizierung nicht der Fall. Insbesondere die spektroskopische HISTO-Messung liefert Relaxationskonstanten, die nicht linear von der Eisenkonzentration im Gewebe abhängen. Für diese Zusammenhänge sind dementsprechend mehr Daten erforderlich. Die Inzidenz der Hereditäre Hämochromatose (HHC) ist im Vergleich derer der Steatose weit geringer und auch sekundäre Eisenüberladungen sind so selten, dass größere Fallzahlen für aussagekräftige statistische Aussagen nötig sind. Für die Eisenquantifizierung sind größere Probenmassen vorteilhaft. A priori klinisch indizierte Leberresektionen lassen sich beispielsweise mit größeren Volumina beproben, was den sampling error reduziert. Ein Ersuchen um die entsprechende Erweiterung des Ethikvotums erfolgte bereits. Weiterhin erfolgen regelmäßig Weiterentwicklungen an LiverLab und LiverHealth, die sich besonders auf den Bereich der Integration in die klinische Arbeitsweise konzentrieren. Die Ergebnisse bezüglich dieser Aspekte sind in der vorliegenden Arbeit daher eine Momentaufnahme.

5. Zusammenfassung

Ziel der Arbeit. Der Goldstandard zur Diagnose einer Verfettung oder Siderose der Leber ist derzeit die histologische Untersuchung mit invasiver Biopsieentnahme. Neue, klinisch verfügbare Softwarelösungen versprechen eine Diagnose mittels MRT-Untersuchung mit automatischer Lebersegmentierung und Berichterstellung. Die darunterliegende Methodik ermöglicht genaue und robuste Ergebnisse, was durch vorhergehende Arbeiten bestätigt wurde. Eine Siderose der Leber führt zur Verkürzung der Relaxation und damit verfälschten Fettkonzentrationen. Die Lösungen versprechen daher eine gleichzeitige Quantifizierung des Leberfettanteils und der Relaxationskonstanten. Ziel der vorliegenden Arbeit ist, die Eignung der Produkte LiverLab (bestehend aus der Sequenz q-DIXON, einer Spektroskopie sowie einer automatischen Auswertung) und LiverHealth (bestehend aus der Sequenz mDIXON Quant sowie einer Auswertearbeitsstation) im klinischen Einsatz zu untersuchen.

Methoden. 28 Patienten wurden eingeschlossen. Sie unterzogen sich Untersuchungen an 1,5T- und 3T-MRTs. Biopsische Proben wurden in freier Koaxialtechnik entnommen und histologisch untersucht. Die Verifikation des ermittelten Leberfettanteils geschah mit einem *in vitro*-Modell und der Histologie als Referenz. Die ermittelte Relaxationskonstante wurde mit der laborchemisch bestimmten Lebereisenkonzentration als Referenz untersucht. Zusätzlich wurde eine Eigenimplementierung bestehend aus einer bildgebenden Sequenz sowie einer Auswertungslösung zur Quantifizierung dieser Parameter entwickelt, angewandt und analog zu den kommerziell erhältlichen Lösungen evaluiert. Alle Lösungen wurden mittels mehrerer statistischer Verfahren verglichen. Die Praktikabilität im klinischen Arbeitsablauf wurde geprüft, wozu die Qualität der Segmentierung und die Integration in die Prozesse der Radiologie zählt.

Ergebnisse. Die bildgebenden Sequenzen aus LiverLab und LiverHealth zeigen ebenso wie die Eigenimplementierung eine hohe Übereinstimmung mit dem biopsisch ermittelten Verfettungsgrad der Hepatozyten und eine sehr hohe Übereinstimmung untereinander. Klinisch verfügbare IP/OP-Bilder können zur Ermittlung des Leberfettanteils genutzt werden, wenn eine Siderose zuvor ausgeschlossen wurde. Für die Quantifizierung der Relaxationskonstanten lagen nur wenige Daten vor, welche allerdings in Übereinstimmung mit der laborchemisch bestimmten Lebereisenkonzentration zu werten sind. Die Spektroskopiemessung als Teil von LiverLab erwies sich im klinischen Ablauf nicht als zuverlässig. Die automatische Segmentierung muss in kritischen Regionen verbessert und sollte derzeit nicht klinisch angewandt werden. LiverHealth lässt sich flexibel anwenden, integriert sich allerdings schwer in den klinischen Alltag. Der vollautomatische Ansatz von LiverLab ermöglicht eine nahtlose Integration, ist jedoch zu unflexibel, falls die automatische Auswertung fehlschlägt. Beide Lösungen lassen sich routinemäßig anwenden und haben das Potential, mit konsequenter Weiterentwicklung den bisherigen Goldstandard abzulösen.

Literatur

- [1] Enterohepatischer kreislauf - wikimedia commons, 06.03.2021. URL https://commons.wikimedia.org/w/index.php?title=File:Grafik_enterohepatischerkreislauf.jpg&oldid=457263586.
- [2] Katrina J. Allen, Lyle C. Gurrin, Clare C. Constantine, Nicholas J. Osborne, Martin B. Delatycki, Amanda J. Nicoll, Christine E. McLaren, Melanie Bahlo, Amy E. Nisselle, Chris D. Vulpe, Gregory J. Anderson, Melissa C. Southey, Graham G. Giles, Dallas R. English, John L. Hopper, John K. Olynyk, Lawrie W. Powell, and Dorota M. Gertig. Iron-overload-related disease in hfe hereditary hemochromatosis. *The New England journal of medicine*, 358(3):221–230, 2008. doi: 10.1056/NEJMoa073286.
- [3] Bruce R. Bacon, Paul C. Adams, Kris V. Kowdley, Lawrie W. Powell, and Anthony S. Tavill. Diagnosis and management of hemochromatosis: 2011 practice guideline by the american association for the study of liver diseases. *Hepatology (Baltimore, Md.)*, 54(1), 2011. ISSN 0270-9139.
- [4] Barry and Sherlock. Measurement of liver-iron concentration in needle-biopsy specimens. *The Lancet*, 1971:100–103, 1971.
- [5] M. Barry. Determination of chelated iron in the urine. *Journal of clinical pathology*, 21(2):166–168, 1968. ISSN 1472-4146. doi: 10.1136/jcp.21.2.166.
- [6] J. M. Bland and D. G. Altman. A note on the use of the intraclass correlation coefficient in the evaluation of agreement between two methods of measurement. *Computers in Biology and Medicine*, 20(5):337–340, 1990. ISSN 00104825. doi: 10.1016/0010-4825(90)90013-F.
- [7] Claire Boudinaud, Armand Abergel, Juliette Joubert-Zakeyh, Mikael Fontarensky, Bruno Pereira, Benoit Chauveau, Jean Marc Garcier, Pascal Chabrot, Louis Boyer, and Benoît Magnin. Quantification of steatosis in alcoholic and nonalcoholic fatty liver disease: Evaluation of four mr techniques versus biopsy. *European journal of radiology*, 118:169–174, 2019. ISSN 1872-7727. doi: 10.1016/j.ejrad.2019.07.025.
- [8] Pierre Brissot and Olivier Loréal. Iron metabolism and related genetic diseases: A cleared land, keeping mysteries. *Journal of Hepatology*, 64(2):505–515, 2016. ISSN 01688278. doi: 10.1016/j.jhep.2015.11.009. URL <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168827815007424>.
- [9] Gary M. Brittenham and David G. Badman. Noninvasive measurement of iron: report of an niddk workshop. *Blood*, 101(1):15–19, 2003. ISSN 0006-4971. doi: 10.1182/blood-2002-06-1723.
- [10] E. Brunt. Nonalcoholic steatohepatitis: a proposal for grading and staging the histological lesions. *The American Journal of Gastroenterology*, 94(9):2467–2474, 1999. ISSN 00029270. doi: 10.1016/S0002-9270(99)00433-5.

- [11] L. Maximilian Buja and William C. Roberts. Iron in the heart. *The American Journal of Medicine*, 51(2):209–221, 1971. ISSN 00029343. doi: 10.1016/0002-9343(71)90240-3. URL <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0002934371902403>.
- [12] Ellen Butensky, Roland Fischer, Mark Hudes, Laurie Schumacher, Roger Williams, Thomas P. Moyer, Elliott Vichinsky, and Paul Harmatz. Variability in hepatic iron concentration in percutaneous needle biopsy specimens from patients with transfusional hemosiderosis. *American journal of clinical pathology*, 123(1):146–152, 2005. ISSN 0002-9173. doi: 10.1309/puuxegxdlh26nxa2.
- [13] Mark Bydder, Masoud Shiehorteza, Takeshi Yokoo, Sebastian Sugay, Michael S. Middleton, Olivier Girard, Michael E. Schroeder, Tanya Wolfson, Anthony Gamst, and Claude Sirlin. Assessment of liver fat quantification in the presence of iron. *Magnetic resonance imaging*, 28(6):767–776, 2010. ISSN 1873-5894. doi: 10.1016/j.mri.2010.03.017.
- [14] Ali Canbay, Jan-Peter Sowa, Wing-Kin Syn, and Jürgen Treckmann. Nash cirrhosis - the new burden in liver transplantation: How should it be managed? *Visceral Medicine*, 32(4):234–238, 2016. ISSN 2297-4725. doi: 10.1159/000446379.
- [15] R. W. Chapman, M. Y. Morgan, M. Laulicht, A. V. Hoffbrand, and S. Sherlock. Hepatic iron stores and markers of iron overload in alcoholics and patients with idiopathic hemochromatosis. *Digestive diseases and sciences*, 27(10):909–916, 1982. ISSN 0163-2116. doi: 10.1007/BF01316575.
- [16] Gregory C. Chow. Tests of equality between sets of coefficients in two linear regressions. *Econometrica*, 28(3):591, 1960. ISSN 00129682. doi: 10.2307/1910133.
- [17] Athanasios Christoforidis, Vassilios Perifanis, George Spanos, Efthimia Vlachaki, Marina Economou, Ioanna Tsatra, and Miranda Athanassiou-Metaxa. Mri assessment of liver iron content in thalassamic patients with three different protocols: comparisons and correlations. *European journal of haematology*, 82(5):388–392, 2009. doi: 10.1111/j.1600-0609.2009.01223.x.
- [18] Meinhard Classen and Wolfgang E. Bredel. *Innere Medizin: Mit 1034 Abbildungen, 1246 Tabellen, 216 Kasuistiken, 450 Zusammenfassungen und 183 Praxisfragen*. 5., völlig überarb. Aufl. edition, 2004. ISBN 3-437-42830-6.
- [19] O. Clément, A. Mühler, V. S. Vexler, R. Kuwatsuru, Y. Berthezène, W. Rosenau, and R. C. Brasch. Comparison of gd-eob-dtpa and gd-dtpa for contrast-enhanced mr imaging of liver tumors. *Journal of magnetic resonance imaging : JMRI*, 3(1):71–77, 1993. ISSN 1522-2586. doi: 10.1002/jmri.1880030113. URL <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8428104/>.
- [20] Henryk Dancygier. Pathogenese und therapie der nichtalkoholischen fettlebererkrankungen. *Dtsch. Ärztebl*, 103:C1066–C1072, 2006.

- [21] Beth A. Davison, Stephen A. Harrison, Gad Cotter, Naim Alkhouri, Arun Sanyal, Christopher Edwards, Jerry R. Colca, Julie Iwashita, Gary G. Koch, and Howard C. Dittich. Suboptimal reliability of liver biopsy evaluation has implications for randomized clinical trials. *Journal of Hepatology*, 73(6):1322–1332, 2020. ISSN 01688278. doi: 10.1016/j.jhep.2020.06.025.
- [22] L. M. Dendl and A. G. Schreyer. Steatosis hepatis—eine herausforderung? *Der Radiologe*, 52(8):745–752, 2012. doi: 10.1007/s00117-012-2312-5.
- [23] Jie Deng, Zhong Xiaodong, and Rigsby K. Cynthia. Hepatic fat quantification in pediatric patients using multi-echo dixon vibe: Early experience. URL www.siemens.com/magnetom-world.
- [24] H. Denk, H. P. Dienes, J. Düllmann, H.-P. Fischer, O. Klinge, W. Lierse, K.-H. zum Meyer Büschenfelde, U. Pfeifer, K. H. Preisegger, G. Ramadori, A. Tannapfel, Ch Wittekind, U. Wulfhekel, and H. Zhou. *Pathologie der Leber und Gallenwege*, volume 10 of *Spezielle pathologische Anatomie, Ein Lehr- und Nachschlagewerk*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, 2., völlig neu bearbeitete auflage edition, 2000. ISBN 9783642570360. doi: 10.1007/978-3-642-57036-0.
- [25] W. T. Dixon. Simple proton spectroscopic imaging. *Radiology*, 153(1):189–194, 1984. ISSN 0033-8419. doi: 10.1148/radiology.153.1.6089263.
- [26] Olaf Dössel and Thorsten M. Buzug. *Biomedizinische Technik - Medizinische Bildgebung*. Biomedizinische Technik. De Gruyter, Berlin, 2014. ISBN 9783110252149. doi: 10.1515/9783110252149. URL http://www.degruyter.com/search?f_0=isbnissn&q_0=9783110252149&searchTitles=true.
- [27] Mattias Ekstedt, Hannes Hagström, Patrik Nasr, Mats Fredrikson, Per Stål, Stergios Kechagias, and Rolf Hultcrantz. Fibrosis stage is the strongest predictor for disease-specific mortality in nafld after up to 33 years of follow-up. *Hepatology (Baltimore, Md.)*, 61(5):1547–1554, 2015. ISSN 0270-9139. doi: 10.1002/hep.27368.
- [28] Ashraf Mohammad El-Badry, Stefan Breitenstein, Wolfram Jochum, Kay Washington, Valérie Paradis, Laura Rubbia-Brandt, Milo A. Puhan, Ksenija Slankamenac, Rolf Graf, and Pierre-Alain Clavien. Assessment of hepatic steatosis by expert pathologists: the end of a gold standard. *Annals of Surgery*, 250(5):691–697, 2009. ISSN 0003-4932. doi: 10.1097/SLA.0b013e3181bcd6dd.
- [29] Mary J. Emond, Mary P. Bronner, Timothy H. Carlson, Masami Lin, Robert F. Labbe, and Kris V. Kowdley. Quantitative study of the variability of hepatic iron concentrations. *Clinical Chemistry*, 45(3):340–346, 1999. ISSN 0009-9147. doi: 10.1093/clinchem/45.3.340.
- [30] Rainer Engelhardt, Joachim H. Langkowski, Roland Fischer, Peter Nielsen, Hendrik Kooijman, Hellmuth C. Heinrich, and Egon Bücheler. Liver iron quantification: Studies in

- aqueous iron solutions, iron overloaded rats, and patients with hereditary hemochromatosis. *Magnetic resonance imaging*, 12(7):999–1007, 1994. ISSN 1873-5894. doi: 10.1016/0730-725X(94)91230-T.
- [31] European Association for the Study of the Liver. Easl clinical practice guidelines for hfe hemochromatosis. *Journal of Hepatology*, 53(1):3–22, 2010. ISSN 01688278. doi: 10.1016/j.jhep.2010.03.001.
- [32] Ludivine Falize, Anne Guillygomarc’h, Michele Perrin, Fabrice Lainé, Dominique Guyader, Pierre Brissot, Bruno Turlin, and Yves Deugnier. Reversibility of hepatic fibrosis in treated genetic hemochromatosis: a study of 36 cases. *Hepatology (Baltimore, Md.)*, 44(2):472–477, 2006. ISSN 0270-9139. doi: 10.1002/hep.21260.
- [33] J. N. Feder, A. Gnirke, W. Thomas, Z. Tsuchihashi, D. A. Ruddy, A. Basava, F. Dormishian, R. Domingo, M. C. Ellis, A. Fullan, L. M. Hinton, N. L. Jones, B. E. Kimmel, G. S. Kronmal, P. Lauer, V. K. Lee, D. B. Loeb, F. A. Mapa, E. McClelland, N. C. Meyer, G. A. Mintier, N. Moeller, T. Moore, E. Morikang, C. E. Prass, L. Quintana, S. M. Starnes, R. C. Schatzman, K. J. Brunke, D. T. Drayna, N. J. Risch, B. R. Bacon, and R. K. Wolff. A novel mhc class i-like gene is mutated in patients with hereditary haemochromatosis. *Nature genetics*, 13(4):399–408, 1996. ISSN 1061-4036. doi: 10.1038/ng0896-399.
- [34] Frank Fischbach and Harald Bruhn. Assessment of in vivo 1h magnetic resonance spectroscopy in the liver: a review. *Liver international : official journal of the International Association for the Study of the Liver*, 28(3):297–307, 2008. doi: 10.1111/j.1478-3231.2007.01647.x.
- [35] Frank Fischbach, Jürgen Bunke, Markus Thormann, Gunnar Gaffke, Kerstin Jungnickel, Jouke Smink, and Jens Rieke. Mr-guided freehand biopsy of liver lesions with fast continuous imaging using a 1.0-t open mri scanner: experience in 50 patients. *Cardiovascular and interventional radiology*, 34(1):188–192, 2011. doi: 10.1007/s00270-010-9836-8.
- [36] Linda M. Fletcher, Jeannette L. Dixon, David M. Purdie, Lawrie W. Powell, and Darrell H. G. Crawford. Excess alcohol greatly increases the prevalence of cirrhosis in hereditary hemochromatosis. *Gastroenterology*, 122(2):281–289, 2002. ISSN 0016-5085. doi: 10.1053/gast.2002.30992.
- [37] Y. Gandon, D. Guyader, J. F. Heautot, M. I. Reda, J. Yaouanq, T. Buhé, P. Brissot, M. Carsin, and Y. Deugnier. Hemochromatosis: diagnosis and quantification of liver iron with gradient-echo mr imaging. *Radiology*, 193(2):533–538, 1994. ISSN 0033-8419. doi: 10.1148/radiology.193.2.7972774.
- [38] Maciej W. Garbowski, John-Paul Carpenter, Gillian Smith, Dudley J. Pennell, and John B. Porter. Calibration of improved t2* method for the estimation of liver iron concentration in transfusional iron overload. *Blood*, 114(22):2004, 2009. ISSN 0006-4971. doi: 10.1182/blood.V114.22.2004.2004.

- [39] Maciej W. Garbowski, John-Paul Carpenter, Gillian Smith, Michael Roughton, Mohamed H. Alam, Taigang He, Dudley J. Pennell, and John B. Porter. Biopsy-based calibration of t_2^* magnetic resonance for estimation of liver iron concentration and comparison with r_2 ferriscan. *Journal of Cardiovascular Magnetic Resonance*, 16(1):40, 2014. ISSN 1532-429X. doi: 10.1186/1532-429X-16-40.
- [40] W. Gilles and W. Stremmel. Kardiale hämochromatose. *Der Kardiologe*, 3(1):57–66, 2009. ISSN 1864-9726. doi: 10.1007/s12181-008-0125-6.
- [41] G. H. Glover and E. Schneider. Three-point dixon technique for true water/fat decomposition with b_0 inhomogeneity correction. *Magnetic Resonance in Medicine*, 18(2):371–383, 1991. ISSN 07403194. doi: 10.1002/mrm.1910180211.
- [42] M. A. Goldberg, P. F. Hahn, S. Saini, M. S. Cohen, P. Reimer, T. J. Brady, and P. R. Mueller. Value of t_1 and t_2 relaxation times from echoplanar mr imaging in the characterization of focal hepatic lesions. *AJR. American journal of roentgenology*, 160(5):1011–1017, 1993. ISSN 1546-3141. doi: 10.2214/ajr.160.5.8470568.
- [43] Yves Gossuin, Robert N. Muller, and Pierre Gillis. Relaxation induced by ferritin: a better understanding for an improved mri iron quantification. *NMR in biomedicine*, 17(7):427–432, 2004. ISSN 1099-1492. doi: 10.1002/nbm.903.
- [44] D. Guyader and Y. Gandon. Quantification de la surcharge en fer. *Bulletin de l'Academie nationale de medecine*, 184(2):337–47; discussion 347–8, 2000. ISSN 0001-4079.
- [45] E. Mark Haacke. *Magnetic resonance imaging: Physical principles and sequence design*. Wiley-Liss, New York, NY, 1999. ISBN 978-0471351283. URL <http://www.loc.gov/catdir/description/wiley037/99022880.html>.
- [46] Jane S. Hankins, M. Beth McCarville, Ralf B. Loeffler, Matthew P. Smeltzer, Mihaela Onciu, Fredric A. Hoffer, Chin-Shang Li, Winfred C. Wang, Russell E. Ware, and Claudia M. Hillenbrand. R_2^* magnetic resonance imaging of the liver in patients with iron overload. *Blood*, 113(20):4853–4855, 2009. ISSN 0006-4971. doi: 10.1182/blood-2008-12-191643.
- [47] Robin K. Harris, Edwin D. Becker, Sonia M. Cabral de Menezes, Robin Goodfellow, and Pierre Granger. Nmr nomenclature. nuclear spin properties and conventions for chemical shifts(iupac recommendations 2001). *Pure and Applied Chemistry*, 73(11):1795–1818, 2001. ISSN 0033-4545. doi: 10.1351/pac200173111795.
- [48] Tomoko Hatta, Yasunari Fujinaga, Masumi Kadoya, Hitoshi Ueda, Hiroaki Murayama, Masahiro Kurozumi, Kazuhiko Ueda, Michiharu Komatsu, Tadanobu Nagaya, Satoru Joshiba, Ryo Kodama, Eiji Tanaka, Tsuyoshi Uehara, Kenji Sano, and Naoki Tanaka. Accurate and simple method for quantification of hepatic fat content using magnetic resonance imaging: a prospective study in biopsy-proven nonalcoholic fatty liver disease. *Journal of gastroenterology*, 45(12):1263–1271, 2010. doi: 10.1007/s00535-010-0277-6.

- [49] B. Henninger, H. Zoller, S. Rauch, A. Finkenstedt, M. Schocke, W. Jaschke, and C. Kremser. R2* relaxometry for the quantification of hepatic iron overload: biopsy-based calibration and comparison with the literature. *RöFo - Fortschritte auf dem Gebiet der Röntgenstrahlen und der bildgebenden Verfahren*, 187(6):472–479, 2015. ISSN 1438-9010. doi: 10.1055/s-0034-1399318.
- [50] B. Henninger, M. Plaikner, H. Zoller, W. Jaschke, S. Kannengiesser, and C. Kremser. Die hersteller-lösung für die mr-quantifizierung von lebereisen – vergleich mit einer etablierten r2*-relaxometriemethode. In *101. Deutscher Röntgenkongress und 9. Gemeinsamer Kongress der DRG und ÖRG*, RöFo - Fortschritte auf dem Gebiet der Röntgenstrahlen und der bildgebenden Verfahren. © Georg Thieme Verlag KG, 2020. doi: 10.1055/s-0040-1703147.
- [51] Gerd Herold. *Innere Medizin: Eine vorlesungsorientierte Darstellung : 2020 : unter Berücksichtigung des Gegenstandskataloges für die Ärztliche Prüfung : mit ICD 10-Schlüssel im Text und Stichwortverzeichnis*. 2020. ISBN 9783981466096.
- [52] C. Hershko, G. Link, and I. Cabantchik. Pathophysiology of iron overload. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 850:191–201, 1998. ISSN 0077-8923. doi: 10.1111/j.1749-6632.1998.tb10475.x.
- [53] Robert S. Houk, Velmer A. Fassel, Gerald D. Flesch, Harry J. Svec, Alan L. Gray, and Charles E. Taylor. Inductively coupled argon plasma as an ion source for mass spectrometric determination of trace elements. *Analytical Chemistry*, 52(14):2283–2289, 1980. ISSN 0003-2700. doi: 10.1021/ac50064a012.
- [54] Sebastian Hupfeld, Dennis Pischel, Dörthe Jechorek, Andrea Janicová, Maciej Pech, and Frank Fischbach. Mri-based fat quantification of the liver: Is it time for commercially available products? *European journal of radiology*, 144:109993, 2021. ISSN 1872-7727. doi: 10.1016/j.ejrad.2021.109993.
- [55] Ross Ihaka and Robert Gentleman. R: A language for data analysis and graphics. *Journal of Computational and Graphical Statistics*, 5(3):299, 1996. ISSN 10618600. doi: 10.2307/1390807. URL <http://www.jstor.org/stable/1390807>.
- [56] Peter D. Jensen, Finn T. Jensen, Thorkil Christensen, Hans Eiskjaer, Ulrik Baandrup, and Johan L. Nielsen. Evaluation of myocardial iron by magnetic resonance imaging during iron chelation therapy with deferrioxamine: indication of close relation between myocardial iron content and chelatable iron pool. *Blood*, 101(11):4632–4639, 2003. ISSN 0006-4971. doi: 10.1182/blood-2002-09-2754.
- [57] Stephan Kannengiesser. Iron quantification with liverlab. URL http://clinical-mri.com/wp-content/uploads/2016/11/Iron_Quantification_LiverLab_Kannengiesser_RSNA_MAGNETOM_Flash.pdf.
- [58] Dimitrios C. Karampinos, Huanzhou Yu, Ann Shimakawa, Thomas M. Link, and Sharmila Majumdar. T₁-corrected fat quantification using chemical shift-based water/fat separa-

- tion: application to skeletal muscle. *Magnetic resonance in medicine*, 66(5):1312–1326, 2011. ISSN 0740-3194. doi: 10.1002/mrm.22925.
- [59] Wolfgang Kerner. Pankreas-diabetes: Häufig fehldiagnostiziert. *Deutsches Aerzteblatt Online*, 2018. doi: 10.3238/PersDia.2018.04.27.02.
- [60] K. J. KINGSBURY, S. PAUL, A. CROSSLEY, and D. M. MORGAN. The fatty acid composition of human depot fat. *The Biochemical journal*, 78:541–550, 1961. ISSN 0264-6021. doi: 10.1042/bj0780541.
- [61] David E. Kleiner, Elizabeth M. Brunt, Mark van Natta, Cynthia Behling, Melissa J. Contos, Oscar W. Cummings, Linda D. Ferrell, Yao-Chang Liu, Michael S. Torbenson, Aynur Unalp-Arida, Matthew Yeh, Arthur J. McCullough, and Arun J. Sanyal. Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology (Baltimore, Md.)*, 41(6):1313–1321, 2005. ISSN 0270-9139. doi: 10.1002/hep.20701.
- [62] Jens-Peter Kuhn, Christina Jahn, Diego Hernando, Werner Siegmund, Stefan Hadlich, Julia Mayerle, Jorg Pfannmoller, Sonke Langner, and Scott Reeder. T1 bias in chemical shift-encoded liver fat-fraction: Role of the flip angle. *Journal of magnetic resonance imaging : JMRI*, 40(4):875–883, 2013. ISSN 1522-2586. doi: 10.1002/jmri.24457.
- [63] Guido M. Kukuk, Kanishka Hittatiya, Alois M. Sprinkart, Holger Eggers, Jürgen Gieseke, Wolfgang Block, Philipp Moeller, Winfried A. Willinek, Ulrich Spengler, Jonel Trebicka, Hans-Peter Fischer, Hans H. Schild, and Frank Träber. Comparison between modified dixon mri techniques, mr spectroscopic relaxometry, and different histologic quantification methods in the assessment of hepatic steatosis. *European Radiology*, 25(10):2869–2879, 2015. ISSN 1432-1084. doi: 10.1007/s00330-015-3703-6.
- [64] Vinay Kumar. *Robbins and Cotran pathologic basis of disease: [study smart with student consult]*. Pathology. Elsevier [u.a.], Philadelphia PA, 9. ed. edition, 2015. ISBN 9781455726134.
- [65] Lawrence I-Kuei Lin. A concordance correlation coefficient to evaluate reproducibility. *Biometrics*, 45(1):255, 1989. ISSN 0006341X. doi: 10.2307/2532051.
- [66] T. Longerich, C. Flechtenmacher, and P. Schirmacher. Mass und zahl in der hepatopathologie: Diagnostisch und klinisch relevante graduierungen bei nichttumorösen lebererkrankungen. *Der Pathologe*, 29(1):15–26, 2008. doi: 10.1007/s00292-007-0963-1.
- [67] Thomas Longerich and Peter Schirmacher. Determining the reliability of liver biopsies in nash clinical studies. *Nature reviews. Gastroenterology & hepatology*, 17(11):653–654, 2020. doi: 10.1038/s41575-020-00363-8.
- [68] Jingfei Ma. Dixon techniques for water and fat imaging. *Journal of magnetic resonance imaging : JMRI*, 28(3):543–558, 2008. ISSN 1522-2586. doi: 10.1002/jmri.21492.

- [69] Sharon M. McDonnell, Ben L. Preston, Sandy A. Jewell, James C. Barton, Corwin Q. Edwards, Paul C. Adams, and Ray Yip. A survey of 2,851 patients with hemochromatosis. *The American Journal of Medicine*, 106(6):619–624, 1999. ISSN 00029343. doi: 10.1016/S0002-9343(99)00120-5.
- [70] Juris Meija, Tyler B. Coplen, Michael Berglund, Willi A. Brand, Paul de Bièvre, Manfred Gröning, Norman E. Holden, Johanna Irrgeher, Robert D. Loss, Thomas Walczyk, and Thomas Prohaska. Atomic weights of the elements 2013 (iupac technical report). *Pure and Applied Chemistry*, 88(3):265–291, 2016. ISSN 0033-4545. doi: 10.1515/pac-2015-0305.
- [71] Michael S. Middleton, Elhamy R. Heba, Catherine A. Hooker, Mustafa R. Bashir, Kathryn J. Fowler, Kumar Sandrasegaran, Elizabeth M. Brunt, David E. Kleiner, Edward Doo, Mark L. van Natta, Joel E. Lavine, Brent A. Neuschwander-Tetri, Arun Sanyal, Rohit Loomba, and Claude B. Sirlin. Agreement between magnetic resonance imaging proton density fat fraction measurements and pathologist-assigned steatosis grades of liver biopsies from adults with nonalcoholic steatohepatitis. *Gastroenterology*, 153(3):753–761, 2017. ISSN 0016-5085. doi: 10.1053/j.gastro.2017.06.005.
- [72] N. Milman, P. Pedersen, T. á Steig, K. E. Byg, N. Graudal, and K. Fenger. Clinically overt hereditary hemochromatosis in denmark 1948-1985: epidemiology, factors of significance for long-term survival, and causes of death in 179 patients. *Annals of hematology*, 80(12):737–744, 2001. ISSN 0939-5555. doi: 10.1007/s002770100371.
- [73] Susanne Moebus, Jens Hanisch, Peter Bramlage, Christian Lösch, Hans Hauner, Jürgen Wasem, and Karl-Heinz Jöckel. Regional differences in the prevalence of the metabolic syndrome in primary care practices in germany. *Deutsches Ärzteblatt International*, 105(12):207–213, 2008. doi: 10.3238/artzebl.2008.0207.
- [74] C. Niederau, R. Fischer, A. Pürschel, W. Stremmel, D. Häussinger, and G. Strohmeyer. Long-term survival in patients with hereditary hemochromatosis. *Gastroenterology*, 110(4):1107–1119, 1996. ISSN 0016-5085. doi: 10.1053/gast.1996.v110.pm8613000.
- [75] A. Paisant, A. Boulic, E. Bardou-Jacquet, E. Bannier, G. d’Assignies, F. Lainé, B. Turlin, and Y. Gandon. Assessment of liver iron overload by 3 t mri. *Abdominal radiology (New York)*, 42(6):1713–1720, 2017. ISSN 2366-0058. doi: 10.1007/s00261-017-1077-8.
- [76] M. Perls. Nachweis von eisenoxyd in gewissen pigmenten. *Archiv für Pathologische Anatomie und Physiologie und für Klinische Medicin*, 39(1):42–48, 1867. ISSN 0945-6317. doi: 10.1007/BF01878983.
- [77] F. Piccinino, E. Sagnelli, G. Pasquale, G. Giusti, A. Battocchia, M. Bernardi, R. Bertolazzi, F. B. Bianchi, E. Brunelli, G. Budillon, L. Buscarini, A. Cargnel, G. Carrara, N. Carulli, L. Caruso, V. Cataldi, G. Celle, L. Chiandussi, L. Chiesa, M. Colombo, M. Coltorti, C. de Bac, C. Del Vecchio Blanco, G. Di Marco, F. Fiaccadori, M. G. Filippazzo, F. Fornari, A. Francavilla, M. Frezza, V. Gallo, V. Galvani, T. Givatto,

- C. Iannuzzi, C. M. Izzo, S. Le Moli, G. Longo, G. Magnani, M. Manai, F. Manenti, O. Manghisi, G. Manzillo, G. Marengo, F. Miglio, G. Molino, P. G. Mosca, R. Moschetta, C. Panella, G. Panichi, G. Parrilli, G. Pastore, C. Peluso, A. Picciotto, G. Pilleri, E. Pisi, M. Ponz de Leon, M. Rago, G. Raimondo, G. Realdi, M. Rizzetto, A. Rizzo, G. Ronchi, F. Rossi Fanelli, G. Ruggiero, N. Russo, A. Satta, D. E. Sansonno, C. Struglia, P. Tolentino, F. Tremolada, C. Trischitta, G. Verme, P. Viganò, G. Visco, and P. Zivelonghi. Complications following percutaneous liver biopsy. *Journal of Hepatology*, 2(2):165–173, 1986. ISSN 01688278. doi: 10.1016/S0168-8278(86)80075-7. URL <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168827886800757>.
- [78] Antonello Pietrangelo. Hereditary hemochromatosis—a new look at an old disease. *The New England journal of medicine*, 350(23):2383–2397, 2004. doi: 10.1056/NEJMra031573.
- [79] J. J. Pointon, D. Wallace, A. T. Merryweather-Clarke, and K. J. Robson. Uncommon mutations and polymorphisms in the hemochromatosis gene. *Genetic testing*, 4(2):151–161, 2000. ISSN 1090-6576. doi: 10.1089/10906570050114867.
- [80] Yves Prof Gandon, MD. Mrquantif (ex ironbymr), 2020. URL https://imageded.univ-rennes1.fr/en/mrquantif/online_quantif/.
- [81] Vlad Ratziu, Frédéric Charlotte, Agnès Heurtier, Sophie Gombert, Philippe Giral, Eric Bruckert, André Grimaldi, Frédérique Capron, and Thierry Poynard. Sampling variability of liver biopsy in nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology*, 128(7):1898–1906, 2005. ISSN 0016-5085. doi: 10.1053/j.gastro.2005.03.084.
- [82] S. B. Reeder, C. Hines, H. Yu, C. A. McKenzie, and J. Brittain. On the definition of fat-fraction for in vivo fat quantification with magnetic resonance imaging. In *17th meeting of the international society of magnetic resonance in medicine*, page 211, 2009.
- [83] Scott B. Reeder, Irene Cruite, Gavin Hamilton, and Claude B. Sirlin. Quantitative assessment of liver fat with magnetic resonance imaging and spectroscopy. *Journal of magnetic resonance imaging : JMRI*, 34(4):729–749, 2011. ISSN 1522-2586. doi: 10.1002/jmri.22580.
- [84] Gertrud Rehner and Hannelore Daniel. *Biochemie der Ernährung*. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, 3. auflage edition, 2010. ISBN 978-3-8274-2041-1. doi: 10.1007/978-3-8274-2217-0.
- [85] Resonance Health Limited and Resonance Health Analysis Services Pty Limited. Ferriscan® - resonance health. URL <https://www.resonancehealth.com/find-a-centre/ferriscan.html>.
- [86] Carol M. Rumack, J. William Charboneau, David Levine, and Stephanie R. Wilson. *Diagnostic ultrasound parts 1 and 2*. Mosby, St Louis, 4th ed. edition, 2011. ISBN 9780323053976.

- [87] Peter J. Scheuer, Roger Williams, and A. R. Muir. Hepatic pathology in relatives of patients with hæmochromatosis. *The Journal of Pathology and Bacteriology*, 84(1):53–64, 1962. ISSN 0368-3494. doi: 10.1002/path.1700840107.
- [88] Robert Sellers. Mr liverlab. URL www.siemens.com/magnetom-world.
- [89] Suraj D. Serai, Ethan A. Smith, Andrew T. Trout, and Jonathan R. Dillman. Agreement between manual relaxometry and semi-automated scanner-based multi-echo dixon technique for measuring liver t2* in a pediatric and young adult population. *Pediatric radiology*, 48(1):94–100, 2018. doi: 10.1007/s00247-017-3990-y.
- [90] Puneet Sharma and Martin Diego. An efficient workflow for quantifying hepatic lipid and iron deposition using liverlab. URL www.siemens.com/magnetom-world.
- [91] Claude B. Sirlin and Scott B. Reeder. Magnetic resonance imaging quantification of liver iron. *Magnetic resonance imaging clinics of North America*, 18(3):359–81, ix, 2010. doi: 10.1016/j.mric.2010.08.014.
- [92] Timothy G. St Pierre, Paul R. Clark, Wanida Chua-anusorn, Adam J. Fleming, Gary P. Jeffrey, John K. Olynyk, Pensri Pootrakul, Erin Robins, and Robert Lindeman. Noninvasive measurement and imaging of liver iron concentrations using proton magnetic resonance. *Blood*, 105(2):855–861, 2005. ISSN 0006-4971. doi: 10.1182/blood-2004-01-0177.
- [93] Pippa Storey, Alexis A. Thompson, Christine L. Carqueville, John C. Wood, R. Andrew de Freitas, and Cynthia K. Rigsby. R2* imaging of transfusional iron burden at 3t and comparison with 1.5t. *Journal of magnetic resonance imaging : JMRI*, 25(3):540–547, 2007. ISSN 1522-2586. doi: 10.1002/jmri.20816.
- [94] S. M. Strasberg, J. Belghiti, P.-A. Clavien, E. Gadzijev, J. O. Garden, W.-Y. Lau, M. Makuuchi, and R. W. Strong. The brisbane 2000 terminology of liver anatomy and resections. *HPB*, 2(3):333–339, 2000. ISSN 1365-182X. doi: 10.1016/S1365-182X(17)30755-4.
- [95] W. Stremmel, H. D. Riedel, C. Niederau, and G. Strohmeyer. Pathogenesis of genetic haemochromatosis. *European journal of clinical investigation*, 23(6):321–329, 1993. ISSN 0014-2972. doi: 10.1111/j.1365-2362.1993.tb02031.x.
- [96] Annick Vanclooster, Cees van Deursen, Reggy Jaspers, David Cassiman, and Ger Koek. Proton pump inhibitors decrease phlebotomy need in hfe hemochromatosis: Double-blind randomized placebo-controlled trial. *Gastroenterology*, 153(3):678–680.e2, 2017. ISSN 0016-5085. doi: 10.1053/j.gastro.2017.06.006.
- [97] John C. Wood, Cathleen Enriquez, Nilesh Ghugre, J. Michael Tyzka, Susan Carson, Marvin D. Nelson, and Thomas D. Coates. Mri r2 and r2* mapping accurately estimates hepatic iron concentration in transfusion-dependent thalassemia and sickle cell disease patients. *Blood*, 106(4):1460–1465, 2005. ISSN 0006-4971. doi: 10.1182/blood-2004-10-3982.

- [98] Takeshi Yokoo, Mark Bydder, Gavin Hamilton, Michael S. Middleton, Anthony C. Gamst, Tanya Wolfson, Tarek Hassanein, Heather M. Patton, Joel E. Lavine, Jeffrey B. Schwimmer, and Claude B. Sirlin. Nonalcoholic fatty liver disease: Diagnostic and fat-grading accuracy of low-flip-angle multiecho gradient-recalled-echo mr imaging at 1.5 t. *Radiology*, 251(1):67–76, 2009. ISSN 0033-8419. doi: 10.1148/radiol.2511080666.
- [99] Huanzhou Yu, Charles A. McKenzie, Ann Shimakawa, Anthony T. Vu, Anja C. S. Brau, Philip J. Beatty, Angel R. Pineda, Jean H. Brittain, and Scott B. Reeder. Multiecho reconstruction for simultaneous water-fat decomposition and t_2^* estimation. *Journal of magnetic resonance imaging : JMRI*, 26(4):1153–1161, 2007. ISSN 1522-2586. doi: 10.1002/jmri.21090.

Danksagung

Die vorliegende Arbeit fasst einen wesentlichen Teil der wissenschaftlichen Leistungen zusammen, die ich an der Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg bzw. an der Klinik für Radiologie und Nuklearmedizin des Universitätsklinikums Magdeburg im Zeitraum vom August 2018 bis März 2021 erbracht habe. An dieser Stelle bedanke ich mich bei allen Personen, die mich bei der Erstellung dieser Arbeit unterstützt haben.

Eine besondere Danksagung gebührt meinem Doktorvater Prof. Dr. med. Frank Fischbach, der mich auf das spannende und anspruchsvolle Thema der vorliegenden Dissertation ansetzte. Er ermöglichte es mir, eigenständig und unabhängig wissenschaftlich zu arbeiten. Prof. Dr. med. Maciej Pech danke ich für die Unterstützung, um meine Ergebnisse in einer wissenschaftlichen Zeitschrift zu publizieren.

Des Weiteren bedanke ich mich bei Prof. Dr. Dörthe Jechorek, ohne deren Einsatz ich keine Beurteilung der Biopsieproben entsprechend dem Goldstandard gehabt hätte. Prof. Dr. phil. nat. Borna Relja, Andrea Janicova und Dr. rer. nat. Katja Woidacki danke ich für die Unterstützung in der Probenaufbereitung und -wägung.

Meinen Eltern danke ich für ihren Rückhalt und ihre Unterstützung in allen Lebenslagen. Sie standen immer hinter meinen Zielen und schafften es, mich schon im Kindesalter dafür zu begeistern, zu verstehen, wie die Natur funktioniert. Diese Begeisterung wächst bis heute.

Erklärung

Teile dieser Arbeit mündeten in der folgenden Publikation:

Sebastian Hupfeld, Dennis Pischel, Dörthe Jechorek, Andrea Janicová, Maciej Pech, and Frank Fischbach. Mri-based fat quantification of the liver: Is it time for commercially available products? *European journal of radiology*, 144:109993, 2021. ISSN 1872-7727. doi: 10.1016/j.ejrad.2021.109993

Experimentelle Daten wurden durch Mithilfe von Fachkollegen erlangt. Hierzu zählen:

- Histopathologische Befundung durch Prof. Dr. med. Dörthe Jechorek (Komm. Direktorin und Chefärztin des Institut für Pathologie des Universitätsklinikums der Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg),
- MR-gestützte Biopsieentnahme durch apl. Prof. Dr. med. Frank Fischbach (Oberarzt an der Klinik für Radiologie und Nuklearmedizin des Universitätsklinikums der Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg),
- Erarbeitung einer SOP zur Probenaufbereitung und -wägung zur Eisenkonzentrationsbestimmung unter Hilfe von Andrea Janicova (Wissenschaftliche Mitarbeiterin an der Klinik für Radiologie und Nuklearmedizin des Universitätsklinikums der Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg).

Ich erkläre, dass ich die der Medizinischen Fakultät der Otto-von-Guericke-Universität zur Promotion eingereichte Dissertation mit dem Titel

Leberfett- und Lebereisenkonzentrationsbestimmung mittels multiparametrischer
Magnetresonanztomografie

in der Klinik für Radiologie und Nuklearmedizin mit Unterstützung durch Prof. Dr. med. Frank Fischbach ohne sonstige Hilfe durchgeführt und bei der Abfassung der Dissertation keine anderen als die dort aufgeführten Hilfsmittel benutzt habe. Bei der Abfassung der Dissertation sind Rechte Dritter nicht verletzt worden. Ich habe diese Dissertation bisher an keiner in- oder ausländischen Hochschule zur Promotion eingereicht. Ich übertrage der Medizinischen Fakultät das Recht, weitere Kopien meiner Dissertation herzustellen und zu vertreiben. Ich erkläre hiermit, nicht wegen einer Straftat verurteilt worden zu sein, die Wissenschaftsbezug hat.

Magdeburg, den

Sebastian Hupfeld

Darstellung des Bildungsweges

Im / Ab	Bis	
August 2001	Juni 2007	„Europaschule“ Gymnasium Gommern
Juni 2007		Abitur mit Leistungskursen in Mathematik und Physik
Oktober 2007	April 2015	Studium der Physik an der Otto-von-Guericke Universität Magdeburg mit den Schwerpunkten Weiche Materie, Biophysik, Magnetresonanztomographie
April 2015		Abschluss mit Diplomarbeit „Dynamic Shimming bis zur Zweiten Ordnung bei 7 Tesla“
August 2017	heute	Tätigkeit als Wissenschaftlicher Mitarbeiter und Medizophysiker i.A. in der Klinik für Radiologie und Nuklearmedizin im Universitätsklinikum Magdeburg A.ö.R.
Oktober 2017	Mai 2019	Studium der Medizinischen Physik und Technik an der Technischen Universität Kaiserslautern
Mai 2019		Abschlusszertifikat in Medizinischer Physik und Technik, Erlangung der Fachkunde

Ich bestätige hiermit die Richtigkeit der gemachten Angaben.

Magdeburg, den

Sebastian Hupfeld

A. Ergänzende Ergebnisse

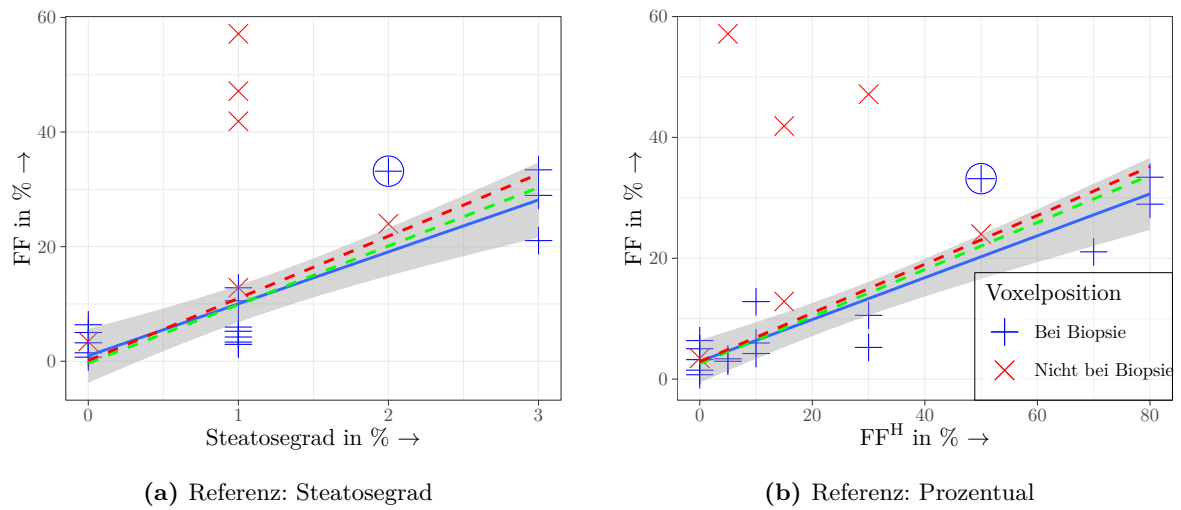
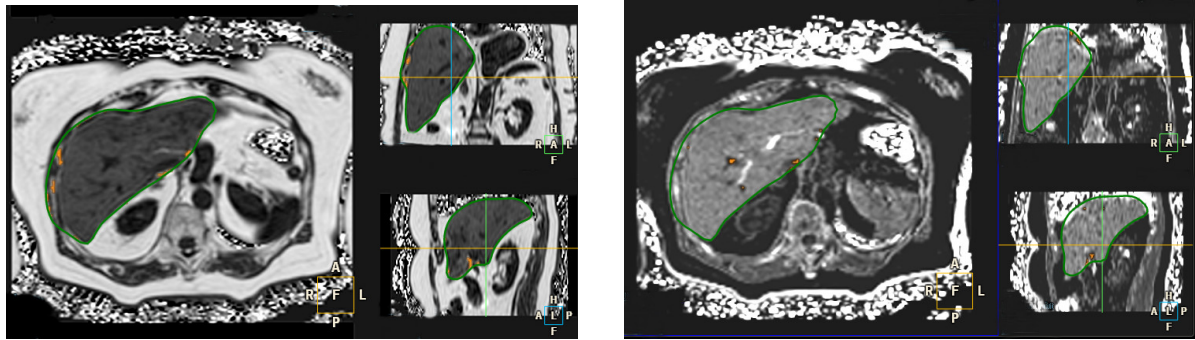


Bild 33: Darstellung der Fett-Fraction aus der Spektroskopie mit verkürztem Echo-Spacing i.A. vom erhobenen Wert aus der Histopathologie (blau). Rote Kreuze entspringen fehlpositionierten Voxeln und enthalten potentiell Viszeral- oder Subkutanfett. Die eingekreisten Punkte gehören zur Biopsieprobe in Bild 14. Als Vergleich sind die Ausgleichsgeraden der CSI-basierten Lösungen q-DIXON (grün) und mDIXON Quant (rot) gestrichelt eingezeichnet.

B. Bildschirmfotos der Softwarelösungen



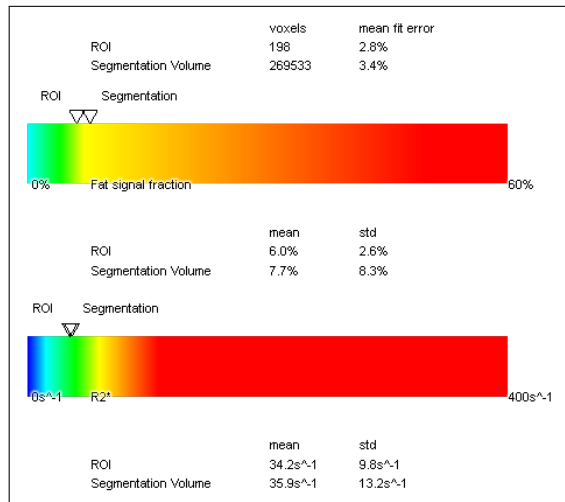
(a) FF-Karte.

(b) R_2^* -Karte.

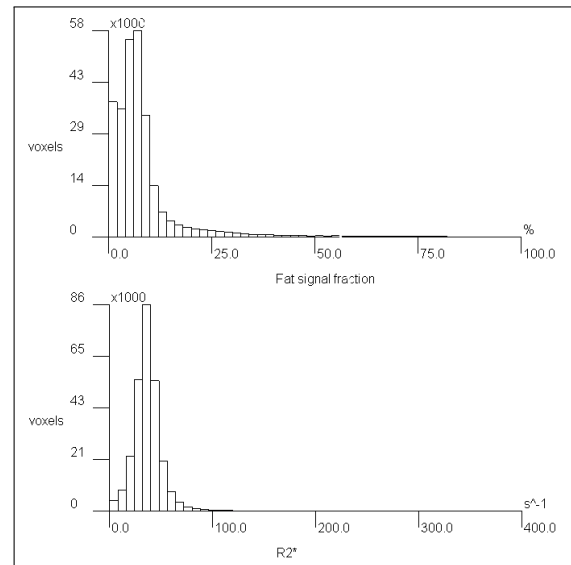
VOI/ROI-Name	Volumen cm ³	Volumenver...	Korrigiert FF(%) AV \pm SD	Korrigiert T2_Stem(ms) AV \pm SD	Korrigiert R2_Stem(s ⁻¹) AV \pm SD
Leber	1773.0	100.0	21.2 \pm 8.4	14.1 \pm 5.3	78.3 \pm 28.9

(c) Ergebnistabelle.

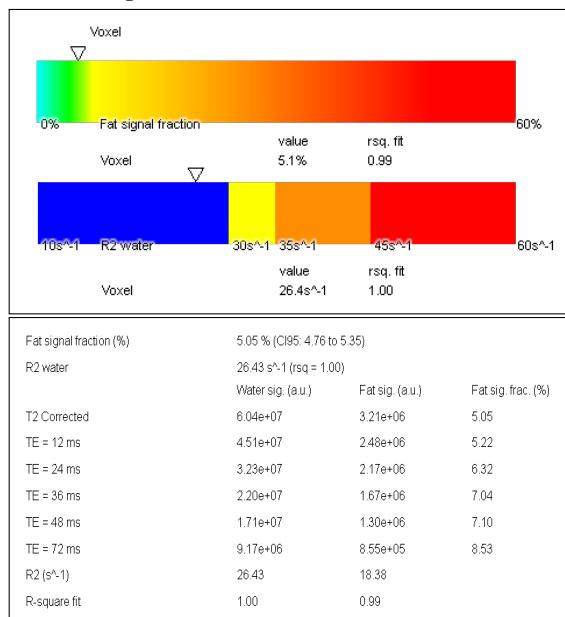
Bild 34: Nachbearbeitetes Bildschirmfoto einer Auswertung mit LiverHealth, jeweils in Transversal-, Coronal- und Sagittalansicht. Die grüne Umrandung kennzeichnet die semiautomatisch segmentierte Leber, orange hervorgehobene Voxel sind von der Quantifizierung ausgeschlossen. Das *Korrigiert* in der Tabelle bezieht sich auf die ausgeschlossenen Voxel.



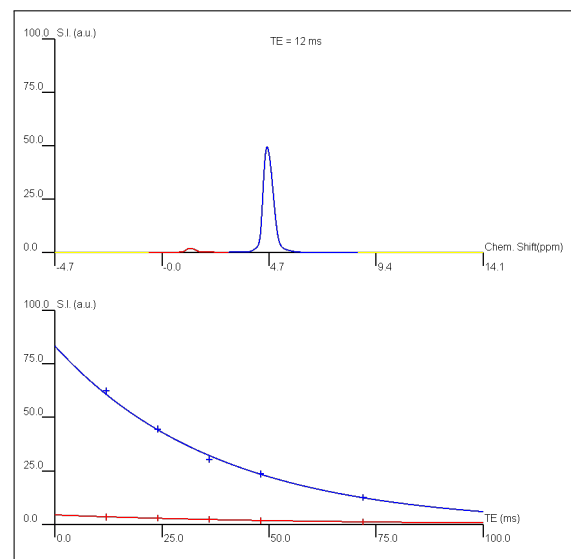
(a) QDIXON: Zusammenfassung der Analyse in ROI und segmentierter Ganzleber.



(b) QDIXON: Histogramm aller Voxel in zuvor definierter ROI.



(c) Spektroskopie: Oben Zusammenfassung der Ergebnisse, unten Angabe getrennter Werte von R_2 für Wasser und Fett sowie des 95%-Konfidenzintervalls für FF.



(d) Spektrum (oben) und zeitliche Entwicklung (unten) des Signals. Der blaue Bereich im Spektrum wird als Wassersignal interpretiert, der rote als Fettsignal.

Bild 35: Von LiverLab automatisch erstellte Berichte aus Q-DIXON-Sequenz und Spektroskopie für einen Patienten ohne Leberzellverfettung oder Siderose (nachbearbeitet).

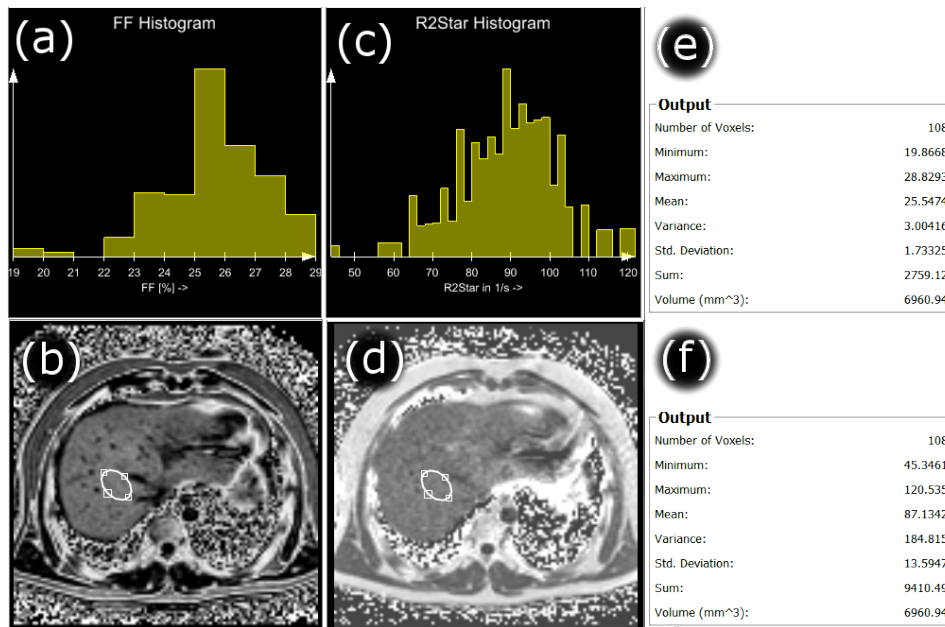


Bild 36: Bildschirmfoto der Ergebnisse der MeVisLab-Implementierung der FF-Bestimmung mittels ROI-Analyse bei einem Patienten mit Siderose und erhöhter FF. (a), (b) Histogramm und Position der ROI in der ermittelten FF-Karte. (c), (d) Histogramm und Position der ROI in der ermittelten R_2^* -Karte. Die Geometrie beider ROIs sind gleich. (e), (f) Ergebnisse der Histogrammanalyse sowie Volumen der ROI.

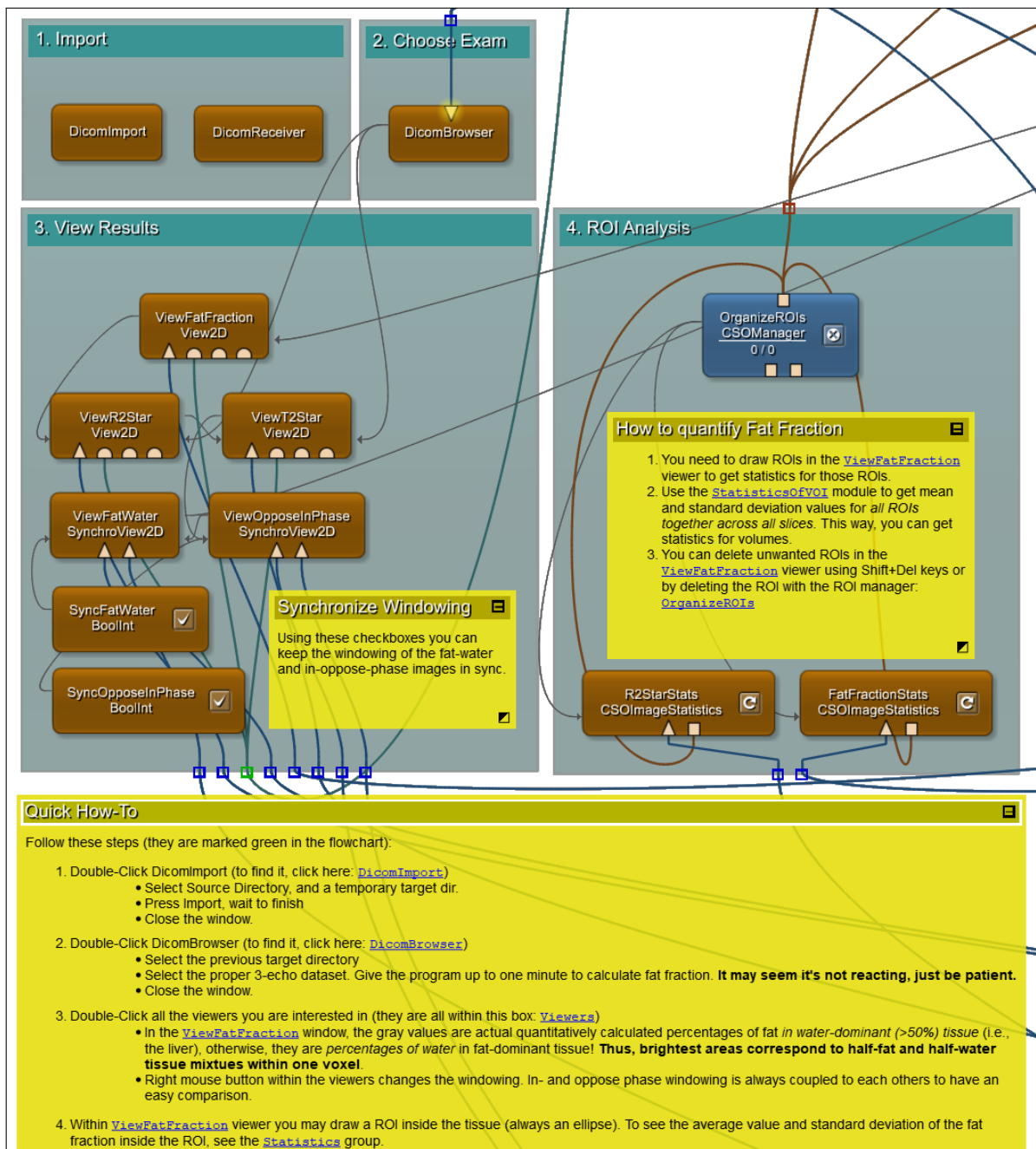


Bild 37: Layout der aufrufbaren Module der MeVisLab-basierten Dixon₃-Implementierung. Der DicomReceiver lässt sich so einrichten, dass direkt vom PACS in die Auswertesoftware gesendet werden kann. Nicht im Bild zu sehen ist die eigentliche Implementierung, die jedoch vom Anwender in der Benutzung nicht wesentlich ist. Diese lässt sich durch einfaches Verschieben der Ansicht darstellen und im Anschluss modifizieren. Dies ermöglicht es beispielsweise, die Auswirkung der R_2^* -Korrektur darzustellen.

B. Bildschirmfotos der Softwarelösungen

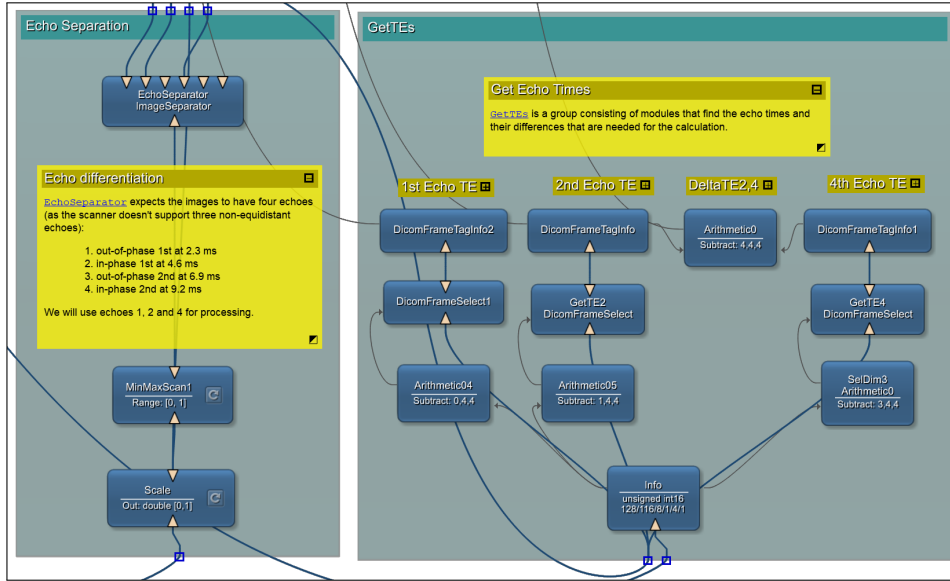


Bild 38: Links: Separierung der Einzelechos im DICOM-Datensatz. Rechts: Extraktion der Echozeiten der einzelnen Echos. Diese werden für die Relaxationskorrektur in Gl. (17) benötigt.

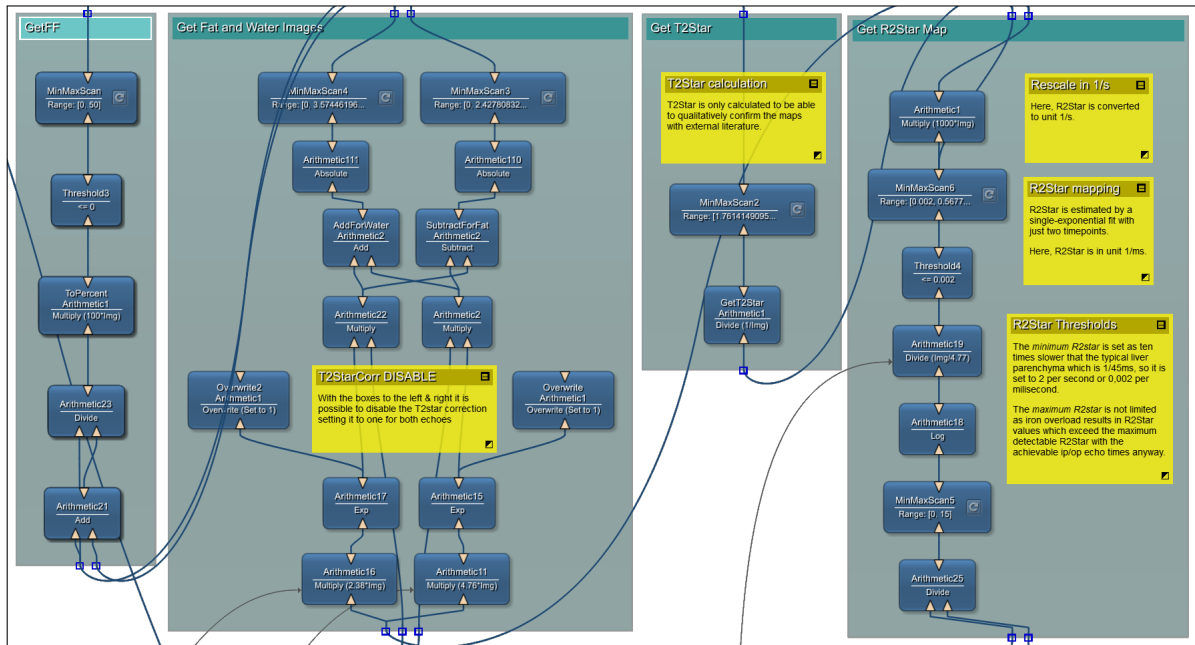


Bild 39: Rechts: Berechnung der R_2^* -Karte anhand der zwei IP-Echos. Mitte rechts: T_2^* wird einfach durch Bildung der Reziproken bestimmt. Mitte links: Berechnung der Fett- und Wasserbilder mit Korrektur der Relaxation. Links: Bestimmung des Fettanteils anhand der Fett- und Wasserbilder. Die Implementierung erfolgte anhand von Yokoo *et al.* [98].

C. SOP zur Wägung der Mikroreaktionsgefäße


		QUALITY MANAGEMENT Page 1/3
Scope: Experimental Radiology, H65 (Zenit), 2. Floor Human liver biopsy processing for iron quantification		Last update: 2020-03-07 / Version: V03
Human liver biopsy processing for iron quantification		
Preparation		
Material		
MATERIAL	COMPANY	CATALOG NUMBER
0.5 ml Eppendorf tubes (<i>Eppi</i>)	Sarstedt	72.698
Disposable scalpel No.11	Feather	02.001.30.011
Preparation needle	neoLab, Heidelberg, Germany	2-4113
Antistatic forceps	neoLab, Heidelberg, Germany	2-1216
18G biopsy needle	Innovative Tomography Products, Bochum, Germany	
Instruments		
INSTRUMENT	COMPANY	SOFTWARE
SC2 micro balance	Sartorius, Göttingen, Germany	-
Drying oven	neoLab, Heidelberg, Germany	-
Involved Personnel		
<ul style="list-style-type: none"> - Prof. Frank Fischbach [FF] // H60a // 21502 - Andrea Janicova [AJ] // H65 // 28241 - Katja Woidaki [KW] // H65 // 28241 - Sebastian Hupfeld [SH] // H39 // 21842 - Sybille Voigt [SV] // H39 // 13071 - Anja Zinke [AZ] // H39 // 13071 		
Preparation		
<ul style="list-style-type: none"> • Mark each tube with the project's name and a unique identification number • Weighing of tubes takes a while, plan at least 1 day in advance for step 1 of the protocol 		
CAVE!		
Using the SC2 micro balance requires experience. It is very sensitive and each modification of your sample vial and of the environment will lead to a falsification of your results. Remember, the mass of the biopsy sample will be maximally 3 mg and after drying around 1 - 1.5 mg. Thus, a cautious handling is necessary.		
Examples for possible sources of falsification:		
<ul style="list-style-type: none"> • Fingerprints – always wear clean gloves • Modification of tube – alone a simple labeling modification will change the weight • Alcohol disinfection – it removes the labeling and may also change the weight of the vial • Environmental temperature & moisture • Electrostatic charge of the sample & vial 		
Protocol ■		

Bild 40: SOP zum Umgang mit Biopsieproben und deren Einwägung, bevor diese ins externe Institut eingesandt wurden. (Fortsetzung auf nächster Seite)

Human liver biopsy processing for iron quantification	Page 2/3 Last update: 2020-03-07 / Version: V03
-------------------------------------------------------	----------------------------------------------------

Protocol (English)

ALL STEPS WITH GLOVES!

1. Labeling and weighing of Eppendorf tubes (AJ & SH, H65, R279)

- Keep labeled tubes on antistatic pad for at least two hours
 - *Before weighing, all tubes must have weighing room temperature*
- Weigh tubes according the SOP for SC2 micro balance → usage of antistatic forceps
- Record the weight of all tubes in lab book
- Transfer and keep the tubes in a closed container
 - *No dust or other contamination*
- Repeat the process at least one day later to exclude major inconsistencies

2. Eppendorf tube preparation before biopsy excision (SH, H39)

CAVE! No modifications of tube labeling. No disinfection of tube. No use of formaline. Touch tube only with clean gloves!

- Take a tube with correct label from the glass container and put into rack in polystyrene box
- Close the polystyrene box and transfer to the surgery room

3. Liver biopsy excision (FF & SH, H60a, Open MRI)

CAVE! No modifications of tube labeling. No disinfection of tube. Touch tube only with clean gloves

- FF: Take the liver biopsy with 18G biopsy needle (1x20mm)
- FF: Transfer of biopsy sample from needle to scalpel No. 11
- Hand-over of scalpel to SH
- SH: Transfer of biopsy sample into labeled tube
- SH: Close the tube, put into polysterene box

4. Liver biopsy drying and determination of dry-weight (SH & AJ & KW, H65, R279)

Dry-weight determination should be on a weekly basis (i.e. Fridays)!

- SH: Transfer the tube with biopsy in closed polystyrene box to H65 (AJ / KW)
- Dry the biopsy in tube at 100°C overnight
- Allow the biopsy cool down to weighing room temperature on antistatic pad over two hours
- Weigh tube according the SOP for SC2 micro balance → usage of antistatic forceps advisable
- Record the weight and subtract the weight of tube alone
- Repeat the process at least one day later to exclude major inconsistencies
- Seal the tubes with parafilm to avoid moisture
- Storage at room temperature
- Collect approx.10 dried biopsies (store at RT / 4°C) and send them to Institute Kuhlmann for analysis

Protocol ■

Bild 41: SOP zum Umgang mit Biopsieproben und deren Einwägung, bevor diese ins externe Institut eingesandt wurden. (Fortsetzung auf nächster Seite)

Human liver biopsy processing for iron quantification	Page 3/3 Last update: 2020-03-07 / Version: V03
-------------------------------------------------------	----------------------------------------------------

Protokoll (Deutsch)

Alle Schritte sind mit Handschuhen durchzuführen!

1. Beschriftung und Wägung eines Satzes von Eppis (AJ & SH, H65, R279)

- Eppis mindestens zwei Stunden auf antistatischer Matte entladen lassen
 - *Alle Gefäße müssen Raumtemperatur vor der Wägung aufweisen.*
- Mittels antistatischer Pinzetten wird anhand der SOP für die Waage SC2 die Masse bestimmt
- Dokumentation der Massen im Laborheft
- Aufbewahrung und Transport nur in verschlossenem Glasbehälter
 - *Vermeidung von Staub und anderer Kontamination*
- Wiederholung des Prozesses mindestens einen Tag später um Inkonsistenzen auszuschließen

2. Vorbereitung der Eppis am Tag der Biopsie (SH, H39)

Beachte: Keine Änderungen der Beschriftung, keine Desinfektion, kein Formalin. Die Eppis dürfen nur mit Handschuhen angefasst werden um die Masse nicht zu beeinflussen.

- Entnahme der entsprechenden Eppis, Übernahme in Polyesterolbox
- Transfer der gesamten Polyesterolbox in zum offenen MRT zur Biopsieentnahme

3. Leberbiopsie (FF & SH, H60a, Offenes MRT)

CAVE! Keine Änderungen der Beschriftung, keine Desinfektion, kein Formalin. Die Eppis dürfen nur mit Handschuhen angefasst werden.

- FF: Entnahme der Biopsieprobe mit 18G-Biopsienadel (1x20mm)
- FF: Übertrag der Probe von Biopsienadel auf Skalpell Nr. 11
- Übergabe des Skalpells an SH
- SH: Übertrag der Biopsieprobe vom Skalpell No. 11 in das gekennzeichnete Eppi
- SH: Verschluss des Eppis, Verbringen in Polyesterolbox

4. Probentrocknung und Bestimmung der Trockenmasse (SH & AJ & KW, H65, R279)

- SH: Transfer der gesamten Polyesterolbox ins H65 (AJ / KW)
- Trocknung der Probe im Eppi über Nacht bei 100°C
- Abkühlung der Probe über zwei Stunden auf antistatischer Matte
- Mittels antistatischer Pinzetten wird anhand der SOP für die Waage SC2 die Masse bestimmt
- Dokumentation der Masse Wiederholung des Prozesses mindestens einen Tag später um Inkonsistenzen auszuschließen
- Eppis mit Parafilm gegen Feuchtigkeit abdichten
- Aufbewahrung bei Raumtemperatur
- Versand von bspw. 10 Proben ans Institut Kuhlmann zur Eisenbestimmung

Protocol ■

Bild 42: SOP zum Umgang mit Biopsieproben und deren Einwägung, bevor diese ins externe Institut eingesandt wurden.